

EFEITO DO ÁCIDO LINOLÉICO CONJUGADO (CLA) NOS NÍVEIS DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES E COLESTEROL NO SANGUE DE VACAS LACTANTES À PASTO¹

SERGIO RAPOSO DE MEDEIROS², DIMAS ESTRAZULAS DE OLIVEIRA², ERIC FRANCHI LEONARDO³, OSCAR CÉZAR MÜLLER QUEIROZ⁴, LUIZ JANUÁRIO MAGALHÃES AROEIRA⁶, DANTE PAZZANESE D. LANNA⁵

¹ FAPESP

² Doutorando, LNCA-ESALQ/USP, Av. Pádua Dias, 9, 13418-900; Piracicaba-SP

³ Doutorando, LNCA-ESALQ/USP, Av. Pádua Dias, 9, 13418-900; Piracicaba-SP

⁴ Bolsista Iniciação Científica, SESU-MEC, Av. Pádua Dias, 9, 13418-900; Piracicaba-SP

⁵ Bolsista Iniciação Científica, CNPq, Av. Pádua Dias, 9, 13418-900; Piracicaba-SP

⁶ Professor Coordenador do LNCA, Bolsista CNPq, Av. Pádua Dias, 9, 13418-900; Piracicaba-SP

⁷ Pesquisador, CNPGL, Rua Eugênio do Nascimento, 610, 36380-330; Juiz de Fora-MG

RESUMO: O objetivo deste trabalho é determinar se a suplementação com CLA altera os níveis plasmáticos de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e de colesterol de vacas lactantes à pasto. Usou-se 30 vacas mestiças sobre *C. Nlenfuensis* var. Nlemfuensis mais 4 kg de concentrado divididas em 2 grupos que receberam da 4^a a 11^a semana 150 g de sais de cálcio de ácidos graxos de óleo de palma (Controle) ou a igual quantidade de sais de cálcio de CLA-60 (CLA). Da 12^a a 15^a semana interrompeu-se a suplementação com sais de cálcio para avaliação do efeito residual. Usou-se um delineamento de blocos ao acaso com vacas pareadas por dia de parto, produção das lactações anteriores, produção atual, número da lactação e condição corporal e peso vivo. AGNE foram analisados para todas as semanas, mas colesterol apenas para as semanas pares. Foi feita análise de variância para o período de tratamento, bem como do período residual. A média dos valores de AGNE no período de tratamento tendeu a ser inferior para os animais consumindo CLA ($P < 0,10$), mas não no período residual ($P < 0,36$). No período residual os valores de AGNE para os animais tratados inverte a tendência anterior e ficam mais altos que o controle nas últimas duas semanas, o que está de acordo com os efeitos na redução de gordura e aumento de produção de leite no período de tratamento e a volta a valor normal de gordura no período residual. Não houve qualquer efeito do tratamento para os níveis de colesterol.

PALAVRAS-CHAVE: estrela africana, lactação, leite, plasmático, residual, rotacionado

(The authors are responsible for the quality and content of the title, abstract and keywords)

THE EFFECT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) ON FREE FATTY ACIDS AND CHOLESTEROL LEVELS OF LACTATING COWS ON PASTURE 1

ABSTRACT: The objective was to determine if CLA supplementation alters the plasmatic levels of non esterified fatty acids (NEFA) and total cholesterol of lactating cows on pasture. Thirty Holstein X Zebu cows on *C. nlenfuensis* var. Nlemfuensis plus 4 kg of concentrated received, between weeks 4 and 11, either 150 g of fatty acids calcium salts (Control) or 150 g of CLA-60 calcium salts. From week 12 to 15 calcium salts supplementation was cut to evaluate residual effects. A random block design was used paired by day of parturition, milk production in previous lactation, current milk production, parity and others. All weeks were analysed for NEFA but just even weeks for cholesterol. Analysis of variance were done for the treatment period and the residual period. NEFA means in the treatment period tended to be inferior for the treated animals ($P < 0.10$), but not in the residual period ($P < 0.36$). In the residual period the NEFA values for the treated animals inverted this tendency and became higher in the last two weeks, what is in accord with the effects in the reduction of fat and increased milk production in the treatment period and the reversal to normal fat content in the residual period. There was no effect on cholesterol levels.

KEY WORDS: lactation, milk, plasmatic, residual, rotational, stargrass

INTRODUÇÃO

O ácido linoléido conjugado (CLA) é, na verdade, um grupo de isômeros do ácido linoléico (18:2 cis-9, cis-12). Neste grupo há dois ácidos graxos de grande interesse: 18:2 cis-9, trans-11 e trans-10, cis-12. O primeiro aparece como um promissor aliado da saúde humana, podendo conferir ao leite a classificação de alimento funcional (PARIZA e HA, 1990; IP et al., 1994), especialmente como anticancerígeno. Já o segundo, é um potente repartidor de nutrientes reduzindo a síntese de gordura na glândula mamária e deposição de tecidos (PARK et al., 1997; DUNSHEA et al., 1998, MEDEIROS et al., 2000).

A suplementação de vacas lactantes com uma mistura destes dois isômeros pode ser bastante interessante, permitindo a manipulação da relação gordura:proteína do leite e, ao mesmo tempo, alterando o perfil dos ácidos graxos. Assim, além de enriquecido com cis-9, trans-11, a relação de ácidos graxos de cadeia curta e longa seria mais interessante para a saúde humana. Esse leite teria grande apelo comercial, pois está alinhado com as tendências do mercado de crescente demanda por produtos menos calóricos, menor ingestão de gorduras e alimentos funcionais.

Como a principal atuação do CLA na vaca lactante é no metabolismo de lipídeos, a alteração nos teores dos lipídeos plasmáticos é bastante provável. O objetivo do presente trabalho foi determinar o efeito da suplementação com CLA nos teores plasmáticos de ácidos graxos não esterificados (AGNE) e Colesterol em vacas lactantes a pasto. O AGNE é um bom indicador da intensidade da mobilização de gordura. No caso do colesterol, há trabalhos relatando alteração de seus níveis por ação do CLA em algumas espécies animais (YAMASAKY et al., 2000; STANGL, 2000).

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento utilizou 30 vacas mestiças Holandês X Zebu em pastejo rotacionado de Estrela-Africana (*Cynodon nlenfuensis* var. Nlemfuensis) em piquetes de 0,5 ha, com dois dias de ocupação e 28 dias de período de pastejo. O delineamento estatístico foi em blocos ao acaso. As vacas foram pareadas por data de parto, produção de leite nas lactações anteriores, produção de leite atual, número de lactações, condição corporal e peso vivo. Os animais foram separados em 2 grupos e receberam da 4^a a 11^a semana (28 e 84 dias de lactação) 150 g de sais de cálcio de ácidos graxos (Megalac; Controle) ou 150 g de sais de cálcio de CLA-60 (Conlinc; CLA 24% t 9,11, 35% t 10,12, 15% t 8,10, 17% t 11,13 e 9% outros), equivalente ao tratamento com consumo de 70 g de CLA (CLA). Todos animais receberam 4,0 kg de um concentrado à base de milho, farelo de soja, farelo de trigo, farinha de peixe e núcleo vitamínico mineral. Da 12^a a 15^a semana (84^o ao 112^o dias em lactação) a suplementação com os sais de cálcio (Megalac e CLA60) foi suspensa, para avaliação do efeito residual do tratamento. O sangue foi coletado semanalmente por punção da veia coccígea, e o plasma obtido por centrifugação estocado a -20°C até o momento da análise. Para as análises foram usados métodos enzimático-colorimétricos, tanto para AGNE (NEFA C, Wako Chemicals) como para o Colesterol (Colesterol Enz-Color, Biodiagnóstica) com as leituras sendo feitas em espectrofotômetro. Foram analisadas todas as amostras para AGNE (n=360), mas apenas as amostras das semanas pares para Colesterol (n=180). Foi feita a análise de variância das variáveis utilizando-se o pacote estatístico SAS (2000) para a média do período de tratamento e para o período residual de cada vaca. Adicionalmente, foi feita a análise de variância com a média de cada vaca a cada semana.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As médias de AGNE (micromoles/litro) no período de tratamento (4^a a 11^a semana) e no período residual (12^a a 15^a semana) podem ser observados na Tabela 1. Os valores obtidos são mais baixos ou se encontram próximos aos valores inferiores dos normalmente encontrados (GARCIA-BOJAIL et al., 1998; KNOWLTON et al., 1998; PUTNAN e VARGA, 1998) quando animais de alta produção foram usados, mas esses valores são próximos dos obtidos por SUTTON et al. (1998) com vacas de produção mais próximas às do presente experimento. A média no período de tratamento tendeu a ser inferior para os animais consumindo CLA (P<0,10). Já no período residual, a diferença entre os valores médios dos tratamentos são menores (P<0,36).

Mais interessante que as médias, entretanto, é o comportamento desta variável ao longo do tempo e os valores semanais médios de AGNE, e sua variação ao longo do tempo, podem ser observados no Gráfico 1. Pode-se

observar que os dados de AGNE são numericamente maiores em praticamente todas as semanas do período de tratamento para os animais controle. Já na primeira semana, é possível perceber essa diferença. Isso, provavelmente seja devido ao estágio da lactação (próximo ao pico) e ao rápido efeito do tratamento no abaixamento no teor de gordura (-25%) conforme outros dados já publicados deste mesmo experimento (MEDEIROS et al., 2000; MEDEIROS et al., 2001). Só houve tendência a diferenças significativas para as semanas 10 e 11 ($P < 0,10$; $P < 0,08$, respectivamente). Essa diferença está de acordo com a menor necessidade de mobilização de lipídeos pelos animais em que houve redução na secreção de gordura do leite por ação do CLA. Inversamente, nas últimas 2 semanas do período residual, os valores das vacas tratadas com CLA são maiores do que os das vacas controle, sendo a 14^a semana significativamente diferente ($P < 0,04$) e a última tendendo a ser ($P < 0,10$). Isto também está de acordo com os resultados obtidos já publicados (MEDEIROS et al., 2000; MEDEIROS et al., 2001), pois após a interrupção do tratamento o teor de gordura do leite voltou a níveis semelhantes para ambos os tratamentos e, juntamente com a maior produção de leite no período residual pelos animais que haviam recebido CLA, resulta em uma maior secreção de gordura por parte destes animais. Em trabalho com vacas de alta produção, apesar da taxa de declínio e da assíntota inferior ter sido mais baixa para os animais tratados, não foi detectada diferença significativa entre animais recebendo CLA-60 e sais de cálcio convencionais (McGUIRE, comunicação pessoal).

Os valores de concentração de colesterol apresentam variações bem menores e estão próximos aos apresentados por BITMAN et al. (1990). As médias entre os tratamentos são muito próximas, denotando não ter havido qualquer efeito do CLA nos níveis plasmáticos do colesterol total. Resultados semelhantes foram obtidos por LEE et al (1994), com coelhos, e VAN AMELSVOORT et al., (1997), em hamsters, que todavia encontraram alteração desejável na relação do perfil de lipoproteínas.

CONCLUSÕES

O CLA tende a alterar os teores plasmáticos de NEFA em vacas lactantes, em virtude da depressão de gordura que faz com que haja menor necessidade de secreção energética pelo animal. Não houve qualquer efeito do CLA sobre os níveis de colesterol total plasmático

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bitman J., Wood D. L., Lefcourt A. M. . 1990. Rhythms in Cholesterol, Cholesteryl Esters, Free Fatty Acids, and Triglycerides in Blood of Lactating Dairy Cows. *J. Dairy Sci.*, 73(4):948-955.
- Dunshea, T.R., Ostrowska, E.; Murilitaram, M, et al. 1998. Dietary conjugated linoleic acid decrease back fat in finisher gilts. *J. Anim. Sci.*, 76:2931-2941
- Garcia-Bojalil C. M., Staples C. R., Risco C. A., et al. . 1998. Protein Degradability and Calcium Salts of Long-Chain Fatty Acids in the Diets of Lactating Dairy Cows: Productive Responses. *J. Dairy Sci.*, 81:1374-1384.
- Ip, C, Thompson, M., Singh, M., et al. . 1994. Conjugated linoleic acid suppresses mammary carcinogenesis and proliferative activity of the mammary gland in the rat. *Cancer Res.*, 54:1212-1215.
- Knowlton K. F., Dawson T. E., Glenn B. P., et al.. 1998. Glucose Metabolism and Milk Yield of Cows Infused Abomasally or Ruminally with Starch. *J. Dairy Sci*, 81:3248-3258.
- Lee K. N., Kritchevsky D., Pariza M. W. . 1994. Conjugated linoleic and atherosclerosis in rabbits. *Atherosclerosis* Vol. 108(1):19-25.
- Medeiros S.R., Oliveira D.E., Aroeira L.J.M., et al.. Supplementation of lactating cows grazing stargrass (*Cynodon nlenfuensis* var. *nlenfuensis*) with Conjugated Linoleic Acid: Effects on persistence and estimated net energy balance. XIX International Grassland Congress. Piracicaba-SP; Brasil. p. 707-708.2001.
- Medeiros, S.R. Oliveira, D.E. Aroeira, L.J.M. et al.. The effect of long-term supplementation of conjugated linoleic acid (CLA) to dairy cows grazing tropical pasture. *J. Dairy Sci.*, 83:169. 2000.
- Pariza M. W., Ha Y. L 1990. Conjugated dienoic derivatives of linoleic acid: a new class of anticarcinogens. *Med Oncol Tumor Pharmacother*, 7(2-3):169-171.

- Pariza M. W., Ha Y. L., Benjamin H., et al.. 1991. Formation and action of anticarcinogenic fatty acids. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 289:269-272.
- Park Y., Albright K. J., Lui W., et al.. 1997. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. *Lipids*, 32(8):853-858..
- Putnam D. E., Varga G. A. 1997. Protein Density and Its Influence on Metabolite Concentration and Nitrogen Retention by Holstein Cows in Late Gestation. *J. Dairy Sci*, 81:1608-1618.
- Stangl, G. I.. 2000. High dietary levels of a conjugated linoleic acid mixture alter hepatic glycerophospholipid class profile and cholesterol-carrying serum lipoproteins of rats. *J. Nutr. Biochem.*, 11:184-191. 1997. Protein Density and Its Influence on Metabolite Concentration and Nitrogen Retention by Holstein Cows in Late Gestation. *J. Dairy Sci*, 81:1608-1618.
- Sutton J. D., Hart I. C., Morant S. V., et al.. 1988. Feeding frequency for lactating cows: diurnal patterns of hormones and metabolites in peripheral blood in relation to milk-fat concentration. *British J. of Nutrition*, 60:265-274.
- Van Amelsvoort J. M. M., Meijer G. W.. 1997. 11th International Symposium on Atherosclerosis. Paris; 335p.
- Yamasaki, M., Mansho K., Ogino Y., et al. . 2000. Acute reduction of serum leptin level by dietary conjugated linoleic acid in Sprague-Dawley rats. *J. Nutr. Biochem.*, 11:467-471.

TABELA 1 – Valores médios de ácidos graxos não esterificados (AGNE; micromoles/litro) e Colesterol Total no período de tratamento (4^a a 11^a semana) e no período residual (12^a a 15^a semana) . Média \pm Desvio Padrão

Período	Controle	CLA
	AGNE (μ moles/litro)	
Período Tratamento	224 \pm 65	176 \pm 35
Período Residual	149 \pm 72	132 \pm 25
	COLESTEROL (mg/dl)	
Período Tratamento	109 \pm 7	110 \pm 10
Período Residual	116 \pm 4	120 \pm 5

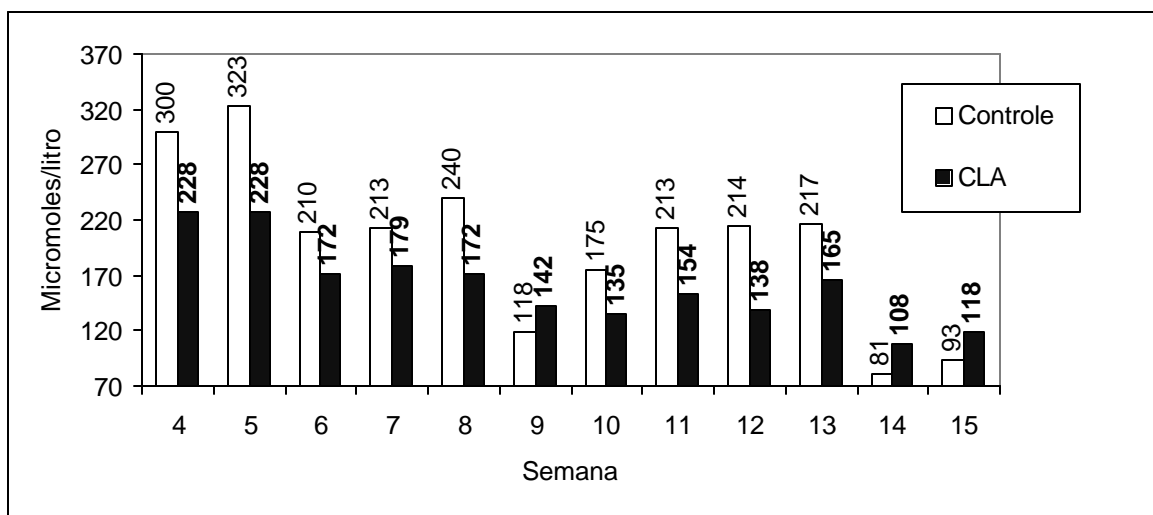


FIGURA 1 – Resultados do período de tratamento (4^a a 11^a semana) e período residual (12^a a 15^a semana) da concentração de AGNE de vacas à pasto recebendo CLA ou não (Controle)