

## EFEITO GLICEMIANTE DO BUTAFOSFAN E CIANOCOBALAMINA EM VACAS LEITEIRAS

VINÍCIUS COITINHO TABELÃO<sup>1</sup>; ELIZABETH SCHWEGLER<sup>1,2</sup>; VIVIANE ROHRIG RABASSA<sup>1,2</sup>; CASSIO CASSAL BRAUNER<sup>1,2</sup>; RUBENS ALVES PEREIRA<sup>1,2</sup>; MARCIO NUNES CORRÊA<sup>1,3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – NUPEEC – Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária. [vinicius.tabeleao@gmail.com](mailto:vinicius.tabeleao@gmail.com)

<sup>2</sup>[bethveterinaria@gmail.com](mailto:bethveterinaria@gmail.com), [vivianerabassa@gmail.com](mailto:vivianerabassa@gmail.com), [cassiocb@gmail.com](mailto:cassiocb@gmail.com), [rubens\\_ap@yahoo.com.br](mailto:rubens_ap@yahoo.com.br).

<sup>3</sup>[marcio.nunescorreia@gmail.com](mailto:marcio.nunescorreia@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

A utilização de diversas ferramentas tem auxiliado na geração de vacas leiteiras com crescente capacidade de produção e, conseqüentemente, aumentando suas exigências metabólicas (BUTLER, 2010). Estas demandas são decorrentes, principalmente, da síntese de colostro no pré-parto e de leite no pós-parto, causando alterações metabólicas nos processos homeostático e adaptativo, característicos do período de transição (CASTANEDA-GUTIERREZ et al., 2009).

Alguns estudos relatam que neste período ocorre maior resistência à insulina e, por conseguinte, menor metabolização de glicose pelos tecidos periféricos (CHAGAS et al., 2009, ZHANG et al., 2013). Esta resistência periférica à insulina é caracterizada pela diminuição da passagem de glicose para o interior das células, podendo ser decorrentes da menor expressão dos receptores de insulina (TSURUZOE et al., 2001), ou da baixa produção deste hormônio pelo pâncreas (NING et al., 2011). Frente a isto, os tecidos periféricos utilizam diferentes compostos como fonte de energia, tais como os aminoácidos advindos das proteínas plasmáticas e/ou musculares que serão destinados, principalmente, às rotas metabólicas de gliconeogênese hepática (LORENZO et al., 2008).

A fim de diminuir o impacto metabólico desses eventos, tem-se buscado alternativas, como a utilização da associação de butafosfan, uma fonte orgânica de fósforo, com a cianocobalamina, que possui ação neoglicogênica (KREIPE et al., 2011), esta associação tem demonstrado efeito sobre a produção leiteira e sobre o BEN de vacas (PEREIRA et al., 2013). Desta forma, o objetivo deste estudo foi verificar o efeito glicemiante do butafosfan e da cianocobalamina sobre o metabolismo de vacas leiteiras no período pós-parto.

### 2. METODOLOGIA

O experimento foi realizado em uma propriedade comercial no Rio Grande do Sul, com sistema de produção a pasto e suplementação concentrada pós-ordenha. Foram utilizadas 21 vacas que tinham entre 2 e 4 lactações, as quais, nos dias 7, 12, 17, 22 e 27 após o parto foram submetidas aos seguintes tratamentos: Grupo Controle (GCon, n= 11) que recebeu solução salina (NaCl 0,9%; 20 mL/animal) por via intramuscular; Grupo Tratamento (GABC, n=10) que recebeu uma solução com 2g Butafosfan + 1 mg de Cianocobalamina (20 mL/animal de Catosal<sup>®</sup> B12, Bayer Health Care, São Paulo, Brasil), por via intramuscular. As vacas tinham peso médio de 588,43 ±57,3 kg no início do experimento e eram ordenhadas duas vezes ao dia (6:00 e 15:00 hrs), recebendo suplementação após cada ordenha, através de uma

dieta formulada com base nas exigências nutricionais (NRC, 2001) para ambos os grupos. Entre as ordenhas os animais tinham água *ad libitum* e pastagem, que era composta por Sorgo forrageiro.

Coletas de sangue foram realizadas nos dias de administração dos tratamentos, anteriormente a aplicação, para a determinação das concentrações de glicose, através de kit comercial específico (Labtest<sup>®</sup> Diagnóstica S.A., Brasil) e leitura em espectrofotômetro de luz visível (CELM SB 190<sup>®</sup>, Companhia Equipadora de Laboratórios Modernos (CELM) – Brasil).

Nos dias 8 e 28 pós-parto, foram realizados o Teste de Tolerância a Glicose (TTG) e desafio à insulina. O TTG foi realizado considerando a infusão de glicose como momento zero, sendo determinados os níveis glicêmicos nos momentos -5, 0, 15, 30, 45 e 60 minutos após a infusão, para a determinação da área sob a curva (ASC). Para o cálculo da ASC da glicose foi utilizada a área do trapézio formado entre duas coletas subseqüentes (REGNAULT et al., 2004), considerando-se as alterações com relação ao nível basal de cada indivíduo ( $\text{Área} = (\text{Valor Coleta 1} - \text{Média das duas coletas basais} + \text{Valor Coleta 2} - \text{Média das duas coletas basais}) * \text{Intervalo entre coletas} / 2$ ).

A taxa de metabolização da glicose ( $\delta$ ) foi definida como a velocidade de sua metabolização ( $\log \text{natural } T_{i(15 \text{ min})} - \log \text{natural } T_{f(60 \text{ min})} / \text{diferença } T_{f(60 \text{ min})} - T_{i(15 \text{ min})} * 100$ , sendo  $T_i$  o tempo inicial e  $T_f$  o tempo final. O tempo necessário para que a glicose atingisse a metade da concentração inicial foi definido como a taxa de meia vida da glicose ( $T_{1/2} \text{ min} = 100 * (0,693/\delta)$ ) (CHAGAS et al., 2009). Decorridos 60 minutos da infusão de glicose, foi administrada insulina na dose de 0,1 UI/Kg de peso vivo, sendo avaliado o tempo de desaparecimento da glicose através da determinação da glicemia nos tempos 60, 65, 70, 75, 90, 120, 150 e 180 minutos da infusão de glicose.

Os dados foram analisados tendo os animais como unidades experimentais. As análises da metabolização da glicose antes e após aplicação de insulina, níveis séricos de glicose e peso corporal foram comparadas entre os tratamentos, assim como o momento da coleta e interações entre eles, por meio de análise de variância com medidas repetidas. As análises de taxa de meia vida, taxa de metabolização, área sob a curva da glicose e ganho de peso diário foram comparadas entre os tratamentos individualmente, por análise de variâncias. Os resultados são apresentados como médias  $\pm$  erro padrão da média (EPM). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). As diferenças foram consideradas significativas quando o  $P \leq 0,05$ .

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso corporal dos animais do grupo GABC foi menor ( $P=0,0046$ ) no dia 28, quando comparado ao seu peso no dia 8 (Tabela 1). Ainda, foi observada diferença entre os grupos GCon e GABC no dia 28 ( $P=0,0433$ ). Da mesma forma, o ganho médio diário (kg), foi menor ( $P=0,008$ ) nos animais do grupo GABC ( $-2,01 \pm 0,58$ ), quando comparado com o grupo GCon ( $0,50 \pm 0,63$ ). Isto sugere um catabolismo muscular nos animais tratados, contrastando com o grupo GCon que ganhou peso durante o período experimental

Além disso, durante o desafio da insulina observou-se interação entre grupo e coleta ( $P=0,02$ ) no grupo GABC nas concentrações médias de glicose plasmáticas após aplicação de insulina (entre 60 e 180 minutos), sendo que no dia 8 pós-parto a concentração média ( $83,01 \pm 8,54 \text{ mg/dL}$ ) foi inferior a do dia 28 pós-parto ( $97,54$

$\pm 8,54$ mg/dL). No entanto não foi observado o mesmo efeito no grupo GCon ( $P > 0,05$ ). Apesar disto, as concentrações médias de glicose plasmática não diferiram entre os tratamentos e coletas ( $P > 0,05$ ), nos dias das aplicações. Em relação ao período anterior a aplicação da insulina a glicemia também não diferiu entre os tratamentos, coletas e suas interações ( $P > 0,05$ ).

Tabela 1: Efeito glicemiante do butafosfan e cianocobalamina, sobre o peso médio das vacas nos dias 8 e 28 pós-parto.

Período	GCON		GABC	
	MÉDIA	$\pm$ EPM	MÉDIA	$\pm$ EPM
8	595,36 <sup>aA</sup>	16,15	595,10 <sup>aA</sup>	15,36
28	606,09 <sup>aA</sup>	20,81	554,70 <sup>bB</sup>	14,59

GCON= Grupo controle (NaCl 0,9%; 20 mL/animal); GABC= Grupo Tratamento (20 mL/animal em cada aplicação, Catosal<sup>®</sup> B12<sup>®</sup>). Letras distintas indicam diferença ( $P < 0,05$ ), sendo minúsculas na linha e maiúsculas na coluna.

Este evento pode ser decorrente da diminuição do aporte de glicose ao músculo esquelético, devido a menor expressão dos receptores de insulina, que são necessários para internalização da glicose, através dos transportadores GLUT4 (ZHANG et al., 2013). Esta diminuição da expressão dos receptores é demonstrada em outros estudos, como sendo um mecanismo fisiológico (BELL; BAUMAN, 1997), visando diminuir a utilização de glicose pelos tecidos periféricos e aumentar sua disponibilidade para a glândula mamária (MATTMILLER et al., 2011). Isto também aumenta a disponibilidade de aminoácidos para a neoglicogênese (ROCHE et al., 2009), favorecendo a conversão de metil-malonil coa em succinil coa, pela enzima metil-malonilamutase, que é dependente de cianocobalamina, sendo esta uma via importante para entrada do propionato no ciclo de krebs para síntese de energia (FURLL et al., 2010). Este mecanismo adaptativo (ROCHE et al., 2009) foi observado nos animais tratados, que após a aplicação de insulina diminuíram a metabolização de glicose no final do tratamento (28 dias pós-parto), em relação ao início (8 dias pós-parto).

Contudo, as taxas de meia vida, metabolização e ASC da glicose determinadas entre 0 e 60 minutos ( $TTG_{0-60min}$ ), nos dias 8 e 28 pós-parto, não foram diferentes ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos, isto sugere que os mecanismos homeostáticos da metabolização de glicose mediados pela insulina endógena (BALOGH et al., 2009) não foram alterados pelas sucessivas doses da associação de butafosfan e cianocobalamina, mantendo semelhante a velocidade de transporte do plasma para o interior das células (DUEHLMIEIER; NOLDT; GANTER, 2013).

Com isso, este estudo sugere que a associação de butafosfan e cianocobalamina tem a capacidade de intensificar os processos fisiológicos adaptativos de metabolização da glicose e influenciar a taxa de catabolismo protéico muscular em vacas leiteiras, característicos do período de transição.

#### 4.CONCLUSÕES

A utilização de sucessivas doses da combinação metafílica de butafosfan e cianocobalamina diminui a metabolização da glicose de vacas leiteiras no pós parto.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BALOGH, O., K. KOVACS, M. KULCSAR, A. GASPARDY, A. ZSOLNAI, L. KATAI, A. PECSI, L. FESUS, W. R. BUTLER, and G. HUSZENICZA. Alul polymorphism of the bovine growth hormone (GH) gene, resumption of ovarian cyclicity, milk production and loss of body condition at the onset of lactation in dairy cows. *Theriogenology* 71(4):553-559.2009
- BELL, A. W. and D. E. BAUMAN. Adaptations of Glucose Metabolism During Pregnancy and Lactation. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia* 2(3):265-278.1997
- BUTLER, W. R. Fertility of lactating cows in relation the physiology of the transition period. *Large Animal Review* 16(6):305-308.2010
- CASTANEDA-GUTIERREZ, E., S. H. PELTON, R. O. GILBERT, and W. R. BUTLER. Effect of peripartum dietary energy supplementation of dairy cows on metabolites, liver function and reproductive variables. *Anim Reprod Sci* 112(3-4):301-315.2009
- CHAGAS, L. M., M. C. LUCY, P. J. BACK, D. BLACHE, J. M. LEE, P. J. GORE, A. J. SHEAHAN, and J. R. ROCHE. Insulin resistance in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. *Journal of Dairy Science* 92(1):216-222.2009
- DUEHLMEIER, R., S. NOLDT, and M. GANTER. Pancreatic insulin release and peripheral insulin sensitivity in German black headed mutton and Finish Landrace ewes: evaluation of the role of insulin resistance in the susceptibility to ovine pregnancy toxemia. *Domest Anim Endocrinol* 44(4):213-221.2013
- FURLL, M., A. DENIZ, B. WESTPHAL, C. ILLING, and P. D. CONSTABLE. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Science* 93(9):4155-4164.2010
- KREIPE, L., A. DENIZ, R. M. BRUCKMAIER, and H. A. VAN DORLAND. First report about the mode of action of combined butafosfan and cyanocobalamin on hepatic metabolism in nonketotic early lactating cows. *Journal of Dairy Science* 94(10):4904-4914.2011
- LORENZO, M., S. FERNANDEZ-VELEDO, R. VILA-BEDMAR, L. GARCIA-GUERRA, C. DE ALVARO, and I. NIETO-VAZQUEZ. Insulin resistance induced by tumor necrosis factor-alpha in myocytes and brown adipocytes. *Journal of Animal Science* 86(14 Suppl):E94-104.2008
- MATTMILLER, S. A., C. M. CORL, J. C. GANDY, J. J. LOOR, and L. M. SORDILLO. Glucose transporter and hypoxia-associated gene expression in the mammary gland of transition dairy cattle. *Journal of Dairy Science* 94(6):2912-2922.2011
- NING, J., T. HONG, X. YANG, S. MEI, Z. LIU, H. Y. LIU, and W. CAO. Insulin and insulin signaling play a critical role in fat induction of insulin resistance in mouse. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 301(2):E391-401.2011
- PEREIRA, R. A., P. A. SILVEIRA, P. MONTAGNER, A. SCHNEIDER, E. SCHMITT, V. R. RABASSA, L. F. PFEIFER, F. A. DEL PINO, M. E. PULGA, and M. N. CORREA. Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. *Animal*:1-5.2013
- REGNAULT, T. R., H. V. ODDY, C. NANCARROW, N. SRISKANDARAJAH, and R. J. SCARAMUZZI. Glucose-stimulated insulin response in pregnant sheep following acute suppression of plasma non-esterified fatty acid concentrations. *Reprod Biol Endocrinol* 2:64.2004
- ROCHE, J. R., N. C. FRIGGENS, J. K. KAY, M. W. FISHER, K. J. STAFFORD, and D. P. BERRY. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science* 92(12):5769-5801.2009
- TSURUZOE, K., R. EMKEY, K. M. KRIAUCIUNAS, K. UEKI, and C. R. KAHN. Insulin receptor substrate 3 (IRS-3) and IRS-4 impair IRS-1- and IRS-2-mediated signaling. *Mol Cell Biol* 21(1):26-38.2001
- ZHANG, Z. G., J. G. WANG, R. F. GAO, W. Q. ZHANG, X. W. LI, G. W. LIU, X. B. LI, Z. WANG, and X. L. ZHU. High-Energy Diet at Antepartum Decreases Insulin Receptor Gene Expression in Adipose Tissue of Postpartum Dairy Cows. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy* 57(2):203-207.2013