

## DEVE-SE OFERECER COLINA PROTEGIDA OU NIACINA PARA A VACA PERIPARTO?

*J.A.A. Pires and R.R. Grummer*

*Department of Dairy Science*

*University of Wisconsin - Madison*

*Autor correspondente: [rgrummer@wisc.edu](mailto:rgrummer@wisc.edu)*

### RESUMO

- Experimentos controlados sugerem que a suplementação de colina pode prevenir e atenuar o fígado gorduroso em vacas leiteiras.
- Estudos de campo mostraram aumento no consumo de alimento e na produção de leite corrigido para gordura, além de redução na incidência de cetose quando as vacas receberam colina protegida durante a fase final do período seco e início de lactação.
- As respostas da suplementação da dieta com niacina livre sobre a produção são difíceis de interpretar devido à extensiva degradação da niacina no rúmen.
- O ácido nicotínico, uma forma da niacina, pode reduzir as concentrações plasmáticas de NEFA em bovinos com balanço energético negativo.
- Futuramente, quando formas rúmen-protetidas de ácido nicotínico tiverem sido testadas, sua utilização pode vir a tornar-se uma ferramenta no manejo nutricional de vacas leiteiras periparto.
- Deve-se inicialmente identificar a taxa de fornecimento de ácido nicotínico necessária para redução moderada nas concentrações de NEFA. Também é necessário definir estratégias para prevenir a ocorrência de rebote exagerado de NEFA quando o tratamento é interrompido.
- Pesquisas também apontam para potenciais efeitos sinérgicos entre ácido nicotínico e colina na modulação do metabolismo lipídico de vacas periparto.

### INTRODUÇÃO

A degradação microbiana e a síntese de nutrientes dificultam a estimativa dos requerimentos nutricionais de ruminantes. Por exemplo, apesar de décadas de pesquisas em aminoácidos e nutrição, o último subcomitê sobre Requerimentos Nutricionais de Vacas Leiteiras do NRC (NRC, 2001) não estabeleceu os requerimentos de aminoácidos, pois considerou os dados insuficientes e os modelos de predição do fluxo de aminoácidos para o intestino delgado inadequados. Do mesmo modo, não se estabeleceram os requerimentos para colina e vitaminas do complexo B. No caso das vitaminas, acredita-se que a síntese microbiana e as fontes dietéticas que escapam da degradação ruminal fornecem quantidades adequadas e que a suplementação não é necessária. No entanto, com o aumento na produção de leite essa idéia tem sido bastante questionada.

Em uma excelente revisão, Erdman (1992) sugere que o ácido fólico, o ácido pantotênico e a colina podem ser fatores limitantes para vacas em lactação. Estima-se que o suprimento desses nutrientes para o intestino delgado esteja entre 3 e 30 por cento dos prováveis requerimentos. Esses foram determinados assumindo-se

que a vaca leiteira é uma versão aumentada de uma porca em lactação. Embora a princípio possa parecer que a degradação microbiana dos nutrientes leve a carência nos ruminantes, deve-se considerar a possibilidade de que esses animais tenham-se adaptado às limitações na disponibilidade desses nutrientes. De que outra forma se explica a capacidade de a vaca leiteira moderna se manter e ainda produzir um excesso de 15 vezes a quantidade de leite necessária para o bezerro sem a suplementação desses nutrientes? No entanto, isso não significa que aumento no fornecimento desses nutrientes para o intestino delgado não levaria a aumento na produção de leite. Adicionalmente, quando se determina que quantidade de um nutriente deve ser fornecida para vacas leiteiras, a medida mais importante nem sempre é a produção de leite ou a produção de sólidos no leite. Os efeitos da suplementação sobre a saúde e o desempenho reprodutivo do animal também devem ser considerados. Os efeitos farmacológicos dos nutrientes podem justificar sua inclusão na dieta.

O objetivo desta apresentação é avaliar o potencial papel da niacina e da colina nas dietas de vacas leiteiras de alta produção. A colina foi citada por Erdman (1992) como um nutriente potencialmente limitante para vacas leiteiras. Por outro lado, ele estimou que o suprimento intestinal de niacina é muito maior do que o necessário para a produção de leite. A suplementação das rações de vacas leiteiras com niacina livre, normalmente de 6 a 12 g/dia, tem um efeito pequeno e inconsistente sobre o desempenho da lactação além de um retorno econômico questionável (Schwab et al., 2005). Conseqüentemente, enfocaremos neste trabalho os efeitos farmacológicos da niacina e seu possível papel na modificação do metabolismo lipídico. Os efeitos sobre a reprodução não serão discutidos já que esse é o tema de outro trabalho contido nestes anais.

## COLINA

### *Informações gerais*

A colina é muitas vezes classificada como vitamina ou micronutriente, mas ela não se encaixa na definição clássica. Ela pode ser sintetizada pelo organismo, não é um co-fator enzimático em vias metabólicas e costuma ser suplementada em quantidades muito maiores do que as vitaminas. A colina é um nutriente essencial para muitas espécies de animais como ratos, porcas prenhes, ovinos pré-ruminantes e bezerros. Ela atua como um doador de metila em reações bioquímicas e como um constituinte da fosfatidilcolina (FC). A metionina atua como doadora de metila para a síntese da colina; desse modo, a colina e a metionina podem poupar os requerimentos uma da outra. A participação da biotina, do ácido fólico e da vitamina B12 no metabolismo de compostos com grupamento metila gera potenciais interações entre essas vitaminas e a colina. A fosfatidilcolina pode ser sintetizada a partir da tri-metilação da fosfatidiletanilamina ou diretamente da colina. Como componente dos fosfolípidios, a colina é essencial para a manutenção da estrutura e da permeabilidade da membrana celular e para o transporte de lipídios do fígado, como parte de lipoproteínas de baixa densidade (VLDL). A deficiência de colina leva ao fígado gorduroso em animais de laboratório.

Estima-se que a degradação ruminal da colina seja da ordem de 80-98% (Atkins et al., 1988, Sharma and Erdman, 1989b). A diferença na resposta em produção de leite entre a infusão ruminal e abomasal de colina corrobora os dados *in vitro* e indica a degradação ruminal da colina (Sharma and Erdman, 1989a). O principal destino da colina da dieta é a conversão ruminal a trimetilamina que é então convertida a metano. A produção ruminal de colina é desprezível (Erdman, 1992).

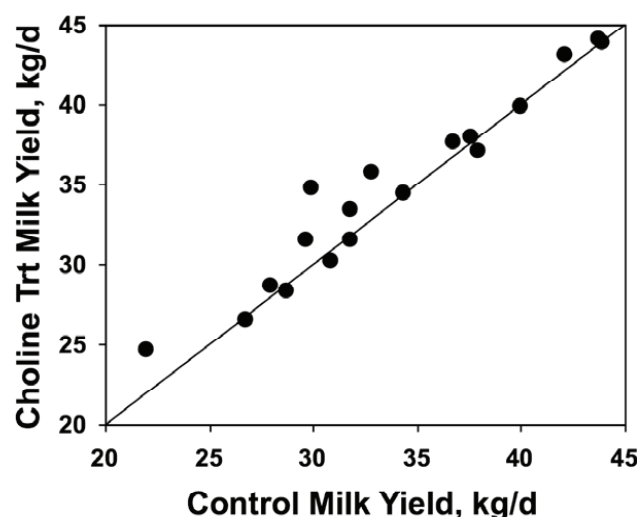
Os suplementos de colina protegida foram desenvolvidos para reduzir a degradação pela microbiota ruminal e aumentar a quantidade de colina que chega ao intestino delgado. Uma baixa taxa de degradação ruminal não garante a biodisponibilidade pós-ruminal. Há poucos trabalhos sobre o grau de degradação ruminal e sobre liberação no intestino delgado, já que a obtenção desses dados é difícil e cara. A maior parte dos trabalhos publicados sobre os produtos de colina protegida não contém tais informações. Sendo assim,

é difícil interpretar a falta de resposta à suplementação dos animais com colina protegida. Se a proteção ruminal ou a liberação duodenal forem inadequadas, a ausência de uma resposta não significa necessariamente que não possa haver uma resposta. A presença de uma resposta indica certo grau de proteção e liberação, no entanto, não é possível determinar em que extensão isso ocorre. Consequentemente, é difícil produzir informações sobre dose-resposta.

### ***Produção de Leite***

Um resumo das respostas da colina sobre o leite e seus componentes é apresentado nas figuras 1-3. Em cada, a média do tratamento controle foi comparada com a média do tratamento com colina. A quantidade de cloreto de colina suplementada na maioria dos estudos foi 15g/dia, embora até 50g/dia tenham sido fornecidas em alguns experimentos de infusões pós-ruminais. Plotamos os dados dessa maneira para tentar avaliar se a resposta estava relacionada ao nível de produção ou aos componentes do leite.

Nos comparativos de 16 tratamentos resumidos na Figura 1, houve um aumento significativo ( $P < 0,05$ ) na produção de leite em 6 deles e uma tendência ( $P < 0,15$ ) para aumento em um. Não houve dependência entre a resposta à colina e a alta produção de leite já que algumas das maiores respostas foram obtidas de vacas de produção intermediária (30-35 kg/dia).

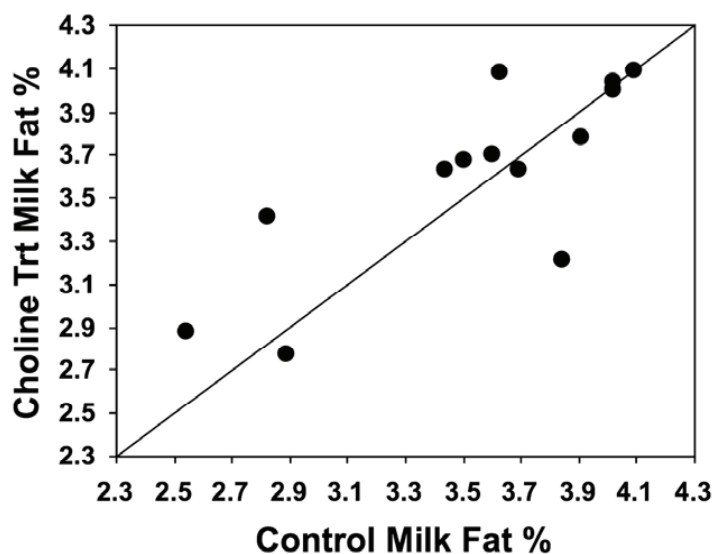


**Figura 1.** Resposta na produção de leite, plotada como tratamento controle vs. tratamento com colina, para vacas suplementadas com colina rúmen-protegida ou que receberam infusão pós-ruminal de colina. Referências: Abeni et al., 2007; Davidson et al., 2006; Emanuele et al., 2007; Erdman and Sharma, 1991; Hartwell et al., 2000; Janovick Guretzky et al., 2006; Lima et al., 2007; Ondarza et al., 2007; Piepenbrink and Overton, 2003; Sharma and Erdman, 1988; Sharma and Erdman, 1989; Thering et al. 2007; Toghdory et al., 2007; Zahra et al., 2006.

Desconhecem-se os motivos para o aumento na produção de leite ou para a variabilidade da resposta sobre a produção de leite, mas eles podem estar relacionados com o status de outros doadores de radicais metila (como a metionina) ou de co-fatores associados com o metabolismo de compostos com grupamentos metila (ácido fólico, vitamina B12). Estima-se que 6% do *pool* de colina de cabras lactantes sejam derivados de metionina e 28% do *pool* de metionina no organismo sejam usados para a síntese de colina (Emmanuel and Kennelly, 1984). A administração de 2-amino-2-metil-1-propanol, um inibidor da síntese de colina a partir da metionina, a vacas lactantes resultou na diminuição na produção de leite e de leite corrigido para gordura durante a infusão pós-ruminal de metionina, mas não durante a infusão pós-ruminal de colina (Sharma and Erdman, 1988). Isso mostrou que a metionina age como doadora de metila para a síntese de colina em

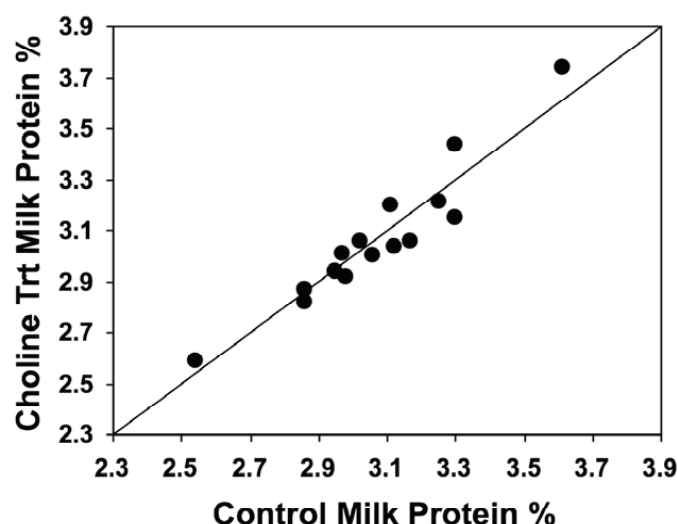
vacas leiteiras. A suplementação dos animais com colina rúmen-protégida aumentou a produção de leite de vacas em final de lactação (Emanuele et al., 2007) ou de vacas multíparas (Davidson et al., 2006) quando comparada à suplementação de metionina rúmen-protégida, sugerindo que a colina tem papel adicional além de poupar a metionina. Experimentos com delineamento fatorial não demonstraram uma interação entre a suplementação de colina rúmen-protégida e a proteína da dieta (13,0 vs. 16,5% PB; Erdman and Sharma, 1991) ou a suplementação com metionina rúmen-protégida (0 vs. 14 g/dia; Thering et al., 2007). São necessários estudos adicionais para estabelecer a relação entre a suplementação de colina e os outros nutrientes envolvidos no metabolismo de radicais metila.

Alguns dos estudos iniciais de Erdman e colaboradores (Erdman et al., 1984) levantaram a hipótese de que a suplementação com colina poderia aumentar a porcentagem de gordura no leite. Eles sugeriram que a “colina auxiliaria o transporte dos ácidos graxos livres mobilizados do tecido adiposo através do fígado até a glândula mamária”. A Figura 2 mostra um resumo das respostas da administração de colina rúmen-protégida ou da infusão pós-ruminal de colina sobre a porcentagem de gordura no leite. Dos 12 estudos incluídos no resumo, a porcentagem de gordura aumentou estatisticamente em 3 deles ( $P < 0,05$ ) e apresentou uma tendência para aumento em 1 ( $P < 0,15$ ). É interessante notar que em três estudos usando vacas recém-paridas nas quais o teste para gordura no leite foi alto ( $> 4,0\%$ ) e onde se esperaria uma mobilização de gordura elevada, não foi observado efeito do tratamento. Isso não confirma a hipótese de Erdman de melhora no transporte hepático de lipídios como sendo o mecanismo de ação para o aumento na gordura no leite.



**Figura 2.** Resposta sobre a gordura no leite, plotada como tratamento controle vs. tratamento com colina, para vacas suplementadas com colina rúmen-protégida ou que receberam infusão pós-ruminal de colina. Referências: Abeni et al., 2007; Davidson et al., 2006; Emanuele et al., 2007; Erdman and Sharma, 1991; Hartwell et al., 2000; Janovick Guretzky et al., 2006; Ondarza et al., 2007; Piepenbrink and Overton, 2003; Sharma and Erdman, 1988; Sharma and Erdman, 1989; Toghdory et al., 2007; Zahra et al., 2006.

A resposta da suplementação com colina sobre a proteína no leite está resumida na Figura 3. A resposta é neutra com apenas 1 estudo indicando a presença de uma tendência para mudança; uma redução ( $P < 0,15$ ). Dada a potencial capacidade de a colina poupar metionina, é surpreendente que não foram observados efeitos positivos com o tratamento. Na grande maioria dos estudos, não foi descrito o status de metionina na dieta.



**Figura 3.** Resposta sobre a proteína no leite, plotada como tratamento controle vs. tratamento com colina, para vacas suplementadas com colina rúmen-protégida ou que receberam infusão pós-ruminal de colina. Referências: Abeni et al., 2007; Davidson et al., 2006; Emanuele et al., 2007; Erdman and Sharma, 1991; Hartwell et al., 2000; Janovick Guretzky et al., 2006; Ondarza et al., 2007; Piepenbrink and Overton, 2003; Sharma and Erdman, 1988; Sharma and Erdman, 1989; Thering et al. 2007; Toghdory et al., 2007; Zahra et al., 2006.

### *Saúde Animal*

Demonstrou-se que a carência de colina em ratos causa aumento na acumulação de triglicerídeos (TG) no fígado. Os triglicerídeos são transportados para fora do fígado como parte do VLDL. Como mencionado anteriormente, a colina pode poupar metionina (também doadora de metila), um aminoácido necessário para a síntese de proteína (um componente do VLDL). A colina também serve como substrato para a síntese de FC, outro componente do VLDL.

O fígado gorduroso é um distúrbio metabólico que pode acometer até 50% das vacas de alta produção durante o período de transição, podendo comprometer a saúde, a produção e a reprodução desses animais. Esse distúrbio ocorre quando a concentração plasmática de ácidos graxos não esterificados (NEFA) aumenta devido à redução no consumo de alimento e à alteração no status endócrino associado ao início do parto e lactação. A concentração de NEFA na qual o TG começa a se acumular no fígado ainda não foi bem estabelecida, mas se sabe que há uma relação direta entre a captação hepática de NEFA e sua concentração no sangue. Pesquisas com amostragem frequente de sangue e fígado em vacas holandesas periparto mostraram acúmulo hepático de TG 1 dia após o parto, precedido por aumento agudo na concentração plasmática de NEFA e depressão no consumo de alimento imediatamente antes ou durante o parto (Vazquez-Añon et al., 1994). Sendo assim, se o fluxo de colina para o intestino de vacas leiteiras é insuficiente durante o período periparto quando o consumo de alimento é baixo e a mobilização de gordura é alta, a síntese de VLDL poderia ser limitada, resultando no fígado gorduroso.

Foi apenas recentemente que os efeitos da colina sobre o TG hepático foram mensurados diretamente. Hartwell et al. (2000) forneceram colina rúmen-protégida para vacas leiteiras em transição, mas não observaram nenhum efeito benéfico sobre a concentração hepática de TG. Entretanto, o grau de proteção ruminal que a colina suplementada no estudo havia recebido foi questionado pelo fabricante do produto (D. Putnam, comunicação pessoal). Mais recentemente, um produto melhorado à base de colina protegida (D. Putnam, comunicação pessoal) foi fornecido a vacas leiteiras em período de transição e foi observada redução sem significância estatística no TG hepático à medida que o nível de suplementação foi aumentado (Piepenbrink

and Overton, 2004). O TG hepático é uma medida altamente variável em vacas leiteiras imediatamente após o parto e esse estudo pode ter sido realizado com número insuficiente de animais, impedindo a observação de diferença estatística significativa entre os tratamentos. Desse modo, tentamos avaliar se a colina tem papel na prevenção ou na atenuação do fígado gorduroso usando modelo experimental que pode ser mais sensível para detectar efeito do tratamento.

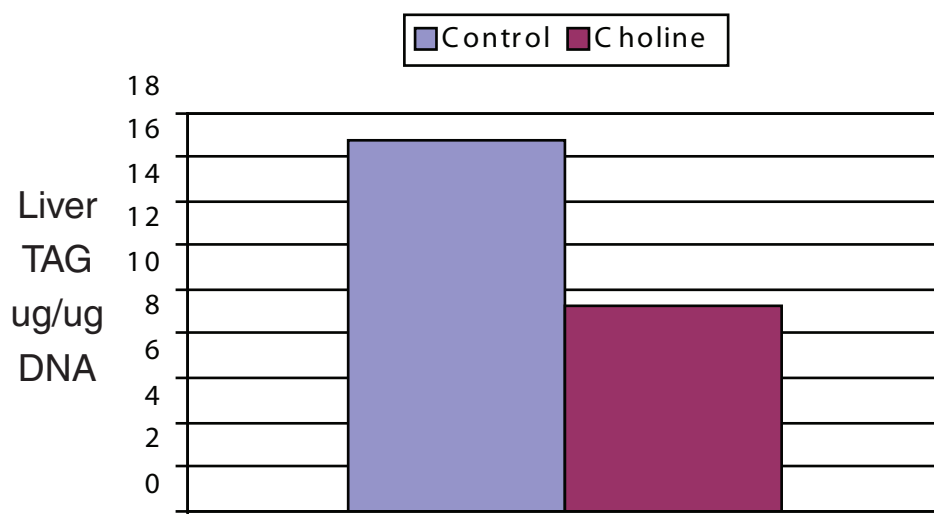
Para esses experimentos, usamos vacas na primeira metade do período seco. No primeiro estudo, os animais foram submetidos por 10 dias a restrição de energia para aproximadamente 30% dos requerimentos de manutenção e gestação. Isso foi feito para simular a depressão no consumo de alimento antes do parto e permitir a mobilização lipídica e o desenvolvimento do fígado gorduroso. Durante a restrição de energia, as vacas receberam dieta não suplementada ou dieta suplementada com colina rúmen-prottegida. Esse protocolo permitiu a avaliação do possível papel da colina na *prevenção* do fígado gorduroso. Para o segundo experimento, as vacas foram submetidas a restrição de energia como no primeiro estudo. Durante esse período, todos os animais foram alimentados com a mesma dieta. Após a restrição energética de 10 dias, as vacas foram alimentadas *ad libitum* por 6 dias, com dieta não suplementada ou com uma dieta suplementada com colina rúmen-prottegida. A depleção hepática de TG foi monitorada durante a fase de alimentação *ad libitum*. Esse protocolo permitiu que se determinasse se a colina tem um papel na *atenuação* do fígado gorduroso (Cooke et al., 2007).

A suplementação de 15g/dia de colina sob a forma rúmen-prottegida foi capaz de prevenir o fígado gorduroso e possivelmente atenuar esse distúrbio. (Cooke et al., 2007). A suplementação durante a restrição energética levou a redução no TG hepático após 10 dias (Figura 4). Como os NEFA plasmáticos também diminuíram com a suplementação de colina (Figura 5), não foi possível determinar se os efeitos benéficos da colina sobre o TG hepático foram decorrentes de um efeito direto sobre o fígado ou indireto devido à redução nos NEFA plasmáticos. Não se sabe como a colina influencia os NEFA plasmáticos. Os resultados do segundo experimento são um pouco mais difíceis de interpretar. Ao final do período de 10 dias de restrição energética, antes da administração dos tratamentos, a concentração de TG hepático era de 6,8 vs. 12,7 ug TAG/ug DNA nas vacas que receberiam a dieta controle (sem a suplementação com colina) e a suplementada com colina, respectivamente. Como os tratamentos ainda não haviam sido administrados, esperar-se-iam valores semelhantes. Na tentativa de ajustar essa discrepância, os valores de TG hepático após 10 dias de restrição de energia e antes do tratamento foram usados como covariantes na análise estatística. O TG hepático ajustado como covariante nos dias 3 e 6 do tratamento e na alimentação *ad libitum* são apresentados na Figura 6. Adicionalmente, os resultados foram expressos como porcentagem de TG hepático após a fase de indução. No dia 3 da alimentação *ad libitum* e do tratamento. A concentração de TG no fígado foi de 60,4 e 52,2 % daquela após a indução para os grupos controle e com suplementação de colina, respectivamente. No dia 6, o TG hepático foi 48,5 e 29,9% do conteúdo inicial, para os grupos controle e suplementado com colina. Os resultados do TG no fígado corroboram os achados do primeiro experimento e sugerem que a carência de colina pode contribuir para o fígado gorduroso.

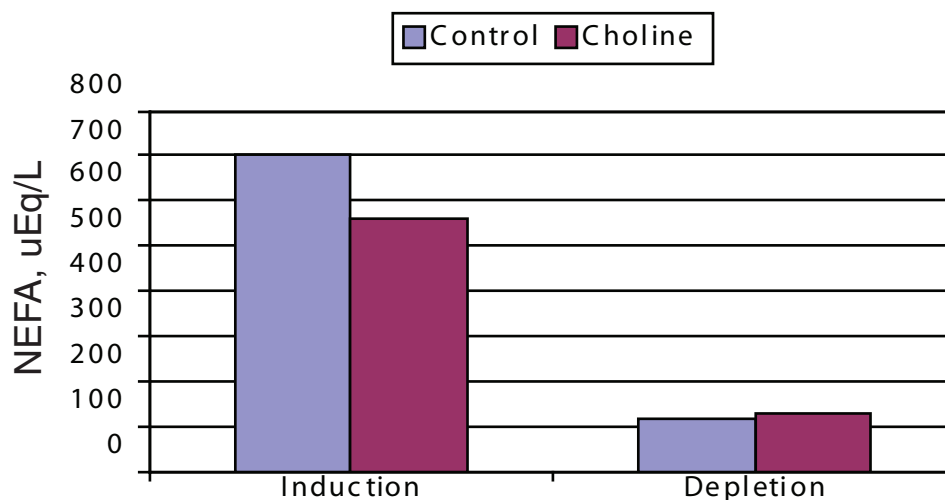
Demonstrar que a colina pode prevenir o fígado gorduroso, usando um modelo como o que usamos é um achado importante, embora não estabeleça se existe um efeito benéfico sobre a saúde dos animais. Para avaliar os efeitos sobre a saúde são necessários estudos usando grande número de animais; esses estudos precisam ser conduzidos necessariamente em grandes granjas comerciais. Lima et al. (2007) conduziram dois experimentos em granjas separadas. Em uma granja, administrou-se 0 ou 15g/dia de colina protegida a 363 vacas de 25 dias antes da data esperada para o parto até 80 dias após o parto. No pós-parto, o consumo de matéria seca tendeu a ser maior (22,6 vs. 23,9 kg/dia;  $P = 0,10$ ) e a produção de leite corrigido para gordura foi superior (44,6 vs. 42,8;  $P < 0,05$ ) para as vacas suplementadas com colina. A suplementação com colina reduziu ( $P < 0,05$ ) a incidência de cetonúria (10,7 vs. 28,8%), de cetose clínica (4,0 vs. 11,3%) e a recidiva de cetose clínica (2,3 vs. 6,85). Na segunda granja, os mesmos tratamentos foram administrados, mas a duração



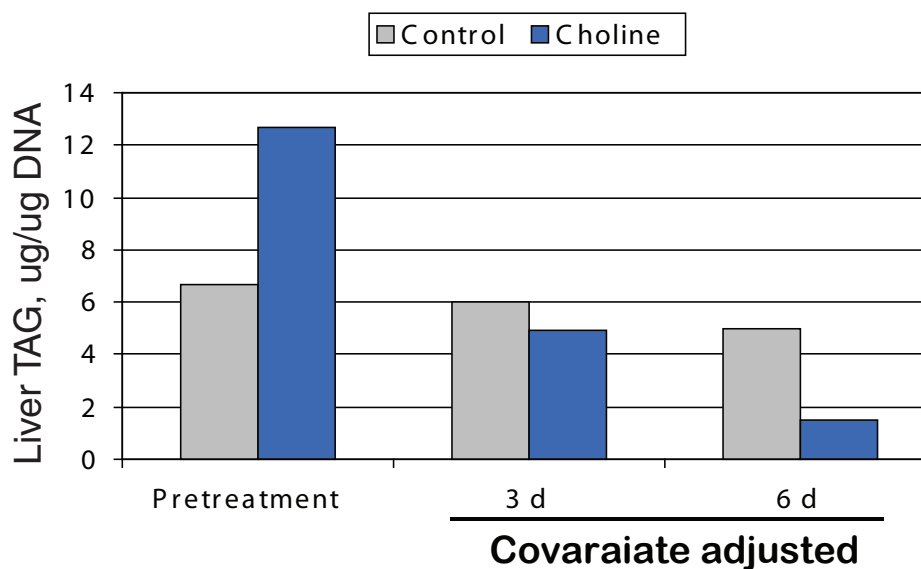
foi de apenas 25 dias antes da data esperada até o parto. O consumo de matéria seca e o leite corrigido para gordura não foram afetados pelo tratamento e a suplementação de colina tendeu a aumentar a produção de leite (27,9 vs. 28,7 kg/dia;  $P = 0,07$ ). Os parâmetros relacionados à cetose não foram influenciados pelo tratamento. Os pesquisadores cogitaram que a ausência de uma resposta na segunda granja pode ser decorrente da falta de suplementação com colina após o parto.



**Figura 4.** Efeito da suplementação com colina sobre o TAG hepático após 10 dias de restrição alimentar em vacas na primeira metade do período seco (Experimento 1; Cooke et al., 2007).



**Figura 5.** NEFA plasmático durante a suplementação com colina. A indução corresponde às mensurações feitas após 10 dias de restrição alimentar em vacas na primeira metade do período seco (Experimento 1). A depleção corresponde às mensurações feitas durante a alimentação *ad libitum* após o período de 10 dias de restrição alimentar (Experimento 2; Não foi feita suplementação com colina durante o período de restrição alimentar; Cooke et al., 2007).



**Figura 6.** TAG hepático após 10 dias de restrição alimentar (antes do tratamento com colina) e após três ou seis dias de alimentação *ad libitum* onde os animais foram divididos em um grupo que recebeu colina e outro que não (Experimento 2). Devido à discrepância no TAG hepático antes do tratamento, os valores pré-tratamento foram usados como covariantes para o ajuste dos dados (Cooke et al., 2007).

## NIACINA

### *Informações Gerais*

A vitamina niacina é uma precursora da coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) que participa de inúmeras reações de óxido-redução tanto em vias anabólicas (NADPH/NADP) quanto catabólicas (NADH/NAD). A niacina pode ser encontrada sob duas formas mais comuns: ácido nicotínico (AN) e nicotinamida (NAM). Ambos compostos possuem características nutricionais semelhantes e podem ser usados na síntese de NAD, embora tenham propriedades biológicas diferentes (Dipalma and Thayer, 1991; Carlson, 2005).

Estudos iniciais da década de 1960 mostraram que o AN possui efeito antilipolítico em humanos. Tanto a administração oral quanto em bolus de AN produziram reduções importantes e agudas nas concentrações plasmáticas de NEFA, seguidas por rebote acima dos níveis basais e retorno à linha basal (Carlson, 2005). Em vacas leiteiras, grandes doses orais de AN causam reduções transitórias na concentração de NEFA seguidas de rebote (160 g, Waterman and Schultz, 1972; Waterman et al., 1972; 12 ou 120 g, Jaster et al., 1983). Doses farmacológicas de AN inibem a lipólise no tecido adiposo de bovinos (Dipalma and Thayer, 1991; Carlson, 2005), mas têm efeitos diretos mínimos sobre o metabolismo de ácidos graxos (Waterman and Schultz, 1973). Acredita-se que o rebote ocorre quando a ação do AN no tecido adiposo cessa, possivelmente devido ao *clearance* do AN do sangue (Waterman and Schultz, 1972).

No entanto, ao contrário do AN, a NAM não tem propriedades antilipolíticas em humanos (Dipalma and Thayer, 1991; Carlson, 2005). Semelhantemente, a administração de 12 g/dia de NAM por via oral para vacas com restrição alimentar não levou à redução nas concentrações plasmáticas de NEFA ou BHBA (Jaster and Ward, 1990), mesmo considerando que a microbiota ruminal é capaz de converter NAM em AN (Harmeyer and Kollenkirchen, 1989; Campbell et al., 1994).



### **Desempenho Produtivo**

A grande maioria das pesquisas sobre niacina e nutrição de vacas leiteiras tem focado em seu papel como vitamina, e raramente nos efeitos lipolíticos de doses farmacológicas de AN. Além disso, pesquisadores da área da indústria leiteira nem sempre especificam a forma de niacina utilizada em seus estudos e raramente levam em consideração os diferentes efeitos metabólicos do AN e da NAM.

Uma meta-análise de 27 estudos de arração envolvendo a suplementação das rações de vacas leiteiras com AN mostrou que não houve melhora no desempenho na lactação quando AN foi fornecido a 6g/dia (Schwab et al., 2005). A suplementação de 12g AN/dia não levou a mudança na produção de leite (0,4 kg;  $P = 0,12$ ) e resultou em modesto aumento na gordura (25,8 g/dia;  $P = 0,01$ ) e proteína (17,4 g/dia;  $P = 0,08$ ) do leite quando comparado aos controles (Schwab et al., 2005). Os autores questionaram o retorno econômico da suplementação de AN livre nas dietas de vacas leiteiras devido à alta variabilidade dos resultados e pequena resposta na produção.

As concentrações plasmáticas de NEFA foram reduzidas em apenas 1 de 11 estudos nos quais vacas periparto foram suplementadas com niacina (6 a 12 g/dia de AN livre ou NAM; NRC, 2001). Assim, uma meta-análise de vários estudos envolvendo a suplementação de AN mostrou que não houve efeitos estatísticos do AN sobre as concentrações plasmáticas de NEFA e BHBA (Schwab et al., 2005). A ausência de efeitos positivos da suplementação com niacina na maioria dos experimentos de arração contrasta com os efeitos positivos do AN em reduzir os níveis de NEFA em humanos, e com a redução aguda nas concentrações plasmáticas de NEFA quando doses suprafisiológicas de AN foram fornecidas para as vacas. Há vários fatores que podem explicar a falta de sucesso na utilização de niacina para reduzir os NEFA:

- a) A forma ativa de niacina modulando o metabolismo do tecido adiposo em humanos é o AN, e não a NAM. Sendo assim, não se esperariam efeitos em bovinos após a suplementação com NAM.
- b) A niacina suplementada é bastante degradada ou transformada no rúmen. Estima-se que apenas 6,7% a 17% do AN suplementado chegue ao duodeno de bovinos (Zinn et al., 1987; Campbell et al., 1994). A absorção de AN através do rúmen é provavelmente desprezível (Harmeyer and Kollenkirchen, 1989; Erickson et al., 1991; Campbell et al., 1994).
- c) A dose de niacina fornecida a vacas leiteiras periparto (como AN ou NAM) costuma variar entre 6 e 12 g/dia (NRC, 2001; Schwab et al., 2005). Esse nível de suplementação provavelmente é insuficiente para provocar redução significativa e continuada nos NEFA, principalmente levando-se em consideração o fluxo limitado de AN suplementado que chega ao intestino (Zinn et al., 1987; Campbell et al., 1994).

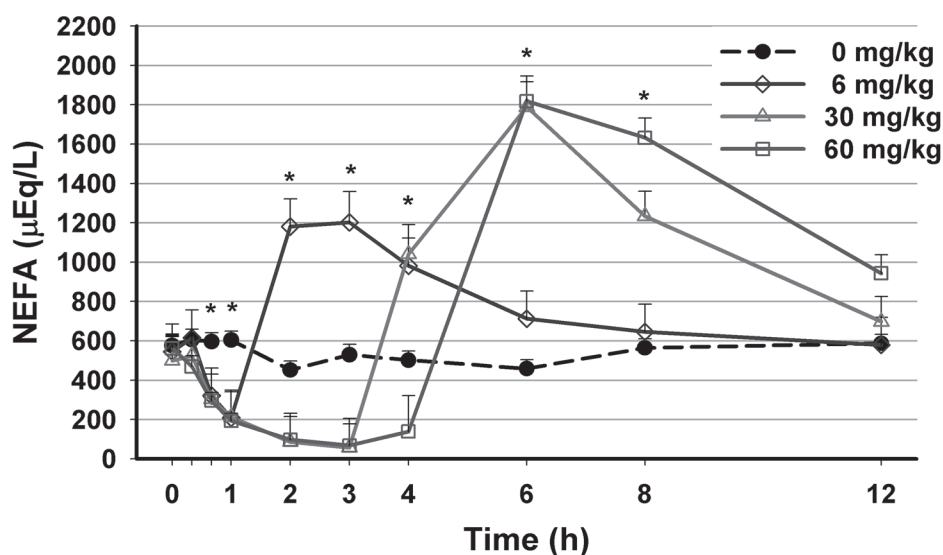
Experimentos recentes envolvendo a suplementação de vacas leiteiras periparto com altas doses de AN disponível no rúmen produziram resultados inconsistentes. Vacas Jersey suplementadas com 48 g/dia de AN livre de 30 dias antes até o parto apresentaram níveis plasmáticos de NEFA mais baixos no parto e redução menor no consumo de matéria seca durante a última semana de gestação (French, 2004). No entanto, esses resultados não foram reproduzidos quando vacas Holandesas e Jersey foram suplementadas com até 98 mg AN/dia por kg PV, de 30 dias antes até 21 dias após o parto (Chamberlain and French, 2006). Suspeitamos que apenas uma pequena fração de AN tenha sido absorvida pois se utilizou uma forma de AN livre. Além disso, o efeito antilipolítico poderia ter sido transitório e os resultados inconsistentes nos NEFA plasmáticos podem ter refletido o momento em que as amostras de sangue foram coletadas em relação ao fornecimento de AN.

### **Pesquisas Atuais**

Levantamos a hipótese de que se fornecido em quantidade suficiente para o intestino, o AN limitaria a lipólise no tecido adiposo e induziria reduções prolongadas na concentração plasmática de NEFA durante os períodos de balanço energético negativo. Essa hipótese foi testada com uma série de experimentos nos quais

foram medidas as respostas dos NEFA plasmáticos a infusões pós-ruminais de AN em vacas holandesas não lactantes e submetidas a restrição alimentar (Pires and Grummer, 2007; Pires et al., 2007).

No experimento 1, estudamos o efeito de uma única administração abomasal de AN sobre os NEFA plasmáticos de vacas com restrição alimentar, usando um delineamento em quadrado latino 4 x 4 (Pires and Grummer, 2007). Os tratamentos foram uma dose de 0, 6, 30 ou 60 mg AN/kg PV, correspondendo a 0, 5, 24 e 49 g de AN, administrados como uma única infusão abomasal cada período. As vacas foram submetidas a restrição alimentar por 48 horas antes da infusão abomasal para estimular a mobilização de ácidos graxos e elevar a concentração plasmática de NEFA. Todas as doses de AN causaram reduções importantes nos NEFA plasmáticos, seguidos por um rebote durante o qual os NEFA aumentaram de maneira transitória em relação aos níveis basais (Figura 7). O padrão de diminuição dos NEFA plasmáticos foi bastante parecido nas primeiras horas para os três tratamentos de AN. Adicionalmente, as duas doses mais altas de AN (30 e 60 mg/kg) causaram um padrão semelhante de concentração de NEFA até 3 horas após cada infusão. Três horas após a infusão abomasal das duas maiores doses de AN, as concentrações de NEFA caíram para menos de 100 uEq/L. O padrão inicial de diminuição nos NEFA plasmáticos sugere que as concentrações de AN no sangue alcançaram inicialmente um limiar que induziu uma máxima inibição de lipólise no tecido adiposo. O rebote nos NEFA plasmáticos seguiu padrão observado em outros modelos animais. A magnitude do rebote dependeu ou da dose de AN ou da duração do período com NEFA mais baixo, pois as duas doses mais altas de AN causaram a diminuição mais prolongada dos NEFA, mas também o maior rebote. Pode-se pensar que doses menores de AN podem potencialmente limitar a duração e a magnitude do rebote dos NEFA.



**Figura 7.** Efeitos da infusão abomasal de doses únicas de ácido nicotínico sobre os NEFA plasmáticos. Efeitos fixos no modelo estatístico: tratamento ( $P = 0,001$ ), tempo e tratamento x interação do tempo ( $P < 0,001$ ). As diferenças entre os tratamentos em um ponto de tempo são indicadas por \* ( $P < 0,001$ ; Pires and Grummer, 2007).

Um segundo experimento foi conduzido para avaliar se infusões abomasais contínuas de AN poderiam induzir reduções prolongadas nas concentrações plasmáticas de NEFA (Pires and Grummer, 2007). Seis vacas holandesas não prenhes e não lactantes foram submetidas a restrição alimentar por 48 horas para aumentar os NEFA no plasma. Às 48 horas da restrição alimentar, os animais receberam de hora em hora, um total de 9 infusões abomasais de 0, 6 ou 10 mg AN/kg PV por hora, correspondendo a 0, 4,9 e 8,3 g AN/hora. Ambos os tratamentos com AN reduziram os NEFA plasmáticos em padrões semelhantes, de 550 para aproximadamente 100 uEq/L. Mais uma vez, um rebote importante foi observado após a descontinuação das infusões de AN a 8 horas (Figura 8).

A repetibilidade desse método para reduzir as concentrações plasmáticas de NEFA foi demonstrada em um terceiro experimento, delineado para estabelecer uma relação de causa-efeito entre NEFA plasmáticos elevados e a resistência à insulina em vacas (Pires et al., 2007). Seis vacas holandesas não lactantes, não prenhes e com fistula ruminal foram distribuídas aleatoriamente a uma seqüência de dois tratamentos em um delineamento cruzado. A mobilização das reservas corporais foi estimulada através de um jejum de forragens de 48 horas antes do início do tratamento. Os tratamentos consistiram de um total de 11 infusões abomasais de água (controle) ou AN (6 mg/hora por kg PV) feitas de hora em hora. O AN foi usado como agente lipolítico para reduzir as concentrações de NEFA plasmáticos. O teste de tolerância à glicose intravenoso (TTGIV; 0,25g/kg PV de glicose i.v.) foi realizado 8 horas após o início dos tratamentos e foi seguido por 3 horas de amostragem de sangue. A redução na concentração plasmática de NEFA ( $P < 0,001$ ) aumentou ( $P < 0,01$ ) o *clearance* de glicose durante o TTGIV (1,9 vs. 1,2 %/min). Isso ocorreu apesar da concentração mais baixa ( $P = 0,05$ ) de insulina (70,0 vs. 97,9 uIU/mL), o que reflete um aumento na resposta à insulina endógena. O *clearance* de glicose durante o TTGIV é uma função da captação de glicose e da inibição, mediada pela insulina, da produção endógena de glicose. A redução nos NEFA plasmáticos pode ter melhorado a utilização da glicose, inibido a produção endógena de glicose, ou ambos, através do aumento na sensibilidade à insulina.

Os dados obtidos a partir desses experimentos sugerem que a resposta antilipolítica máxima foi alcançada com 6 mg AN/kg PV por hora. Os NEFA plasmáticos diminuíram de aproximadamente 550 uEq/L para menos de 100 uEq/L dentro de um período de 2 horas após o início dos tratamentos, que estava abaixo das concentrações plasmáticas de NEFA observadas antes da restrição alimentar (Pires and Grummer, 2007; Pires et al., 2007). A infusão de AN em taxas mais baixas pode promover reduções moderadas nas concentrações plasmáticas de NEFA.

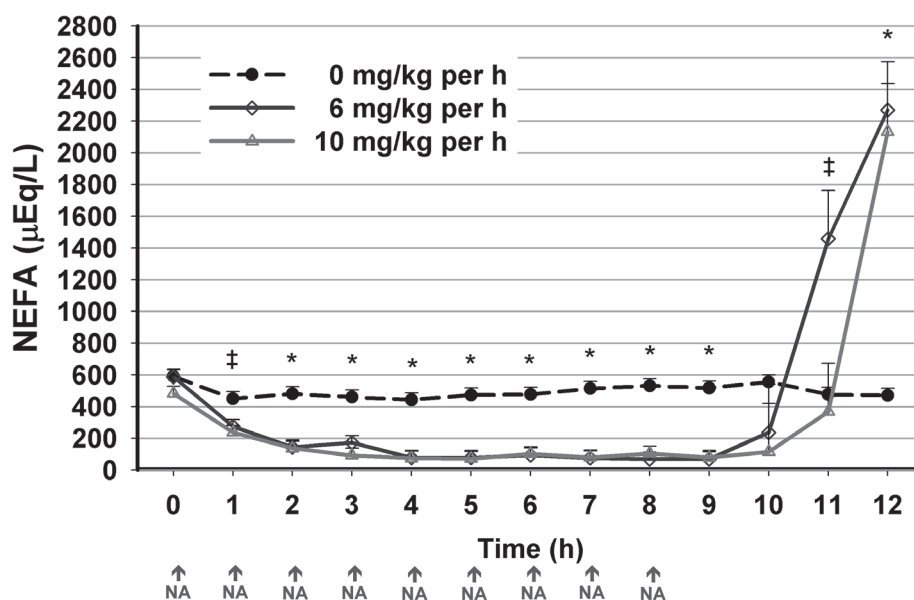


Figura 8. Efeitos de infusões abomasais de ácido nicotínico nas taxas de 0, 6, ou 10 mg/h por kg de PV sobre os NEFA plasmáticos. A infusão dos tratamentos começou após 48 horas de restrição alimentar (tempo 0) e foi repetida a 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, e 8 horas depois. Efeitos fixos no modelo estatístico: tratamento ( $P = 0,06$ ), tempo ( $P < 0,001$ ) e tratamento x tempo ( $P < 0,001$ ). As diferenças entre os tratamentos em um ponto no tempo são indicadas por \* ( $P < 0,001$ ) e ‡ ( $P = 0,05$ ; Pires and Grummer, 2007).

## CONCLUSÕES

A suplementação das dietas de vacas leiteiras com colina protegida melhorou a produção de leite em vacas de produção intermediária (30 - 35 kg/dia). Há poucas evidências confirmando efeitos benéficos sobre a porcentagem de gordura no leite, e a porcentagem de proteína não sofreu alteração em nenhum dos estudos aqui revisados. Além do desempenho produtivo, devem ser considerados os potenciais benefícios da suplementação com colina sobre o metabolismo lipídico. Experimentos controlados sugerem que a suplementação de colina previne o acúmulo de TG no fígado e melhora a depleção de TG, após um protocolo para a indução de infiltração hepática de TG. Estudos de campo envolvendo número grande de animais mostraram aumento no consumo de matéria seca e na produção de leite corrigido para gordura, acompanhados da diminuição na incidência de cetose quando as vacas foram suplementadas com colina rúmen-prottegida tanto durante a fase final do período seco quanto no início da lactação.

Estudos anteriores sobre a suplementação de AN tratavam ou de administrações orais de altas doses de AN, o que não é factível para o arraçãoamento, ou de AN incorporado às rações diárias dos animais (normalmente 6 a 12 g/dia) e deixavam de avaliar a degradação ou transformação do AN pela microbiota ruminal, impossibilitando estimativas precisas da quantidade de AN que chega ao intestino para ser absorvida, e dificultando a interpretação das respostas sobre a produção da suplementação da dieta com AN livre.

Pesquisas recentes mostram que o AN é um agente antilipolítico potente em bovinos com balanço energético negativo devido à restrição alimentar. Mais ainda, dados sugerem que reduções prolongadas nos NEFA plasmáticos podem ser alcançadas se for mantido o fornecimento de AN para absorção pelo intestino. As propriedades antilipolíticas do AN podem vir a ser úteis no manejo nutricional de vacas leiteiras periparto quando uma forma rúmen-prottegida de AN for testada. A redução nas concentrações plasmáticas de NEFA melhoraria o perfil metabólico dos animais em transição e preveniria os distúrbios metabólicos relacionados à energia associados à mobilização excessiva de reservas de gordura, como fígado gorduroso e a cetose. No entanto, primeiramente precisamos identificar a taxa de fornecimento de AN capaz de promover lipólise e concentrações de NEFA moderadas, pois os NEFA originários do tecido adiposo são uma importante fonte de energia e atuam como precursores para a síntese de gordura no leite no início da lactação. Além disso, um fornecimento constante de AN deveria ser mantido para evitar a ocorrência de um rebote de NEFA induzido pelo AN. A taxa de incorporação de AN rúmen-prottegido nas dietas de vacas em transição deverá ser calculada levando-se em consideração a queda normal no consumo de matéria seca observada logo antes do parto.

As pesquisas também mostraram potenciais efeitos sinérgicos entre o AN e a colina sobre o metabolismo lipídico de vacas periparto. As propriedades antilipolíticas do ácido nicotínico poderiam ser usadas para prevenir a lipólise excessiva no tecido adiposo e atenuar o aumento nos NEFA plasmáticos no parto, enquanto a suplementação com colina poderia melhorar o metabolismo de ácidos graxos no fígado, reduzindo desse modo o acúmulo de TG e a ocorrência de cetose.

## REFERÊNCIAS

- Abeni, F., M. Speroni, M. G. Terzano, L. Migliorati, P. Cavassini, and G. Pirlo. 2007. Effects of rumen protected choline on production responses in Italian Friesian dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90(Suppl. 1):354.
- Atkins, K.B., R. A. Erdman, and J. H. Vandersall. 1988. Dietary Choline effects on milk yield and duodenal choline flow in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 71:109-116.
- Brusemeister, F., and K. Sudekum. 2006. Rumen-protected choline for dairy cows: the in situ evaluation of a commercial source and literature evaluation of effects on performance and interactions between methionine and choline metabolism. *Anim. Res.* 55:93-104.

- Campbell, J. M., M. R. Murphy, R. A. Christensen, and T. R. Overton. 1994. Kinetics of niacin supplements in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:566-575.
- Carlson, L. A. 2005. Nicotinic acid: The broad-spectrum lipid drug. A 50th anniversary review. *J. Intern. Med.* 258:94-114.
- Chamberlain, J. L. and P. D. French. 2006. The effects of nicotinic acid supplementation during late gestation on lipolysis and feed intake during the transition period. *J. Dairy Sci.* 89 (Suppl. 1):232.
- Cooke, R. F., N. S. Del Rio, D. Z. Caraviello, S. J. Bertics, M. H. Ramos, and R. R. Grummer. 2007. Supplemental choline for prevention and alleviation of fatty liver in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 90:2413-2418.
- Davidson, S., B. Hopkins, J. Odle, V. Fellner, and L. Whitlow. 2006. Supplementation of diets with limited methionine content with rumen-protected forms of methionine, choline, betaine in early lactation cows. S. Davidson, B. Hopkins, J. Odle, C. Brownie, V. Fellner, and L. Whitlow. *J. Dairy Sci.* 89(Suppl. 1):142.
- Dipalma, J. R. and W. S. Thayer. 1991. Use of niacin as a drug. *Annu. Rev. Nutr.* 11:169-187.
- Emanuele, S., T. Hickley, and R. Carvalho. 2007. Effect of rumen protected choline (Reashure) and rumen protected methionine on milk yield, and composition in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 90(Suppl. 1):352.
- Emmanuel, B. and J. J. Kennelly. 1984. Kinetics of methionine and choline and their incorporation into plasma lipids and milk components in lactating goats. *J. Dairy Sci.* 67:1912-1918.
- Erdman, R. A. 1992. Vitamins. Pages 297-308 in *Large Dairy Herd Management*. H. H. Van Horn and C. J. Wilcox, eds. American Dairy Science Association, Champaign, IL.
- Erdman, R. A., and B. K. Sharma. 1991. Effect of dietary rumen-protected choline in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 74:1641-1647.
- Erickson, P. S., M. R. Murphy, C. S. McSweeney, and A. M. Trusk. 1991. Niacin absorption from the rumen. *J. Dairy Sci.* 74:3492-3495.
- French, P. D. 2004. Nicotinic acid supplemented at a therapeutic level minimizes prepartum feed intake depression in dairy cows. *J. Dairy Sci.* Vol. 87 (Suppl. 1):345 (Abstr.).
- Harmeyer, J. and U. Kollenkirchen. 1989. Thiamin and niacin in ruminant nutrition. *Nutrition research reviews* 2:201-225.
- Hartwell, J. R., M. J. Cecava, and S. S. Donkin. 2000. Impact of dietary rumen undegradable protein and choline on intake, peripartum liver triglyceride, plasma metabolites and milk production in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 83:2907-2917.
- Janovick Guretzky, N. A., D. B. Carlson, J. E. Garret, and J. K Drackley. 2006. Lipid metabolite profiles and milk production for Holstein and Jersey cows fed rumen-protected choline during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 89:188-200.
- Jaster, E. H. and N. E. Ward. 1990. Supplemental nicotinic acid or nicotinamide for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 73:2880-2887.
- Jaster, E. H., D. F. Bell, and T. A. McPherron. 1983. Nicotinic acid and serum metabolite concentrations of lactating dairy cows fed supplemental niacin. *J. Dairy Sci.* 66:1039-1045.
- Lima, F. S., M. F. Sa Filho, L. F. Greco, F. Susca, V. J. A. Magalhaes, J. Garrett, and J. E. P. Santos. 2007. Effects of feeding rumen-protected choline (RPC) on lactation and metabolism. *J. Dairy Sci.* 90(Suppl. 1):174.



- NRC. 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th Revised ed. Natl. Acad. Press, Washington, DC.
- Ondarza, M. B., S. Emanuele, and D. Putnam. 2007. Effect of rumen protected choline (reashure) supplemented to high producing cows on milk production, milk components, and intake. *J. Dairy Sci.* 90(Suppl. 1):353.
- Piepenbrink, M. S., and T. R. Overton. 2003. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *J. Dairy Sci.* 86:1722-1733.
- Pires, J. A. A. and R. R. Grummer. 2007. The use of nicotinic acid to induce sustained low plasma nonesterified fatty acids in feed-restricted Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 90:3725-3732.
- Pires, J. A. A., J. B. Pescara, and R. R. Grummer. 2007. Reduction of plasma NEFA concentration by nicotinic acid enhances the response to insulin in feed-restricted Holstein cows. *J. Dairy Sci.* 90:4635-4642.
- Schwab, E. C., D. Z. Caraviello, and R. D. Shaver. 2005. A meta-analysis of lactation responses to supplemental dietary niacin in dairy cows. *Professional Animal Scientist*:239-247.
- Sharma, B. K., and R. A. Erdman. 1988. Abomasal infusion of choline and methionine with or without 2-amino-2-methyl-1-propanol for lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 71:2406-2411.
- Sharma, B. K., and R. A. Erdman. 1989. Effects of dietary and abomasally infused choline on milk production responses of lactating dairy cows. *J. Nutr.* 119:248-254.
- Thering, B. J., J. M. Ramos-Nieves, J. L. Lukas, D. E. Putnam, and T. R. Overton. 2007. Interrelationships of dietary supplies of choline and methionine on productive performance of Holstein dry cows. *J. Dairy Sci.* 90(Suppl. 1):355.
- Toghdory, A., S. Emanuele, T. Choorchi, and A. Naerian. 2007. Effect of choline and rumen protected choline on milk production, milk composition and blood metabolites of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 90(Suppl. 1):353.
- Vazquez-Añon, M., S. Bertics, M. Luck, R. R. Grummer, and J. Pinheiro. 1994. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 77:1521-1528.
- Waterman, R. and L. H. Schultz. 1972. Nicotinic acid loading of normal cows: Effects on blood metabolites and excretory forms. *J. Dairy Sci.* 55:1511-1513.
- Waterman, R. and L. H. Schultz. 1973. 1 carbon 14-labeled palmitic acid metabolism in fasted, lactating goats following nicotinic acid administration. *J. Dairy Sci.* 56:1569-1574.
- Waterman, R., J. W. Schwalm, and L. H. Schultz. 1972. Nicotinic acid treatment of bovine ketosis. I. Effects on circulatory metabolites and interrelationships. *J. Dairy Sci.* 55:1447-1453.
- Zahra, L. C., T. F. Duffield, K. E. Leslie, T. R. Overton, D. Putnam, and S. J. LeBlanc. 2006. Effects of rumen-protected choline and monensin on milk production and metabolism of periparturient cows. *J. Dairy Sci.* 89:4808-4818.
- Zinn, R. A., F. N. Owens, R. L. Stuart, J. R. Dunbar, and B. B. Norman. 1987. B-vitamin supplementation of diets for feedlot calves. *J. Anim Sci.* 65:267-277.