



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

**FONTES DE ENERGIA ASSOCIADAS A UM HEPATOPROTETOR NA DIETA
DE VACAS EM LACTAÇÃO CONFINADAS**

JESSYCA KAREN PINHEIRO

AREIA

2020

JESSYCA KAREN PINHEIRO

**FONTES DE ENERGIA ASSOCIADAS A UM HEPATOPROTETOR NA DIETA
DE VACAS EM LACTAÇÃO CONFINADAS**

Tese apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Zootecnia.

COMITÊ DE ORIENTAÇÃO:

Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto - UFPB

Profa. Dra. Lara Toledo Henriques - UFPB

Dr. Ricardo Dias Signoretti - APTA

AREIA

2020

**Catálogo na publicação Seção de
Catálogo e Classificação**

P654f Pinheiro, Jessyca Karen.

Fontes de energia associadas a um hepatoprotetor na
dieta de vacas em lactação confinadas / Jessyca Karen
Pinheiro. - Areia, 2020.

71 f.

Orientação: Severino Gonzaga Neto.

Coorientação: Ricardo Dias Signoretti, Lara Toledo
Henriques.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Balanço de nutrientes. 2. Fígado. 3. Parâmetros
sanguíneos. 4. Produção de leite. I. Gonzaga Neto,
Severino. II. Signoretti, Ricardo Dias. III. Henriques,
Lara Toledo. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA**

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

**TÍTULO: “FONTES DE ENERGIA ASSOCIADAS A UM HEPATOPROTETOR
NA DIETA DE VACAS EM LACTAÇÃO CONFINADAS”**

AUTOR: JESSYCA KAREN PINHEIRO

ORIENTADOR: Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Severino Gonzaga Neto
Presidente
Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Profa. Dra. Carla Aparecida Soares Saraiva
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Dr. Marcelo de Oliveira Alves Rufino
Examinador
Universidade Federal da Paraíba/UFPB

Prof. Dr. Leilson Rocha Bezerra
Examinador
Universidade Federal de Campina Grande/UFCG

Prof. Dr. Safira Valença Bispo
Examinador
Universidade Federal do Agreste de Pernambuco/UFAPE

Areia, 27 de março de 2020

“As pessoas podem tirar tudo de você, menos o seu conhecimento.”

Albert Einstein

Aos meus pais, Janson e Risonete

Aos meus irmãos, James (in memorian), Jennyfer e Jôvanna

A minha querida Tia Adênia

DEDICO

Aos meus amados sobrinhos, Theo e Heitor, por serem meus raios de luz!

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me conceder a vida, pela saúde e por todas as oportunidades que me possibilitaram a realização desse sonho.

Aos meus pais (Janson e Risonete), irmãos (James “*in memorian*”, Jennyfer e Jovanna), sobrinhos (Theo e Heitor) e a titia (Adênia), pelo imenso amor, a quem dedico todas as minhas conquistas.

Ao meu esposo Alexson, por todo amor, pela compreensão, por todas as palavras de apoio, por caminhar comigo durante toda a minha trajetória acadêmica, e apoiar todos os meus sonhos e metas.

A vovó Carmosina “*in memorian*”, pelo exemplo de educadora, mulher e grande incentivadora para os estudos.

Ao meu orientador, Prof. Severino Gonzaga Neto, pela orientação, confiança e oportunidades proporcionadas.

A Profa. Lara Toledo Henriques, pelo exemplo de pessoa e profissional, pelo carinho e incentivo, pelos ensinamentos durante quase 10 anos de vida acadêmica e por acreditar em mim quando nem eu acreditava! Sou grata pela oportunidade de lhe ter como professora, orientadora, e hoje, como uma amiga.

Ao Dr. Ricardo Dias Signoretti, pela oportunidade na realização da pesquisa e por todo apoio e dedicação de sempre.

A Profa. Juliana Oliveira, ao Dr. Marcelo Rufino, ao Prof. Airon Melo, ao Prof. Leilson Rocha e a Profa. Safira Valença, pelas contribuições no trabalho.

Ao meu parceiro de experimento, José Maria, pelo importante auxílio na realização do experimento, sem ele não conseguiria realizar a pesquisa. Você foi meu braço direito! Sempre serei grata pela força, pelos bons momentos, pelas risadas, mas sobretudo pelo aprendizado.

Aos funcionários do Setor de Bovinocultura de Leite da APTA em Colina, Marcelo, Marquinho, Edinho, Thays, Seu Milton e Seu João, pela adorável convivência, auxílio na execução do experimento, pelas boas horas de conversa e trabalho.

Aos meus queridos estagiários, Vinícius, Livia, Matheus e Carol, por toda ajuda e pelas hilárias conversas durante o manejo do experimento.

A Dra. Regina Kitagawa, responsável técnica do laboratório da APTA em Colina, pelo auxílio para a realização das análises. Também ao técnico Toga Modesto, pela ajuda nos protocolos de análises laboratoriais e elaboração de reagentes.

A Laylles, Jessica, Bia e mais uma vez ao Toga, pelas conversas regadas de muitas risadas e muito café!

Aos demais funcionários da fazenda da APTA em Colina, destaco o Verde, Seu Cláudio, Luizinho e Toizinho.

Aos amigos que fiz e reencontrei em Colina, destaco Verônica (“Brow”), Danúbia, William, Yohanno, Felipe, Cleyse, Paloma, Naiara, Aline, Luiz, Kyonne, Marcão, Max, Val e Ivanna.

A Aline Pessim pela amizade sincera, pelo carinho, e pelo empréstimo da Mafalda “a moto” durante o período que realizei meu experimento na APTA em Colina.

A Gildênia, Rubia, Fran, Lorinha, Tiago e Ygor, perto ou longe por permanecerem presentes nesta fase tão importante da minha vida profissional.

Aos colegas de pós-graduação do Grupo de Estudos e Ações em Bovinocultura (GEABOV), destaco Raimundo, Tonhá, Jennifer, Pedro Borba e Kika. Aos nossos queridos estagiários do GEABOV, Matheus, Cavalcanti, Gelhiane, Daiane e Lays, vocês foram uma bela surpresa na reta final do meu doutorado!

Ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento da pesquisa.

A Agência Paulista de Tecnologia dos Agronegócios (APTA).

Enfim, a todos que contribuíram para a realização desse sonho!

Muito obrigada!

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Referencial Teórico

Produção de leite em confinamento.....	14
Hepatoprotetor como modulador da função hepática.....	15
Fontes de energia na dieta de vacas em lactação.....	19
Referências	26

Capítulo 2 - Fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre o desempenho e a partição dos nutrientes em vacas lactantes confinadas

Resumo	34
Abstract.....	35
Introdução.....	36
Material e Métodos	37
Resultados.....	42
Discussão	43
Conclusões.....	48
Referências	48

Capítulo 3 - Status metabólico de vacas em lactação em função de fontes de energia na dieta associadas a um hepatoprotetor

Resumo	53
Abstract.....	54
Introdução.....	55
Material e Métodos	56
Resultados.....	60
Discussão	60
Conclusões.....	68
Referências	68

Anexo I

Certificado do comitê de ética no uso de animais	71
--	----

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1 – Referencial Teórico

Tabela 1. Efeitos de fontes de energia na dieta sobre o desempenho de vacas lactantes e metabolismo ruminal	21
Tabela 2. Efeitos de fontes de energia na dieta sobre os parâmetros sanguíneos de ruminantes.....	24

Capítulo 2 - Fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre o desempenho e a partição dos nutrientes em vacas lactantes confinadas

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não fibrosos (CNF) da silagem de milho e dos ingredientes do concentrado	38
Tabela 2. Proporção dos ingredientes e teores de nutrientes das dietas	38
Tabela 3. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor	42
Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor	44
Tabela 5. Peso, escore de condição corporal (ECC) e balanço de energia de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor	46
Tabela 6. Balanço de nitrogênio de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor	47

Capítulo 3 - Status metabólico de vacas em lactação em função de fontes de energia na dieta associadas a um hepatoprotetor

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não fibrosos (CNF) da silagem de milho e dos ingredientes do concentrado	57
Tabela 2. Proporção dos ingredientes e teores de nutrientes das dietas	57
Tabela 3. Concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, beta-hidroxibutirato e ácidos graxos não esterificados de vacas em lactação sob efeito de fontes de energia em associação a um hepatoprotetor na dieta	61

Tabela 4. Concentrações séricas de colesterol total, HDL, VLDL e LDL de vacas em lactação sob efeito de fontes de energia em associação a um hepatoprotetor na dieta.....63

Tabela 5. Concentrações séricas de ureia, proteínas totais, albumina, globulina e razão albumina : globulina de vacas em lactação sob efeito de fontes de energia em associação a um hepatoprotetor na dieta.....65

LISTA DE GRÁFICOS

Capítulo 3 - Status metabólico de vacas em lactação em função de fontes de energia na dieta associadas a um hepatoprotetor

Gráfico 1. Interação entre a fonte de energia na dieta e o tempo de coleta para a variável β -hidroxibutirato.....	62
Gráfico 2. Interação entre hepatoprotetor e o tempo de coleta para a variável colesterol – LDL.....	66

RESUMO

Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre o desempenho e o metabolismo de vacas em lactação confinadas. Foram realizados dois estudos, os quais utilizaram 16 vacas mestiças Holandês x Gir no terço médio da lactação, com peso corporal médio de 553 ± 85 kg, distribuídas em delineamento experimental quadrado latino 4x4 quádruplo em arranjo fatorial 2x2. Os tratamentos consistiram de dieta com ou sem a inclusão do hepatoprotetor comercial, e variação de milho moído ou polpa cítrica como fontes de energia. No primeiro estudo, o qual avaliou o desempenho e a partição de nutrientes em vacas lactantes observou-se que: o consumo de matéria seca, a produção de leite, o leite corrigido para 4% de gordura foram maiores ($P=0,001$) nas dietas com milho moído como fonte de energia. O teor de gordura do leite foi maior ($P=0,049$) nas dietas com a polpa cítrica. Houve redução ($P<0,05$) no teor de proteína bruta no leite das vacas que receberam o hepatoprotetor na dieta. O hepatoprotetor favoreceu maior ($P=0,038$) balanço de nitrogênio nas vacas. No segundo estudo, o qual avaliou o status metabólico de vacas em lactação constatou-se que: o milho moído como fonte de energia proporcionou maiores ($P<0,05$) concentrações séricas de glicose, colesterol-HDL e globulinas. Enquanto, o β -hidroxibutirato (BHB), ácidos graxos não esterificados (AGNE), colesterol total, albumina e aspartato aminotransferase (AST) apresentaram as maiores concentrações ($P<0,05$) nas dietas com a polpa cítrica. Houve interação ($P=0,004$) entre o tempo e a inclusão do hepatoprotetor na concentração plasmática de colesterol-LDL. No entanto, ambos os estudos não verificaram interação entre as fontes de energia e o hepatoprotetor para as variáveis de desempenho, partição de nutrientes e status metabólico. O milho como fonte de energia na dieta impulsionou a produção de leite e a síntese precursores glicogênicos. Enquanto, a polpa cítrica alterou a status lipídico e a composição do leite por meio do incremento do teor de gordura. O hepatoprotetor afetou o teor de proteína no leite, melhorou o balanço de nitrogênio e contribuiu para incremento pós-prandial das concentrações séricas do colesterol-LDL em vacas lactantes confinadas.

Palavras-chave: Balanço de nutrientes. Fígado. Parâmetros sanguíneos. Produção de leite.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effects of energy sources associated with a hepatoprotector on the performance and metabolism of confined lactating cows. Two studies were carried out, which used 16 crossbred Holstein x Gir cows in the middle third of lactation, with an average body weight of 553 ± 85 kg, distributed in a quadratic quadruple 4x4 experimental design in a 2x2 factorial arrangement. The treatments consisted of a diet with or without the inclusion of the commercial hepatoprotector, and variation of ground corn or citrus pulp as energy sources. In the first study, which evaluated the performance and nutrient partitioning of lactating cows, it was observed that: dry matter consumption, milk production, 4% fat-corrected milk were higher ($P=0,001$) in corn diets ground as a source of energy. The fat content of milk was higher ($P=0,049$) in diets with citrus pulp. There was a reduction ($P<0,05$) in the crude protein content in the milk of cows that received the hepatoprotector in the diet. The hepatoprotector favored a higher ($P=0,038$) nitrogen balance in cows. In the second study, which evaluated the metabolic status of lactating cows, it was found that: ground corn as an energy source provided higher ($P<0,05$) serum concentrations of glucose, HDL-cholesterol and globulins. Whereas, β -hydroxybutyrate (BHB), non-esterified fatty acids (AGNE), total cholesterol, albumin and aspartate aminotransferase (AST) presented the highest concentrations ($P<0,05$) in diets with citrus pulp. There was an interaction ($P=0,004$) between time and the inclusion of the hepatoprotector in the plasma LDL-cholesterol concentration. However, both studies did not find an interaction between energy sources and the hepatoprotector for the variables of performance, nutrient partition and metabolic status. Corn as a source of energy in the diet boosted milk production and the synthesis of glycogenic precursors. Meanwhile, the citrus pulp changed the lipid status and the composition of the milk by increasing the fat content. The hepatoprotector affected the protein content in milk, improved the nitrogen balance and contributed to postprandial increase in serum LDL-cholesterol concentrations in confined lactating cows.

Key words: Balance of nutrients. Blood parameters. Liver. Milk production.

CAPÍTULO 1

Referencial Teórico

Fontes de energia associadas a um hepatoprotetor na dieta de vacas em lactação confinadas

Referencial Teórico

Produção de leite em confinamento

O crescimento da população ao longo dos anos, tem impulsionado a expansão do mercado de lácteos para atender a demanda por leite e seus derivados. Devido a isso, tem crescido o interesse pela utilização de sistemas em confinamento para bovinos leiteiros, com o intuito de intensificar a produção de leite (ARNOTT; FERRIS & O'CONNELL, 2017).

A utilização de vacas em regime de confinamento permite a exploração de animais com alto potencial genético para produção de leite. Acrescido a isso, o fato de serem mantidos em ambientes restritos, viabiliza o fornecimento de dietas com elevada proporção de concentrado, assim como forragem conservada. Tais circunstâncias favorecem o incremento do desempenho produtivo, bem como altos rendimentos por área, que contribuem para intensificação dos sistemas de produção.

Além disso, os sistemas em confinamento podem ser adotados quando existe disponibilidade limitada de terras para pastagens, estacionalidade na produção de forragem para suportar altas produções e condições climáticas adversas (MOTA et al. 2017).

Nesse sentido, a incorporação de sistemas em confinamento para o gado de leite possibilita o aumento no potencial de produção de leite por área, a expansão do tamanho dos rebanhos, a adoção de sistemas de ordenha automática, o controle da ambiência, a detecção de cio, a otimização na produção de forragem e o fornecimento de dietas balanceadas (MEUL et al. 2012). Essas atribuições conferem a produção intensiva a possibilidade de alcançar a máxima eficiência produtiva dos rebanhos.

No entanto, as condições impostas pela intensificação dos sistemas de produção perturbam o equilíbrio orgânico dos animais, deixando-os propensos ao surgimento de distúrbios. Mastites, afecções de cascos e doenças reprodutivas são problemas que comumente afetam a saúde das vacas, mas que podem se agravar em sistemas intensivos.

Além do mais, a elevada atividade metabólica do fígado em virtude da demanda para produção de leite, bem como do excesso de nutrientes metabolizáveis na dieta de animais confinados, podem comprometer a função hepática da vaca. Visto que, a incapacidade do fígado em lidar com a sobrecarga metabólica pode implicar em distúrbios (XU et al. 2017), que na maioria das vezes, ocorrem de forma assintomática.

Com o intuito de reparar os problemas que acometem os rebanhos leiteiros, os antimicrobianos tem sido utilizados de maneira indiscriminada, favorecendo a expansão da resistência microbiana (SHARMA et al. 2018). Devido a isso, o setor pecuário tem sido instigado a utilizar a homeopatia como uma alternativa aos antibióticos (FIXSEN, 2018), tanto para manter a saúde dos animais, como para maximizar o desempenho produtivo.

Na homeopatia, os extratos de plantas com propriedades hepatoprotetoras tem sido usados para o tratamento do fígado. Isto tem despertado o interesse do setor leiteiro, visto que vacas em lactação são amplamente acometidas por problemas hepáticos (DONKIN, 2012). A exaustão do tecido hepático ao longo da vida produtiva da vaca pode afetar a produção de leite, ocasionando perdas econômicas consideráveis.

Logo, tendo em vista os desafios metabólicos de vacas em lactação confinadas, torna-se oportuno a adoção de estratégias de manejo, como o uso de hepatoprotetores na dieta, que contribuam para a modulação das funções do fígado para promover o desempenho de vacas lactantes.

Hepatoprotetor como modulador da função hepática

Os hepatoprotetores são substâncias que possuem o fígado como alvo fisiológico (OKAIYETO et al. 2018). Seus princípios ativos atuam na regulação do metabolismo hepático por meio de uma variedade de mecanismos, incluindo ação antioxidante, antimicrobiana, anti-inflamatória, colerético e antifibrótica (GIRISH & PRADHAN, 2017). Esses mecanismos de ação conferem as substâncias, a propriedade hepatoprotetora.

O fígado de vacas em lactação desempenha um papel central no suprimento de nutrientes para apoiar a biossíntese do leite. Esse órgão é responsável por receber e modificar os nutrientes absorvidos no trato gastrointestinal, incluindo o rúmen, para torná-los disponíveis para a utilização nos processos metabólicos. Por esse motivo, está envolvido na síntese e catabolismo de glicose, lipídios e proteínas, no metabolismo de minerais e vitaminas, na cetogênese, na função imune, na desintoxicação de amônia, na reciclagem de hormônios, dentro outros processos (DONKIN, 2012).

Dado a importância do fígado para vacas lactantes, a dinamização de extratos de plantas podem ser utilizados como promotor de crescimento, com o intuito de regular as funções dos hepatócitos. Além disto, possuem a vantagem de apresentar facilidade na administração das substâncias, baixo custo, não agravar o quadro do distúrbio, ausência

de resíduos nos produtos de origem animal e no ambiente (GEMELLI & PEREIRA, 2018).

Assim, alguns extratos de plantas com diferentes princípios ativos tem sido explorados, como potenciais agentes hepatoprotetores (e. g. *Cardus marianus*, *Chelidonium majus*, *China officinalis*, *Chionantus virginica*, *Myrica cerifera*). Esses extratos exibem uma diversidade de mecanismos de ação sobre o metabolismo dos hepatócitos.

Cardus marianus

O extrato vegetal da *Cardus marianus* possui a silimarina como o principal componente químico, a qual é composta por uma mistura de compostos secundários da classe dos polifenóis (flavonoides e lignanos) (ABENAVOLI et al. 2018). Esse composto bioativo possui inúmeras atividades biológicas, como efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e de regeneração celular, que estão relacionados às suas propriedades hepatoprotetoras (CHAMBERS et al. 2017).

De modo geral, os mecanismos de ação antioxidante da silimarina consistem na prevenção da formação de radicais livres, eliminação de espécies reativas através da doação de elétrons e ativação de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SURAI, 2015). Esses efeitos minimizam a superprodução de radicais livres, os quais tem sido apontados como o mecanismo básico envolvido na etiologia de diversas doenças.

Além disso, a fração polifenólica da *Cardus marianus* possui atividade lipoperoxidativa, capaz de modificar o metabolismo lipídico e o perfil de lipoproteínas no plasma. Seus efeitos contrariam o acúmulo de lipídios no fígado, através da redução na síntese de triglicerídeos, o aumento nas lipoproteínas de alta densidade (HDL) e a proteção contra a oxidação de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (ŠKOTTOVÁ & KREČMAN, 1998; ŠKOTTOVÁ et al. 1999).

Ainda assim, a silimarina contribui para a regeneração do tecido hepático por meio do estímulo a síntese de proteínas nos hepatócitos (RADKO & CYBULSKI, 2007; VARGAS-MENDOZA et al. 2014), e apresenta ação anti-inflamatória, reduzindo a resposta inflamatória ocasionada, principalmente, pela inibição da liberação de citocinas (ABENAVOLI et al. 2018).

Chelidonium majus

A *Chelidonium majus* também conhecida como quelidônia maior, possui uma variedade de metabólitos secundários e atividades biológicas. Essa planta contém mais de 20 alcaloides diferentes (GILCA et al. 2010), que apresentam ação antioxidante (THEN et al. 2003; NADOVA et al. 2008), anti-inflamatória, antimicrobiana e colerética (COLOMBO & BOSISIO, 1996).

Embora os alcaloides presentes no extrato desempenhem múltiplas atividades biológicas, é possível através do uso de partes da planta alcançar uma especificidade de propriedades terapêuticas. De modo que, a sanguinarina e a queleritrina são os principais compostos bioativos obtidos das raízes da *Chelidonium majus* (JYOTI, 2013). Esses alcaloides isolados, podem atuar como agentes hepatoprotetores devido sua ação antimicrobiana e anti-inflamatória (KOSINA et al. 2004). Além disso, tem sido utilizados nas dietas dos animais como aditivo alimentar para promover o crescimento, devido sua capacidade de regular o metabolismo dos aminoácidos (DRSATA et al. 1996).

A sanguinarina tem sido amplamente utilizada nas dietas de animais de produção, devido a sua capacidade de maximizar o desempenho. Esse composto bioativo afeta a atividade da enzima descarboxilase, inibindo o processo de descarboxilação dos aminoácidos (DRSATA et al. 1996). Logo, ocorre maior retenção de compostos nitrogenados nos tecidos, em razão da redução da degradação dos aminoácidos (AGUILAR-HERNADEZ et al. 2016).

Além disso, o extrato da *Chelidonium majus* pode ainda, desempenhar funções como: ação antioxidante, atuando no estímulo da atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido desmutase (MAZZANTI et al. 2009); ação anti-inflamatória, inibindo o mecanismo de ação do fator nuclear kappa B (CHATURVEDI et al. 1997); e ação antimicrobiana, desencadeando mecanismos de seleção de microrganismos (NEWTON et al. 2002; CUSHNIE et al. 2014).

China officinalis

O extrato da *China officinalis* é comumente constituído pela casca da árvore, a qual é a principal parte da planta utilizada com fins terapêuticos. A casca da quina, como popularmente é denominada, possui mais de 20 alcaloides distintos, incluindo o quinino (ACHAN et al. 2011). Esse composto é o principal alcaloide de *China officinalis* utilizado no tratamento do fígado, mas também é bastante utilizado como antiparasitário

na doença malária. Acrescido a isso, estudos tem relevado suas potencialidades como agente antioxidante, anti-inflamatório e antimicrobiano (GURUNG & DE, 2017).

A atividade antioxidante tem sido associada a capacidade dos alcaloides da quinquina de eliminar radicais livres superóxido e o óxido nítrico, bem como inibir a peroxidação lipídica (RAVISHANKARA & PADH, 2003). Enquanto, a propriedade anti-inflamatória atua inibindo a função dos lisossomos, a liberação de citocinas e a ativação das células T (FOX, 1993). E por fim, a ação antimicrobiana ocorre pela inibição do crescimento de bactérias (KUSHWAH et al. 2016).

Chionanthus virginica

A casca da raiz da *Chionanthus virginica* é a principal estrutura vegetal usada no extrato da planta com fins terapêuticos. Conhecida popularmente por Jasmim-da-virgínia, é uma pequena árvore ou arbusto comumente utilizada em preparações homeopáticas, a qual pode atuar como agente antioxidante e anti-inflamatório (PENMAN; BONE & LEHMANN, 2008).

O extrato da *Chionanthus virginica* contém dois grupos de compostos fenólicos, as lignanas e as secoiridoides, que apresentam nessa ordem, a fililina e a oleuropeína como as principais substâncias ativas relatadas em estudos por suas funções fitoterápicas (BOYER et al. 2011). Contudo, a principal atividade biológica apresentada tanto pela fililina, quanto pela oleuropeína, é a ação antioxidante.

O potencial antioxidante do extrato da Jasmim-da-virgínia baseia-se na capacidade dos seus compostos fenólicos de neutralizar a atividade dos radicais livres, bem como inibir as reações de peroxidação lipídica. Esse controle da superprodução de espécies reativas se dá através da eliminação de radicais, como os aniônicos superóxido, estímulo da atividade redutora pela transformação dos íons ferro ($\text{Fe}^{3+} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$), supressão do peróxido de hidrogênio e de quelantes de metais ferrosos (GÜLÇIN et al. 2007; GÜLÇIN et al. 2009).

Myrica cerifera

O extrato vegetal da *Myrica cerifera* comumente conhecida como bayberry ou murta de cera, é uma pequena árvore ou arbusto utilizada como fitoterápico para o tratamento de diversas doenças. Essa planta possui três principais classes de metabólitos secundários: os diarilheptanóides, os flavonoides e os triterpenos (ZHANG et al. 2016).

A *Myrica cerifera* possui o potencial antioxidante como principal atividade biológica dos seus metabólitos secundários. Esse efeito antioxidante é exibido, principalmente, pela miricitrina, um composto polifenólico da classe dos flavonoides presente na casca da raiz. Assim, o potencial da miricitrina em reduzir o estresse oxidativo está relacionada a sua capacidade de inibir a produção e eliminar os radicais livres (SILVA et al. 2015).

A ação antioxidante da miricitrina tem sido atribuída a sua capacidade de prevenir a peroxidação lipídica hepática, através da redução nos níveis séricos de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e alterações histopatológicas no fígado; aumento do nível de glutathione (GSH) e de citocromo CPY450 (DOMITROVIĆ et al. 2015); inibição da produção de óxido nítrico e bloqueio da ativação das vias da proteína cinase C (PKC) (MEOTTI et al. 2005).

Além disso, a miricitrina pode também desempenhar atividade anti-inflamatória, suprimindo a inflamação por meio da diminuição da expressão de citocinas no fígado. Ainda, pode inibir a expressão de proteínas (TGF- β 1, α -SMA) que provocam a fibrose hepática e aumentam a regeneração do tecido hepático (DOMITROVIĆ et al. 2015).

De modo geral, os extratos vegetais com propriedades hepatoprotetoras supracitados, possuem a capacidade de manipular o status oxidativo, o metabolismo lipídico, a resposta inflamatória e a regeneração celular nos hepatócitos. Baseado nisso, é possível que a utilização de hepatoprotetores na dieta de vacas possa influenciar o perfil pós-absortivo dos nutrientes, devido as mudanças que podem ocorrer no metabolismo energético. Assim, presume-se que, fontes de energia precursoras de nutrientes glicogênicos e lipogênicos possam sofrer interações pós-absortivas quando associadas com substâncias hepatoprotetoras na dieta.

Fontes de energia na dieta de vacas em lactação

As dietas de vacas em lactação confinadas apresentam uma grande proporção de grãos, devido ao alto potencial para produção de leite. No entanto, o aumento nos preços dos grãos e a dependência por culturas que competem com a alimentação humana, tem impulsionado a utilização de diferentes fontes de energia, que não apenas o milho, nas formulações de dietas para vacas (DANN et al. 2015).

Os carboidratos são a principal fonte de energia nas dietas de bovinos leiteiros, representando de 65 a 75% da dieta, dos quais 30 a 45% consistem em carboidratos não fibrosos (CNF). A composição química dos carboidratos determina o substrato energético

fornecido aos microrganismos para a produção dos ácidos graxos voláteis, a principal fonte de energia para os ruminantes (HALL et al. 2010).

Sendo assim, as fontes de CNF predominantes utilizadas como base energética em dietas de vacas são: os grãos de milho, rico em amido, e a polpa cítrica, constituída por pectina e fibra solúvel. Ambos os ingredientes possuem características químicas capazes de alterar o padrão de fermentação ruminal, influenciando o perfil de fornecimento de nutrientes metabolizáveis ao animal. Logo, as diferenças nos produtos de fermentação tem o potencial de modificar o metabolismo e a resposta produtiva de vacas em lactação.

Milho

O milho é o principal ingrediente energético utilizado nas formulações de dietas para vacas em lactação. Devido ao alto teor de energia proporcionado pelo amido, os grãos de milho são capazes de manter a densidade energética das dietas para suportar a exigência da lactação, contribuindo para a melhoria da resposta produtiva dos animais.

O amido é o principal CNF presente no endosperma dos grãos de milho, o qual é composto por dois polímeros de glicose, a amilose e a amilopectina, que possuem ligações do tipo α (1 $\rightarrow$ 4) e α (1 $\rightarrow$ 6) (ALLEN & PIANTONI, 2014). Esse tipo de ligação glicosídica possibilita a degradação do amido tanto por enzimas microbianas, quanto por enzimas digestivas de mamíferos.

No rúmen, os microrganismos hidrolisam as ligações glicosídicas do amido, liberando monômeros de glicose, que são incorporados as rotas de fermentação para produção de energia. Esse carboidrato impulsiona a síntese de proteína microbiana, como resultado do seu sincronismo com os nutrientes da dieta (GÓMEZ et al. 2016). Assim, o crescimento microbiano ocasionado por dietas ricas em amido, incrementa o suprimento de proteína metabolizável para o ruminante. Além disto, estimula a degradação dos nutrientes no rúmen, que aumenta a taxa de passagem da dieta, ampliando o consumo de matéria seca.

Alguns estudos (HALL et al. 2010; CARMO et al. 2014; LEITE et al. 2017; STEYN et al. 2017; Tabela 1) verificaram incremento na ingestão de alimento em vacas lactantes, como reflexo do uso de fontes de amido na dieta.

Tabela 1. Efeitos de fontes de energia na dieta sobre o desempenho de vacas lactantes e metabolismo ruminal

Referências e tratamentos	Acetato ----- mmol/ L -----	Propionato	Butirato -----	CMS ----- kg/d -----	PL -----	GOR ----- % -----	PTN -----
<i>Leiva et al. 2000</i>							
Polpa cítrica	78,9	24,0	13,5	20,9	27,9	3,45	3,13
Milho	71,2	22,9	11,9	21,4	31,8*	3,27*	3,08*
<i>Ariza et al. 2001</i>							
Polpa cítrica	68,9	16,7	11,4	---	---	---	---
Milho	62,6*	22,7*	11,0	---	---	---	---
<i>Salvador et al. 2008</i>							
Milho+polpa cítrica	---	---	---	---	28,4	3,65	3,22
Polpa cítrica	---	---	---	---	27,5*	3,64	3,17*
<i>Hall et al. 2010</i>							
Milho moído	67	21	9,5	25,0	40,0	3,36	2,78
Polpa cítrica	67	20	10,5*	23,7*	38,3*	3,54	2,66*
<i>Carmo et al. 2014</i>							
15% amido	---	---	---	20,0	27,9	3,41	2,97
20% amido	---	---	---	21,4	29,2	3,41	3,02
25% amido	---	---	---	22,5	31,1	3,44	3,06
30% amido	---	---	---	22,9*	29,6*	3,60	3,08*
<i>Gôveia et al 2016</i>							
0% polpa cítrica	53,4	27,9	12,1	---	---	---	---
25% polpa cítrica	53,5	26,1	14,9	---	---	---	---
50% polpa cítrica	53,0	27,4	14,6	---	---	---	---
75% polpa cítrica	54,1	25,5	15,1	---	---	---	---
100% polpa cítrica	53,6	24,3	15,8*	---	---	---	---
<i>Oltramari et al. 2016</i>							
0% polpa cítrica	63,2	26,4	6,58	---	---	---	---
32% polpa cítrica	60,0	25,2	10,4	---	---	---	---
64% polpa cítrica	64,7	21,6	9,62*	---	---	---	---
<i>Lashkari et al. 2017</i>							
0% polpa cítrica	52,2	31,2	18,4	---	---	---	---
33% polpa cítrica	60,6	25,4	20,4	---	---	---	---
67% polpa cítrica	63,4	25,5	18,0	---	---	---	---
100% polpa cítrica	62,1*	26,9*	19,3	---	---	---	---
<i>Leite et al. 2017</i>							
Polpa cítrica	---	---	---	15,6	25,9	2,87	3,51
Milho moído	---	---	---	17,0*	23,9	2,90	3,34
<i>Leiva et al. (2017)</i>							
Grãos de milho	---	---	---	---	22,7	4,25	3,54
Polpa cítrica	---	---	---	---	21,3	4,37	3,14
<i>Steyn et al. 2017</i>							
0%, polpa cítrica	62,4	19,7	15,2	---	21,1	4,41	3,49
33% polpa cítrica	---	---	---	---	19,0	4,49	3,58
67% polpa cítrica	---	---	---	---	18,9	4,45	3,56
100% polpa cítrica	62,8	19,9	14,8	---	17,9*	4,56	3,44*

CMS: consumo de matéria seca; PL: produção de leite; GOR: gordura; PTN: proteína; * Efeito significativo.

Além disso, a degradação microbiana do amido tende a produzir uma maior proporção de propionato no rúmen. Esse ácido graxo volátil (AGV) é absorvido pelo epitélio ruminal, e transportado para o fígado através da corrente sanguínea. Porém, o amido que escapa da degradação ruminal alcança o intestino delgado, onde sofre digestão enzimática liberando glicose (FERRARETO et al. 2017). Muito embora em ruminantes, a digestão e absorção intestinal do amido pouco contribua com o aporte de glicose.

No fígado dos ruminantes, o esqueleto de carbono do propionato é utilizado, principalmente, como precursor de glicose na gliconeogênese. Além disso, a fermentação do amido pode favorecer a produção ruminal de lactato, o qual também pode ser usado como precursor para biossíntese de glicose. Assim, dietas ricas em amido favorecem a produção de nutrientes glicogênicos, aumentando o fluxo de glicose para os tecidos extra-hepáticos.

Hall et al. (2010) avaliando fontes de carboidratos na dieta sobre os parâmetros sanguíneos de vacas em lactação, constaram ampliação da concentração sérica de glicose nas dietas com a fonte de carboidrato rica em amido (Tabela 2).

A glicose sanguínea que atinge a glândula mamária de vacas em lactação pode ser utilizada tanto como fonte de energia, quanto como precursor da lactose. Esse componente é o principal carboidrato que constitui o leite, e sua síntese estimula um efeito osmótico capaz de carrear água para as células mamárias. Assim, a disponibilidade de glicose na glândula mamária para a biossíntese da lactose, é determinante para o volume de produção de leite (FERRARETO et al. 2017).

Dessa forma, o amido proveniente dos grãos de milho impulsiona a produção de leite em razão do aumento no consumo de nutrientes, bem como do estímulo a produção de precursores glicogênicos para a síntese da lactose. Além do mais, o crescimento microbiano proporcionado pelo amido favorece maior suprimento de proteína metabolizável, que contribui para a síntese de proteína do leite. Contudo, a menor ingestão de fibra em dietas ricas em amido podem afetar o rendimento de gordura no leite, devido a depressão na síntese de ácidos graxos na glândula mamária (JENKINS & MCGUIRE, 2006).

Respostas positivas sobre a produção de leite e o rendimento de proteína são alcançadas utilizando dietas com o milho como fonte de energia. Em contraste, o aumento no teor de amido na dieta favorece a redução na concentração de gordura no leite (LEIVA et al. 2000; SALVADOR et al. 2008; HALL et al. 2010; CARMO et al. 2014; STEYN et al. 2017; Tabela 1).

Em vacas lactantes, os nutrientes glicogênicos são fundamentais para o metabolismo intermediário durante a fase de lactação (NICHOLS et al. 2019). Logo, dietas que promovem maior aporte de glicose, contribuem para que a glândula mamária poupe os aminoácidos de serem usados como precursores glicogênicos, aumentando a eficiência de utilização de nitrogênio (LEIVA et al. 2000).

Devido a isso, é possível que a inclusão de hepatoprotetores em dietas precursoras de nutrientes glicogênicos possam maximizar o desempenho de vacas lactantes. Visto que, a maior disponibilidade de energia fornecida pela glicose, bem como pelos compostos nitrogenados em dietas ricas em amido, podem contribuir para ampliação na regeneração dos hepatócitos, estimulada pela silimarina (YORMAZ et al. 2012), e maior deposição de tecidos, impulsionado pela sanguinarina (DRSATA et al. 1996).

Considerando que, o desempenho de vacas lactantes depende do particionamento dos nutrientes assimilados, que são coordenados pelo fígado. Presume-se que, a associação de substâncias hepatoprotetoras em dietas glicogênicas possa otimizar a função hepática, permitindo maior partição de nutrientes para os processos metabólicos, lactação e deposição de tecidos.

Polpa cítrica

A indústria citrícola produz grandes quantidades de resíduos de citros, os quais são utilizados na alimentação de ruminantes na forma de subprodutos. A polpa cítrica é o principal subproduto da fabricação de sucos de laranja, e em menor escala o limão. Obtido após a prensagem dos frutos para extração do suco, o resíduo recebe um tratamento com hidróxido de cálcio para auxiliar na desidratação. Finalmente, a polpa cítrica sofre o processo de peletização, que é a principal forma de utilização na dieta de bovinos (TEIXEIRA et al. 2009).

A polpa cítrica é rica em pectina, um polissacarídeo constituído de cadeias de ácido galacturônico, galactose e arabinose. Em virtude da sua estrutura química, a pectina sofre apenas hidrólise microbiana, não sendo digerida por enzimas secretadas por mamíferos. Acrescido a isso, a polpa cítrica possui altos teores de fibra solúvel e minerais, isso deve-se ao processamento e o conteúdo de cascas, sementes e bagaço do subproduto (BAMPIDIS & ROBINSON, 2006). Contudo, a composição da polpa cítrica pode variar em função do fruto, do tipo de processamento e dos componentes do resíduo.

Além do mais, em razão das suas características químicas, a polpa cítrica peletizada pode proporcionar menor ingestão de alimento em vacas lactantes (HALL et al.

2010; Tabela 1). Acredita-se que, tanto a taxa de degradação, quanto o enchimento ruminal promovido pela hidratação da polpa cítrica no rúmen, podem explicar os efeitos relacionados ao consumo de alimento (SANTOS et al. 2014)

Contudo, a degradação microbiana da polpa cítrica estimula maior produção de acetato no rúmen, em comparação ao milho. O acetato é absorvido pelo epitélio ruminal e transportado pela corrente sanguínea para os tecidos extra-hepáticos (tecido adiposo, músculos, glândula mamária), onde é convertido a acetil-CoA. Esse composto intermediário é o principal precursor lipogênico da biossíntese de ácidos graxos e colesterol em ruminantes (URRUTIA & HARVATINE, 2017).

Tabela 2. Efeitos de fontes de energia na dieta sobre os parâmetros sanguíneos de ruminantes

Referências/ Tratamentos	Glicose ----- mg/dL -----	NUP -----	AGNE ----- mmol/L -----	Colesterol -----
<i>Hall et al. 2010</i>				
Milho moído	66,1	15,1	---	---
Polpa cítrica	64,7*	13,8*	---	---
<i>Carmo et al. 2014</i>				
15% amido	49,7	15,2	---	---
20% amido	49,2	15,6	---	---
25% amido	49,9	16,1	---	---
30% amido	50,3	15,3	---	---
<i>Lashkari et al. 2017</i>				
0% polpa de laranja	61,2	13,4	---	64,7
33% polpa de laranja	62,5	11,4	---	66,9
67% polpa de laranja	63,4	12,4	---	68,1
100% polpa de laranja	62,2	12,8*	---	69,9
<i>Leiva et al. 2017</i>				
Grãos de milho	54,4	---	0,177	---
Polpa cítrica	53,5	---	0,215*	---

NUP: nitrogênio ureico do plasma; AGNE: ácidos graxos não esterificados; * Efeito significativo.

Em geral, os nutrientes metabolizáveis gerados a partir da pectina e fibra solúvel, são lipogênicos. Por esse motivo, dietas com polpa cítrica como fonte de energia podem favorecer o incremento nas concentrações séricas de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e colesterol (LASHKARI et al. 2017; LEIVA et al. 2017; Tabela 2). Além disso, a polpa cítrica pode também estimular a produção de butirato (HALL et al. 2010; GÔVEIA et al 2016; OLTRAMARI et al. 2016; Tabela 1), o qual é convertido a β -hidroxibutirato (BHB) no epitélio ruminal, impulsionando as concentrações séricas de BHB. Esse corpo cetônico é o mais abundante em ruminantes, e pode ser utilizado como

fonte de energia pelo cérebro, coração, músculo esquelético, rins e glândula mamária (ZARRIN et al. 2017).

Na glândula mamária, os ácidos graxos utilizados para sintetizar os triglicerídeos, principal componente da gordura do leite, são provenientes tanto dos lipídios do sangue, como da síntese *de novo* nas células epiteliais (NAYERI & STOTHARD, 2016). O acetato, o BHB e a glicose são os precursores usados para a síntese dos ácidos graxos e glicerol da gordura do leite em ruminantes. Contudo, aproximadamente 40-60% dos ácidos graxos que compõe o leite possuem origem sanguínea, provenientes das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), as principais transportadoras de triglicerídeos no sangue. Essas lipoproteínas são sintetizadas no intestino ou no fígado, e por esse motivo, sua composição varia com a dieta (NORO, 2001).

Sendo assim, dietas com polpa cítrica como fonte de energia pelo fato de favorecerem a produção de nutrientes lipogênicos e cetogênicos, incrementam a disponibilidade de precursores para a síntese de gordura no leite de vacas (LEIVA et al. 2000; Tabela 1). Contudo, em função do menor estímulo a produção de nutrientes glicogênicos, dietas ricas em pectina e fibra solúvel contribuem para a redução da produção de leite. Acrescido a isso, ocorre a diminuição do rendimento da proteína no leite, devido os aminoácidos glicogênicos serem direcionados para gliconeogênese para apoiar a síntese de lactose na glândula mamária (LEIVA et al. 2000; HALL et al. 2010; CARMO et al. 2014; STEYN et al. 2017; Tabela 1).

Assim, a fonte de energia proveniente da polpa cítrica é capaz de alterar o status lipídico de vacas, uma vez que a sua associação com hepatoprotetores na dieta podem favorecer a otimização da partição de precursores lipídicos para os processos produtivos. Visto que, as substâncias hepatoprotetoras possuem princípios ativos que são capazes de manipular o status oxidativo (RAVISHANKARA & PADH, 2003; GÜLÇİN et al. 2009; MAZZANTI et al. 2009; SURAI, 2015; DOMITROVIC et al. 2015), o metabolismo lipídico e o perfil de lipoproteínas no plasma (ŠKOTTOVÁ & KREČMAN, 1998; ŠKOTTOVÁ et al. 1999).

Considerações gerais

Os hepatoprotetores podem ser utilizados como promotores de crescimento na dieta de vacas em lactação, atuando na prevenção e no reparo de desordens hepáticas, bem como na modulação do metabolismo do fígado. Assim, o uso dessas substâncias na produção animal pode contribuir para a maximização do desempenho produtivo.

Contudo, pelo fato de afetar o metabolismo energético, os hepatoprotetores podem sofrer interações pós-absortivas com diferentes fontes de nutrientes metabolizáveis da dieta. Estudos devem considerar a utilização de hepatoprotetores com o intuito de modular a função hepática, bem como verificar possíveis interações com fontes de energia na dieta.

Referências

- ABENAVOLI, L. et al. Milk thistle (*Silybum marianum*): A concise overview on its chemistry, pharmacological, and nutraceutical uses in liver diseases. **Phytotherapy research**, v. 32, n. 11, 2202-2213, 2018.
- ACHAN, J.; TALISUNA, A. O.; ERHART, A. et al. Quinine, an old anti-malarial drug in a modern world: role in the treatment of malaria. **Malaria journal**, v. 10, n. 1, p. 144, 2011.
- AGUILAR-HERNÁNDEZ, J. A. et al. Evaluation of isoquinoline alkaloid supplementation levels on ruminal fermentation, characteristics of digestion, and microbial protein synthesis in steers fed a high-energy diet. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 1, p. 267-274, 2016.
- ALLEN, M. S.; PIANTONI, P. Carbohydrate nutrition: Managing energy intake and partitioning through lactation. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 577-597, 2014.
- ARNOTT, G.; FERRIS, C. P.; O'CONNELL, N. E. welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. **Animal**, v. 11, n. 2, p. 261-273, 2017.
- ARIZA, P. et al. Effects of carbohydrates from citrus pulp and hominy feed on microbial fermentation in continuous culture. **Journal of Animal Science**, v. 79, n. 10, p. 2713-2718, 2001.
- BAUMGARD, L. H.; COLLIER, Robert J.; BAUMAN, D. E. A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 12, p. 10353-10366, 2017.
- BOYER, L; BAGHDIKIAN, B.; BUN, S. S. et al. Chionanthus Virginicus L.: Phytochemical Analysis and Quality Control of Herbal Drug and Herbal

Preparations. **Natural product communications**, v. 6, n. 6, p. 1934578X1100600603, 2011.

CARMO, C. A. et al. Starch levels on performance, milk composition and energy balance of lactating dairy cows. **Tropical Animal Health and Production**, v. 47, n. 1, p. 179-184, 2015.

CHAMBERS, C. S. et al. The silymarin composition... and why does it matter???. **Food research international**, v. 100, p. 339-353, 2017.

CHATURVEDI, M. M. et al. Sanguinarine (pseudochelerythrine) is a potent inhibitor of NF- κ B activation, I κ B α phosphorylation, and degradation. **Journal of Biological Chemistry**, 272, 48, p. 30129-30134, 1997.

COLOMBO, M. L.; BOSISIO, E. Pharmacological activities of Chelidonium majus L. (papaveraceae). **Pharmacological research**, v. 33, n. 2, p. 127-134, 1996.

CUSHNIE, T. T.; CUSHNIE, B.; LAMB, A. J. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. **International Journal of Antimicrobial Agents**, n. 44, v. 5, p. 377-386, 2014.

DANN, H. M. et al. Effects of corn-based reduced-starch diets using alternative carbohydrate sources on performance of lactating Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 6, p. 4041-4054, 2015.

DRSATA, J.; ULRICHOVÁ, J.; WALTEROVÁ, D. Sanguinarine and chelerythrine as inhibitors of aromatic amino acid decarboxylase. **Journal of enzyme inhibition**, v. 10, n. 4, p. 231-237, 1996.

DONKIN, S. S. The role of liver metabolism during transition on postpartum health and performance. In: **2012 Florida Ruminant Nutrition Symposium Proceedings. 23rd Meeting**. 2012. p. 97-106.

DOMITROVIĆ, R.; RASHED, K., CVIJANOVIĆ, O. et al. Myricitrin exhibits antioxidant, anti-inflammatory and antifibrotic activity in carbon tetrachloride-intoxicated mice. **Chemico-Biological Interactions**, v. 230, p. 21-29, 2015.

FERRARETTO, L. F. **Impact of Starch Content and Digestibility in Dairy Cattle Diets**. In: 28th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium, 770, p. 112-123, 2017.

FIXSEN, A. Homeopathy in the age of antimicrobial resistance: Is it a viable treatment for upper respiratory tract infections?. **Homeopathy**, v. 107, n. 02, p. 099-114, 2018.

FOX, R. I.; KANG, H. I. Mechanism of action of antimalarial drugs: inhibition of antigen processing and presentation. **Lupus**, v. 2, n. 1_suppl, p. 9-12, 1993.

GEMELLI, J. L.; PEREIRA, A. S. C. Principles and uses of homeopathy in beef cattle. A review. **Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanitary**, v. 12, n. 3, p. 327-341, 2018.

GILCA, M.; GAMAN, L.; PANAIT, E. et al. *Chelidonium majus* – an integrative review: traditional knowledge versus modern findings. **Complementary Medicine Research**, v. 17, n. 5, p. 241-248, 2010.

GIRISH, C.; PRADHAN, S. C. Herbal drugs on the liver. In: **Liver Pathophysiology**. Academic Press, 2017. p. 605-620.

GÓMEZ, L. M.; POSADA, S. L.; OLIVERA, M. Starch in ruminant diets: a review. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, v. 29, n. 2, p. 77-90, 2016.

GOUVÊA, V. N. et al. Flint corn grain processing and citrus pulp level in finishing diets for feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, v. 94, n. 2, p. 665-677, 2016.

GÜLÇİN, Ý. et al. A comparative study on the antioxidant activity of fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) extracts. **African Journal of Biotechnology**, v. 6, n. 4, 2007.

GÜLÇİN, İ. et al. Antioxidant secoiridoids from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.). **Wood science and technology**, v.43, n. 3-4, p. 195, 2009.

GURUNG, P.; DE, P. Spectrum of biological properties of Cinchona alkaloids: A brief review. **J Pharmacogn Phytochem**, v. 6, n. 4, p. 162-166, 2017.

HALL, M. B.; et al. Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. **Journal of Dairy Science**, v. 93, n. 1, p. 311-322, 2010.

JENKINS, T. C.; MCGUIRE, M. A. Major advances in nutrition: impact on milk composition. **Journal of Dairy Science**, v. 89, n. 4, p. 1302-1310, 2006.

JYOTI, B. S. *Chelidonium majus* L. - a review on pharmacological activities and clinical effects. **Global Journal of Research on Medicinal Plants & Indigenous Medicine**, v. 2, n. 4, p. 238, 2013.

- KOSINA, P. et al. Sanguinarine and chelerythrine: assessment of safety on pigs in ninety days feeding experiment. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, n. 1, p. 85-91, 2004.
- KUSHWAH, P.; DAS, P.; BADORE, N. S. et al. Evaluation of antimicrobial activity of Cinchona calisaya bark on Staphylococcus by agar well diffusion method. **Pharmaceutical and Biological Evaluations**, n. 3, p. 272-274, 2016.
- LASHKARI, S. et al. Growth performance, nutrient digestibility and blood parameters of fattening lambs fed diet replacing corn with orange pulp. **Spanish Journal of Agricultural Research**, v. 15, n. 1, p. 21, 2017.
- LEITE, L. A. et al. Performance of lactating dairy cows fed sunflower or corn silages and concentrate based on citrus pulp or ground corn. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 1, p. 56-64, 2017.
- LEIVA, E.; HALL, M. B.; VAN HORN, H. H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, v. 83, n. 12, p. 2866-2875, 2000.
- MAZZANTI, G. et al. Chelidonium majus is not hepatotoxic in Wistar rats, in a 4 weeks feeding experiment. **Journal of ethnopharmacology**, v. 126, n. 3, p. 518-524, 2009.
- MEOTTI, F. C. et al. Analysis of the antinociceptive effect of the flavonoid myricitrin: evidence for a role of the L-arginine-nitric oxide and protein kinase C pathways. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 316, n. 2, p. 789-796, 2006.
- MEUL, M. et al. Higher sustainability performance of intensive grazing versus zero-grazing dairy systems. **Agronomy for Sustainable Development**, n. 32, v. 3, p. 629-638, 2012.
- MOTA, V. C. et al. Confinamento para bovinos leiteiros: Histórico e características. **Pubvet**, v. 11, p. 424-537, 2017.
- NADOVA, S.; MIADOKOVA, E.; ALFOLDIOVA, L. et al. Potential antioxidant activity, cytotoxic and apoptosis-inducing effects of *Chelidonium majus* L. extract on leukemia cells. **Neuroendocrinology Letters**, v. 29, n. 5, p. 649, 2008.
- NAYERI, S. & STOTHARD, P. Tissues, metabolic pathways and genes of key importance in lactating dairy cattle. **Springer Science Reviews**, v. 4, n. 2, 49-77, 2016.

NEWTON, S. M. et al. The evaluation of forty-three plant species for in vitro antimycobacterial activities; isolation of active constituents from *Psoralea corylifolia* and *Sanguinaria canadensis*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 79, n. 1, p. 57-67, 2002.

NICHOLS, K. et al. Energy and nitrogen partitioning in dairy cows at low or high metabolizable protein levels is affected differently by postrumen glucogenic and lipogenic substrates. **Journal of Dairy Science**, v. 102, n. 1, p. 395-412, 2019.

NORO, G. **Síntese e secreção do leite**. Seminário apresentado a disciplina Bioquímica do Tecido Animal. UFRGS. Porto Alegre-RS. 21p, 2001.

OKAIYETO, K. et al. A review on some medicinal plants with hepatoprotective effects. **Pharmacognosy Reviews**, v. 12, p. 186, 2018.

OLTRAMARI, C. E. et al. Performance and metabolism of dairy calves fed starter feed containing citrus pulp as a replacement for corn. **Animal Production Science**, v. 58, n. 3, p. 561-567, 2018.

PENMAN, K. G.; BONE, K. M.; LEHMANN, R. P. Fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.) stem bark offers a sustainable alternative to root bark. **Australian Journal of Medical Herbalism**, v. 20, n. 3, p. 107, 2008.

RADKO, L.; CYBULSKI, W. Application of silymarin in human and animal medicine. **Journal of Pre-Clinical and Clinical Research**, v. 1, n. 1, 2007.

RAVISHANKARA, M. N. & PADH, H. Antioxidant activity of *Cinchona officinalis* stem bark extracts. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, v. 3, n. 4, p. 205-211, 2003.

SANTOS, G. T. et al. Citrus pulp as a dietary source of antioxidants for lactating Holstein cows fed highly polyunsaturated fatty acid diets. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, v. 27, n. 8, p. 1104, 2014.

SALVADOR, C. S. et al. Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos II: Desempenho e economia. **Arq. bras. med. vet. zootec**, v. 60, p. 1142-1149, 2008.

SHARMA, C. et al. Antimicrobial resistance: its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. **Frontiers in Veterinary Science**, n. 4, p. 237, 2018.

SILVA, J. R. M.; BITENCOURT, L. L.; OLIVEIRA, B. M. L. et al. Supplementation of dairy cows with homeopathy: milk somatic cells, cortisol and immunity. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n. 63, v. 4, p. 805-813, 2011.

STEYN, L.; MEESKE, R.; CRUYWAGEN, C. W. Replacing maize grain with dried citrus pulp in a concentrate feed for Jersey cows grazing ryegrass pasture. **South African Journal of Animal Science**, v. 47, n. 4, p. 553-564, 2017.

ŠKOTTOVÁ, N.; KREČMAN, V. Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. **Physiol Res**, v. 47, n. 1, p. 1-7, 1998.

ŠKOTTOVÁ, N.; KREČMAN, V.; ŠIMÁNEK, V. Activities of silymarin and its flavonolignans upon low density lipoprotein oxidizability in vitro. **Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives**, v. 13, n. 6, p. 535-537, 1999.

SURAI, P. Silymarin as a natural antioxidant: an overview of the current evidence and perspectives. **Antioxidants**, v. 4, n. 1, p. 204-247, 2015.

TEIXEIRA, A. M. et al. **Polpa cítrica na alimentação de bovinos de leite**. In: GONÇALVES, L. C.; BORGES, I.; FERREIRA, P. D. S. Alimentos para gado de leite. 1 ed. Belo Horizonte: FEPMVZ, 2009. 568 p.

THEN, M. Examination on antioxidant activity in the greater celandine (*Chelidonium majus* L.) extracts by FRAP method. **Acta Biologica Szegediensis**, v. 47, n. 1-4, p. 115-117, 2003.

URRUTIA, N. L.; HARVATINE, K. J. Acetate dose-dependently stimulates milk fat synthesis in lactating dairy cows. **The Journal of Nutrition**, v. 147, n. 5, p. 763-769, 2017.

VARGAS-MENDOZA, N. et al. Hepatoprotective effect of silymarin. **World journal of hepatology**, v. 6, n. 3, p.144, 2014.

XU, T. et al. Grain challenge affects systemic and hepatic molecular biomarkers of inflammation, stress, and metabolic responses to a greater extent in Holstein than Jersey cows. **Journal of Dairy Science**, n. 100, p. 9153-9162, 2017.

ZHANG, J. et al. Biological activities of triterpenoids and phenolic compounds from *Myrica cerifera* bark. **Chemistry & biodiversity**, n. 13, v. 11, p. 1601-1609, 2016.

ZARRIN, M. et al. Elevation of blood β -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 3, p. 2323-2333, 2017.

YORMAZ, S. et al. The comparison of the effects of hepatic regeneration after partial hepatectomy, silybum marinaum, propofol, N-acetylcysteine and vitamin E on liver. **Bratislavske lekarske listy**, v. 113, n. 3, p. 145-151, 2012.

CAPÍTULO 2

**Fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre o desempenho
e a partição dos nutrientes em vacas lactantes confinadas**

Fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre o desempenho e a partição dos nutrientes em vacas lactantes confinadas

RESUMO: Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre a produção, composição do leite e a partição dos nutrientes em vacas lactantes confinadas. Foram utilizadas 16 vacas mestiças Holandês x Gir no terço médio da lactação, com peso corporal médio de 553 ± 85 kg, distribuídas em delineamento experimental quadrado latino 4x4 quádruplo em arranjo fatorial 2x2. Os tratamentos consistiram de dieta com ou sem a inclusão do hepatoprotetor comercial, e variação de milho moído ou polpa cítrica como fontes de energia. Não houve interação ($P>0,05$) entre as fontes de energia e o hepatoprotetor para as variáveis de desempenho e balanço de nutrientes. O consumo de matéria seca, a produção de leite, o leite corrigido para 4% de gordura foram maiores ($P=0,001$) nas dietas com milho moído como fonte de energia. O teor de gordura do leite foi maior ($P=0,049$) nas dietas com a polpa cítrica. Houve redução ($P<0,05$) no teor de proteína bruta e caseína no leite das vacas que receberam o hepatoprotetor na dieta. O hepatoprotetor favoreceu maior ($P=0,038$) balanço de nitrogênio nas vacas. Portanto, o milho moído pode ser utilizado na dieta como fonte de energia para impulsionar a produção de leite. Enquanto, a fonte de energia proveniente da polpa cítrica afeta a composição do leite, através do incremento no teor de gordura. O uso de hepatoprotetores na dieta afetou a fração proteica do leite e favoreceu maior balanço de nitrogênio em vacas lactantes confinadas.

Palavras-chave: balanço de nutrientes, fígado, produção de leite

Hepatoprotective associated energy sources on nutrient performance and partition in confined lactating cows

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the effects of energy sources associated with a hepatoprotector on milk production, composition and nutrient partitioning in confined lactating cows. Sixteen Holstein x Gir crossbred cows were used in the middle third of lactation, with an average body weight of 553 ± 85 kg, distributed in a quadruple 4x4 Latin square design in a 2x2 factorial arrangement. The treatments consisted of a diet with or without the inclusion of the commercial hepatoprotector, and variation of ground corn or citrus pulp as energy sources. There was no interaction ($P > 0,05$) between the energy sources and the hepatoprotector for the performance and nutrient balance variables. The consumption of dry matter, milk production, milk adjusted to 4% fat were higher ($P = 0,001$) in diets with ground corn as an energy source. The fat content of milk was higher ($P = 0,049$) in diets with citrus pulp. There was a reduction ($P < 0,05$) in the crude protein and casein content in the milk of cows that received the hepatoprotective in the diet. The hepatoprotector favored a higher ($P = 0,038$) nitrogen balance in cows. Therefore, ground corn can be used in the diet as an energy source to boost milk production. Meanwhile, the source of energy from the citrus pulp affects the composition of the milk, through an increase in the fat content. The use of hepatoprotective in the diet favored a higher nitrogen balance in confined lactating cows.

Key words: balance of nutrients, liver, milk production

Introdução

A demanda metabólica para a síntese de leite, bem como a elevada proporção de nutrientes metabolizáveis em dietas de vacas confinadas, podem favorecer o surgimento de problemas relacionados à função hepática (XU et al. 2017). Essa incapacidade do fígado em lidar tais mudanças metabólicas, pode ao longo da vida produtiva da vaca afetar a sua saúde com reflexos na produção de leite (WANKHADE et al. 2017).

À vista disso, os hepatoprotetores podem ser utilizados na dieta de vacas lactantes como potenciais promotores de crescimento, auxiliando na otimização do metabolismo hepático, enquanto previne e repara distúrbios. Esses compostos atuam protegendo o fígado através da modulação do metabolismo, o qual é capaz de melhorar o suprimento de nutrientes para apoiar a síntese de leite na glândula mamária.

Existem extratos de plantas que, devido a suas propriedades hepatoprotetoras são comumente utilizadas em combinações homeopáticas, a exemplo a *Cardus marianus*, *Chelidonium majus*, *China officinalis*, *Chionantus virginica* e a *Myrica cerifera*. Esses extratos vegetais apresentam compostos bioativos que tem sido descritos como moduladores do metabolismo hepático, capazes de manipular o status oxidativo, o metabolismo lipídico e a regeneração celular do fígado (GIRISH & PRADHAN, 2017). Assim, devido a capacidade de modificar o metabolismo energético (ULGER et al. 2017; TAJMOHAMMADI et al. 2018), os hepatoprotetores podem influenciar o perfil de nutrientes que alcançam a glândula mamária para a síntese do leite.

Dietas com o milho e a polpa cítrica como principais fontes de energia favorecem, nessa ordem a síntese de precursores glicogênicos e cetogênicos, os quais modificam o suprimento pós-absortivo de energia para o metabolismo animal. Baseado nisso, é possível que a associação de hepatoprotetores em dietas glicogênicas e cetogênicas possam provocar interações no metabolismo hepático, com reflexo na partição de nutrientes em vacas lactantes.

Portanto, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre a produção, composição do leite e a partição dos nutrientes de vacas confinadas.

Material e Métodos

Local

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura Leiteira pertencente ao Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana, localizado no município de Colina - SP, Brasil (20°43'05"S; 48°32'38"W). Todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da Universidade Federal da Paraíba, de acordo com o protocolo N° 4117200519.

Período experimental, animais e dietas

O período experimental ocorreu entre os meses de maio a agosto de 2018, com duração de 76 dias, divididos em quatro períodos de 19 dias, sendo 14 dias de adaptação e cinco dias de coletas. Foram utilizadas 16 vacas mestiças Holandês x Gir no terço médio da lactação, com peso corporal médio inicial de 553 ± 85 kg, distribuídas em delineamento experimental quadrado latino 4x4 quádruplo em arranjo fatorial 2x2. Esses animais foram agrupados em grupos homogêneos quanto à produção de leite (23 ± 6 kg leite), período de lactação (109 ± 57 dias em lactação) e paridade (primípara, $n = 8$; múltípara, $n = 8$).

Os tratamentos consistiram de dietas com e sem a inclusão do hepatoprotetor comercial, e variação de duas fontes de energia (milho moído e polpa cítrica), os quais seguem: 1) 0 g hepatoprotetor + milho moído; 2) 50 g hepatoprotetor + milho moído; 3) 0 g hepatoprotetor + polpa cítrica; e 4) 50 g hepatoprotetor + polpa cítrica. O hepatoprotetor comercial possui fórmula composta por: *Chelidonium majus* (10^{-24}), *Cardus marianus* (10^{-24}), *Natrum muriaticum* (10^{-400}), *China officinalis* (10^{-24}), *Phosphorus* (10^{-28}), *Carboneum tetrachloricum* (10^{-30}), *Myrica cerifera* (10^{-60}), *Chionantus virginica* (10^{-30}), e como veículo, o carbonato de cálcio *qsp.* 1000 g.

As dietas tiveram como fonte de volumoso a silagem de milho, e o concentrado formulado com milho moído ou polpa cítrica, farelo de soja, gordura protegida, mistura mineral, ureia, bicarbonato de sódio e calcário calcítico (Tabela 2). Essas dietas foram formuladas e balanceadas de acordo com o NRC (2001) para serem isoproteicas e isoenergéticas, a fim de atender as exigências de vacas não gestantes, no terço médio da lactação, com 550 kg de peso corporal e produção inicial de 25 kg leite por dia com 3,5% de gordura.

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não fibrosos (CNF) da silagem de milho e dos ingredientes do concentrado

	Silagem de milho	Milho moído	Polpa cítrica	Farelo de soja
MS (g/kg)	290	917	942	931
MM (g/kg)	43,8	13,5	80,0	69,7
PB (g/kg)	63,5	90,0	73,9	487
EE (g/kg)	22,7	42,9	23,0	14,0
FDN (g/kg)	592	163	311	473
CNF (g/kg)	278	690	512	-

Tabela 2. Proporção dos ingredientes e teores de nutrientes das dietas

Ingredientes (g/kg MS)	Fontes de energia	
	Milho moído	Polpa cítrica
Silagem de milho	550	550
Milho moído	219	-
Polpa cítrica	-	229
Farelo de soja	185	185
Gordura protegida ¹	13,5	13,5
Mistura mineral ²	13,5	13,5
Ureia	3,38	4,28
Bicarbonato de sódio	5,40	5,40
Calcário calcítico	9,68	-
Teores de nutrientes		
MS (g/kg)	578	583
MM (g/kg)	70,0	74,9
PB (g/kg)	147	147
EE (g/kg)	34,6	30,9
FDN (g/kg)	430	465
CNF (g/kg)	293	265
NDT (g/kg)	578	592
E _L ³ (Mcal/kg)	1,30	1,33

¹Composição da gordura protegida (níveis de garantia): Extrato etéreo (820 g/kg); Cálcio (65 g/kg); Índice de acidez: 10 mg NaOH; Índice de peróxido: 5 meq/kg; ²Composição da mistura mineral (níveis de garantia): Cálcio (190 g/kg); Fósforo (60 g/kg); Enxofre (20 g/kg); Magnésio (20 g/kg); Potássio (35 g/kg); Sódio (70 g/kg); Cobalto (15 mg/kg); Cobre (700 mg/kg); Cromo (10 mg/kg); Ferro (700 mg/kg); Iodo (40 mg/kg); Manganês (1600 mg/kg); Selênio (19 mg/kg); Zinco (2500 mg/kg); Vitamina A (400000 UI/kg); Vitamina D3 (100000 UI/kg); Vitamina E (2400 UI/kg); Monensina (1000 mg/kg) e Flúor (600 mg/kg); MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos; E_L: energia líquida; NDT: nutrientes digestíveis totais; ³ Calculado de acordo com o NRC (2001).

As dietas foram fornecidas na forma de ração completa, *ad libitum*, permitindo aproximadamente 10% de sobras, com razão volumoso : concentrado de 55:45. Foram fracionadas em duas porções de mesmo peso, fornecidas após a ordenha da manhã e da tarde, às 0800 e 1600 horas. Após a ordenha da manhã, as vacas do tratamento com a inclusão do hepatoprotetor receberam como primeiro alimento a dose preconizada de 50 g/vaca/dia, misturado na mesma proporção com o concentrado, com o intuito de garantir a ingestão total do produto.

Os animais foram confinados em baias individuais cobertas com área de 12,5 m², revestidas com piso de concreto, cocho para o fornecimento da dieta e bebedouro com acesso irrestrito a água.

Amostragem e procedimentos experimentais

Amostras da silagem, dos ingredientes e das sobras foram coletadas durante os cinco dias de cada período de coleta, acondicionadas em sacos e/ou potes plásticos devidamente identificados e armazenadas em freezer a -20 °C. Ao término de cada período, as amostras foram homogeneizadas em uma amostra composta por animal por período, colocadas em estufa de 55 °C por 72 horas para secagem e, posteriormente, moídas a 1 mm para posteriores análises da composição químico - bromatológica.

A estimativa da excreção fecal para o cálculo dos coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes foi realizada através da concentração do marcador externo, óxido de cromo, nas fezes. Durante 10 dias, foram administrados via oral 10 g de óxido de cromo, divididos em dois fornecimentos, às 0700 e 1600 horas, entre nono até 18º dia do período de coleta. As coletas de fezes foram realizadas por defecação espontânea ou diretamente na ampola retal duas vezes ao dia, após o fornecimento da dieta, entre 15º até 18º dia do período de coleta. Após as coletas, as amostras foram pré-secas em estufa de 55 °C por 72 horas, moídas a 1 mm e homogeneizadas em uma composta por animal por período, para posteriores análises de composição e concentração de cromo nas fezes.

O registro de produção ocorreu durante todo o período experimental, através de ordenha mecânica, duas vezes ao dia, às 0600 e 1500 horas, sendo levado em consideração apenas a produção de leite entre 15º até 19º dia do período de coleta. A produção de leite foi corrigida para 4% de gordura (LCG) conforme equação descrita pelo NRC (2001).

As amostras para estimativa da composição do leite foram coletadas entre o 15° até 18° dia em tubos de aproximadamente 100 mL contendo 2-bromo-2-nitropropano-1-3-diol, sendo a amostragem realizada em três ordenhas de cada período experimental. Essas amostras foram homogeneizadas e armazenadas em geladeira a 15 °C por 24 horas para análises de gordura, proteína, caseína, lactose, sólidos totais, nitrogênio ureico no leite e contagem de células somáticas (CCS). Em razão de não apresentar distribuição normal, a CCS foi transformada para uma escala logarítmica em escore de células somáticas (ECS), conforme equação descrita por Shook (1982).

A avaliação do escore da condição corporal (ECC) ocorreu nos dias de pesagem dos animais, que consistiu no 1° dia de cada período experimental. Foi realizada por três avaliadores utilizando-se o método proposto por Edmonson et al. (1989), baseado em avaliações visuais e táteis das reservas corporais do animal, utilizando-se uma escala biológica de 1 a 5, com subunidades de 0,5 pontos.

A energia líquida da dieta, de manutenção (EL_M), de lactação (EL_L) e da variação de peso corporal (EL_{PC}) para o balanço de energia líquida foram estimadas a partir de equações propostas pelo NRC (2001). O balanço de energia líquida (BE_L) foi estimado pela diferença entre o total de N consumido e a excreção de N nas fezes, na urina e a secreção N no leite. A eficiência de utilização de energia líquida ($EUEL_L$) foi estimada por meio da razão entre a energia líquida da lactação (EL_L) e o consumo de energia líquida (CE_L).

A estimativa das excreções diárias de urina foram realizadas a partir de amostras “spot” de urina em micção espontânea, que foram coletadas quatro horas após o fornecimento da dieta. Foram coletadas amostras de 10 mL de urina, as quais foram diluídas em 40 mL de H_2SO_4 (0,036 N) e congeladas a -20 °C (VALADARES et al. 1999) para posteriores análises de nitrogênio total e creatinina. O volume urinário total diário foi estimado através das excreções urinárias de creatinina para gado de leite (CHIZZOTTI et al. 2008), pelos valores observados de concentração de creatinina na urina (VALADARES FILHO & VALADARES, 2001).

A excreção diária de nitrogênio (N) foi estimada a partir do total de N produzido nas fezes e no volume de urina. Enquanto, a secreção de N no leite resultou da conversão da proteína utilizando o fator 6,38. O balanço de N foi estimado pela diferença entre o total de N consumido e a excreção de N nas fezes, na urina e a secreção N no leite.

Análises laboratoriais

As amostras da silagem de milho, dos ingredientes, sobras e fezes foram quantificadas quanto aos teores de matéria seca (MS; método n° G-003/1); matéria mineral (MM; método n° M-001/1); proteína bruta (PB; método n° N-001/1); extrato etéreo (EE; método n° G-004/1) e fibra em detergente neutro (FDN; método n° F-001/1), de acordo com os procedimentos analíticos do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA; Detmann et al. 2012).

A concentração dos carboidratos não fibrosos (CNF) e dos nutrientes digestíveis totais (NDT) foram estimados segundo equações propostas por Sniffen et al. (1992) e Weiss (1999), respectivamente.

A análise do cromo nas fezes foi realizada segundo Detmann et al. (2012).

A concentração de gordura, proteína, caseína, lactose e sólidos totais foram estimados por absorção infravermelha, utilizando equipamento Bentley 2000®, o nitrogênio ureico no leite pelo método enzimático espectrofotométrico no equipamento ChemSpeck 150® e a contagem de células somáticas por citometria de fluxo com equipamento Somacount 300®, os quais foram realizadas pelo Laboratório Clínica do Leite da ESALQ-USP.

As amostras de urina foram analisadas quanto aos teores creatinina empregando-se kit comercial da Labtest®.

Análises estatísticas

Os dados do experimento foram submetidos à análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio de programa SAS (versão 9,1) considerando diferença quando $P < 0,05$, conforme o seguinte modelo: $Y_{ijklm} = \mu + L_i + C_j + T_k + S_l + P_m + Q + A(Q) + \varepsilon_{ijklm}$, onde: Y_{ijklm} = é a observação geral; μ = média geral; L_i = efeito da linha (i); C_j = efeito da coluna (j); T_k = efeito do hepatoprotetor (k); S_l = efeito da fonte de energia (l); $T*S_{kl}$ = efeito da interação entre hepatoprotetor e fonte de energia (kl); P_m = efeito do período (m); Q = efeito do quadrado latino (q); $A(Q)$ = efeito do animal (a) dentro de cada quadrado latino; ε_{ijklm} = erro aleatório associado a cada observação.

Resultados

Não houve interação ($P>0,05$) entre as fontes de energia e o hepatoprotetor para as variáveis de desempenho e balanço de nutrientes. Os consumos de MS, PB, EE e CNF foram maiores ($P<0,05$) nas dietas com milho moído como fonte de energia. A polpa cítrica proporcionou maiores ($P<0,05$) coeficientes de digestibilidade para a MM e FDN, enquanto o milho moído apresentou maior digestibilidade para CNF. A digestibilidade aparente da MS, PB e EE não foram afetadas ($P>0,05$) pelas fontes de energia associadas ao hepatoprotetor (Tabela 3).

A produção de leite, leite corrigido para 4% de gordura, o rendimento de proteína, caseína, lactose e sólidos totais foram maiores ($P<0,05$) para o milho moído como fonte de energia na dieta. O teor de gordura do leite foi maior ($P=0,049$) nas dietas com a polpa cítrica. Houve redução no teor de proteína ($P=0,007$) e caseína ($P=0,016$) no leite das vacas que receberam o hepatoprotetor na dieta. O NUL e a ECS não foram afetados ($P>0,05$) pelas dietas com fontes de energia associadas ao hepatoprotetor (Tabela 4).

Tabela 3. Consumo e digestibilidade aparente dos nutrientes de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor

	Hepatoprotetor		Fontes de energia		EPM	Valor <i>P</i>		
	0 g	50 g	Milho moído	Polpa cítrica		H	E	H x E
Consumo de matéria seca								
kg/dia	20,4	20,0	20,9 ^a	19,5 ^b	0,39	0,383	0,001	0,155
g kg ^{0.75}	17,1	16,8	17,5 ^a	16,4 ^b	0,26	0,245	0,001	0,137
%PC	3,48	3,41	3,57 ^a	3,33 ^b	0,06	0,266	0,001	0,183
Consumo de nutrientes (kg/dia)								
CMM	1,58	1,55	1,56	1,57	0,03	0,402	0,785	0,189
CPB	3,27	3,24	3,34 ^a	3,17 ^b	0,06	0,703	0,002	0,071
CEE	0,72	0,71	0,79 ^a	0,65 ^b	0,02	0,549	0,001	0,110
CFDN	8,56	8,52	8,44 ^b	8,65 ^a	0,16	0,571	0,092	0,061
CCNF	6,15	5,98	6,73 ^a	5,40 ^b	0,15	0,177	0,001	0,679
CNDT	11,8	11,8	12,1	11,6	0,30	0,859	0,187	0,816
Digestibilidade aparente (%)								
DMS	55,7	56,6	55,1	57,3	1,00	0,707	0,073	0,259
DMM	23,8	23,3	21,3 ^b	25,9 ^a	1,64	0,573	0,033	0,556
DPB	62,5	63,6	62,4	63,8	0,89	0,503	0,243	0,452
DEE	87,0	87,3	87,4	86,9	0,45	0,752	0,590	0,354
DFDN	41,0	42,1	37,2 ^b	45,9 ^a	1,49	0,768	0,001	0,147
DCNF	75,0	76,1	78,7 ^a	72,4 ^b	1,24	0,754	0,001	0,645

MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos; NDT: nutrientes digestíveis totais; EPM: Erro padrão da média; H: hepatoprotetor; E: energia.

A variação do peso corporal foram maiores ($P=0,001$) para as vacas recebendo o milho moído como fonte de energia na dieta. Houve efeito ($P=0,001$) das fontes de energia sobre a energia líquida (EL) de lactação. Enquanto, o peso, o consumo EL, a EL manutenção, a EL da variação do peso corporal, o balanço e a eficiência de uso da EL não sofreram efeito ($P>0,05$) das fontes de energia em associação com o hepatoprotetor (Tabela 5).

A ingestão e a secreção de nitrogênio (N) no leite foram maiores ($P<0,05$) nas dietas com o milho moído como fonte de energia. O hepatoprotetor favoreceu maior ($P=0,038$) balanço de N nas vacas. Entretanto, a excreção de N nas fezes e na urina não foram afetados ($P>0,05$) pelas dietas com fontes de energia associadas ao hepatoprotetor (Tabela 6).

Discussão

O milho é o principal ingrediente energético utilizado nas formulações de dietas para vacas em lactação, devido ao alto teor de energia proporcionado pelo amido, principal carboidrato não fibroso (CNF) presente nos grãos de cereais. O amido contribui para a otimização da fermentação ruminal, por meio do sincronismo com os nutrientes da degradação da forragem, que estimulam o crescimento microbiano e (GÓMEZ et al. 2016), por consequência, o consumo. Esse efeito pôde ser observado neste estudo, uma vez que a dieta com o milho moído apresentou as maiores médias de consumo, favorecendo o aumento na ingestão de nutrientes.

A composição dos ingredientes da dieta influenciam o aproveitamento dos nutrientes pelo animal para desempenhar as funções produtivas (BAUMGARD, COLLIER, BAUMAN, 2017). Logo, no presente estudo, as características químicas das fontes de energia nas dietas influenciaram na particularidade da digestibilidade dos nutrientes. De modo que, a polpa cítrica por apresentar alto teor de fibra e cálcio (BAMPIDIS; ROBINSON, 2006), resultou em maiores coeficientes de digestibilidade da FDN e da MM. Enquanto, o milho moído por apresentar alto teor de amido nos grãos, proporcionou maiores médias de digestibilidade do CNF entre as dietas com fontes de energia.

A digestibilidade dos nutrientes sofre influência tanto da composição da dieta, como do nível de ingestão de alimento. Assim, dietas que proporcionam aumento na ingestão apresentam redução da digestibilidade dos nutrientes, em virtude do aumento na taxa de passagem no rúmen (HUHTANEN; RINNE; NOUSIAINEN, 2009). Isso explica

o fato das dietas com milho moído que proporcionaram maior ingestão de alimento, não terem apresentado efeito para os coeficientes de digestibilidade aparente dos nutrientes, com exceção para a digestibilidade da CNF.

Tabela 4. Produção e composição do leite de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor

	Hepatoprotetor		Fontes de energia		EPM	Valor P		
	0 g	50 g	Milho moído	Polpa cítrica		H	E	H x E
Leite (kg/dia)	25,7	25,9	27,1 ^a	24,5 ^b	0,67	0,981	0,001	0,399
LCG (kg/dia)	20,6	22,2	21,6 ^a	21,2 ^b	0,62	0,482	0,001	0,824
Composição do leite (%)								
Gordura	3,00	3,03	2,96 ^b	3,07 ^a	0,05	0,591	0,049	0,087
Proteína	3,03 ^a	2,93 ^b	3,02 ^a	2,94 ^b	0,03	0,007	0,051	0,993
Caseína	2,28 ^a	2,19 ^b	2,26	2,21	0,02	0,016	0,089	0,874
Lactose	4,23	4,28	4,28	4,23	0,03	0,552	0,552	0,402
Sólidos totais	9,53	9,57	9,56	9,55	0,39	0,948	0,800	0,951
Componentes de rendimento do leite (g/dia)								
Gordura	769	775	786	758	22,1	0,746	0,136	0,316
Proteína	778	758	816 ^a	720 ^b	20,4	0,075	0,001	0,432
Caseína	586	567	612 ^a	539 ^b	15,9	0,087	0,001	0,449
Lactose	1092	1111	1164 ^a	1039 ^b	31,9	0,809	0,001	0,382
Sólidos totais	2431	2506	2609 ^a	2328 ^b	121	0,358	0,001	0,175
NUL ³ (mg/dL)	17,8	17,4	17,6	17,5	0,29	0,984	0,350	0,646
ECS log	4,41	3,72	3,98	4,16	0,25	0,154	0,702	0,826

LCG: Leite corrigido para 4% de gordura; EPM: Erro padrão da média; NUL: Nitrogênio ureico do leite; ECS: escore de células somáticas; H: hepatoprotetor; E: energia.

Respostas positivas sobre a produção e o rendimento dos componentes do leite foram observadas como reflexo do incremento na ingestão de alimento. De modo que, maior quantidade de nutrientes tornaram-se disponíveis para a glândula mamária para síntese do leite, incrementando a energia líquida para a lactação nas dietas com milho moído como a fonte de energia. Apesar do milho e da polpa cítrica fornecerem energia na dieta de vacas em lactação, ambas as fontes possuem particularidades quanto ao padrão de fermentação, capazes de influenciar tanto a produção como a composição do leite (HALL et al. 2010).

O amido proveniente dos grãos de milho é rapidamente fermentado em propionato pelos microrganismos ruminais. O propionato produzido no rúmen é utilizado como precursor de nutrientes glicogênicos no fígado, influenciando a quantidade de glicose disponível na glândula mamária para a síntese da lactose, a qual é determinante para o

volume da produção de leite (FERRARRETO et al. 2017). Enquanto, a polpa cítrica por ser rica em pectina e fibra de alta degradabilidade, estimula a produção de acetato, principal precursor da gordura do leite (BAMPIDIS; ROBINSON, 2006). Por esse motivo, as dietas com milho moído proporcionaram maior produção de leite, ao passo que o maior teor de gordura no leite ocorreu nas dietas com a polpa cítrica como fonte de energia.

Carmo et al. (2014) avaliando níveis de amido na dieta de vacas em lactação, constataram que, a inclusão de amido na dieta como fonte de energia proporcionou respostas positivas, tal qual o presente estudo, sobre a ingestão, a produção, leite corrigido para gordura, sólidos no leite e energia líquida de lactação.

Além disso, a composição do leite sofreu influência da inclusão do hepatoprotetor na dieta, que proporcionou redução nos teores de proteína e caseína no leite. Supõe-se que, a presença dos alcaloides de sanguinarina derivados do extrato da *Chelidonium majus* do hepatoprotetor podem ter influenciado a fração proteica do leite. Esse efeito deve-se a capacidade da sanguinarina de inibir a atividade da enzima aminoácido aromática descarboxilase (DRŠATA et al. 1996).

A inibição da descarboxilação dos aminoácidos aromáticos pela sanguinarina suprime a biossíntese de suas aminas biogênicas, ampliando a concentração dos aminoácidos no metabolismo. O triptofano é um dos principais aminoácidos aromáticos essenciais, pelo fato de ser o precursor da serotonina, um neurotransmissor responsável pela transmissão celular dos sinais elétricos, mas que também atua na regulação da glândula mamária (COLLIER et al. 2012).

Na glândula mamária, os aminoácidos e seus precursores não apenas servem como substratos para a biossíntese de proteínas, sendo constatado que também agem como sinalizadores regulando a síntese proteica (APELO et al. 2014). Baseado nisso, supõe-se que no presente estudo a redução da proteína e caseína do leite tenha ocorrido devido a inibição da descarboxilação do triptofano, que proporcionou o acúmulo de 5-hidroxitriptofano. Esse metabólito é o precursor da serotonina, que tem sido relacionada a supressão da expressão do gene da α -lactalbumina e da β -caseína do leite (HERNADEZ et al. 2009).

A variação das funções produtivas de vacas em lactação dependem do particionamento dos nutrientes assimilados, os quais são coordenados por uma escala fisiológica (BAUMGARD, COLLIER, BAUMAN, 2017). Assim, a ingestão de matéria seca de vacas em lactação possibilita o suprimento de energia necessário para atender, a princípio, a exigência de manutenção e da glândula mamária para produção de leite e, posteriormente, a demanda para ganho através da deposição de tecidos (JENSEN et al. 2015).

Tabela 5. Variação de peso corporal e o balanço de energia de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor

	Hepatoprotetor		Fontes de energia		EPM	Valor <i>P</i>		
	0 g	50 g	Milho moído	Polpa cítrica		H	E	H x E
Peso (kg)	589	591	589	591	10,6	0,907	0,847	0,906
VPC (kg)	21,6	20,2	24,2 ^a	17,6 ^b	1,67	0,782	0,001	0,191
CEL (Mcal/dia)	26,5	26,5	27,1	25,9	0,67	0,979	0,195	0,744
EL _M (Mcal/dia)	9,56	9,56	9,55	9,57	0,13	0,885	0,875	0,838
EL _L (Mcal/dia)	15,7	15,8	16,5 ^a	15,1 ^b	0,42	0,843	0,001	0,908
EL _{PC} (Mcal/dia)	0,94	0,94	0,94	0,94	0,00	0,783	0,783	0,173
BE (Mcal/dia)	0,32	0,34	0,33	0,33	0,63	0,988	0,991	0,967
EUEL _L (%)	60,7	61,8	62,5	59,9	1,87	0,705	0,295	0,692

VPC: variação do peso corporal; CEL: consumo de energia líquida; ELM: energia líquida de manutenção; ELL: energia líquida de lactação; ELPC: energia líquida da variação de peso corporal; BE: balanço da energia líquida; EUEL: eficiência de uso da energia líquida de lactação; EPM: erro padrão da média; H: hepatoprotetor E: energia.

No presente estudo, as dietas ricas em amido que favoreceram o incremento na ingestão, permitiram maior partição de nutrientes para o ganho de peso. Contudo, as fontes de energia associadas ao hepatoprotetor na dieta não proporcionaram mudanças nas reservas corporais e no balanço de energia das vacas, indicando que, apesar da composição dos diferentes ingredientes, as dietas forneceram quantidades similares de energia. Assim, a ausência de variação constatada no consumo de energia líquida, sugere que a energia dietética foi suficiente para atender à exigência de manutenção e síntese do leite.

Além disso, o conteúdo e o tipo de proteína fornecidos na dieta são fatores que influenciam o suprimento de compostos nitrogenados para a biossíntese dos componentes do leite pela glândula mamária (NICHOLS et al. 2019). As dietas com a fonte de energia proveniente do milho apresentaram maior ingestão de N, bem como maior secreção de N no leite. Isso deve-se ao incremento de amido nas dietas que proporcionaram maior

disponibilidade de CNF, favorecendo o sincronismo dos nutrientes para produção de proteína microbiana.

Ocorre que, a maior disponibilidade de proteína metabolizável que chega no intestino delgado proporciona aumento do rendimento de proteína no leite (CARMO et al. 2014). Enquanto, a fermentação de pectina resulta em menor proporção de propionato para a gliconeogênese hepática, favorecendo a redução da proteína do leite, devido ao estímulo a captação de aminoácidos glicogênicos para a síntese de glicose (LEIVA et al. 2000).

Tabela 6. Balanço de nitrogênio de vacas lactantes em função de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor

	Hepatoprotetor		Fontes de energia		EPM	Valor P		
	0 g	50 g	Milho moído	Polpa cítrica		H	E	H x E
N ingerido	523	518	534 ^a	507 ^b	9,45	0,654	0,002	0,093
Secreção N leite	122	119	128 ^a	113 ^b	3,21	0,122	0,001	0,393
Excreção N fecal	197 ^a	184 ^b	196 ^a	185 ^b	5,76	0,037	0,009	0,159
Excreção N urina	159	151	161	149	6,57	0,445	0,284	0,262
Balanço N	53 ^b	77 ^a	58	73	8,76	0,038	0,215	0,318

N: nitrogênio; EPM: erro padrão da média; H: hepatoprotetor; E: energia.

Enquanto isso, o balanço de N foi maior nas dietas com a inclusão do hepatoprotetor. Sugere-se que, a presença do extrato de *Chelidonium majus* no hepatoprotetor pode ter influenciado a redução da degradação dos aminoácidos. Esse efeito deve-se à semelhança da estrutura química dos alcaloides de sanguinarina com os aminoácidos aromáticos, que inibem a descarboxilação dos aminoácidos aromáticos, contribuindo para maior retenção de nitrogênio nos tecidos (DRŠATA et al. 1996).

Apesar das implicações constatadas pelo uso do hepatoprotetor na fração proteica do leite e no balanço de N em vacas, efeitos positivos sobre o desempenho não foram observados utilizando a dosagem diária de 50g para vacas no terço médio da lactação durante o período de realização da pesquisa. Assim, novos estudos devem considerar a utilização de hepatoprotetores com o intuito de verificar implicações com a fonte de energia na dieta sobre a resposta produtiva de vacas. Visto que, pesquisas usando hepatoprotetores em dietas de animais de produção são escassas.

Conclusões

O milho moído pode ser utilizado na dieta como fonte de energia para impulsionar a produção de leite de vacas confinadas. Enquanto, a fonte de energia proveniente da polpa cítrica afeta a composição do leite por meio do incremento no teor de gordura.

O uso de hepatoprotetores na dieta afetou a fração proteica do leite e favoreceu maior balanço de nitrogênio em vacas lactantes confinadas.

Referências

- ARNOTT, G; FERRIS, C. P; O'CONNELL, N. E. Welfare of dairy cows in continuously housed and pasture-based production systems. **Animal**, v. 11, 261-273, 2017.
- APELO, S. I. A. et al. Isoleucine, leucine, methionine, and threonine effects on mammalian target of rapamycin signaling in mammary tissue. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 2, p. 1047-1056, 2014.
- BAMPIDIS, V. A.; ROBINSON, P. H. Citrus by-products as ruminant feeds: A review. **Animal Feed Science and Technology**, n. 128, p. 175-217, 2006.
- BAUMGARD, L. H.; COLLIER, R. J; BAUMAN, D. E. A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation. **Journal of Dairy Science**, n. 100, p. 10353-10366, 2017.
- CARMO, C. A; BATISTEL, F.; SOUZA, J. Starch levels on performance, milk composition and energy balance of lactating dairy cows. **Tropical animal health and production**, n. 47, p. 179-184, 2015.
- CINAR, M.; SERBESTER, U.; CEYHAN, A. et al. Effect of somatic cell count on milk yield and composition of first and second lactation dairy cows. **Italian Journal of Animal Science**, n. 14, p. 105-108, 2015.
- CHIZZOTTI, M. L.; VALADARES FILHO, S. C.; VALADARES, R. F. D. et al. Determination of creatinine excretion and evaluation of spot urine sampling in Holstein cattle. **Livestock Science**, n. 113, p. 218-225, 2008.
- COLLIER, R. J.; HERNANDEZ, L. L.; HORSEMAN, N. D. Serotonin as a homeostatic regulator of lactation. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 43, n. 2, p. 161-170, 2012.
- DETMANN, E.; SOUZA, M. A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. **Métodos para análises de alimentos**. Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia – INCT (Suprema: Visconde do Rio Branco, Brazil), 2012.

- DRSATA, J.; ULRICHOVÁ, J.; WALTEROVÁ, D. Sanguinarine and chelerythrine as inhibitors of aromatic amino acid decarboxylase. **Journal of enzyme inhibition**, n. 10, p. 231-237, 1996.
- EDMONSON, A. J; LEAN, I. J.; WEAVER, L. D. et al. A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. **Journal of Dairy Science**, n. 72, p. 68-78, 1989.
- FERRARETTO, L. F. Impact of Starch Content and Digestibility in Dairy Cattle Diets. In: **28th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium** 770, p. 112-123, 2017.
- GAO, B. Basic liver immunology. **Cellular & Molecular Immunology**, n. 13, p. 265 - 266, 2016.
- GIRISH, C.; PRADHAN, S. C. **Herbal drugs on the liver**. In: Liver Pathophysiology. Academic Press, 2017. p. 605-620.
- GÓMEZ, L. M.; POSADA, S. L.; OLIVERA, M. Starch in ruminant diets: a review. **Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias**, n. 29, p. 77-90, 2016.
- HALL, M. B.; LARSON, C. C.; WILCOX, C. J. Carbohydrate source and protein degradability alter lactation, ruminal, and blood measures. **Journal of dairy Science**, n. 93, p. 311-322, 2010.
- HERNANDEZ, L. L. et al. The bovine mammary gland expresses multiple functional isoforms of serotonin receptors. **The Journal of endocrinology**, v. 203, n. 1, p. 123, 2009.
- HUHTANEN, P.; RINNE, M.; NOUSIAINEN, J. A meta-analysis of feed digestion in dairy cows. 2. The effects of feeding level and diet composition on digestibility. **Journal of dairy science**, n. 92, p. 5031-5042, 2009.
- JENSEN, C.; ØSTERGAARD, S.; BERTILSSON, J. et al. Responses in live weight change to net energy intake in dairy cows. **Livestock Science**, n. 181, p. 163-170, 2015.
- LEIVA, E.; HALL, M. B.; VAN HORN, H. H. Performance of dairy cattle fed citrus pulp or corn products as sources of neutral detergent-soluble carbohydrates. **Journal of Dairy Science**, n. 83, p. 2866-2875, 2000.
- NICHOLS, K.; DIJKSTRA, J.; VAN LAAR, H. et al. Energy and nitrogen partitioning in dairy cows at low or high metabolizable protein levels is affected differently by postrumen glucogenic and lipogenic substrates. **Journal of dairy science**, n. 102, p. 395-412, 2019.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of dairy cattle**. (6nd edn). (National Academies Press: Washinton, DC), 2001.

- OKAIYETO, K.; NWODO, U. U.; MABINYA, L. V. et al. A review on some medicinal plants with hepatoprotective effects. **Pharmacognosy Reviews**, n. 12, p. 186, 2018.
- REIS, C. B. M.; BARREIRO, J. R.; MESTIERI L. et al. Effect of somatic cell count and mastitis pathogens on milk composition in Gyr cows. **BMC veterinary research**, n. 9, p. 67, 2013.
- SKLAN, D.; ASHKENAZI, R.; BRAUN, A. et al. Fatty acids, calcium soaps of fatty acids, and cottonseeds fed to high yielding cows. **Journal of Dairy Science**, n. 75, p. 2463-2472, 1992.
- SILVA, J. C; ANTUNES, R. C. Effect of type of milking and environment on the raw milk quality based on somatic cells count. **Ciência Animal Brasileira**, n. 19, e34635, 2018.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P.J.; FOX, D.G.; RUSSELL, J. B. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, n. 70, p. 3562-3577, 1992.
- SHOOK, G. E. Approaches to summarizing somatic cell count which improve interpretability. In: ANNUAL MEETING NATIONAL MASTITIS COUNCIL, 2., 1982, Arlington. **Proceedings...** Arlington: 1982. p.150.
- TEIXEIRA, M. Z.; GUEDES, C. H.; BARRETO P. V. et al. The placebo effect and homeopathy. **Homeopathy**, n. 99, 119-129, 2010.
- TAJMOHAMMADI, A.; RAZAVI, B. M.; HOSSEINZADEH, H. Silybum marianum (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. **Phytotherapy research**, n. 32, p. 1933-1949, 2018.
- ULGER, I.; ONMAZ, A. C.; AYAŞAN, T. Effects of silymarin (Silybum marianum) supplementation on milk and blood parameters of dairy cattle. **South African Journal of Animal Science**, n. 47, p. 758-765, 2017.
- VALADARES, R. F. D.; BRODERICK, G. A.; VALADARES FILHO, S. C. et al. Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. **Journal of dairy science**, n. 82, v. 12, 2686-2696, 1999.
- XU, T.; CARDOSO, F. C; PINEDA, A. et al. Grain challenge affects systemic and hepatic molecular biomarkers of inflammation, stress, and metabolic responses to a greater extent in Holstein than Jersey cows. **Journal of dairy science**, n. 100, p. 9153-9162, 2017.

WANKHADE, P. R.; MANIMARAN, A.; KUMARESAN, A. et al. Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. **Veterinary world**, n. 10, v. 11, p. 1367, 2017.

Weiss WP (1999). **Energy prediction equations for ruminant feeds**. In Proceedings Cornell Nutrition Conference for Feed Manufacturers. pp. 176-185. (Ithaca: Cornell University).

CAPÍTULO 3

**Status metabólico de vacas em lactação em função de fontes de energia
na dieta associadas a um hepatoprotetor**

Status metabólico de vacas em lactação em função de fontes de energia na dieta associadas a um hepatoprotetor

RESUMO: Objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre o status metabólico de vacas em lactação. Foram utilizadas 16 vacas mestiças Holandês x Gir no terço médio da lactação, com peso corporal de 553 ± 85 kg, distribuídas em delineamento experimental quadrado latino 4x4 quádruplo em arranjo fatorial 2x2. Os tratamentos consistiram de dieta com ou sem a inclusão do hepatoprotetor comercial, e variação de milho ou polpa cítrica como fontes de energia. Não houve interação ($P>0,05$) entre as fontes de energia e o hepatoprotetor para as variáveis de status metabólico. O milho moído como fonte de energia proporcionou maiores ($P<0,05$) concentrações séricas de glicose, colesterol-HDL e globulinas. Enquanto, o β -hidroxibutirato (BHB), ácidos graxos não esterificados (AGNE), colesterol total, albumina e aspartato aminotransferase (AST) apresentaram as maiores concentrações ($P<0,05$) nas dietas com a polpa cítrica. Evidencia-se que, as dietas com milho moído impulsionaram a síntese de nutrientes glicogênicos. Por outro lado, a polpa cítrica como fonte de energia alterou o status lipídico de vacas em lactação. O hepatoprotetor contribuiu para incremento pós-prandial das concentrações séricas do colesterol-LDL.

Palavras-chave: fígado, glicose, parâmetros sanguíneos

**Metabolic status of lactating cows as a function of dietary energy sources
associated with a hepatoprotective**

ABSTRACT: The aim of this study was to evaluate the effects of energy sources associated with a hepatoprotector on the metabolic status of lactating cows. Sixteen Holstein x Gir crossbred cows were used in the middle third of lactation, with a body weight of 553 ± 85 kg, distributed in a quadruple 4x4 Latin square design in a 2x2 factorial arrangement. The treatments consisted of a diet with or without the inclusion of hepatoprotector, and variation of corn or citrus pulp as energy sources. There was no interaction ($P > 0,05$) between the energy sources and the hepatoprotector for the metabolic status variables. Ground corn as an energy source provided higher ($P < 0,05$) serum concentrations of glucose, HDL-cholesterol and globulins. While, β -hydroxybutyrate (BHB), non-esterified fatty acids (AGNE), total cholesterol, albumin and aspartate aminotransferase (AST) presented the highest concentrations ($P < 0,05$) in diets with citrus pulp. It is evident that the diets with ground corn boosted the synthesis of glycogenic nutrients. On the other hand, the citrus pulp as an energy source changed the lipid status of lactating cows.

Key words: blood parameters, glucose, liver

Introdução

O fígado de vacas lactantes apresenta elevada atividade metabólica, devido a demanda da glândula mamária para a síntese do leite. Contudo, a incapacidade de lidar com as mudanças metabólicas impostas pela lactação, provocam uma sobrecarga na função hepática, que pode afetar a saúde da vaca com possíveis reflexos na produção de leite (WANKHADE et al. 2017).

Nesse contexto, os hepatoprotetores caracterizados pela sua capacidade de proteger o fígado, podem ser utilizados como promotores de crescimento, com o intuito de otimizar o metabolismo hepático, enquanto previne e repara distúrbios. Esses compostos possuem mecanismos de ação que consistem na manipulação do status oxidativo, do metabolismo lipídico e da regeneração celular do fígado (GIRISH & PRADHAN, 2017).

Baseado nisso, mudanças no metabolismo energético podem decorrer da utilização de hepatoprotetores que (ULGER et al. 2017; TAJMOHAMMADI et al. 2018), a depender do suprimento pós-absortivo de energia, podem influenciar no perfil de nutrientes que alcançam a glândula mamária para a síntese do leite.

Dietas com o milho e a polpa cítrica como fontes de energia são comumente utilizadas para vacas leiteiras. Contudo, apesar de ambos fornecerem energia, o milho e a polpa cítrica possuem particularidades quanto ao fornecimento de nutrientes metabolizáveis, caracterizados pelo estímulo a síntese de precursores glicogênicos e cetogênicos, respectivamente. Por esse motivo, é possível que a associação de hepatoprotetores em dietas glicogênicas e cetogênicas possam proporcionar interações no metabolismo hepático, com reflexos nos parâmetros sanguíneos de vacas lactantes.

A avaliação do status metabólico possibilita o monitoramento da saúde de vacas em lactação, com o intuito de diagnosticar distúrbios metabólicos (PUPPEL & KUCZYŃSKA, 2016). Além disso, pode ser utilizado para constatar variações dos metabólitos sanguíneos nos intervalos de alimentação, auxiliando na percepção do comportamento pós-absortivo dos nutrientes da dieta, bem como na avaliação do estado nutricional dos rebanhos.

Com base no exposto, objetivou-se com este estudo avaliar os efeitos de fontes de energia associadas a um hepatoprotetor sobre o status metabólico de vacas em lactação.

Material e Métodos

Local

O experimento foi conduzido no Setor de Bovinocultura Leiteira pertencente ao Polo Regional de Desenvolvimento Tecnológico dos Agronegócios da Alta Mogiana, localizado no município de Colina, São Paulo, Brasil (20°43'05"S; 48°32'38"W). Todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais, da Universidade Federal da Paraíba, de acordo com o protocolo N° 4117200519.

Período experimental, animais e dietas

O período experimental ocorreu entre os meses de maio a agosto de 2018, com duração de 76 dias divididos em quatro períodos de 19 dias, sendo 14 dias de adaptação e cinco dias de coletas. Foram utilizadas 16 vacas mestiças Holandês x Gir no terço médio da lactação, com peso corporal médio inicial de 553 ± 85 kg, distribuídas em delineamento experimental quadrado latino 4x4 quádruplo em arranjo fatorial 2x2. Esses animais foram agrupados em grupos homogêneos quanto à produção de leite (23 ± 6 kg leite), período de lactação (109 ± 57 dias em lactação) e paridade (primípara, $n = 8$; múltípara, $n = 8$).

Os tratamentos consistiram de dietas com e sem a inclusão do hepatoprotetor comercial e variação de duas fontes de energia (milho moído e polpa cítrica), os quais seguem: 1) 0 g hepatoprotetor + milho moído; 2) 50 g hepatoprotetor + milho moído; 3) 0 g hepatoprotetor + polpa cítrica; e 4) 50 g hepatoprotetor + polpa cítrica. O hepatoprotetor comercial utilizado possui fórmula composta por: *Chelidonium majus* (10^{-24}), *Cardus marianus* (10^{-24}), *Natrum muriaticum* (10^{-400}), *China officinalis* (10^{-24}), *Phosphorus* (10^{-28}), *Carboneum tetrachloricum* (10^{-30}), *Myrica cerifera* (10^{-60}), *Chionantus virginica* (10^{-30}), e como veículo, o carbonato de cálcio *qsp.* 1000 g.

As dietas tiveram como fonte de volumoso a silagem de milho, e o concentrado formulado a partir de milho moído ou polpa cítrica, farelo de soja, gordura protegida, mistura mineral, ureia, bicarbonato de sódio e calcário calcítico (Tabela 2). Essas dietas foram formuladas e balanceadas de acordo com o NRC (2001) para serem isoproteicas e isoenergéticas, a fim de atender as exigências de vacas não gestantes no terço médio da lactação, com 550 kg de peso corporal, e produção inicial de 25 kg leite por dia com 3,5% de gordura.

Tabela 1. Teores de matéria seca (MS), matéria mineral (MM), proteína bruta (PB), extrato etéreo (EE), fibra em detergente neutro (FDN) e carboidratos não fibrosos (CNF) da silagem de milho e dos ingredientes do concentrado

	Silagem de milho	Milho moído	Polpa cítrica	Farelo de soja
MS (g/kg)	290	917	942	931
MM (g/kg)	43,8	13,5	80,0	69,7
PB (g/kg)	63,5	90,0	73,9	487
EE (g/kg)	22,7	42,9	23,0	14,0
FDN (g/kg)	592	163	311	473
CNF (g/kg)	278	690	512	-

Tabela 2. Proporção dos ingredientes e teores de nutrientes das dietas

Ingredientes (g/kg)	Fontes de energia	
	Milho moído	Polpa cítrica
Silagem de milho	550	550
Milho moído	219	-
Polpa cítrica	-	229
Farelo de soja	185	185
Gordura protegida ¹	13,5	13,5
Mistura mineral ²	13,5	13,5
Ureia	3,38	4,28
Bicarbonato de sódio	5,40	5,40
Calcário calcítico	9,68	-
Teores de nutrientes		
MS (g/kg)	578	583
MM (g/kg)	70,0	74,9
PB (g/kg)	147	147
EE (g/kg)	34,6	30,9
FDN (g/kg)	430	465
CNF (g/kg)	293	265
E _L ³ (Mcal/kg MS)	1,30	1,33

¹ Composição da gordura protegida (níveis de garantia): Extrato etéreo (820 g/kg); Cálcio (65 g/kg); Índice de acidez: 10 mg NaOH; Índice de peróxido: 5 meq/kg; ² Composição da mistura mineral (níveis de garantia): Cálcio (190 g/kg); Fósforo (60 g/kg); Enxofre (20 g/kg); Magnésio (20 g/kg); Potássio (35 g/kg); Sódio (70 g/kg); Cobalto (15 mg/kg); Cobre (700 mg/kg); Cromo (10 mg/kg); Ferro (700 mg/kg); Iodo (40 mg/kg); Manganês (1600 mg/kg); Selênio (19 mg/kg); Zinco (2500 mg/kg); Vitamina A (400000 UI/kg); Vitamina D3 (100000 UI/kg); Vitamina E (2400 UI/kg); Monensina (1000 mg/kg) e Flúor (600 mg/kg); MS: matéria seca; MM: matéria mineral; PB: proteína bruta; EE: extrato etéreo; FDN: fibra em detergente neutro; CNF: carboidratos não fibrosos; E_L: energia líquida; ³ Calculado de acordo com o NRC (2001).

As dietas foram fornecidas na forma de ração completa, *ad libitum*, permitindo aproximadamente 10% de sobras, com razão volumoso : concentrado de 55:45. Foram fracionadas em duas porções de mesmo peso, fornecidas após a ordenha da manhã e da

tarde, às 0800 e 1600 horas. Após a ordenha da manhã, as vacas do tratamento com a inclusão do hepatoprotetor receberam como primeiro alimento a dose preconizada de 50 g/vaca/dia, misturado na mesma proporção com o concentrado, com o intuito de garantir a ingestão total do produto.

Os animais foram confinados em baias individuais cobertas com área de 12,5 m², revestidas com piso de concreto, cocho para o fornecimento da dieta e bebedouro com acesso irrestrito a água.

Amostragem e procedimentos experimentais

Amostras da silagem, dos ingredientes e das sobras foram coletadas durante os cinco dias de cada período de coleta, acondicionadas em sacos e/ou potes plásticos devidamente identificados e armazenadas em freezer a -20 °C. Ao término de cada período, as amostras foram homogeneizadas em uma amostra composta por animal por período, colocadas em estufa de 55 °C por 72 horas para secagem e, posteriormente, moídas a 1 mm para análises da composição químico - bromatológica.

As coletas de sangue foram realizadas no 19º dia de cada período experimental, antes (0 hora) e quatro horas após o fornecimento matinal da dieta, através de punção da veia jugular com auxílio de tubos vacutainer de 10 mL contendo ativador de coagulação. Após a coleta do sangue, as amostras foram homogeneizadas por inversão, colocadas em isopor com gelo e centrifugadas a 3.000 rotações por minuto (RPM) a 4 °C por 15 minutos para retirada do soro.

O soro foi acondicionado em eppendorf de 1,5 mL identificado, e refrigerado a -10 °C para dosagem das concentrações de glicose, triglicerídeos, colesterol total, colesterol-HDL, beta-hidroxibutirato (BHB), ácidos graxos não esterificados (AGNE), ureia, proteínas totais, albumina, enzima aspartato aminotransferase (AST) e gama glutamil transferase (GGT).

Análises laboratoriais

As amostras da silagem de milho, dos ingredientes, sobras e fezes foram quantificadas quanto aos teores de matéria seca (MS; método n° G-003/1); matéria mineral (MM; método n° M-001/1); proteína bruta (PB; método n° N-001/1); extrato etéreo (EE; método n° G-004/1) e fibra em detergente neutro (FDN; método n° F-001/1), de acordo com os procedimentos analíticos do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Ciência Animal (INCT-CA; DETMANN et al. 2012).

A concentração dos carboidratos não fibrosos (CNF) foi estimada segundo equação proposta por Sniffen et al. (1992).

As análises das concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, colesterol, colesterol-HDL, ureia, proteínas totais, albumina, enzimas AST e GGT foram realizadas empregando-se kits comerciais da Labtest®, sendo a leitura realizada em analisador bioquímico semiautomático LabQuest®. As concentrações de beta-hidroxibutirato (BHB) e ácidos graxos não esterificados (AGNE) no sangue foram utilizados kits comerciais da Randox® sendo a leitura realizada, respectivamente, em analisador automático de bioquímica sanguínea SBA-200 CELM® e microplaca da marca ASYS®.

As concentrações de colesterol-LDL e colesterol-VLDL foram estimadas conforme Friedewald et al. (1972). Enquanto, a globulina sérica foi estimada por meio da diferença entre a concentração das proteínas totais e a albumina.

Análises estatísticas

Os dados do experimento foram submetidos à análise de variância e comparação das médias pelo teste de Tukey. Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio de programa SAS (versão 9.1) adotando-se 0,05 como nível crítico de probabilidade do erro tipo I, de acordo com o seguinte modelo: $Y_{ijklmn} = \mu + L_i + C_j + T_k + S_l + H_m + P_n + Q + A(Q) + \varepsilon_{ijklmn}$, onde: Y_{ijklmn} = observação geral; μ = média geral; L_i = efeito da linha (i); C_j = efeito da coluna (j); T_k = efeito do hepatoprotetor (k); S_l = efeito da fonte de energia (l); H_m = efeito do tempo (m); $T*S*H_{klm}$ = efeito da interação entre hepatoprotetor, fonte de energia e tempo (klm); P_n = efeito do período (n); Q = efeito do quadrado latino (q); $A(Q)$ = efeito do animal (a) dentro de cada quadrado latino; ε_{ijklmn} = erro aleatório associado a cada observação.

Resultados

Não houve interação ($P>0,05$) entre as fontes de energia e o hepatoprotetor para as variáveis de status metabólico. As concentrações séricas de glicose foram maiores ($P=0,046$) nas dietas com o milho moído como fonte de energia. A glicose e os triglicerídeos séricos sofreram efeito do tempo ($P<0,05$), com redução das concentrações após 4 horas do fornecimento das dietas. Enquanto isso, as maiores concentrações de BHB no sangue ($P<0,001$) ocorreram no período pós-prandial (Tabela 3). Houve interação ($P<0,001$) entre o tempo e a fonte de energia na concentração de BHB plasmática (Gráfico 1).

O β -hidroxibutirato (BHB), ácidos graxos não esterificados (AGNE), colesterol total e colesterol-LDL apresentaram as maiores concentrações ($P<0,05$) nas dietas com a polpa cítrica como fonte de energia. Contudo, as dietas ricas em amido favoreceram o aumento ($P=0,005$) nos níveis séricos de colesterol-HDL (Tabela 3). Houve interação ($P=0,004$) entre o tempo e a inclusão do hepatoprotetor na concentração plasmática de colesterol-LDL (Gráfico 2). Os valores de colesterol-VLDL no plasma reduziram ($P=0,031$) após o fornecimento das dietas. Além disso, houve efeito da fonte de energia da dieta ($P=0,044$) nas concentrações de AST, que resultou em maiores valores nas dietas com polpa cítrica (Tabela 4).

As concentrações plasmáticas de ureia foram maiores ($P=0,001$) no período pós-prandial. Enquanto, as proteínas totais, a albumina e as globulinas no sangue diminuíram ($P<0,05$) com o fornecimento das dietas. A polpa cítrica como fonte de energia favoreceu o incremento ($P<0,05$) da albumina e da razão albumina : globulina no sangue. No entanto, os níveis séricos de globulina foram maiores ($P=0,016$) nas dietas com o milho moído como a fonte de energia (Tabela 5).

Discussão

O amido presente nos grãos de milho estimula a fermentação de propionato pelos microrganismos ruminais, o qual é o principal precursor da biossíntese de nutrientes glicogênicos no fígado de vacas lactantes (FERRARRETO et al. 2017). Logo, dietas ricas em amido são capazes de incrementar a concentração plasmática de glicose através do estímulo à produção de precursores glicogênicos. Pelo mesmo motivo, as vacas que receberam as dietas com o milho moído como fonte de energia apresentaram maior concentração de glicose no sangue.

Tabela 3. Concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, beta-hidroxibutirato e ácidos graxos não esterificados de vacas em lactação sob efeito de fontes de energia em associação a um hepatoprotetor na dieta

Hepatoprotetor	Fontes de energia				Média	EPM	Valor <i>P</i>						
	Milho moído		Polpa cítrica				H	E	H x E	T	T x H	T x E	T x E x H
	0 g	50g	0 g	50g									
Glicose (mg/dL)													
0 hora	61,5	63,1	62,5	60,2	61,8 ^A								
4 horas	55,7	55,1	50,2	52,3	53,3 ^B	0,71	0,756	0,046	0,917	<0,001	0,600	0,242	0,144
Média	58,9 ^a		56,4 ^b										
Triglicerídeos (mg/dL)													
0 hora	19,0	18,1	18,8	17,6	18,4 ^A								
4 horas	17,8	17,4	15,7	17,4	17,1 ^B	0,36	0,825	0,619	0,681	0,044	0,356	0,949	0,468
Média	18,1		17,4										
Beta-hidroxibutirato (mg/dL)													
0 hora	0,48	0,54	0,49	0,52	0,51 ^B								
4 horas	0,93	1,00	1,36	1,25	1,13 ^A	0,04	0,728	<0,001	0,186	<0,001	0,470	<0,001	0,357
Média	0,74 ^b		0,97 ^a										
Ácidos graxos não esterificados (mmol/L)													
0 hora	0,88	0,87	0,91	0,96	0,90								
4 horas	0,85	0,83	0,88	0,90	0,86	0,01	0,787	0,001	0,246	0,054	0,619	0,688	0,897
Média	0,86 ^b		0,91 ^a										

H: hepatoprotetor; E: energia; T: tempo; EPM: erro padrão da média; ^{ab} Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha e ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

A glicose sanguínea em ruminantes sofre pouca variação na concentração em função do período de alimentação, em virtude de sua síntese ocorrer principalmente através gliconeogênese hepática. Porém, a redução no índice glicêmico de vacas lactantes no período pós-prandial, tal qual observado neste estudo, apesar de menos reportada, pode ocorrer em função do status metabólico. Conforme estudos recentes (HERRICK et al. 2017; ZARRIN et al. 2017) que constatarem mudanças no metabolismo glicídico de vacas em lactação em função da condição de hipercetonemia.

Vacas lactantes em balanço energético positivo produzem corpos cetônicos no epitélio ruminal a partir da conversão do butirato. Logo, em virtude do estímulo a fermentação ruminal no período pós-prandial, é comum o incremento da concentração plasmática de BHB, o qual é o principal corpo cetônico circulante em ruminantes (HERRICK et al. 2017).

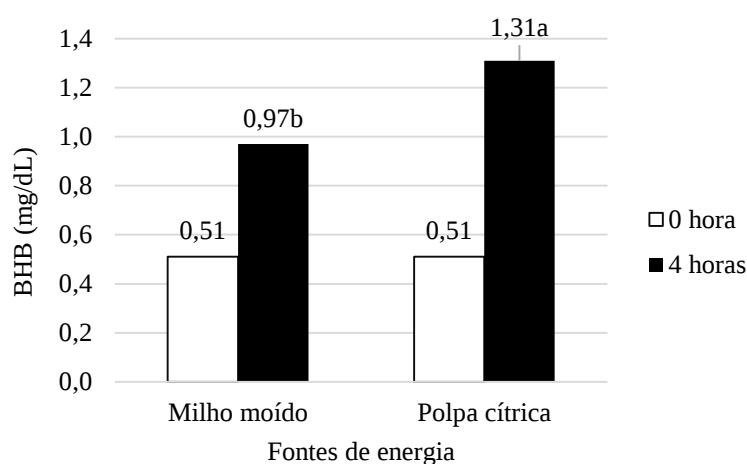


Gráfico 1. Interação entre a fonte de energia na dieta e o tempo de coleta para a variável β -hidroxibutirato

Considerado uma fonte alternativa de energia para o metabolismo de ruminantes, o BHB tem sido apontado como regulador metabólico da gliconeogênese e da lipólise, capaz de reduzir a glicemia quando em alta concentração no sangue (ZARRIN et al. 2017). Baseado nisso, é possível inferir que o aumento pós-prandial do BHB plasmática ocasionou redução na glicose sanguínea das vacas. Zarrin et al. (2013) sugere que, o efeito inibitório do BHB na produção de glicose esteja relacionado a redução da atividade de enzimas envolvidas na gliconeogênese hepática.

Tabela 4. Concentrações séricas de colesterol total, HDL, VLDL e LDL de vacas em lactação sob efeito de fontes de energia em associação a um hepatoprotetor na dieta

Hepatoprotetor	Fontes de energia				Média	EPM	Valor <i>P</i>						
	Milho moído		Polpa cítrica				H	E	H x E	T	T x H	T x E	T x E x H
	0 g	50g	0 g	50g									
Colesterol total (g/dL)													
0 hora	216	210	231	221	219								
4 horas	213	219	238	220	223	4,05	0,265	0,003	0,144	0,481	0,704	0,920	0,123
Média	214 ^b		228 ^a										
Colesterol-HDL (g/dL)													
0 hora	137	137	131	129	133								
4 horas	132	133	130	128	130	2,32	0,818	0,005	0,5498	0,202	0,746	0,246	0,840
Média	135 ^a		129 ^b										
Colesterol-VLDL (g/dL)													
0 hora	3,80	3,63	3,77	3,51	3,68 ^A								
4 horas	3,56	3,47	3,15	3,47	3,41 ^B	0,07	0,708	0,727	0,788	0,031	0,2884	0,933	0,383
Média	3,62		3,48										
Colesterol-LDL (g/dL)													
0 hora	90,8	78,5	103	92,1	91,0								
4 horas	78,2	83,9	88,0	96,5	86,7	2,35	0,335	0,001	0,897	0,146	0,002	0,444	0,993
Média	82,9 ^b		94,8 ^a										
AST (U/L)													
0 hora	66,9	42,5	69,4	68,4	67,3								
4 horas	67,6	48,5	72,2	69,7	69,1	1,57	0,511	0,044	0,872	0,639	0,909	0,917	0,469
Média	66,4 ^b		70,0 ^a										
GGT (U/L)													
0 hora	30,6	29,2	29,6	30,6	30,0								
4 horas	30,6	28,6	30,1	30,1	29,8	0,59	0,524	0,752	0,327	0,967	0,712	0,950	0,775
Média	29,8		30,1										

HDL = lipoproteínas de alta densidade; LDL = lipoproteínas de baixa densidade; VLDL = lipoproteínas de muito baixa densidade; H: hepatoprotetor; E: energia; T: tempo; EPM: erro padrão da média; ^{ab} Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha e ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma coluna diferem pelo teste de Tukey (P<0,05).

Além disso, o acúmulo de BHB sanguíneo no estado alimentado pode afetar a mobilização do tecido adiposo através da redução da lipólise (ROJAS-MORALES et al. 2016). Por esse motivo, no presente estudo, os níveis séricos de triglicerídeos sofreram redução, que favoreceu também o declínio na síntese de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), que são os principais transportadores dos triglicerídeos no sangue.

Mudanças na utilização de combustíveis metabólicos pelos tecidos podem ser ocasionadas tanto pelo suprimento, como por interações pós-absortivas dos nutrientes da dieta (NICHOLS et al. 2019). Assim, a disponibilidade do substrato energético possibilita o ajuste da hierarquia na partição dos nutrientes para suportar a demanda metabólica.

Além disso, o perfil metabólico de vacas lactantes sofre influência dos produtos da fermentação microbiana dos carboidratos. Logo, dietas com polpa cítrica podem favorecer o aumento na produção de acetato e butirato ruminal (FERRARI et al. 2016; OLTRAMARI et al. 2016), que são utilizados como substratos da lipogênese e cetogênese nos tecidos. Certamente, o incremento na síntese de lipídios e corpos cetônicos nas dietas com polpa cítrica, impulsionaram os níveis séricos de AGNE e BHB.

O acetato originado da fermentação microbiana é convertido a acetil-CoA, o qual é o principal precursor lipogênico da biossíntese de ácidos graxos e colesterol em ruminantes (URRUTIA e HARVATINE, 2017). Isto corrobora não apenas com as concentrações plasmáticas de AGNE, mas também com a diferença detectada para o colesterol total nas dietas com polpa cítrica como fonte de energia.

Assim, o acúmulo de acetil-CoA nos adipócitos de vacas recebendo polpa cítrica são capazes de elevar os níveis séricos de AGNE, e como reflexo a albumina plasmática, em virtude do estímulo a síntese de ácidos graxos, que são transportados na corrente sanguínea associados a albumina. Semelhante este estudo, Leiva et al. (2017) constataram aumento das concentrações de AGNE no plasma de vacas em lactação recebendo polpa cítrica em comparação com o milho moído na dieta.

Tabela 5. Concentrações séricas de ureia, proteínas totais, albumina, globulina e razão albumina : globulina de vacas em lactação sob efeito de fontes de energia em associação a um hepatoprotetor na dieta

Hepatoprotetor	Fontes de energia				Média	EPM	Valor <i>P</i>						
	Milho moído		Polpa cítrica				H	E	H x E	T	T x H	T x E	T x H x E
	0 g	50g	0 g	50g									
Ureia (mg/dL)													
0 hora	44,7	42,5	45,6	45,9	44,7 ^B								
4 horas	47,2	48,5	49,2	47,1	48,0 ^A	0,50	0,502	0,187	0,999	0,001	0,927	0,424	0,153
Média	45,7		47,0										
Proteínas totais (mg/dL)													
0 hora	9,26	9,12	8,99	9,18	9,14 ^A								
4 horas	8,96	8,80	8,80	8,77	8,83 ^B	0,04	0,688	0,262	0,110	<0,001	0,098	0,966	0,579
Média	9,04		8,94										
Albumina (g/dL)													
0 hora	3,27	3,27	3,42	3,33	3,32 ^A								
4 horas	3,19	3,22	3,24	3,27	3,23 ^B	0,02	0,821	0,016	0,432	0,004	0,270	0,461	0,486
Média	3,24 ^b		3,32 ^a										
Globulinas (g/dL)													
0 hora	5,99	5,85	5,57	5,86	5,81 ^A								
4 horas	5,77	5,58	5,56	5,50	5,60 ^B	0,05	0,618	0,028	0,059	0,005	0,129	0,575	0,308
Média	5,80 ^a		5,62 ^b										
Razão albumina : globulinas													
0 hora	0,55	0,56	0,62	0,57	0,57								
4 horas	0,56	0,58	0,59	0,59	0,58	0,007	0,877	0,005	0,136	0,599	0,111	0,509	0,264
Média	0,57 ^b		0,59 ^a										

H: hepatoprotetor; E: energia; T: tempo; EPM: erro padrão da média; ^{ab} Médias seguidas por letras minúsculas na mesma linha e ^{AB} Médias seguidas por letras maiúsculas na mesma coluna diferem pelo si pelo teste de Tukey (P<0,05),

Acrescido a isso, é provável que o acetil-CoA proveniente da fermentação da polpa cítrica tenha favorecido a síntese de colesterol, resultando no aumento do LDL plasmático, que é a principal lipoproteína que transporta o colesterol do fígado para os tecidos extra-hepáticos.

Além do mais, as concentrações séricas da fração LDL nas dietas sem a inclusão do hepatoprotetor apresentaram redução no período pós-prandial. Enquanto, o fornecimento do hepatoprotetor contribuiu para o incremento dos valores plasmáticos de colesterol-LDL. Škottová & Krečman (1998) e Škottová et al. (1999) sugerem que, a fração polifenólica da *Cardus marianus*, extrato da planta presente no hepatoprotetor, possui a capacidade de evitar o acúmulo de lipídios no fígado, afetando a atividade lipoperoxidativa e, por consequência, o perfil de lipoproteínas no plasma.

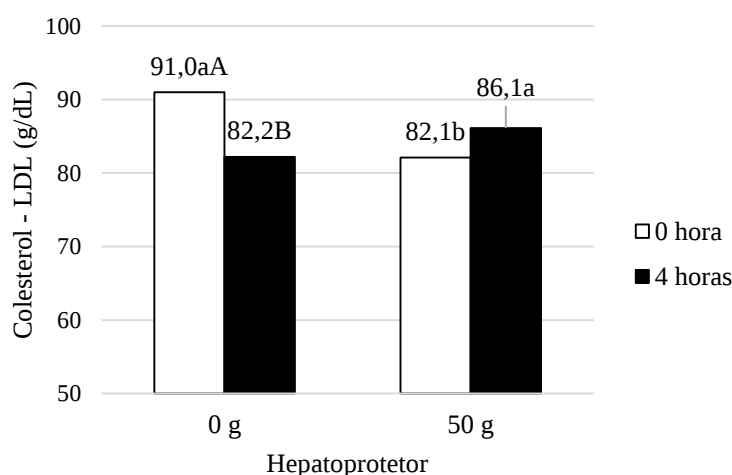


Gráfico 2. Interação entre hepatoprotetor e o tempo de coleta para a variável colesterol - LDL

O incremento na síntese de colesterol nos hepatócitos pôde ainda, ter impulsionado a atividade da enzima alanina aminotransferase (AST), como relatado por Cavestany et al. (2005), que verificaram uma correlação positiva entre os níveis séricos de AST e colesterol total na dieta de vacas lactantes. Variações na concentração de AST no sangue são indicativo de aumento da atividade nos hepatócitos (STOJEVIĆ et al. 2005). Embora neste estudo, a enzima não apresentou níveis elevados capazes de sugerir uma sobrecarga hepática, uma vez que estavam dentro da faixa dos padrões plasmáticos de 105 ± 27 U/L sugeridos por Kaneko (2008).

Enquanto isso, as dietas ricas em amido contribuíram para o acréscimo da fração HDL, o qual constitui na fração do colesterol que retorna dos tecidos para o fígado através de transporte reverso (KESSLER et al. 2014). Dado a composição química das dietas ricas em amido, é possível que o maior teor de extrato etéreo observado nos grãos de milho em comparação a polpa cítrica (4.29 vs. 2.30 g/kg), tenha influenciado no aumento da absorção intestinal de lipídios. De modo que, foi capaz de estimular a produção de lipoproteínas intestinais e, por consequência, a síntese de HDL, a qual é a principal lipoproteína encontrada no plasma de ruminantes (BAUCHART, 1993).

Lashkari et al. 2017 constataram, tal qual o presente estudo, incremento nos níveis séricos de colesterol em função da inclusão de polpa de laranja na dieta de cordeiros. Em contraste, as frações LDL e HDL do colesterol não sofreram influência da substituição do milho por polpa de laranja na dieta. Essa disparidade no status metabólico entre os estudos, pode ter ocorrido em virtude da diferença existente na condição fisiológica dos animais, como na composição das dietas. Dado que, o perfil de nutrientes absorvidos sofrem partição coordenada por uma escala fisiológica de prioridades.

Contudo, as concentrações plasmáticas de ureia em ruminantes basicamente são reflexo da ingestão de alimento. Assim, a degradação microbiana da proteína dietética no período pós-prandial incrementa a concentração de amônia no rúmen, a qual é absorvida através do epitélio ruminal para a corrente sanguínea. O acúmulo de compostos nitrogenados nos hepatócitos estimula a produção de ureia, que favorece o aumento do nitrogênio ureico no plasma (PATRA, 2015).

Pelo mesmo motivo, o fornecimento das dietas no presente estudo provocaram aumento dos níveis séricos de ureia. Enquanto que, de maneira oposta, as concentrações plasmáticas de proteínas totais, albumina e globulinas sofreram declínio no período pós-prandial. As proteínas totais são sintetizadas principalmente no fígado, e refletem as concentrações da albumina e das globulinas séricas, que são as principais proteínas do sangue (KANEKO, 2008).

Baseado nisso, é possível inferir que a redução na taxa de síntese de proteínas constatadas no presente estudo, esteja relacionada ao estado nutricional das vacas após o fornecimento da dieta. Além disso, a restrição alimentar imposta pelo estado pós-absortivo pode ter favorecido o aumento na síntese de proteínas séricas, que constituem uma importante reserva proteica no metabolismo animal.

Com base no exposto, apesar das implicações constatadas das fontes de energia sobre os parâmetros sanguíneos das vacas, mudanças significativas não decorreram do

uso da dosagem diária de 50g no hepatoprotetor para as vacas no terço médio da lactação durante o período de realização do experimento. Indicando que, novos estudos devem considerar a utilização de hepatoprotetores com o intuito de verificar implicações com a fonte de energia na dieta sobre o status metabólico de vacas lactantes. Visto que, pesquisas usando hepatoprotetores em dietas de animais em lactação são escassas

Conclusão

As dietas com milho moído impulsionaram a síntese de nutrientes glicogênicos, ao passo que, a polpa cítrica alterou o status lipídico das vacas.

O hepatoprotetor contribuiu para incremento pós-prandial das concentrações séricas do colesterol-LDL.

Referências

- BAUCHART, D. Lipid absorption and transport in ruminants. **Journal of dairy science**, n. 76, v. 12, p. 3864-3881, 1993.
- BAUMGARD, L. H; COLLIER, R. J.; BAUMAN, D. E. A 100-Year Review: Regulation of nutrient partitioning to support lactation. **Journal of Dairy Science**, n. 100, p. 10353-10366, 2017.
- CAVESTANY, D., BLANC, J. E., KULCSAR, M. et al. Studies of the transition cow under a pasture-based milk production system: metabolic profiles. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, n. 52, v. 1, p. 1-7, 2005.
- DETMANN, E., SOUZA, M.A., VALADARES FILHO, S.C. et al. **Métodos para análises de alimentos**. Instituto Nacional de Ciencia e Tecnologia – INCT (Suprema: Visconde do Rio Branco, Brazil), 2012.
- FERRARETTO, L. F. **Impact of Starch Content and Digestibility in Dairy Cattle Diets**. In: 28th Annual Florida Ruminant Nutrition Symposium 770, p. 112-123, 2017.
- FERRARI, V. B.; CÔNSOLO, N. R. B.; RODRIGUEZ, F. et al. 1526 Partial replacement of ground corn by citrus pulp or steam-flaked corn fed at two concentrate levels on rumen parameters and kinetics. **Journal of Animal Science**, n. 94 (suppl_5), p. 741-741, 2016.
- FRIEDEWALD, W. T, LEVY, R. I; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical chemistry**, n. 18, v. 6, p. 499-502, 1972.
- GIRISH, C., PRADHAN, S. C. **Herbal drugs on the liver**. In: Liver Pathophysiology. Academic Press, 2017. p. 605-620.

- HERRICK, K. J.; HIPPEN, A. R.; KALSCHEUR, K. F. et al. Single-dose infusion of sodium butyrate, but not lactose, increases plasma β -hydroxybutyrate and insulin in lactating dairy cows. **Journal of dairy science**, n. 100, v. 1, p. 757-768, 2017.
- KESSLER, E. C.; GROSS, J. J.; BRUCKMAIER, R. M. et al. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. **Journal of dairy science**, n. 97, v. 9, p. 5481-5490, 2014.
- KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (Eds.). (2008). **Clinical biochemistry of domestic animals**. Academic press.
- LASHKARI, S.; TAGHIZADEH, A.; PAYA, H. et al. Growth performance, nutrient digestibility and blood parameters of fattening lambs fed diet replacing corn with orange pulp. **Spanish journal of agricultural research**, n. 15, v. 1, p. 21, 2017.
- LEIVA, T., COOKE, R. F., BRANDÃO, A. P. et al. Effects of concentrate type and chromium propionate on insulin sensitivity, productive and reproductive parameters of lactating dairy cows consuming excessive energy. **Animal**, n. 11, v. 3, p. 436-444, 2017.
- National Research Council. (2001). 'Nutrient requirements of dairy cattle.' (6nd edn). (National Academies Press: Washinton, DC)
- NICHOLS, K.; DIJKSTRA, J.; VAN LAAR, H. et al. Energy and nitrogen partitioning in dairy cows at low or high metabolizable protein levels is affected differently by postrumen glucogenic and lipogenic substrates. **Journal of dairy science** n. 102, p. 395-412, 2019.
- OLTRAMARI, C. E.; NÁPOLES, G. G. O.; DE PAULA, M. R. Performance and metabolism of dairy calves fed starter feed containing citrus pulp as a replacement for corn. **Animal Production Science**, n. 58, v. 3, p. 561-567, 2018.
- PATRA, A. K. **Urea/ammonia metabolism in the rumen and toxicity in ruminants**. In Rumen Microbiology: from evolution to revolution (pp. 329-341). Springer, New Delhi, 2015.
- PUPPEL, K., & KUCZYŃSKA, B. Metabolic profiles of cow's blood; a review. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, n. 96, v. 13, p. 4321-4328, 2016.
- ROJAS-MORALES, P., TAPIA, E.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. β -Hydroxybutyrate: a signaling metabolite in starvation response?. **Cellular signalling**, n. 28, v. 8, p. 917-923, 2016.
- SNIFFEN, C. J.; O'CONNOR, J. D.; VAN SOEST, P. J. et al. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: II. Carbohydrate and protein availability. **Journal of animal science**, n. 70, p. 3562-3577, 1992.

ŠKOTTOVÁ, N.; KREČMAN, V. Silymarin as a potential hypocholesterolaemic drug. **Physiol Res**, v. 47, p. 1-7, 1998.

ŠKOTTOVÁ, N.; KREČMAN, V.; ŠIMÁNEK, V. **Activities of silymarin and its flavonolignans upon low density lipoprotein oxidizability in vitro**. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, v. 13, p. 535-537, 1999.

STOJEVIĆ, Z., PIRŠLJIN, J., MILINKOVIĆ-TUR, S. et al. Activities of AST, ALT and GGT in clinically healthy dairy cows during lactation and in the dry period. **Veterinarski arhiv**, n. 75, v. 1, p. 67-73, 2005.

TAJMOHAMMADI, A.; RAZAVI, B. M.; HOSSEINZADEH, H. Silybum marianum (milk thistle) and its main constituent, silymarin, as a potential therapeutic plant in metabolic syndrome: A review. **Phytotherapy research**, n. 32, v. 10, p. 1933-1949, 2018.

ULGER, I.; ONMAZ, A. C.; AYAŞAN, T. Effects of silymarin (Silybum marianum) supplementation on milk and blood parameters of dairy cattle. **South African Journal of Animal Science**, n. 47, v. 6, p. 758-765, 2017.

URRUTIA, N. L.; HARVATINE, K. J. Acetate dose-dependently stimulates milk fat synthesis in lactating dairy cows. **The Journal of nutrition**, n. 147, v. 5, p. 763-769, 2017.

ZARRIN, M.; DE MATTEIS, L.; VERNAY, M. C. M. B. et al. Long-term elevation of β -hydroxybutyrate in dairy cows through infusion: Effects on feed intake, milk production, and metabolism. **Journal of Dairy Science**, n. 96, v. 5, p. 2960-2972, 2013.

ZARRIN, M.; GROSSEN-RÖSTI, L.; BRUCKMAIER, R. M. E et al. Elevation of blood β -hydroxybutyrate concentration affects glucose metabolism in dairy cows before and after parturition. **Journal of Dairy Science**, n. 100, v. 3, p. 2323-2333, 2017.

WANKHADE, P. R.; MANIMARAN, A.; KUMARESAN, A. et al. Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review. **Veterinary world**, n. 10, v. 11, p. 1367, 2017.

ANEXO I – CERTIFICADO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



Universidade
Federal da
Paraíba

Comissão de Ética no
Uso de Animais

Reitoria



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Hepatoprotetor na dietas de vacas em lactação confinadas", protocolada sob o CEUA nº 4117200519 (ID 000702), sob a responsabilidade de **Severino Gonzaga Neto e equipe; Jessyca Karen Pinheiro** - 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 Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 19/06/2019.

We certify that the proposal "Hepatoprotective in the diets of confined lactating cows", utilizing 16 Bovines (16 females), protocol number CEUA 4117200519 (ID 000702), under the responsibility of **Severino Gonzaga Neto and team; Jessyca Karen Pinheiro** - 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 Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 06/19/2019.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa (Acadêmica)**

Vigência da Proposta: de **08/2019 a 10/2019**

Área: **Zootecnia**

Origem: **Módulo Didático-Produtivo de Bovinocultura CCA**

Espécie: **Bovinos**

sexo: **Fêmeas**

idade: **2 a 6 anos**

N: **16**

Linhagem: **Raça Girolando em diferentes graus de sangue**

Peso: **468 a 638 kg**

Local do experimento: O experimento será conduzido na Módulo Didático-Produtivo de Bovinocultura Leiteira pertencente ao Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba, localizada no município de Areia, Paraíba (latitude de 06°57'48"S; longitude 35°41'30"W).

João Pessoa, 20 de junho de 2019

Profa. Dra. Islania Gisela Albuquerque Gonçalves
Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra
Vice-Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
Universidade Federal da Paraíba