



Ispitivanje efekta tretmana niacinom na metaboličku stabilnost hepatocita krava u ranoj laktaciji

Mira Marković^a, Dragica Stojanović^a, Talija Hristovska^b, Kosta Petrović^c,
Marko Cincović^a, Mira Majkić^a

^aUniverzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman za veterinarsku medicinu, Srbija

^bUniverzitet „Sv.Kliment Ohridski“, Veterinarski fakultet Bitolj, S.Makedonija

^cPoljoprivredna škola sa domom učenika Futog

*Autor za kontakt: miramajkic@gmail.com

SAŽETAK

Cilj ovog rada bio je da se ispita hepatoprotektivni uticaj niacina posle njegove aplikacije u paripartalnom periodu, tako što će se utvrditi razlika u vrednosti metabolita značajni za funkcionalni status hepatocita u uzorcima poreklom od krava koje su primale i koje nisu primale niacin. Drugi cilj je da se utvrdi da li hepatoprotektivni uticaj niacina raste sa porastom ocene niacinskog statusa tako što će se utvrditi veza između vrednosti niacinskog statusa (NAD:NADP) i šanse da krave imaju očuvane metaboličke parametre u okviru referentnih vrednosti. Niacin pokazuje hepatoprotektivnu ulogu jer pomaže jetri u očuvanju sekretornog kapaciteta što se vidi kroz vrednosti albumina i glukoze. Niacin pokazuje hepatoprotektivnu ulogu jer dovodi do opadanja lipolize, ketogeneze i akumulacije masti u jetri, što se ogleda kroz smanjenje vrednosti NEFA, BHB, porast vrednosti holesterola i triglicerida i povoljniji odnos NEFA:holesterol. Niacin smanjuje opterećenje i nekrozu hepatocita i opterećenje žučnih puteva jer dovodi do opadanja aktivnosti jetrinih enzima i koncentracije bilirubina. Niacinski status koji se ogleda u NAD:NADP indeksu značajno ukazuje na hepatoprotektivnu funkciju niacina, tako da sa porastom ovog indeksa postoji mnogo veća šansa da se veliki broj biohemijskih parametara nađe u okviru referentne vrednosti nego da njihove vrednosti budu nepovoljne odnosno izvan referentne vrednosti. Odnos verovatnoća je dobar i jednostavan pokazatelj efekta tretmana niacinom kod krava u ranoj laktaciji.

Ključne reči:

status niacina, funkcija hepatocita, krvni parametri, odnos verovatnoća

Uvod

Rana laktacija kod krava predstavlja kritičnu fazu u produktivnom i reproduktivnom ciklusu, jer se u ovom periodu dešavaju značajne metaboličke i neuroendokrine promene nakon teljenja (Sadiq et al., 2024). Ove adaptacije direktno utiču na zdravlje životinja, količinu i kvalitet mleka, kao i na ekonomsku efikasnost stočarstva. Rano nakon teljenja dolazi do naglog povećanja energetske potrebe zbog laktacije, koje često premašuju ranije energetske potrebe zbog razvoja fetusa u završnoj fazi gestacije, što rezultira negativnim energetskim bilansom. Nedovoljan unos hrane uzrokuje mobilizaciju telesnih masti, što dovodi do povećanog rizika od metaboličkih, reproduktivnih i infektivnih poremećaja (Häussler et al., 2022).

Tokom ovog perioda, masna tkiva služe kao glavni izvor energije, dok se glukoza preusmerava ka mlečnoj žlezdi i plodu, a krave pokazuju različit stepen rezilijentnosti na stresogene (Majkić i sar., 2023). Hormon rasta podstiče antagonizam insulinu i povećava potrošnju nutrijenata u mlečnoj žlezdi (Suarez-Trujillo et al., 2022). Jetra intenzivno koristi rezerve glikogena i metabolizuje masti, što može dovesti do formiranja ketonskih tela i akumulacije triglicerida (Dong et al., 2022). Negativan energetski bilans u periodu oko partusa izaziva smanjenje glikemije i porast slobodnih masnih kiselina (NEFA), što povećava rizik od ketoze i masne jetre (Krnjajić i sar., 2024). Hepatična glukoneogeneza, koristeći laktat, alanin, propionat i glicerol kao prekursore, predstavlja adaptivni mehanizam za obezbeđivanje dovoljne količine glukoze (Wang et al., 2025). Oksidacija NEFA u jetri može dovesti do sinteze ketonskih tela i triglicerida, dok je aktivnost ključnih enzima glukozo-6-fosfataze i piruvat karboksilaze ograničena kod krava sa masnom jetrom ili ketozom (Loor et al., 2007). Lipoliza i ketogeneza predstavljaju značajne mehanizme prestrojanja mehanizma u peripartalnom i drugim vrstama stresa kod krava (Lakić i sar., 2018; Cincović i sar., 2023).

Niacin (vitamin B3) smanjuje lipolizu i ketogenezu kod krava u ranoj laktaciji (Petrović i sar., 2021; Hristovska et al., 2024). Mehanizmi delovanja niacina dobro su dokumentovani u literaturi (Chen et al., 2019; Murthy et al., 2021; Boronovskiy et al., 2024; Ovaj vitamin u obliku nikotinske kiseline ili nikotinamida igra važnu ulogu u energetskom metabolizmu, ugrađujući se u koenzime NAD i NADP.

On stimuliše mikrofloru predželuca, povećava broj protozoa i utiče na koncentraciju amonijaka. Antipolitički efekat nikotinske kiseline manifestuje se smanjenjem NEFA u plazmi i inhibicijom lipolize preko GPR109A receptora. Ovaj efekat smanjuje rizik od ketoze i masne jetre i doprinosi stabilnosti glukoze i efikasnosti insulina. Sve navedeno dovešće do smanjenog opterećenja hepatocita i bolje metaboličke adaptacije krava.

Cilj ovog rada je da se ispita hepatoprotektivni uticaj niacina posle njegove aplikacije u paripartalnom periodu. To će se postići utvrđivanjem razlike u vrednosti metabolita značajnih za funkcionalni status hepatocita u uzorcima poreklom od krava koje su primale i koje nisu primale niacin. Dodatno će se utvrditi da li hepatoprotektivni uticaj niacina raste sa porastom ocene niacinskog statusa tako što će se utvrditi veza zimešu vrednosti niacinskog statusa (NAD:NADP) i šanse da krave imaju očuvane metaboličke parametre u okviru referentnih vrednosti.

Materijal i metode

Ogled je izvršen na 30 klinički zdravih krava Holštajn-frizijske rase u drugoj i trećoj laktaciji, sa proizvodnjom mleka na nivou 6700-8800 litara u predhodnoj laktaciji. Krave su gajene u slobodnom sistemu, na dubokoj prostirci, ali su u tranzicionom periodu bile u porodilištu, gde je postojao vezani sistem. Ishrana krava je obročna, dok je u porodilištu posle partusa bila po volji. Krave su hranjene potpuno mešanim obrokom kojim se zadovoljavaju kompletne potrebe krava, a voda im je davana ad libitum. Obrok za krave u ranoj laktaciji se pravi da zadovolji sledeće standarde: proteini (17,5-19,5% SM sirovih proteina, 30-33% razgradivih proteina od ukupnih, 35-40% nerazgradivih proteina od ukupnih); ugljeni hidrati (ADF minimum 17-21%, NDF minimum 28-31%, NDF iz kabaste hrane minimum 18-23%, nestrukturani ugljeni hidrati 35-42%, nivo suve materije iz kabaste hrane minimum 40-45%); energija (NEL 7-7,4 MJ/kg suve materije obroka); masti u obroku 5-7%. ADF i NDF su dve frakcije celuloze. Niacin je aplikovan putem hrane per os kod 15 krava, dok su 15 predstavljale negativnu kontrolu. Korišćen je Rovimix® Niacin u dozi koja omogućuje dostupnost u crevima oko 6-12g niacina/dan (60-120g krava/dan u hrani), što se u prethodnim istraživanjima pokazalo kao optimalna biološka koncentracija. Niacin je aplikovan u periodu dve nedelje pre, kao i tri nedelje posle teljenja.

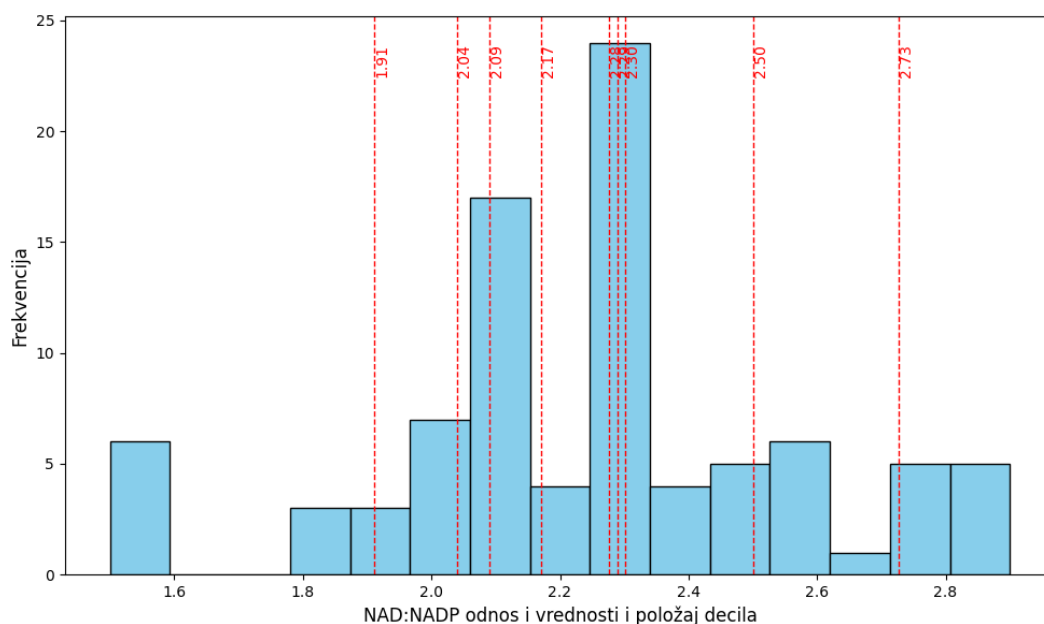
Krv je uzimana u prvoj, drugoj i trećoj nedelji posle teljenja. Uzorci krvi su uzimani venepunkcijom iz repne vene (v.coccigea) u serumske vakutajnere. Nakon toga, uzorci krvi su transportovani u Laboratoriju za patološku fiziologiju, Departman za veterinarsku medicinu, gde je posle centrifugiranja i izdvajanja seruma vršena biohemijska analiza krvi. Prilikom analize metaboličkog profila krava, korišćene su fotometrijske reakcije i fotometar Chemray i ELISA čitača proizvođača Rayto (Kina). Fotometrisanje je vršeno na talasnoj dužini i u vremenskom intervalu prema specifikaciji proizvođača. Za biohemijsku analizu krvi korišćeni su standardni kitovi proizvođača Biosystems (Španija). Određena je vrednost sledećih parametara: neesterifikovane masne kiseline (NEFA), betahidroksi butirrat (BHB), glukoza, ukupni proteini, albumini, globulini, holesterol, trigliceridi, AST, ALT, GGT, ALP i ukupni bilirubin. Određen je NEFA:holesterol odnos kao pokazatelj funkcionalnog statusa hepatocita, kao i indeks funkcionalnosti hepatocita prema formulama koje su dali Trevisi i Minuti (2018). Krv je uzimana paralelno i u litijum-heparinske vakutajnere, za potrebe analize NAD i NADP. NAD i NADP su određeni pomoću kolorimetrijske ELISA metode iz lizata eritrocita.

Ukupan broj analiziranih tačaka je 90. Jedna tačka predstavlja jedan uzorak dobijen od jedne krave u jednoj nedelji istraživanja. Kako je u ogledu učestvovalo 30 krava kroz tri nedeđe ogleda ukupan broj analiziranih tačaka je 90.

Efekat tretmana niacinom na parametre hepatocita ispitan je utvrđivanjem veze između vrednosti niacinskog statusa iskazanog kao NAD:NADP i odnosa šansi (engl., odds ratio, OR) da se ispolji hepatoprotektivni efekat u funkciji porasta vrednosti NAD:NADP količnika. Hepatoprotektivni efekat je postojao ukoliko su ispitivani parametri bili u okviru referentne vrednosti (obeleženo sa 1), a ukoliko su vrednosti bile izvan referentnih tada se smatra da nije postojao hepatoprotektivni efekat (obeleženo sa 0). Vrednost NAD:NADP je podeljena na decile, pa je za svaki nivo NAD:NADP izračunat odnos šansi da se ispitivani parametar nađe u okviru referentne vrednosti u peripartalnom periodu, čime se potvrđuje funkcionalna stabilnost hepatocita i protektivna uloga niacina. Predstavljene su pozicione vrednosti decila u distribuciji frekvencije vrednosti NAD:NADP odnosa, kao i učestalost krava koje su primale i koje nisu primale niacin za svaku grupu decila posebno.

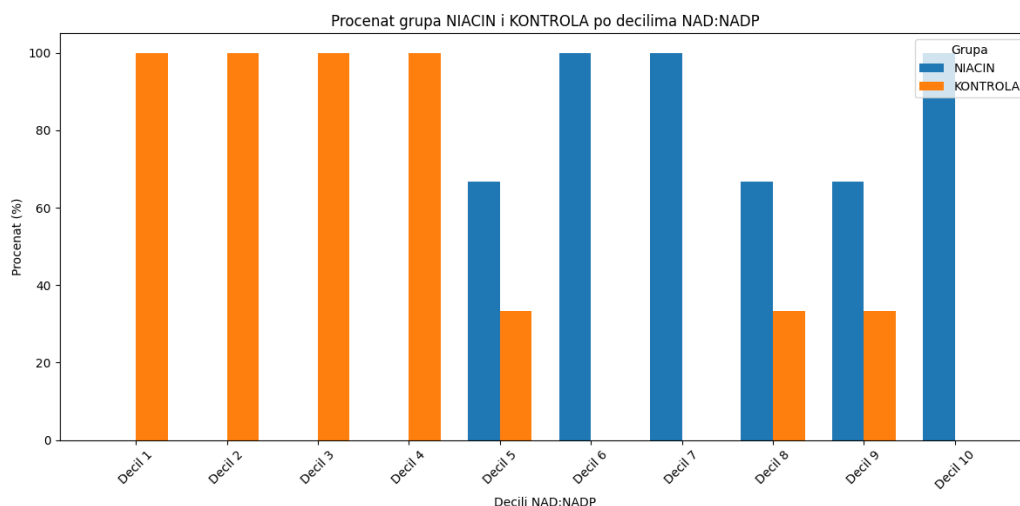
Rezultati

Na osnovu analize decilnih granica i frekvencija NAD:NADP odnosa kao pokazatelja dostupnosti niacina u organizmu, rezultati pokazuju da se najmanjih 10% vrednosti nalazi u opsegu od približno 1.500 do 1.552, dok sledećih 10% vrednosti zauzima opseg od 1.552 do 1.785, što ukazuje na prisustvo nekoliko niskih ekstremnih vrednosti. Podaci u srednjem delu raspodele, od D3 do D8, nalaze se u opsezima od 1.786 do 2.400, sa najvećom koncentracijom oko centralnih vrednosti od 2.0 do 2.3, što označava da većina podataka pripada sredini raspodele. Vrednosti iznad sredine, obuhvaćene decilnim grupama D7 i D8, kreću se od 2.206 do 2.400, dok najvećih 10% podataka pripada opsegu od 2.693 do 2.900, pokazujući prisustvo nekoliko visokih ekstremnih merenja. Ukupno, ova analiza pokazuje da je raspodela podataka blago asimetrična sa koncentracijom u srednjem opsegu i prisustvom retkih ekstremnih vrednosti na oba kraja.



Grafikon 1. Distribucija frekvencije NAD:NADP odnosa i položaj vrednosti decila
Figure 1. Distribution of the frequency of the NAD:NADP ratio and the position of decile values

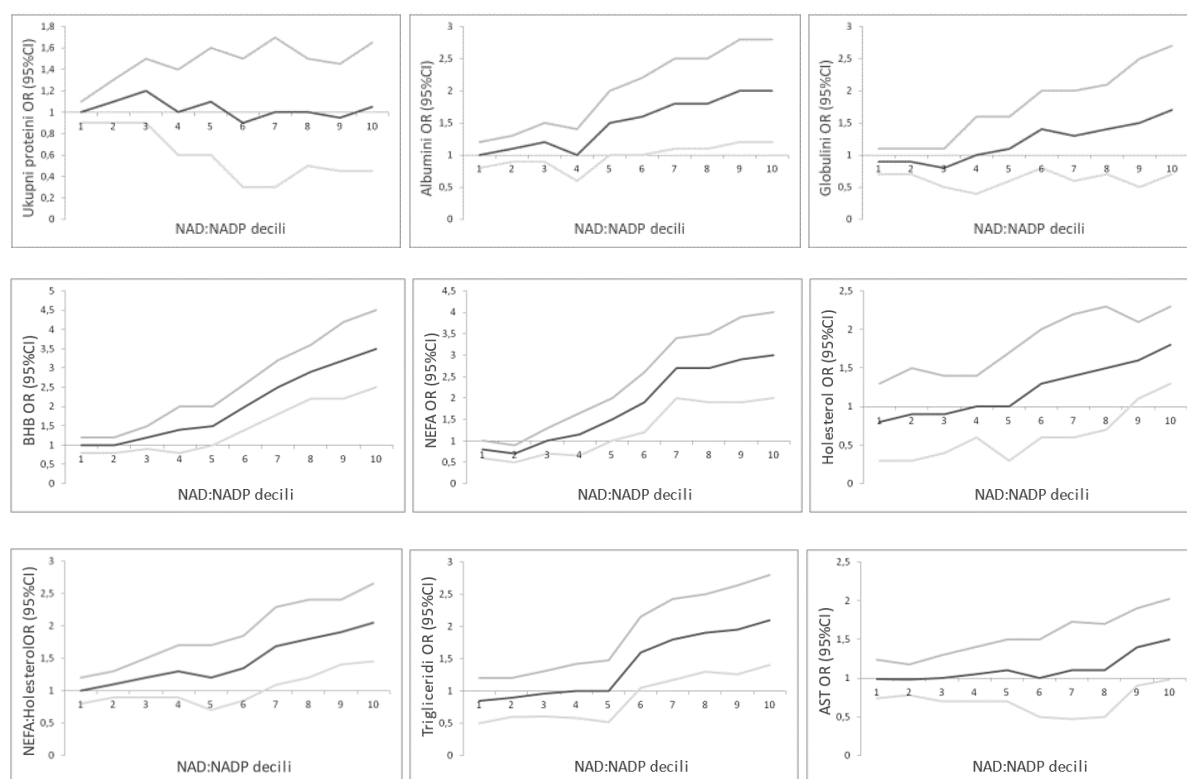
Decili sa nižim NAD:NADP vrednostima imaju veću zastupljenost krava iz grupe KONTROLA, dok su decili sa višim NAD:NADP vrednostima imali veću dominaciju krava iz grupe NIACIN. Poredak obe grupe unutar svakog decila omogućava laku vizuelizaciju načina na koji se njihov udeo menja kako NAD:NADP raste. Drugim rečima, grafikon jasno prikazuje trend povećanja udela grupe NIACIN u višim decilima NAD:NADP i smanjenje udela grupe KONTROLA.

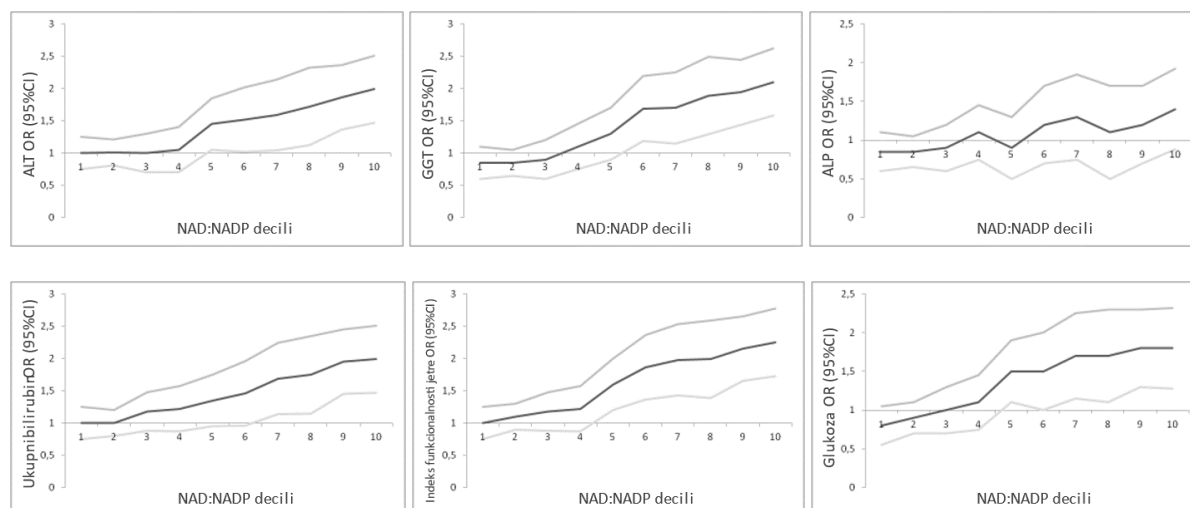


Grafikon 2. Odnos jedinki koje su primale i koje nisu primale niacin (NIACIN vs. KONTROLA) u različitim decilima vrednosti NAD:NADP odnosa

Figure 2. Ratio of individuals who received and who did not receive niacin (NIACIN vs. CONTROL) across different deciles of NAD:NADP ratio values

Niacinski status koji se ogleda u NAD:NADP indeksu značajno ukazuje na hepatoprotektivnu funkciju niacina, tako da sa porastom ovog indeksa postoji mnogo veća šansa da se veliki broj biohemijskih parametara nađe u okviru referentne vrednosti nego da njihove vrednosti budu nepovoljne odnosno izvan referentne vrednosti. Sa porašću vrednosti NAD:NADP raste šansa da se u uzorku nalazi neki parametar u okviru referentne vrednosti u odnosu na nepovoljan nalaz koji znači vrednost parametara izvan referentne vrednosti. Ovakva nalaz je prisutan najčešće iznad 5. decila vrednosti NAD:NADP količnika, što odgovara onim vrednostima indeksa koji pripadaju kravama koje su primale niacin. Ovaj trend nije utvrđen za ukupne proteine, globuline i aktivnosti AST i ALP. Rezultati su prikazani za svaki parametar posebno na grafikonu 3.





Grafikon 3. Povezanost vrednosti NAD:NADP indeksa niacinskog statusa sa verovatnoćom da se ispolji hepatoprotektivan uticaj niacina i očuva vrednost ispitivanih parametrima u referentnim vrednostima (95%CI OR>1 je pozitivan ishod).

Figure 3. Association of NAD:NADP index values of niacin status with the likelihood of exhibiting a hepatoprotective effect of niacin and maintaining the tested parameters within reference values (95% CI, OR > 1 indicates a positive outcome).

Diskusija

NAD:NADP odnos je koristan indikator metaboličkog efekta dodatog niacina, jer pokazuje linearnu povezanost sa velikim brojem parametara metaboličkog profila kod krava (Petrović i sar., 2022). Posle apsorpcije niacin cirkuliše vezan za eritrocite, a najveće koncentracije nalaze se u jetri, gde se iz triptofana sintetiše NAD(P), koji zatim služi drugim tkivima. Mišići, mozak i testisi mogu direktno koristiti nikotinamid. Koenzimi NAD i NADP imaju centralnu ulogu u anaboličkim i kataboličkim procesima: NADPH deluje kao redukujući agens u sintezi lipida i nukleinskih kiselina, a NAD/NADH u glikolizi i Krebsovom ciklusu (Rehage et al., 1999; Bender, 2003). NAD je izvor ADP-riboze za posttranslacione modifikacije proteina, a enzimi kao što su poli(ADP-riboza)polimeraze i NAD-glikohidrolaza regulišu metabolizam ugljenih hidrata, masti i proteina. Visoke doze nikotinske kiseline dodatno inhibiraju lipolizu (Tunaru et al., 2003; Pires i Grummer, 2007). Eritrocitne koncentracije NAD i NADP predstavljaju osetljiv pokazatelj statusa niacina: pri nedostatku, NAD u krvi može pasti za 70% za pet nedelja, dok NADP ostaje gotovo nepromenjen (Fu et al., 1989). Povišene koncentracije NAD i NADP u krvi omogućavaju procenu statusa niacina (Jacobson i Jacobson, 1997). Kod ljudi je pokazano da povećanje odnosa NADH/NAD⁺ u jetri tokom razgradnje alkohola podstiče razvoj masne jetre (Masia et al., 2018). Nikotinska kiselina može povećati koncentracije NAD-a u jetri i krvi, a Hara i saradnici (2007) utvrdili su da je u tome efikasnija od nikotinamida. Savremena istraživanja ističu ulogu NAD/NADH u procesima starenja, apoptoze, nastanka tumora i neurodegenerativnih bolesti (Berge et al., 2020; Amjad et al., 2021). Yoshino i saradnici (2011), su na modelu miševa pokazali da gojaznost snižava nivo NAD⁺ u jetri, mišićima i masnom tkivu, a hronična inflamacija prati insulinsku rezistenciju (Yamaguchi i Yoshino, 2017).

U tranzicionom periodu oko teljenja kod visokomlečnih krava dolazi do pojačane mobilizacije neesterifikovanih masnih kiselina (NEFA). Njihov višak može biti toksičan, a istovremeno se javljaju hipoglikemija, povišen bilirubin, snižen holesterol i urea (Cincović, 2016). Nikotinska kiselina koja izbegne jetreni metabolizam može inhibirati lipolizu preko specifičnih receptora (Gille et al., 2008). Kod krava sa ketozom kao znakom loše metaboličke adaptacije uočava se velik broj promena funkcionalnog statusa hepatocita (Đoković i sar., 2014), kao što je negativna korelacija između NEFA i glukoze zbog oslabiljene glukoneogeneze u masno infiltriranoj jetri. BHB i NEFA negativno koreliraju sa glukozom i insulinom, a koncentracija insulina opada proporcionalno porastu NEFA; trigliceridi su kod ketoznih krava značajno niži. Oštećenje jetre povećava bilirubin, koji pozitivno korelira sa NEFA i BHB. Aktivnost AST je pouzdan pokazatelj zamašćenja jetre: raste paralelno sa nivoima NEFA i BHB, a opadaju trigliceridi, holesterol i albumin. Kod krava u ranoj laktaciji niacin smanjuje insulinsku rezistenciju uz smanjenje lipolize i ketogeneze i poboljšava funkciju jetre (Titgemeyer et al., 2011, 2011a; Cincović i sar., 2018; Petrović i Stojanović, 2020).

Efekat terapije lekom u kliničkoj farmakologiji i epidemiologiji procenjuje se poređenjem tretirane i kontrolne grupe. Ključ je jasno definisan ishod – npr. izlečenje ili pojava komplikacija – i odabir mere

efekta. Apsolutne mere kao što su apsolutna redukcija rizika (ARR) ili broj koji treba lečiti (NNT) daju direktnu sliku, dok relativne mere – relativni rizik (RR), hazard ratio (HR) i naročito odnos verovatnoća (Odds Ratio, OR) – izražavaju relativnu promenu (Faraone, 2008). RR i HR pokazuju odnos rizika tokom vremena, ali u studijama slučaj–kontrola, gde se ne zna incidencija u populaciji, OR je standardna mera. Šansa (odds) je odnos verovatnoće da se događaj desi i da se ne desi ($p/(1-p)$); OR poredi šanse u eksponiranoj i kontrolnoj grupi formulom $OR = (a \times d) / (b \times c)$ u 2×2 tabeli. $OR = 1$ znači da nema razlike. Tumačenje OR zavisi od tipa ishoda: ako je ishod negativan (npr. bolest), $OR < 1$ ukazuje na zaštitu, a $OR > 1$ na povećan rizik; ako je ishod pozitivan (izlečenje), $OR > 1$ znači koristan efekat. Stoga razumevanje ograničenja OR-a omogućava pravilno donošenje terapijskih odluka i u humanoj i u veterinarskoj medicini. U novijim istraživanjima utaja niacina na tretiranje ketoze kod krava pokazano je da je OR za normoketonemiju u ketozi iznosila 1,5 kod krava koje su primale niacin (Chirivi et al., 2023).

Zaključak

Niacinski status koji se ogleda u NAD:NADP indeksu značajno ukazuje na hepatoprotektivnu funkciju niacina, tako da sa porastom ovog indeksa postoji mnogo veća šansa da se veliki broj biohemijskih parametara nađe u okviru referentne vrednosti nego da njihove vrednosti budu nepovoljne odnosno izvan referentne vrednosti. Niacin pokazuje hepatoprotektivnu ulogu jer: pomaže jetri u očuvanju sekretornog kapaciteta što se vidi kroz vrednosti albumina i glukoze; dovodi do opadanja lipolize, ketogeneze i akumulacije masti u jetri, što se ogleda kroz smanjenje vrednosti NEFA, BHB, porast vrednosti holesterola i triglicerida i povoljniji odnos NEFA:holesterol; smanjuje opterećenje i nekrozu hepatocita i opterećenje žučnih puteva jer dovodi do opadanja aktivnosti jetrinih enzima i koncentracije bilirubina. Odnos verovatnoća je dobar i jednostavan pokazatelj efekta tretmana niacinom kod krava u ranoj laktaciji.

Literatura

- Amjad, S., Nisar, S., Bhat, A. A., Frenneaux, M. P., Fakhro, K. 2021. Role of NAD⁺ in regulating cellular and metabolic signaling pathways. *Molecular Metabolism*, 101195.
- Bender DA. 2003. Niacin. In: *Nutritional biochemistry of the vitamins*. 2ed ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Berge, R. K., Cacabelos, D., Señarís, R., Nordrehaug, J. E., Nygård, O., Skorve, J., & Bjørndal, B. 2020. Hepatic steatosis induced in C57BL/6 mice by a non- β oxidizable fatty acid analogue is associated with reduced plasma kynurenine metabolites and a modified hepatic NAD⁺/NADH ratio. *Lipids in health and disease*, 19(1), 94.
- Boronovskiy, S. E., Kopylova, V. S., & Nartsissov, Y. R. 2024. Metabolism and receptor mechanisms of niacin action. *Cell and Tissue Biology*, 18(2), 128-147.
- Chen, J., Yang, Z., & Dong, G. 2019. Niacin nutrition and rumen-protected niacin supplementation in dairy cows: an updated review. *British Journal of Nutrition*, 122(10), 1103-1112.
- Chirivi, M., Cortes-Beltran, D., Munsterman, A., O'Connor, A., & Contreras, G. A. 2023. Lipolysis inhibition as a treatment of clinical ketosis in dairy cows: A randomized clinical trial. *Journal of Dairy Science*, 106(12), 9514-9531.
- Cincović MR, Đoković R, Belić B, Lakić I, Stojanac N, Stevančević O, Staničkov N. 2018. Insulin resistance in cows during the periparturient period. *Acta Agric Serb*, 23(46): 233-245.
- Cincović, M. 2016. Metabolički stres krava. Monografija. Poljoprivredni fakultet Novi Sad, Departman za veterinarsku medicinu, Novi Sad.
- Cincović, M., Majkić, M., Spasojević, J., Hristov, S., Stanković, B., Nakov, D., Nikolić, S., Stanojević, J. 2023. Heat stress of dairy cows in Serbia. *Acta Agriculturae Serbica*, 28(56), 107-125.
- Dong, J., Yue, K., Loo, J. J., Aboragah, A., Li, G., Chen, L., ... & Li, X. 2022. Increased adipose tissue lipolysis in dairy cows with fatty liver is associated with enhanced autophagy activity. *Journal of Dairy Science*, 105(2), 1731-1742.
- Đoković R.D., Cincović M.R., Belić B.M. 2014. Fiziologija i patofiziologija metabolizma krava u peripartalnom period. Novi Sad.
- Faraone, S. V. 2008. Interpreting estimates of treatment effects: implications for managed care. *Pharmacy and Therapeutics*, 33(12), 700.
- Fu CS, Swendseid ME, Jacob RA, McKee RW 1989. Biochemical markers for assessment of niacin status in young men: levels of erythrocyte niacin coenzymes and plasma tryptophan. *J Nutr*. 119:1949–55.
- Gille A, Bodor ET, Ahmed K, Offermanns S. Nicotinic acid 2008. Pharmacological effects and mechanisms of action. *Ann Rev Pharmacol Toxicol*, 48:79-106.

- Hara N., Yamada K., Shibata T., Osago H., Hashimoto T., Tsuchiya M. 2007. Elevation of Cellular NAD Levels by Nicotinic Acid and Involvement of Nicotinic Acid Phosphoribosyltransferase in Human Cells. *J. Biol. Chem.* 282:24574-24582.
- Häussler, S., Sadri, H., Ghaffari, M. H., & Sauerwein, H. 2022. Symposium review: Adipose tissue endocrinology in the periparturient period of dairy cows. *Journal of dairy science*, 105(4), 3648-3669.
- Hristovska, T., Cincović, M., Dodovski, P., Karabolovski, N., Pejcinovska, N., Dameski, P., Zdraveski, I., Ristevski, M. 2024. Effects of niacin on blood indicators of lipomobilization and hepatic function in dairy cows during early lactation. *Journal of Hygienic Engineering and Design* 47, 45-50.
- Jacobson E.L., Jacobson M.K. 1997. Tissue NAD as a biochemical measure of niacin status in humans. *Methods Enzymol.* 280:221–230.
- Krnjaic, S., Đoković, R., Majkić, M., Starić, J., Cincović, M. 2024. Uticaj frekvencije muže na povezanost mobilizacije lipida i pokazatelja funkcionalnog statusa jetre kod krava u laktaciji. *Letopis naučnih radova / Annals of Agronomy* 48(1): 1-8.
- Lakić, I., Cincović, M. R., Belić, B., Đoković, R., Majkić, M., Petrović, M. Ž., & Nikolić, S. 2018. Lipolysis and ketogenesis in cows in early lactation. *Acta Agriculturae Serbica*, 23(46), 265-276.
- Lor, J. J., Everts, R. E., Bionaz, M., Dann, H. M., Morin, D. E., Oliveira, R., Lewin, H. A. 2007. Nutrition-induced ketosis alters metabolic and signaling gene networks in liver of periparturient dairy cows. *Physiological genomics*, 32(1), 105-116.
- Majkić, M., Cincović, M., Spasojević, J., Jožef, I., Blond, B., Kovačević, D. 2023. Kriva rezilijentnosti i kumulativni odgovor krava na toplotni stres. *Letopis naučnih radova / Annals of Agronomy* 47(1): 38-46.
- Masia, R., McCarty, W. J., Lahmann, C., Luther, J., Chung, R. T., Yarmush, M. L., & Yellen, G. 2018. Live cell imaging of cytosolic NADH/NAD⁺ ratio in hepatocytes and liver slices. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 314(1), G97-G108.
- Murthy, S., Thakur, S., Kumar, A., & Gupta, S. 2021. Nicotinic acid, its mechanism of action and pharmacological effects. *Res. Rev. Int. J. Multidiscip.* 6, 56-62.
- Petrović K, Stojanović D. 2020. Uticaj anti-inflamatornog efekta niacina na enzime jetre i oksidativni stres krava u ranoj laktaciji. *Veterinarski Pregled.* 1(1):105-111.
- Petrović, K., Djoković, R., Cincović, M., Hristovska, T., Lalović, M., Petrović, M., et al. 2022. Niacin status indicators and their relationship with metabolic parameters in dairy cows during early lactation. *Animals*, 12(12), 1524.
- Petrović, K., Stojanovic, D., Cincović, M.R., Belić, B., Lakic, I., Đoković, R. 2021. Influence of niacin application on inflammatory parameters, non-esterified fatty acids and functional status of liver in cows during early lactation. *Large Animal Review*, 27(1), 17-21.
- Pires JAA, Grummer RR. 2007. The use of nicotinic acid to induce sustained low plasma nonesterified fatty acids in feed-restricted Holstein cows. *J Dairy Sci*, 90:3725–3732.
- Rehage J., Qualmann K., Meier C., Stockhofe-Zurwieden N., Hoeltershinken M., Pohlenz J. 1999. Total serum bile acid concentrations in dairy cows with fatty liver and liver failure. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.* 106:126–129.
- Sadiq, M. B., Zaini, S. S., Mossadeq, W. M. S., Ramanoon, S. Z., & Syed-Hussain, S. S. 2024. Lying and rumination time as predictors of subclinical ketosis, metritis, and hypocalcaemia in dairy cows during the periparturient period: A systematic review and meta-analysis. *Applied Animal Behaviour Science*, 278, 106358.
- Suarez-Trujillo, A., Hoang, N., Robinson, L., McCabe, C. J., Conklin, D., Minor, R. C., ... & Casey, T. M. 2022. Effect of circadian system disruption on the concentration and daily oscillations of cortisol, progesterone, melatonin, serotonin, growth hormone, and core body temperature in periparturient dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 105(3), 2651-2668.
- Titgemeyer E, Spivey K, Mamedova L, Bradford B. 2011. Effects of pharmacological amounts of nicotinic acid on lipolysis and feed intake in cattle. *Int J Dairy Sci*, 6:134–141.
- Titgemeyer E.C., Mamedova L.K., Spivey K.S., Farney J.K., Bradford B.J. 2011a An unusual distribution of the niacin receptor in cattle. *J. Dairy Sci.* 94 :4962–4967.
- Tunaru S, Kero J, Schaub A, Wufka C, Blaukat A, Pfeffer K, Offermanns S. 2003. PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its anti-lipolytic effect. *Nat Med*, 9:352–355.
- Wang, G., Zhu, Y., Feng, D., Yao, J., Cao, Y., & Deng, L. 2025. Hepatic gluconeogenesis and regulatory mechanisms in lactating ruminants: A literature review. *Animal Research and One Health*, 3(3), 230-239.
- Yamaguchi, S., Yoshino, J. 2017 Adipose tissue NAD(+) biology in obesity and insulin resistance: From mechanism to therapy. *BioEssays: News and Reviews in Molecular, Cellular and Developmental Biology* 39, <https://doi.org/10.1002/bies.201600227>.
- Yoshino, J., Mills, K. F., Yoon, M. J. & Imai, S. 2011. Nicotinamide mononucleotide, a key NAD(+) intermediate, treats the pathophysiology of diet- and age-induced diabetes in mice. *Cell Metab.* 14, 528–536.

Investigation of the effect of niacin treatment on the metabolic stability of cow hepatocytes in early lactation

Mira Marković^a, Dragica Stojanović^a, Talija Hristovska^b, Kosta Petrović^c,

Marko Cincović^a, Mira Majkić^a

^aUniversity of Novi Sad, Faculty of Agriculture, Department of veterinary medicine, Novi Sad, Serbia

^bUniversity „Sv.Kliment Ohridski“, Veterinary faculty Bitolj, N.Macedonia

^c Agricultural School with Student Dormitory Futog

*Corresponding author: miramajkic@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to examine the hepatoprotective effect of niacin after its application in the periparturient period by determining the differences in the values of metabolites important for the functional status of hepatocytes in samples from cows that received niacin and those that did not. It also aimed to determine whether the hepatoprotective effect of niacin increases with higher niacin status scores, by establishing the relationship between niacin status values (NAD:NADP) and the likelihood that cows maintain their metabolic parameters within reference ranges. Niacin exhibits a hepatoprotective role by helping the liver preserve its secretory capacity, which is reflected in albumin and glucose values. It also shows a hepatoprotective effect by reducing lipolysis, ketogenesis, and fat accumulation in the liver, as seen through decreased NEFA and BHB values, increased cholesterol and triglyceride levels, and a more favorable NEFA:cholesterol ratio. Niacin reduces the burden and necrosis of hepatocytes and the stress on the bile ducts by lowering liver enzyme activity and bilirubin concentrations. The niacin status, expressed as the NAD:NADP index, is a significant indicator of niacin's hepatoprotective function: as this index increases, the likelihood that a large number of biochemical parameters remain within reference values is much higher than the likelihood of unfavorable (out-of-range) values. The odds ratio is a good and simple indicator of the effect of niacin treatment in cows during early lactation.

KEY WORDS

niacin status, hepatocyte function, blood parameters, odds ratio.

Rad primljen: 17.10.2025.

Ispravljen: 18.11.2025.

Prihvaćen 24.11.2025.

Objavljen: 31.12.2025.