

CONTRIBUIÇÃO ANTIOXIDANTE DO BUTAFOSFAN E DA CIANOCOBALAMINA NO METABOLISMO DE VACAS LEITEIRAS

FERNANDO SILVA GUIMARÃES; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ; RUBENS ALVES PEREIRA; FRANCISCO AUGUSTO BURKERT DEL PINO; RAQUEL FRAGA E SILVA RAIMONDO; MARCIO NUNES CORRÊA

*Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC)
Faculdade de Veterinária - Universidade Federal de Pelotas – UFPel
Campus Universitário – 96010 900 – Pelotas/RS – Brasil
nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec*

1. INTRODUÇÃO

O período de transição de vacas leiteiras, que compreende 3 semanas pré e 3 semanas pós-parto, desencadeia alterações fisiológicas e metabólicas caracterizadas pela elevada demanda energética, que quando não suprida, leva ao balanço energético negativo (BEN) (HERDT, 2000). Uma das alternativas que o organismo dispõe para atender suas necessidades energéticas é a mobilização do tecido adiposo (RUKKWAMSUK et al., 1999), o que resulta numa intensa lipólise, com o aumento dos níveis séricos de ácidos graxos não esterificados (AGNEs) e corpos cetônicos, como a acetona, o acetoacetato e o beta-hidroxibutirato (BELL, 1995).

A intensa mobilização lipídica é acompanhada pela produção aumentada de espécies reativas de oxigênio (EROs), as quais são responsáveis por desenvolver a condição de estresse oxidativo (GAAL et al., 2006). Os AGNEs aumentam significativamente a síntese de EROs na mitocôndria através de diversos mecanismos, sendo a cadeia transportadora de elétrons o alvo principal (SCHONFELD e WOJTCZAK, 2007).

Estudos têm demonstrado que a associação de butafosfan e cianocobalamina (BTC) pode ser uma alternativa eficaz para reduzir o BEN em vacas leiteiras, diminuindo os níveis séricos de AGNEs e BHB (FURLL et al., 2010; ROLLIN et al., 2010; PEREIRA et al., 2013) e que a administração de vitaminas com potencial antioxidante podem ser eficientes para neutralizar a ação dos EROs (RIZZO, 2013).

Diante disto, nosso objetivo foi avaliar a contribuição antioxidante da associação de butafosfan e cianocobalamina durante o pós-parto de vacas leiteiras, baseando-se na hipótese de que a diminuição do BEN, através da redução dos níveis séricos de AGNEs e BHB, reduza a síntese de EROs na mitocôndria, favorecendo o sistema de defesa antioxidante.

2. METODOLOGIA

Para este estudo foram utilizadas 52 vacas multíparas, da raça Holandês, provenientes de um rebanho leiteiro comercial do sul do Brasil. Estas vacas foram ordenhadas duas vezes ao dia e receberam suplementação de concentrado de acordo com o National Research Council (NRC, 2001). Após o parto, os animais foram separados aleatoriamente em três grupos: (1) Grupo controle ($n= 16$), que receberam 10 ml de solução salina (i.m. NaCl 0,9%), a cada 5 dias a partir do parto até 20 dias no período de lactação; (2) Grupo BTC10 ($n= 18$), que receberam 1000

mg de butafosfan e 0,5 mg de cianocobalamina (i.m., 10 ml de Catosal[®] B12, Bayer Health Care, São Paulo, Brasil) e (3) Grupo BTC20 ($n=18$), que receberam 2000 mg de butafosfan e 1,0 mg de cianocobalamina (i.m., 20 mL de Catosal[®] B12). A administração de BTC em ambos os grupos foi realizada a cada cinco dias após o parto até 20 dias de lactação. Para as análises, as amostras de sangue foram coletadas com intervalo de 15 dias, do pós-parto até 75 dias de lactação. As análises de AGNEs e BHB foram realizadas utilizando kits comerciais (Wako NEFA-HR, Wako Chemicals USA[®], Richmond, EUA) e Randox[®] (Randox Laboratories E.U.A[®], Oceanside, CA, EUA), respectivamente. A análise estatística foi realizada utilizando MIXED procedure do SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) e todas as variáveis independentes foram analisadas como medidas repetidas e consideradas as vacas tratadas como efeito aleatório.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O butafosfan é uma fonte de fósforo orgânico importante para os processos de gliconeogênese e glicólise, pois serve como substrato para o ciclo ADP/ATP (LEHNINGER et al., 2011). Já a cianocobalamina está envolvida na síntese da colina e carnitina que são moléculas que participam do transporte e metabolismo de ácidos graxos (ROLLIN et al., 2009). Além desta função, a cianocobalamina e seus derivados possuem comprovada ação antioxidante (BIRCH et al., 2009). Em conjunto, o butafosfan e a cianocobalamina reduzem a síntese de enzimas envolvidas na β -oxidação, como a acyl-CoA sintetase (KREIPE et al., 2011), o que pode explicar a redução dos níveis de AGNEs do nosso estudo, principalmente pela capacidade do BTC aumentar a síntese de ATP e, conseqüentemente, diminuir a necessidade de mobilização lipídica durante o pós-parto de vacas leiteiras.

Cabe ressaltar que os AGNEs aumentam significativamente a produção do ânion superóxido (O_2), uma espécie reativa de oxigênio sintetizada pelo complexo III da cadeia transportadora de elétrons (SCHONFELD e WOJTCZAK, 2007). Esta produção de EROs na mitocôndria acelera a senescência celular resultando em apoptose (MANDELKER, 2008). Além do mais, estudos têm demonstrado uma correlação positiva entre triglicerídeos e um conhecido produto da lipoperoxidação, o malondialdeído (RICHARD et al., 1992; CASTILLO et al., 2005), o que pode indicar uma possível redução na produção de EROs na mitocôndria e o conseqüente comprometimento celular. Entretanto, em nosso estudo, foi possível observar que os níveis de AGNEs dos animais tratados (BTC10 e BTC20) foram menores ($P=0,0008$) que do grupo controle, o que mostra que o tratamento com BTC pode contribuir para a redução da síntese de EROs e, conseqüentemente, evitar o estresse oxidativo e uma possível apoptose celular (SCHONFELD e WOJTCZAK, 2008). Além disso, de uma maneira geral, os níveis de AGNEs permaneceram aumentados da segunda até a sexta semana pós-parto nos grupos controle e BTC10, demonstrando efeito dose dependente.

Da mesma forma que os AGNEs, os níveis de BHB foram maiores ($P=0,03$) no grupo controle. Isso é importante, pois em estudo recente (TURK et al., 2013) demonstrou-se que conforme aumentam os níveis séricos de AGNEs, também elevam-se os de BHB, o que também pode indicar que a geração de EROs na mitocôndria está relacionada com os níveis deste corpo cetônico (PEDERNEIRA et al., 2009). Portanto, a diminuição dos níveis séricos de BHB após a administração de BTC, podem indicar uma menor mobilização lipídica e uma possível prevenção do estresse oxidativo celular nos animais tratados.

O aporte energético proveniente da administração de BTC comprovadamente diminui o BEN (PEREIRA et al., 2013), o que significa que as vias catabólicas para geração de energia, como por exemplo via de mobilização de ácidos graxos e corpos cetônicos, não são ativadas. Com isso, não há acúmulo de AGNEs, resultando na diminuição da síntese de EROs na mitocôndria e, conseqüentemente, prevenindo da condição de estresse oxidativo e apoptose celular.

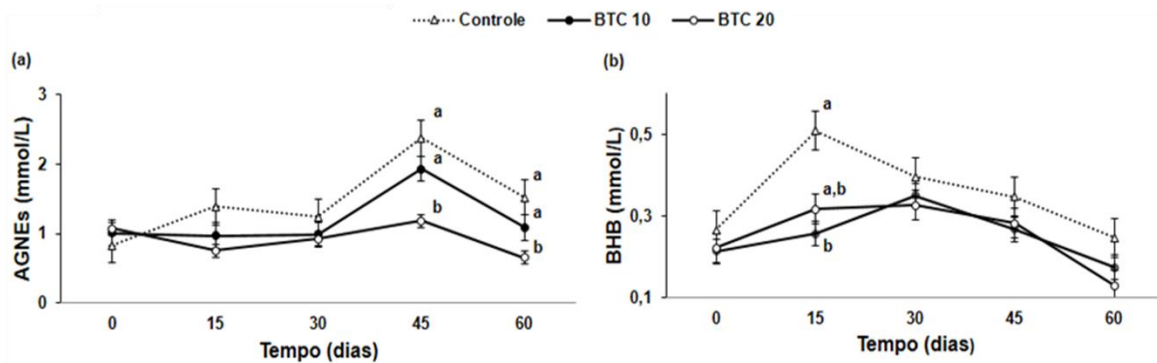


Figura 1 Concentração plasmática de AGNEs (a) e BHB (b) em vacas do grupo controle, 10 ml de butafosfan e cianocobalamina (BTC10) e 20 ml de butafosfan e cianocobalamina (BTC20).

4. CONCLUSÕES

A administração de butafosfan e cianocobalamina no pós parto vacas leiteiras diminui os níveis sanguíneos de AGNEs e BHB, resultando numa menor geração de EROs e contribuindo para o sistema antioxidante do organismo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELL, A.W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of Animal Science**, Ithaca, v. 73, n. 9, p. 2804-2819, 1995.
- BIRCH, C.S., BRASCH, N.E., MCCADDON, A., WILLIAMS, J.H.H. A novel role for vitamin B12: cobalamins are intracellular antioxidants in vitro **Free Radical in Biology and Medicine**, Chester, v. 47, n. 2, p. 184-188, 2009.
- CASTILLO, C., HERNANDEZ, J., BRAVO, A., LOPEZ-ALONSO, M., PEREIRA, V., BENEDITO, J.L. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. **The Veterinary Journal** Lugo, v. 169, n. 2, p. 286-292, 2005.
- DENIZ, A., WESTPHAL, B., ILLING, C. Effects of prepartum metaphylactic treatment with Catosal on postpartum metabolic functions in cows. In: **PROCEEDINGS OF THE XXV WORLD BURIATRICALS CONGRESS**. Budapest, 2008, Oral and Poster Presentations. p. 26-31.
- DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, 1999.
- FURLL, M., DENIZ, A., WESTPHAL, B., ILLING, C., CONSTABLE, P.D. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Leipzig, v. 93, n. 4, p. 4155-4164, 2010.
- GAAL, T., RIBICZEYNE-SZABO, P., STADLER, K., JAKUS, J., RECZIGEL, J., KOVER, P., MEZES, M., SUMEGHLY, L. Free radicals, lipid peroxidation and the antioxidante system in the blood of cows and newborn calves around calving. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Budapest, v. 143, n. 4, p. 391-396, 2006.

- GOFF, J.P., HORST, R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, Ames, v. 80, n. 7, p. 1260-1268, 1997.
- HERDT, T.H. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, East Lansing, v. 16, n. 2, p. 215-230, 2000.
- KENNEDY, D.G., CANNAVAN, A., MOLLOY, A., O'HARTE, F., TAYLOR, S.M., KENNEDY, S., BLANCHFLOWER, W.J., Methylmalonyl-CoA mutase (EC 5.4.99.2) and methionine synthetase (EC. 2.1.1.13) in the tissues of cobalt-vitamin B12 deficient sheep. **British Journal of Nutrition**, Belfast, v. 64, n. 3, p. 721-732, 1990.
- KREIPE, L., DENIZ, A., BRUCKMAIER, R.M., VAN DORLAND, H.A. First report about the mode of action of combined butafosfan and cyanocobalamin on hepatic metabolism in nonketotic early lactating cows. **Journal of Dairy Science**, Bern, v. 94, n. 10, p. 4904-4914, 2011.
- LEAN, I.J., VAN SAUN, R. DEGARIS, P.J. Mineral and antioxidant management of transition dairy cows. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal**, New South Wales, v. 29, n. 2, p. 367-386, 2013.
- MANDELKER, L. Introduction to oxidative stress and mitochondrial dysfunction. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, Largo, v.38, n. 1, p. 1-30, 2008.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle**. Washington: National Academy Press, 2001.
- NELSON, D.L., COX, M.M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2011. 5v.
- PEDERNEIRA, M., CELI, P., GARCÍA, S.C., SALVIN, H.E., BARCHIA, I., FULKERSON, W.J. Effect of diet, energy balance and milk production on oxidative stress in early-lactating dairy cows grazing pasture. **The Veterinary Journal**, Camden, v. 186, n. 3, p. 352-357, 2009.
- PEREIRA, R.A., SILVEIRA, P.A.S., MONTAGNER, P., SCHNEIDER, A., SCHMITT, E., RABASSA, V.R., PFEIFER, L.F.M., DEL PINO, F.A.B., PULGA, M.E., CORRÊA, M.N. Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. **Animal Journal**, Cambridge, v. 1, n. 1, p. 1-5, 2013.
- RICHARD, M.J., PORTAL, B., MEO, J., COUDRAY, C., HADJIAN, A., FAVIER, A. Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. **Clinical Chemistry**, Grenoble, v. 38, n. 5, p. 704-709, 1992.
- RIZZO, A., PANTALEO, M., MUTINATI, M., MINOIA, G., TRISOLINI, C., CECI, E., SCIORSCI, R.L. Blood and milk oxidative status after administration of different antioxidants during early postpartum dairy cows. **Research in Veterinary Science**, Valenzano, v. x, n. x, p. xx-xx, 2013.
- ROLLIN, E., BERGHAUS, R.D., RAPNICKI, P., GODDEN, S.M., OVERTON, M.W. The effect of injectable butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum serum beta-hydroxybutyrate, calcium and phosphorous concentrations in dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Athens, v. 93, n. 3, p. 978-987, 2010.
- RUKKWAMSUK, T., KRUIP, T.A.M., WENSING, T. Relationship between overfeeding and overconditioning in the problems of high producing dairy cows during the postparturient period. **The Veterinary Quarterly**, The Netherlands, v. 21, n. 3, p. 71-77, 1999.
- SCHONFELD, P., WOJTCZAK, L. Fatty acids as modulators of the cellular production of reactive oxygen species. **Free Radical in Biology and Medicine**, Magdeburg, v. 45, n. 3, p. 231-241, 2008.
- SCHONFELD, P., WOJTCZAK, L. Fatty acids decrease mitochondrial generation of reactive oxygen species at the reverse electron transport but increase it at the forward transport. **Biochimica et Biophysica Acta**, Magdeburg, v. 1767, n. 8, p. 1032-1040, 2007.
- TURK, R., PODPECAN, O., MRKUN, J., KOSEC, M., FLEGAR-MESTRIC, Z., PERKOV, S., STARIC, J., ROBIC, M., BELIC, M., ZRIMSEK, P. Lipid mobilization and oxidative stress as metabolic adaptation processes in dairy heifers during transition period. **Animal Reproduction Science**, Zagreb, v. x, n. x, p. xx-xx, 2013.