

## COLINA PROTEGIDA DA DEGRADAÇÃO RUMINAL E SEU EFEITO NA PREVENÇÃO DA TOXEMIA DA GESTAÇÃO EM OVELHAS LEITEIRAS

Andressa Alaine Michailoff<sup>1</sup>  
Dom Diego Dall Agnol<sup>1</sup>  
Anderson Elias Bianchi<sup>2</sup>  
Fabiano Samuel Balistieri<sup>3</sup>  
Eliana Lucia Fiorentin<sup>4</sup>  
Ricardo Xavier Rocha<sup>5</sup>  
Jose Francisco Manta Bragança<sup>6</sup>

### RESUMO

Neste trabalho, teve-se como objetivo avaliar a suplementação de colina protegida da degradação ruminal em ovelhas leiteiras e seu papel na prevenção de toxemia da gestação. Foram utilizadas 20 ovelhas da raça Lacaune, divididas em dois grupos experimentais, controle (GC, n = 10), que recebeu somente a dieta pré-parto e grupo tratado (GCP, n = 10), que, além da dieta pré-parto, recebeu 25g de colina protegida da degradação ruminal a partir do 110º dia de gestação até a última semana de antecedência da data prevista do parto. As coletas de sangue para mensuração de cetonas sanguíneas foram realizadas no 110º dia de gestação (dia zero), 117º dia de gestação (dia sete), 124º dia de gestação (dia 14), 131º dia de gestação (dia 21) e 138º dia de gestação (dia 28), e o nível de colesterol sérico foi avaliado no 124º dia de gestação (dia 14), 131º dia de gestação (dia 21) e 138º dia de gestação (dia 28). A ocorrência de doença clínica de cetose (Toxemia da Gestação) também foi acompanhada durante o período do experimento nos dois grupos. Os valores de cetonas sanguíneas foram inferiores no GCP a partir do dia 14 do experimento, enquanto que os valores de colesterol foram superiores nesse mesmo grupo no dia 28. Em relação à ocorrência da toxemia da gestação, nenhum animal manifestou sinais dessa doença no GCP, enquanto que no GC, um animal apresentou quadro clínico e dois, a forma subclínica da doença. Conclui-se que a suplementação de 25g/dia de colina protegida da degradação ruminal para ovelhas leiteiras a partir do 110º dia de gestação até a última semana de antecedência da data prevista do parto reduziu os efeitos do balanço energético negativo e a incidência de casos de cetose no terço final de gestação.

**Palavras-chave:** ovinos, cetose, suplementação, metabolismo energético.

### RUMEN PROTECTED CHOLINE AND ITS EFFECT ON THE PREVENTION OF PREGNANCY TOXEMIA IN DAIRY EWES

#### ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the supplementation of choline protected from ruminal degradation in dairy sheep and its role in the prevention of pregnancy toxemia. Twenty Lacaune ewes were used and divided into two groups, control group (GC, n =10) received only the diet pre-partum and treated group (GCP, n=10), which in addition to the pre-partum

<sup>1</sup> Acadêmico(a) do Curso de Zootecnia da Universidade do Oeste de Santa Catarina

<sup>2</sup> Zootecnista Cabanha Chapecó

<sup>3</sup> Médico-veterinário

<sup>4</sup> Laboratório de Análises Clínicas da Universidade do Oeste de Santa Catarina

<sup>5</sup> Setor de Grandes Animais, Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC. Correspondência

<sup>6</sup> Setor de Ovinocultura, Universidade do Oeste de Santa Catarina

diet received 25g of rumen protected choline from the 110<sup>th</sup> day of pregnancy until the last week prior to the expected date of delivery. Blood samples for measurement the blood ketones performed in 110<sup>th</sup> of gestation (day zero), 117<sup>th</sup> days of gestation (day seven), 124<sup>th</sup> day of gestation (day 14), 131<sup>th</sup> days of gestation (day 21) and 138<sup>th</sup> day gestation (day 28) and serum cholesterol level was assessed at 124<sup>th</sup> days of gestation (day 14), 131<sup>th</sup> days of gestation (day 21) and 138 days of gestation (day 28). The occurrence of disease clinical ketosis (Pregnancy Toxemia) was also monitored during the experiment in both groups. The amounts of ketones in the blood were lower GCP from day14 of the experiment, while cholesterol values were higher in the same group on day 28. For the occurrence of pregnancy toxemia, no animal showed signs of this disease in the GCP, but in the control group, one animal showed clinical and two animals presents sub clinical ketosis. Concludes that the 25g/day choline supplementation protected from ruminal degradation for dairy sheep from the 110<sup>th</sup> day of pregnancy until the last week prior to the expected date of delivery reduced the effects of negative energy balance and the incidence of ketosis in the final third of gestation in sheep.

**Keywords:** sheep, ketosis, supplementation, energy metabolism.

## **COLINA PROTEGIDA DE LA DEGRADACIÓN RUMINAL Y SU EFECTO EN LA PREVENCIÓN DE LA TOXEMIA DE LA GESTACIÓN EN OVEJAS LECHERAS**

### **RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue analizar los efectos del aporte alimentar de colina protegida de la degradación ruminal en ovejas lecheras y su papel en la prevención de la cetosis. Fueron empleadas 20 ovejas de la raza Lacaune con edad entre 3 a 5 años y divididas en dos grupos experimentales: control (GC, n=10) el cual recibió apenas la dieta pré parto y el grupo tratado (GCP, n=10) el cual además de dicha dieta los animales recibieron 25 g de colina protegida a partir del 110° día de gestación hasta la última semana anterior al parto. Las muestras de sangre para mensurar cetonas sanguíneas fueron realizadas en los días 110° (día cero), 117° (día 7), 124° (día 14), 131° (día 21) y 138° (día 28) de la preñez. Los niveles de colesterol sérico fueron evaluados entretanto en los días 124° (día 14), 131° (día 21) y 138° (día 28) de dicho período. La ocurrencia de la enfermedad clínica de Cetosis (toxemia de la gestación) también fue acompañada durante el período experimental en los dos grupos. Los valores para cetonas sanguíneas fueron inferiores en el grupo GCP a partir del día 14 del experimento, mientras que los valores de colesterol fueron superiores en este mismo grupo en el día 28. En relación a la ocurrencia de cetosis ningún animal manifestó señales de esta alteración en el grupo GCP, entretanto, en el grupo GC un animal manifestó el cuadro clínico y dos el sub clínico de la enfermedad. De esta forma, se puede concluir que el suplemento de 25 g /día de colina protegida de la degradación ruminal en la dieta para ovejas lecheras a partir del 110° día de gestación hasta la última semana anterior al parto redujo los efectos del balance energético negativo y la incidencia de casos de cetosis en el tercio final de la gestación.

**Palabras clave:** ovinos, cetosis, metabolismo energético.

### **INTRODUÇÃO**

O final da gestação é o período mais crítico para a ovelha na regulação do metabolismo energético. Nesse período, principalmente nas últimas seis semanas, ocorre o maior desenvolvimento fetal associado a uma redução no consumo voluntário de alimentos e

elevação das exigências nutricionais da ovelha gestante (1). O balanço energético negativo, no final da gestação, é o responsável pelo desenvolvimento de uma doença chamada de toxemia da gestação (2). A toxemia da gestação é resultado da elevação da concentração sérica de corpos cetônicos, sendo o distúrbio metabólico de maior ocorrência no final dessa fase (1) e a principal causa de mortalidade de ovelhas no pré-parto (3). A doença é caracterizada por alterações no metabolismo da glicose e aumento dos níveis séricos de corpos cetônicos resultantes de uma incapacidade do animal em fazer a manutenção do equilíbrio do metabolismo energético (4). Ela ocorre, principalmente, em animais obesos devido ao depósito de gordura hepática, o que interfere no metabolismo do fígado (5). Van Sun (6) verificou que a toxemia da gestação ocorre em ovelhas com condição corporal excessiva no terço final da gestação. O acúmulo de gordura intra-abdominal e a presença dos fetos e/ou fetos grandes resulta em uma redução no consumo voluntário de alimentos. O balanço energético negativo nesse período resulta no aumento da lipólise, pela ação da lipase no tecido adiposo e, conseqüentemente, na elevação dos níveis séricos de ácidos graxos não-esterificados (AGNES). Esses AGNES são transportados ao fígado onde são oxidados, o que resultará na formação de corpos cetônicos (7) ou depósito de gordura nesse órgão, conhecido como esteatose hepática (8).

Da mesma forma como as ovelhas passam por estresse energético no final da gestação (2), as vacas leiteiras de alta produção também enfrentam desafio energético. No entanto, nas fêmeas bovinas, o momento mais crítico é o período de três semanas antes do parto e as três primeiras semanas de lactação, chamado de período de transição (8). Em vacas leiteiras, Piepenbrink e Overton (9) sugeriram que a suplementação de colina protegida da degradação ruminal pode aumentar a síntese de VLDL, o que resultaria em um menor depósito de gordura hepática e também uma menor formação de corpos cetônicos.

Assim, o objetivo neste trabalho foi avaliar o efeito da suplementação de colina protegida da degradação ruminal em ovelhas leiteiras no período pré-parto na cetogênese, colesterol sérico e risco de toxemia da gestação.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi realizado em uma propriedade criadora de ovinos leiteiros, localizada no município de Chapecó, região oeste de Santa Catarina, e foi dividido em dois momentos: o primeiro, nos meses de dezembro de 2012 e janeiro de 2013 e o segundo, em maio e junho de 2013. Na primeira etapa, foi realizada a sincronização de estro das ovelhas com protocolo de curta duração, utilizando pessários vaginais de acetato de medroxi-progesterona (MAP), por um período de seis dias, e uma aplicação de análogo de prostaglandina na dose de 25µg retirada do pessário. Após a retirada dos pessários, as fêmeas foram expostas, por um período de cinco dias, a carneiros aprovados no exame andrológico. O diagnóstico de gestação foi realizado 35 dias após as coberturas. Na segunda etapa do experimento (maio-junho), utilizaram-se 20 ovelhas da raça Lacaune, com idade entre três e cinco anos e condição corporal (ECC) entre 3.5 e 4.0 (escala entre 1 e 5), divididas em dois grupos experimentais: controle (GC, n = 10), que recebeu somente a dieta pré-parto, e grupo tratado (GCP, n = 10), que recebeu 25g de colina protegida da degradação ruminal a partir do 110º dia de gestação até a última semana de antecedência da data prevista do parto. A dieta pré-parto foi oferecida em duas refeições diárias e consistiu de silagem de milho *ad libitum* (aproximadamente 3kg/ovelha) e 400g de concentrado com 17% de proteína bruta.

As coletas de sangue para mensuração de cetonas sanguíneas foram realizadas no 110º de gestação (dia zero), 117º dia de gestação (dia sete), 124º dia de gestação (dia 14), 131º dia de gestação (dia 21) e 138º dia de gestação (dia 28). Essa mensuração foi feita com o aparelho OptiunXcced – (Abbott Diabetes Care Ltda., Rio de Janeiro – RJ, Brasil). A dosagem de

colesterol sérico foi feita por meio de método enzimático com o uso de analisador semiautomático (BioPlus2000® - Bioplus Produtos para Laboratórios LTDA – Barueri –SP, Brasil). O parâmetro foi avaliado no 124º dia de gestação (dia 14), 131º dia de gestação (dia 21) e 138º dia de gestação (dia 28). A ocorrência de doença clínica de cetose (Toxemia da Gestação) também foi acompanhada durante o período do experimento nos dois grupos.

Para cetonas sanguíneas e colesterol sérico, a análise estatística constou do teste “t” de student para comparação de média entre os grupos, e, para a ocorrência de toxemia da gestação, utilizou-se o teste qui-quadrado, sendo estas processadas por meio do software “Graphpad Instat” (Graphpad software – San Diego – Califórnia, USA).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de cetonas sanguíneas foram inferiores no grupo suplementado com colina protegida da degradação ruminal (GCP) quando comparado ao grupo controle (GC) a partir do dia 14 do experimento (124º dia de gestação) (Tabela 1).

Tabela 1. Média  $\pm$  desvio padrão de cetonas sanguíneas (mmol/L), nos dias zero (110º dia de gestação), sete (117º dia de gestação), 14 (124º dia de gestação), 21 (131º dia de gestação) e 28 (138º dia de gestação) do experimento no grupo controle (GC) e grupo suplementado com colina protegida da degradação ruminal (GCP).

	Cetonas séricas (mmol/L)				
	Dia zero	Dia 7	Dia 14	Dia 21	Dia 28
GC	0,58 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	0,53 $\pm$ 0,31 <sup>a</sup>	0,91 $\pm$ 0,71 <sup>a</sup>	0,72 $\pm$ 0,87 <sup>a</sup>	0,96 $\pm$ 1,43 <sup>a</sup>
GCP	0,44 $\pm$ 0,21 <sup>a</sup>	0,37 $\pm$ 0,14 <sup>a</sup>	0,37 $\pm$ 0,15 <sup>b</sup>	0,44 $\pm$ 0,19 <sup>a</sup>	0,30 $\pm$ 0,10 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup>Letras diferentes na coluna dos dias indicam que houve diferença estatística entre os grupos.

Ovelhas expostas ao balanço energético negativo no final da gestação correm o risco de desenvolverem a doença clínica conhecida como Toxemia da Gestação. Nesse contexto, a mensuração de cetonas sanguíneas serve como diagnóstico para identificação dessa alteração (10). Andrews et al. (11) sugeriram que valores de cetonas sanguíneas acima de 0,7mmol/L indicam risco para essa enfermidade em rebanhos ovinos. Brozos et al. (12) comentaram sobre a importância de um diagnóstico precoce e correto de distúrbios metabólicos subclínicos, como por exemplo, a toxemia da gestação. O diagnóstico antecipado, antes da doença clínica, permite a adoção de medidas preventivas em rebanhos na faixa de risco da doença (acima de 0,7mmol/L de cetonas sanguíneas). A suplementação de colina protegida da degradação ruminal mostrou-se uma importante estratégia para reduzir o risco de cetose em ovelhas no final da gestação, (Toxemia da Gestação) já que houve uma diminuição significativa ( $P < 0,05$ ) nos valores de cetonas sanguíneas a partir do dia 14 do experimento (124º dia de gestação). Essa redução explica-se pelo papel da colina no metabolismo de lipídeos. Segundo Andriquetto et al. (13), ela participa na homeostase de diversos processos metabólicos, podendo ser classificada como vitamina do Complexo B, e sua deficiência pode acarretar, entre outras coisas, no depósito de gordura no fígado. Grummer (8) comentou que se perde em torno de 97% da colina quando suplementada de forma não protegida da degradação ruminal e que alguns trabalhos com colina protegida alcançam 85% de proteção ruminal. Ovelhas, no terço final de gestação, apresentam redução na ingestão voluntária de matéria seca e têm exigências nutricionais aumentadas nesse mesmo momento. Sendo assim, dependem da mobilização das reservas corpóreas, principalmente gordura, para a manutenção do equilíbrio energético, o que predispõe ao surgimento de complexo cetose/lipidose hepática. Berchielli et al. (14) afirmaram que a principal função da colina é participar na exportação da gordura do fígado por meio do VLDL. A melhora no *status* energético nas ovelhas no terço

final de gestação, observada neste trabalho pela redução das cetonas sanguíneas de ovelhas suplementadas com colina protegida da degradação ruminal, também é observada em vacas leiteiras de alta produção. Cooke (15), trabalhando com vacas em lactação suplementadas com colina protegida, observou menor concentração sérica de AGNES, menor depósito de gordura hepática e, conseqüentemente, redução do risco de desenvolvimento do complexo cetose/lipidose hepática.

Para os valores de colesterol sérico, houve diferença estatística no dia 28 do experimento (138º dia de gestação), sendo estes mais elevados nos animais suplementados com colina protegida da degradação ruminal ( $P < 0,05$ ) (Tabela 2).

Tabela 2. Média  $\pm$  desvio padrão de colesterol sérico (mg/dL) nos dias 14 (124º dia de gestação), 21 (131º dia de gestação) e 28 (138º dia de gestação) do experimento no grupo controle (GC) e grupo suplementado com colina protegida da degradação ruminal (GCP).

	Colesterol (mg/dL)		
	Dia 14	Dia 21	Dia 28
GC	59,94 $\pm$ 5,97 <sup>a</sup>	68,82 $\pm$ 7,06 <sup>a</sup>	60,32 $\pm$ 5,65 <sup>a</sup>
GCP	57,78 $\pm$ 6,05 <sup>a</sup>	73,78 $\pm$ 3,48 <sup>a</sup>	69,47 $\pm$ 3,01 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup>Letras diferentes na coluna dos dias indicam que houve diferença estatística entre os grupos.

Nenhum dos grupos (GC e GCP) apresentou valores para colesterol sérico inferiores ao fisiológico para a espécie. Esses valores, segundo Kaneko et al. (16), devem ficar entre 52 e 76mg/dL. No entanto, no dia 28 do experimento (138º dia de gestação), pelos valores de colesterol sérico superior no grupo suplementado com colina protegida, pode-se sugerir um maior consumo de matéria seca nesse grupo, quando comparado ao grupo controle, o que estaria diretamente relacionado ao *status* energético. Herdt (1) citou que pode haver uma redução significativa no consumo de alimentos no último terço de gestação em ovelhas, principalmente na última semana. Isso parece estar associado à redução de espaço ruminal pela presença do útero gravídico e também pela redução do consumo voluntário de matéria seca em animais que apresentam quadro de cetose clínica e/ou subclínica, característico dessa fase em ovinos (5). Como em ruminantes o principal local de síntese de colesterol é no intestino, os seus níveis séricos sofrem influência da ingestão de matéria seca. Gonzáles et al. (17) citaram o uso do colesterol para avaliação do perfil energético em indivíduos e/ou populações. Riegel (18) ainda citou a síntese de colesterol como situação de anabolismo, em que a insulina estimula a enzima HMGCoaredutase à formação desse lipídeo.

Todos os animais do experimento foram acompanhados clinicamente nesse período, e, no grupo controle (GC), 20% (2/10) apresentaram sintomatologia clínica compatível com Toxemia da Gestação e tiveram seu diagnóstico confirmado por meio da mensuração das cetonas sanguíneas (Tabela 3). A sintomatologia clínica seguiu o descrito por Rook (5), que descreveu um quadro de inapetência, apatia, incoordenação motora, alteração comportamental, podendo alguns animais apresentar quadro com sinais neurológicos e em algumas situações a presença de odor de acetona no ar expirado.

Tabela 3. Número de animais que desenvolveram quadro de cetose clínica (valores de cetonas séricas acima de 3mmol/L) e cetose subclínica (valores de cetonas séricas entre 1-3mmol/L) nos grupos controle (GC) e grupo suplementado com colina protegida da degradação ruminal (GCP).

GRUPOS	Cetose clínica (%)	Cetose subclínica (%)	Total (%)
GC	10% (1/10) <sup>a</sup>	20% (2/10) <sup>a</sup>	30% (3/10) <sup>a</sup>
GCP	0% (0/10) <sup>a</sup>	0% (0/10) <sup>a</sup>	0% (0/10) <sup>b</sup>

<sup>ab</sup>Letras diferentes na coluna dos dias indicam que houve diferença estatística entre os grupos.

Grummer(19) menciona a importância do uso de alternativas que reduzam os efeitos do balanço energético negativo. Neste trabalho, o uso de colina protegida da degradação ruminal reduziu a ocorrência de toxemia da gestação, já que não houve a apresentação clínica e/ou subclínica dessa enfermidade em animais do grupo que recebeu essa suplementação. Isso deve-se à característica da colina em exportar a gordura do tecido hepático, o que impede o acúmulo e desenvolvimento do complexo cetose/lipidose hepática (14).

## CONCLUSÃO

A suplementação de 25g/dia de colina protegida da degradação ruminal para ovelhas leiteiras a partir do 110º dia de gestação até a última semana de antecedência da data prevista do parto reduziu os efeitos do balanço energético negativo, demonstrado pela redução dos níveis de cetonas sanguíneas e colesterol sérico. Essa suplementação também reduziu a incidência de casos de cetose no terço final de gestação.

## REFERÊNCIAS

1. Herdt TH. Ruminant adaptation to negative energy balance: influences on the etiology of ketosis and fatty liver. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2000;16(2):215-30.
2. Schlumbohm C, Harmeyer J. Hyperketonemia impairs glucose metabolism in pregnant ewes. *J Dairy Sci.* 2004;87(2):350-8.
3. Mavrogianni VS, Brozos C. Reflections on the causes and diagnosis of peri-parturient losses of ewes. *Small Rumin Res.* 2008;76(1-2):77-82.
4. Ismail ZA, Al-Majali AM, Amireh F, Al-Rawashdeh OF. Metabolic profiles in goat does in late pregnancy with and without subclinical pregnancy toxemia. *Vet Clin Pathol.* 2008;37(4):434-7.
5. Rook JS. Pregnancy toxemia of ewes, does, and beef cows. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2000;16(2):293-317.
6. Van Saun RJ. Pregnancy toxemia in a flock of sheep. *J Am Vet Med Assoc.* 2000;217(10):1536-9.
7. Sargison ND, Scott PR, Penny CD, Pirie RS, Kelly JM. Plasma enzymes and metabolites as potential prognostic indices of ovine pregnancy toxemia: a preliminary study. *Br Vet J.* 1994;150(3):271-7.
8. Grummer RR. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle. *Vet J.* 1995;10(20):176.
9. Piepenbrink MS, Overton TR. Liver metabolism and production of cows fed increasing amounts of rumen-protected choline during the periparturient period. *J Dairy Sci.* 2003;5(86):1722-33.
10. Radostits OM. Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e equinos. 9a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

11. Andrews AH, Holland-Howes VE, Wilkinson JID. Naturally occurring pregnancy toxemia in the ewe and treatment with recombinant bovine somatotropin. *Small Rumin Res.* 1986;23:191-7.
12. Brozos C, Mavrogianni V, Fthenakis GC. Treatment and control of periparturient metabolic diseases: pregnancy toxemia, hypocalcemia, hypomagnesemia. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2011;27(1):105-13.
13. Andriguetto JM, Perly L, Minardi I, Gemael A, Flemming JS, Souza GA, et al. *Nutrição animal: as bases e os fundamentos da nutrição animal - Os alimentos.* São Paulo: Nobel; 2002.
14. Berchielli TT, Canesin RC, Andrade P. Estratégias de suplementação para ruminantes em pastagens. *Rev Bras Zootec.* 2006;35(Supl):353-70.
15. Cooke JP. Angiogenesis and the role of the endotelial nicotinic acetylcholine receptor. *Life Sci.* 2007;80(24-25):2347-51.
16. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. *Clinical biochemistry of domestic animals.* 6th ed. San Diego: Academic Press; 2008.
17. González FHD, Silva SC, Cerón JJ, Campos R. *Introdução à bioquímica clínica veterinária.* 2a ed. Porto Alegre: UFRGS; 2006.
18. Riegel RE. Radicais livres. In: Riegel RE. *Bioquímica.* 3a ed. São Leopoldo: Unisinos; 2002. p.507-36.
19. Grummer RR. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. *J Dairy Sci.* 1993;76(12):3882-96.

**Recebido em: 08/10/2015**

**Aceito em: 26/11/2016**