

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



Dissertação

**Efeitos da administração de Butafosfan e
Cianocobalamina após o parto, sobre parâmetros
metabólicos e produtivos de vacas leiteiras**

Rubens Alves Pereira

Pelotas, 2010

Rubens Alves Pereira

Efeitos da administração de Butafosfan e Cianocobalamina após o parto, sobre parâmetros metabólicos e produtivos de vacas leiteiras

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (Área do conhecimento: Bioquímica Clínica).

Orientador:

Prof. Marcio Nunes Corrêa

Co-orientadores:

Prof. Francisco A. B. Del Pino

Prof. Ivan Bianchi

Pelotas, 2010

Dados de catalogação na fonte:
Ubirajara Buddin Cruz – CRB-10/1032
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

P436e

Pereira, Rubens Alves

Efeitos da administração de Butafosfan e Cianocobalamina após o parto, sobre parâmetros metabólicos e produtivos de vacas leiteiras / Rubens Alves Pereira ; orientador Marcio Nunes Corrêa ; co-orientador Francisco A. B. Del Pino. – Pelotas, 2010. – 33f. : gráf. – Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Centro de Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2010.

1.Biotecnologia. 2.Bioquímica clínica. 3.Butafosfan.
4.Cianocobalamina. 5.Vacas leiteiras. 6.Metabolismo
energético. I.Corrêa, Marcio Nunes. II.Del Pino, Francisco A. B.
III.Título.

CDD: 636.214

Banca examinadora:

Bruna da Rosa Curcio, Dra., Universidade Federal de Pelotas

Luiz Francisco Machado Pfeifer, Dr., Universidade Federal de Pelotas

Marcelo da Silva Cecim, Dr., Universidade Federal de Santa Maria

Marcio Nunes Corrêa, Dr., Universidade Federal de Pelotas (Orientador)

Francisco Augusto Burkert Del Pino, Dr Universidade Federal de Pelotas (Suplente)

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, aos meus pais, Ardolino Alves Pereira e Beatriz da Silva Pereira, pelo carinho constante e apoio afetivo irrestrito à minha educação e a meu crescimento intelectual.

Aos meus irmãos Belonis Pereira, Dionildo Alves Pereira, Ivani Salete Pereira, Sandra Maria Alves Pereira e Verildo Pereira, pelo carinho, apoio e incentivo durante toda a minha caminhada.

Ao meu orientador Marcio Nunes Corrêa pela confiança, pelos ensinamentos profissionais e pessoais, pelas brilhantes sugestões e pelo constante incentivo.

Aos graduandos, pós-graduandos e professores, integrantes do Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária pela amizade, compreensão e auxílio na execução do projeto.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia pela oportunidade de realização do mestrado.

À empresa Bayer HealthCare, pelo apoio técnico e financeiro oferecido durante a execução do trabalho.

Aos Laboratórios de Bioquímica Clínica e do Centro de Biotecnologia da UFPel, pela disponibilidade de pessoal e infra-estrutura para a condução das atividades.

Lista de Tabelas

Tabela 1	Determinação das médias e erro padrão das médias (\pm EPM) dos perfis energético, protéico, mineral, enzimático e produção leiteira (até 150 dias de lactação) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica.	28
----------	--	----

Lista de Figuras

- Figura 1 Concentrações séricas de β -hidroxibutirato (mmol/dL) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica. 29
- Figura 2 Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica. 29
- Figura 3 Concentrações séricas de colesterol (mg/dL) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica. 29

Resumo

PEREIRA, Rubens Alves. **Efeitos da administração de Butafosfan e Cianocobalamina após o parto, sobre parâmetros metabólicos e produtivos de vacas leiteiras.** 2010. 33f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da administração de Butafosfan e Cianocobalamina sobre os parâmetros do metabolismo energético, protéico, enzimático, mineral, produção e composição do leite de vacas leiteiras durante o período pós-parto. Foram utilizados no experimento 52 vacas da raça Holandês, avaliadas do parto até 150 dias de lactação. Estas vacas foram divididas em 3 grupos experimentais: o BC10 (n=18), que recebeu 5 doses de 10mL de solução aquosa de Butafosfan+Cianocobalamina; o BC20 (n=18), que recebeu 5 doses de 20mL de solução aquosa de Butafosfan+Cianocobalamina; e o grupo controle (GC n=16), que recebeu 5 doses de 10mL de solução fisiológica (NaCl 0,9%). Foram realizadas administrações logo após o parto, com intervalo de 5 dias, por via intramuscular. Foi coletado sangue a cada 15 dias a partir do terceiro dia pós-parto para a determinação dos níveis de glicose, ácidos graxos não esterificados (NEFA), β -hidroxibutirato (BHBA), uréia, cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT). Foi coletada urina a cada 15 dias a partir do terceiro dia pós-parto para a determinação de corpos cetônicos (CC). Avaliou-se o escore de condição corporal (ECC) e produção leiteira. Todos os grupos diferiram entre si quanto aos níveis de NEFA, sendo maiores no GC. Os grupos BC10 e BC20 diferiram entre si, sendo superiores no BC10. Os níveis de BHBA foram maiores no GC em relação ao BC10 e BC20, os quais não diferiram entre si. Quanto às avaliações zootécnicas, os grupos BC10 e BC20 apresentaram uma produção leiteira maior que o GC, porém não diferiram entre si. As concentrações dos componentes do leite não foram alteradas até 150 dias da lactação. Estes resultados demonstraram que a solução de Butafosfan e Cianocobalamina, administradas em vacas leiteiras após o parto, reduz o balanço energético negativo e aumenta a produção de leite, sem sobrecarregar o fígado.

Palavras chave: butafosfan, cianocobalamina, vacas leiteiras, perfil metabólico.

Abstract

PEREIRA, Rubens Alves. **Effects of administration of Butafosfan and Cyanocobalamin postpartum on metabolic parameters and production of dairy cows.** 2010. 33f. Dissertation (Master). Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The aim of this study was to determine the effects of intramuscular injection of Butaphosphan and Cyanocobalamin on the parameters of energy metabolism, protein, enzyme, mineral and livestock of dairy cows in the postpartum period. We used 52 animals of the Holstein breed. The experimental period ranged from birth to 150 days of lactation. These cows were divided into 3 groups: BC10 (n=18), who received 5 doses of 10mL of solution of Butaphosphan+Cyanocobalamin, BC20 (n=18), who received 5 doses of 20mL of Butaphosphan+Cyanocobalamin; and CG (n=16), used as a control group received 5 doses of 10mL of saline (NaCl 0.9%). Administrations were performed with an interval of 5 days, intramuscularly, and blood samples every 5 days. Evaluations were performed on body condition score (BCS) and productive performance during the postpartum period and measurements of metabolic parameters such as blood glucose, nonesterified fatty acid (NEFA), urea, calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg), aspartate aminotransferase (AST), gamma-glutamyltransferase (GGT) and ketone (CC) in urine. The measurements of blood glucose were not changed during the study period. The blood levels of NEFA were higher ($P<0.05$) for the GC compared to BC10 and BC20, which also differed ($P<0.05$). Urea levels did not differ between groups ($P>0.05$). There were no differences ($P>0.05$) in the metabolites Ca, P, Ca: P, Mg and CC in the urine. The same finding was common to liver enzymes, AST and GGT. The animals in groups BC10 and BC20 had a milk production higher than the GC ($P<0.05$), but did not differ ($P>0.05$). The analysis of milk components were similar ($P>0.05$) between groups. These results demonstrated that the use of Butaphosphan and Cyanocobalamin in dairy cows during the postpartum period, is effective in alleviating the negative energy balance and improving the productive performance, without causing liver overload.

Key words: butaphosphan, cyanocobalamin, dairy cows, metabolic profile.

Sumário

Banca examinadora_____	04
Agradecimentos_____	05
Lista de Tabelas_____	06
Lista de Figuras_____	07
Resumo_____	08
Abstract_____	09
1.Introdução Geral_____	11
2.Hipótese_____	15
3.Objetivo_____	16
4.Artigo: Efeitos da administração de Butafosfan e Cianocobalamina após o parto, sobre parâmetros metabólicos e produtivos de vacas leiteiras._____	17
5.Conclusão Geral_____	30
6.Referências_____	31

1. Introdução Geral

O período de transição, compreendido entre as três últimas semanas de gestação e as três primeiras de lactação (GRUMMER, 1995), é tido como crítico para vacas leiteiras de alta produção, pois é caracterizado pelo balanço energético negativo (BEN) (SCHEIA et al., 2005). Nesta fase, a ingestão de nutrientes costuma ser insuficiente para prover as demandas energéticas de manutenção e produção (GOFF & HORST, 1997; GARRETT, 2003). A necessidade nutricional diária aumenta em 30% no final da gestação e em torno de 75% no início da lactação, podendo este déficit energético, persistir por 10 a 12 semanas (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). Nestas condições, rotas catabólicas são acionadas para suprir o desequilíbrio energético, aumentando os riscos de doenças metabólicas (MANDEBVU et al., 2003).

Estas mudanças fisiológicas afetam negativamente a saúde e o desempenho produtivo das vacas, sendo marcadas por transformações no perfil metabólico, endócrino e lactogênico. Tais alterações ocorrem gradualmente nos tecidos hepático, adiposo e muscular esquelético, além de influenciarem as secreções e ações de muitos hormônios, envolvidos no parto e lactação. As alterações do estado fisiológico no período seco ocorrem com intuito de preparar o animal para o parto e o subsequente processo de lactogênese (DRACKLEY, 1999).

Além destas mudanças metabólicas e fisiológicas repentinas, principalmente em vacas de alta produção, o período pós-parto é marcado pelo alto risco de doenças metabólicas, influenciadas direta e indiretamente pelas mudanças no metabolismo do pré-parto (GROHN et al., 1989). Entre as doenças diretamente ligadas, estão a lipidose hepática, a cetose e a hipocalcemia. As doenças interligadas indiretamente incluem mastite clínica, metrite, deslocamento do abomaso, e distúrbios digestivos (INGVARTSEN, 2006; MULLIGAN et al., 2006).

Na tentativa de compensar o BEN do período, as reservas corporais são mobilizadas, reduzindo a condição corporal e elevando os níveis sanguíneos de ácidos graxos não-esterificados (NEFA) oriundos da hidrólise

dos triglicerídeos pela ação da lipase sensível a hormônio (CHILLIARD *et al.*, 1983; CALDEIRA, 2005). Em excesso, o NEFA excede a capacidade hepática de β -oxidação resultando na formação de corpos cetônicos (CC), os quais são representados pelo β -hidroxibutirato (BHBA), acetoacetato e acetona (CHURCH, 1993; DRACKLEY *et al.*, 2001). Estes compostos, quando em níveis elevados na circulação, causam transtornos metabólicos e distúrbios cerebrais (FLEMING, 1993; GONZALEZ & CAMPOS, 2003; GULAY *et al.* 2004), além de prejudicarem a eficiência reprodutiva por coincidirem com o período em que deve ocorrer o retorno à ciclicidade, e consequentemente aumentando o intervalo parto concepção (BAUMAN *et al.* 1993).

Altos níveis de CC nos fluidos corporais caracterizam a cetose, um distúrbio metabólico que pode apresentar-se na forma subclínica (prevalência acima de 34%), sem manifestações clínicas da doença (MILLS *et al.*, 1986; DUFFIELD *et al.*, 1997), ou na forma clínica (1,5 a 2%), observando-se odor cetônico na respiração, no leite e na urina, perda de apetite, baixa produção e perda de condição corporal (FLEMING, 1993; RADOSTITS *et al.*, 2000; INGVARTSEN, 2006). Esta doença acomete também ovinos, sendo conhecida como toxemia da prenhez ou mal da gestação, pois ocorre no final desta, geralmente associada à gestações gemelares. É diagnosticada por dosagens sanguíneas de glicose e NEFA, e pela detecção de CC no leite e sangue (GONZÁLEZ & CAMPOS, 2003).

Todos estes distúrbios metabólicos causados pelo BEN geram graves prejuízos produtivos e consequentemente econômicos aos sistemas pecuários, por isso é tão importante uma dieta adequada ou o uso de substâncias que auxiliem a obtenção de energia (GRUMMER, 1993; LÓPEZ *et al.* 2004).

O fígado exerce múltiplas e importantes funções nos processos fisiológicos, desempenhando importante papel na formação de compostos e desintoxicação do organismo (BACILA, 2003). Assim, os níveis séricos das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT), acabam sendo importantes indicativos da intensidade da atividade hepática e dos graus de lesão tecidual do fígado (RICO *et al.*, 1977).

A medicina veterinária dispõe de eficientes ferramentas de avaliação da condição metabólica dos animais, onde marcadores bioquímicos indicam a

condição energética, enzimática e protéica do organismo (VAN SAUN, 2000; CALDEIRA, 2005; GONZALEZ & SILVA, 2006).

A exigência de minerais pelo animal depende diretamente de alguns fatores ambientais e características como taxa de crescimento, raça, idade, produtividade, sexo, alimentação entre outros. Deficiências de pequena intensidade geram grandes prejuízos, pois de maneira não aparente afetam o metabolismo animal, diminuindo os índices de produção (MCDOWELL, 1999).

O fósforo desempenha um papel importante, pois está envolvido no crescimento e diferenciação celular, na composição dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) e hormônios (cAMP, cGMP), é integrante de muitos intermediários do metabolismo energético (ATP, ADP), participando de importantes vias metabólicas de utilização e transferência de energia e da mineralização da matriz óssea (GONZÁLEZ & SILVA, 2006). Associa-se ainda a lipídeos para a formação das membranas plasmáticas (MALLETTE et al., 1960), manutenção do equilíbrio ácido-básico e osmótico (ação tampão), e na eficiência reprodutiva (COZZOLINO, 2007). Nos ruminantes é essencial, por atender também às exigências da microflora ruminal (TERNOUTH & SEVILLA, 1990).

Fontes alternativas de fósforo podem ser administradas por via oral, através de compostos minerais na alimentação e por via injetável, como é o caso do Butafosfan, uma substância com importante papel no ciclo ADP/ATP, que auxilia na síntese energética celular (DENIZ, 2008). Quimicamente conhecido como 1-butilamino-1-metil ácido etilfosfórico, é um derivado orgânico do ácido fosfórico, responsável pelo fornecimento de íons fosfato (Pi), essenciais para a catálise de várias reações celulares. Assim, a oferta de Pi, garantida pelo Butafosfan, estimula o metabolismo gliconeogênico e mantém a integridade do tecido e o correto funcionamento hepático (HUBER, 2003; CUTERI, 2008).

O Butafosfan também auxilia na redução das reações metabólicas de estresse, diminuindo os níveis de cortisol e elevando os de insulina, hormônio que melhora a entrada de glicose na célula, melhorando seu funcionamento, sendo também responsável pelo armazenamento de energia nas formas de glicogênio, triglicerídeos e proteínas (CUTERI, 2007; DENIZ, 2008).

O Butafosfan geralmente encontra-se comercialmente associado à vitamina B12 (Cianocobalamina), a qual possui papel fundamental como co-

fator enzimático, principalmente da enzima metilmalonil-CoA mutase, que age diretamente no metabolismo energético e desempenha função na conversão de ácidos graxos voláteis em succinil-CoA, um essencial passo para a entrada destes no ciclo de Krebs e a sua utilização como um substrato gliconeogênico (KENNEDY, 1990). Assim, esta última enzima mitocondrial é muito solicitada em vacas leiteiras de alta produção, devido às necessidades de energia para garantir a lactogênese (GRAULET et al, 2007; GIRARD & MATTE 2005).

2. Hipótese

A hipótese deste estudo é que a administração de Butafosfan e Cianocobalamina no período pós-parto de vacas leiteiras favorece o metabolismo energético, reduzindo a intensidade do balanço energético negativo e suas consequências clínicas, proporcionando um melhor desempenho produtivo.

3. Objetivos

- 1) Avaliar os efeitos da administração intramuscular de Butafosfan e Cianocobalamina, sobre:
 - a. Parâmetros do metabolismo energético, protéico, enzimático e mineral de vacas leiteiras da raça Holandês.
 - b. A produção e composição do leite de vacas leiteiras da raça Holandês.

4. Artigo

Formatado segundo as normas da Revista **Pesquisa Veterinária Brasileira**

Efeitos da administração de Butafosfan e Cianocobalamina após o parto, sobre parâmetros metabólicos e produtivos de vacas leiteiras

Rubens A. Pereira, Augusto Schneider, Viviane R. Rabassa, Francisco A. B. DelPino, Ivan Bianchi, Marcio Nunes Corrêa.

ABSTRACT. – Pereira R.A, Schneider A., Rabassa V. R., Del Pino F. A. B., Bianchi I., Corrêa M. N. 2009. [Effects of administration of Butafosfan and Cyanocobalamin on metabolic parameters and production of dairy cows].

The aim of this study was determine the effects of intramuscular injection of Butaphosphan and Cyanocobalamin on metabolic parameters and production of dairy cows in the postpartum period. We used 52 animals of the Holstein breed, treated from birth to 150 days of lactation. These cows were divided into 3 groups: the BC10 (n=18), who received 5 doses of 10 mL of butaphosphan+Cyanocobalamin; the BC20 (n=18), who received 5 doses of 20 mL of butaphosphan+Cyanocobalamin, and the control group (n=16), who received 5 doses of 10 mL of saline (NaCl 0.9%). Administrations were performed with an interval of 5 days, intramuscularly soon after birth. Blood was collected every 15 days from the third day postpartum for the determination of glucose, nonesterified fatty acid (NEFA), β -hydroxybutyrate (BHBA), urea, calcium (Ca), phosphorus (P), magnesium (Mg), aspartate aminotransferase (AST) and gamma-glutamyltransferase (GGT). Urine was collected every 15 days from the third day postpartum for the determination of ketone bodies (CC). We evaluated the body condition score (BCS) and milk production. All groups differed significantly on levels of NEFA, which were higher in the GC. The BC10 and BC20 groups differed significantly, being higher in the BC10. BHBA levels were higher in GC compared to BC10 and BC20, which did not differ. The concentrations of AST and GGT did not differ between treatments. As to the reviews of animal husbandry, the BC10 and BC20 groups had a milk production higher than the GC, but did not differ. Concentrations of milk components did not differ between groups up to 150 days of lactation. These results demonstrated that the solution butaphosphan and cyanocobalamin, administered in dairy cows during the postpartum period, reduces the negative energy balance and increases the production of milk.

INDEX TERMS: butaphosphan, cyanocobalamin, dairy cows, metabolic profile.

Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Veterinária, Departamento de Clínicas Veterinária, Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC) - Pelotas, RS, Brasil.

*Universidade Federal de Pelotas, Campus Universitário – 96010 900 – Pelotas/RS – Brasil nupeec@ufpel.edu.br – www.ufpel.edu.br/nupeec

RESUMO.- O objetivo deste estudo foi determinar os efeitos da administração intramuscular de Butafosfan+Cianocobalamina sobre os parâmetros metabólicos e produtivos de vacas leiteiras no período pós-parto. Utilizou-se 52 vacas da raça Holandês, acompanhadas desde o parto até 150 dias de lactação. Estas vacas foram divididas em 3 grupos: o BC10 (n=18), que recebeu 5 doses de 10mL de solução aquosa de Butafosfan+Cianocobalamina; o BC20 (n=18), que recebeu 5 doses de 20mL de solução aquosa de Butafosfan+Cianocobalamina; e o grupo controle (GC n=16), que recebeu 5 doses de 10mL de solução fisiológica (NaCl 0,9%). Foram realizadas administrações com intervalo de 5 dias, por via intramuscular, logo após o parto. Foi coletado sangue a cada 15 dias a partir do terceiro dia pós-parto para a determinação dos níveis de glicose, ácidos graxos não esterificados (NEFA), β -hidroxibutirato (BHBA), uréia, cálcio (Ca), fósforo (P), magnésio (Mg), aspartato aminotransferase (AST) e gama-glutamilttransferase (GGT). Foi coletada urina a cada 15 dias a partir do terceiro dia pós-parto para a determinação de corpos cetônicos (CC). Avaliou-se o escore de condição corporal (ECC) e produção leiteira. Todos os grupos diferiram entre si quanto aos níveis de NEFA, sendo maiores no GC. Os grupos BC10 e BC20 diferiram entre si, sendo superiores no BC10. Os níveis de BHBA foram maiores no GC em relação ao BC10 e BC20, os quais não diferiram entre si. As concentrações de AST e GGT não diferiram entre os tratamentos. Quanto às avaliações zootécnicas, os grupos BC10 e BC20 apresentaram uma produção leiteira maior que o GC, porém não diferiram entre si. As concentrações dos componentes do leite não diferiram entre os grupos até 150 dias da lactação. Estes resultados demonstraram que a solução de Butafosfan e Cianocobalamina, administradas em vacas leiteiras após o parto, reduz o balanço energético negativo e aumenta a produção de leite.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: butafosfan, cianocobalamina, vacas leiteiras, perfil metabólico.

INTRODUÇÃO

O período de transição de vacas leiteiras é considerado o momento mais crítico para animais produção, devido às diversas transformações fisiológicas sofridas pelo animal (Goff & Horst 1997, Scheia et al. 2005). Nesta fase, compreendida entre as três últimas semanas de gestação e as três primeiras de lactação (Grummer 1995), a ingesta nutricional costuma não atender as demandas energéticas de manutenção e produção (Goff & Horst 1997, Garret 2003), forçando o organismo a acionar rotas catabólicas para suprir o desequilíbrio energético, aumentando o risco de transtornos no metabolismo (Mandevbu et al. 2003).

O surgimento de um balanço energético negativo (BEN) força o animal a mobilizar reservas corporais, reduzindo a condição corporal e elevando os níveis sanguíneos de ácidos graxos não-esterificados (NEFA) oriundos da lipólise do tecido adiposo (Chilliard et al. 1983, Caldeira 2005). Em excesso, o NEFA excede a capacidade hepática de β -oxidação resultando na formação de corpos cetônicos (CC), representados pelo β -hidroxibutirato (BHBA), acetoacetato e acetona (Church 1993, Drackley et al. 2001). Níveis elevados de CC no sangue, causam transtornos metabólicos e distúrbios cerebrais (Fleming 1993, González & Campos 2003, Gulay et al. 2004), além de prejudicarem a eficiência reprodutiva por coincidirem com o período em que deve ocorrer o retorno à ciclicidade e a nova concepção, aumentando o intervalo parto-concepção (Bauman et al. 1993).

A administração de fontes alternativas de minerais em ruminantes tem aumentado de maneira significativa, por atuar na melhora do aproveitamento energético, através da dieta fornecida aos animais. Entretanto, as exigências minerais dos ruminantes dependem diretamente de alguns fatores ambientais e características dos animais como taxa de crescimento, raça, idade, produtividade, sexo e alimentação (Mcdowell 1999).

O fósforo desempenha um papel importante, pois está envolvido no crescimento e diferenciação celular, na composição dos ácidos nucleicos (DNA e RNA) e hormônios (cAMP, cGMP), é integrante de muitos intermediários do metabolismo energético (ATP, ADP), participando de importantes vias metabólicas de utilização e transferência de energia e da mineralização da matriz óssea (González & Silva 2006). Associa-se ainda a lipídeos para a formação das membranas plasmáticas (Mallette et al. 1960), manutenção do equilíbrio ácido-básico e osmótico (ação tampão), e na eficiência reprodutiva (Cozzolino 2007). Nos ruminantes é essencial, por atender também às exigências da microflora ruminal (Ternouth & Sevilla 1990).

Fontes alternativas de fósforo podem ser administradas por via oral, através de compostos minerais na alimentação e por via injetável, como é o caso do Butafosfan, quimicamente conhecido como 1-butilamino-1-metil ácido etilfosfórico, é um composto orgânico derivado de ácido fosfórico, que age no ciclo ADP/ATP, através do fornecimento de íons fosfato, essenciais para a catálise de reações intracelulares de síntese de energia (González & Silva 2006, Huber 2003). Tem apresentado benefício nas reações metabólicas de estresse, reduzindo os níveis de cortisol e elevando as concentrações de insulina, melhorando a entrada de glicose para o meio intracelular e otimizando o metabolismo gerador de energia (Cuteri 2007, Deniz 2008).

O Butafosfan geralmente encontra-se associado à vitamina B12 (Cianocobalamina), a qual serve como co-fator enzimático, principalmente da enzima metilmalonil-CoA mutase, que age diretamente no metabolismo energético, com função na conversão de ácidos graxos em succinil-CoA, um essencial passo para a entrada destes no ciclo de Krebs e a sua utilização como um substrato gliconeogênico (Kennedy 1990). Assim, esta última enzima mitocondrial é muito solicitada em vacas leiteiras de alta produção, devido às enormes necessidades de energia para sustentar a lactogênese (Graulet et al. 2007).

A hipótese desse estudo, é que o uso do Butafosfan e da Cianocobalamina, no período pós-parto, reduz a intensidade do balanço energético negativo. Diante disso, objetiva-se avaliar os efeitos de sua administração, após o parto, sobre os parâmetros do metabolismo energético, protéico, enzimático, mineral e zootécnico.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em uma propriedade leiteira, localizada no município de Rio Grande/RS, Brasil. Foram utilizadas 52 vacas da raça Holandês, de segunda parição, mantidas sob as mesmas condições de manejo durante todo o experimento, desde o parto até 150 dias de lactação. Os animais recebiam a mesma dieta, padronizada contendo todas as exigências de ingestão de matéria seca, de energia e proteína durante o pós-parto (NRC[®] 2001), com 40% de concentrado (composto por 35% de casca de soja, 30% de sorgo, 17% de farelo de arroz, 13% de farelo de soja, 4% de sal mineral e 0,5% de uréia), ofertado aos animais duas vezes ao dia logo após a ordenha, e 60% de volumoso (formado por azevém, trevo e cornichão no inverno, sorgo de pastejo e cornichão no verão).

Os animais foram identificados e divididos ao acaso, imediatamente após o parto, em 3 grupos experimentais: o BC10 (n=18), que recebeu 10 mL de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina (Catosal B12[®], Bayer Health Care, São Paulo, Brasil), equivalente a 1000 mg de Butafosfan e 0,05 mg de Cianocobalamina; o BC20 (n=18), que recebeu 20 mL da solução de Butafosfan e Cianocobalamina, contendo 2000 mg e 0,10 mg dos componentes, respectivamente; e o GC (n=16), usado como controle, que recebeu 10 mL de solução fisiológica (NaCl 0,9%). Foram administradas 5 doses de Butafosfan+Cianocobalamina ou placebo, a cada 5 dias, por via intramuscular (IM), iniciando logo após o parto.

Foram coletadas amostras de sangue de todos os animais a cada 15 dias, totalizando 5 coletas. As amostras de cada animal foram divididas em 2 frascos previamente

identificados: frasco 1, contendo anticoagulante (EDTA 10g%) na proporção de 12 µL/mL de sangue e inibidor da via glicolítica (Fluoreto de Potássio a 12g%); e o frasco 2 sem anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 3500 x g durante 15 minutos, sendo o plasma e soro acondicionados em tubos *ependorff* previamente identificados. Esta divisão foi feita da seguinte forma: o conteúdo do frasco 1 foi dividido em três alíquotas de plasma, sendo duas congelada a -20 °C e a outra resfriada a +4 °C. A partir destas alíquotas foram analisados os metabólitos GGT, AST e glicose. O conteúdo do frasco 2 foi dividido em quatro alíquotas de soro, sendo duas congeladas a -70 °C, uma a -20 °C e a outra resfriada a +4 °C, a partir das quais, foram analisados os demais metabólitos.

As concentrações de glicose, uréia, cálcio (Ca), fósforo (P), Magnésio (Mg), GGT, AST, magnésio (Mg) e colesterol, foram mensuradas através de reações enzimáticas colorimétricas, quantificadas por um espectrofotômetro (FEMTO 700 Plus, Femto Ind. e Com. de Instrumentos Ltda., São Paulo, Brasil) e os reagentes utilizados foram manuseados conforme recomendação do fabricante (Labtest®, Lagoa Santa, Brasil). Os doseamentos de NEFA e BHBA foram realizados com *kits* reagentes Randox® (Randox Laboratories E.U.A.®, Oceanside, CA, Estados Unidos) em leitor de placas da marca Molecular Devices®, modelo SpectraMax M5 e software SoftMax Pro5, conforme técnica padronizada por Ballou *et al.* (2009).

Quinzenalmente foram efetuadas coletas de urina para determinação de corpos cetônicos, com o uso de fitas reagentes (Keto Diabur-Test® 500, Roche Diagnostics Sdn Bhd, Petaling Jaya, Malaysia), com limite mínimo de detecção para o acetoacetato de 0,5 mmol/L. As coletas iniciaram juntamente com as aplicações e coletas de sangue, e foram feitas por massagem na região vulvar e o teste realizado imediatamente após a coleta.

Avaliou-se o ECC dos animais, quinzenalmente, e registrou-se os dados da produção diária de leite (até 150 dias de lactação), através do programa ALPRO Windows®, que armazena dados de produção diária das vacas desde o nascimento até o seu descarte. Amostras de leite foram coletadas, a cada 15 dias, a partir do 15º dia de lactação, para doseamento dos seus componentes: gordura, lactose, proteína, sólidos totais e contagem de células somáticas (CCS).

Os resultados foram apresentados como médias \pm erro padrão da média (\pm EPM). Análises envolvendo medidas repetidas em função do tempo foram comparadas entre os grupos usando o procedimento PROC MIXED, usando o programa SAS 9.0 (Statistical Analysis System, Institute Inc. Cary, NC, EUA). As variáveis glicose, Ca, P, Mg, uréia, AST, GGT, Colesterol, NEFA e BHBA, relação Ca:P e produção leiteira foram analisadas a partir medidas repetidas para avaliar o efeito principal do tratamento e tempo (em dias), e suas interações.

Os dados de ECC, foram analisados pelo Teste de Kruskal-Wallis. Em relação aos dados de corpos cetônicos na urina, foram analisados pelo método estatísticos de Fischer (Fisher's Exact Test). O valor de $P < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo.

RESULTADOS

As concentrações de NEFA, encontradas durante as análises mostram que os níveis no GC foram maiores que os do BC10 ($P < 0,05$), e este por sua vez foi superior ao BC20, conforme observa-se na tabela 1.

As concentrações séricas de BHBA foram maiores nos animais do grupo GC em relação aos BC10 e BC20 ($P < 0,05$), os quais não diferiram entre si (figura 1).

Quanto às concentrações de glicose, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos estudados (figura 2).

Nas análises do colesterol sérico, o grupo BC20 apresentou concentrações menores que os grupos BC10 e GC ($P < 0,05$), os quais não diferiram entre si (figura 3).

Quanto ao perfil protéico, os níveis médios de uréia não diferiram ($P > 0,05$) entre os grupos BC10, BC20 e GC (tabela 1).

As concentrações séricas de Ca, P e Mg, além da relação Ca:P, não diferiram significativamente entre os grupos estudados (tabela 1).

Não foram observadas diferenças na concentração sanguínea das enzimas AST e GGT ($P > 0,05$), entre os grupos estudados (tabela 1). Em relação à detecção de CC na urina, também não encontrou-se diferença entre os grupos estudados. Quanto ao ECC durante o período, não foram observadas diferenças nas variações de escore entre os animais dos três grupos, durante todo o experimento.

A produção leiteira no período de 15 a 150 dias da lactação teve como médias 24,28; 25,15 e 23,01 litros de leite/vaca, para os grupos BC10, BC20 e GC, respectivamente. Os resultados revelam que os animais tratados (BC10 e BC20) apresentaram um melhor desempenho produtivo ($P < 0,05$) frente ao GC, porém, os grupos BC10 e BC20 não diferiram entre si ($p > 0,05$). Nas análises dos componentes do leite (gordura, lactose, proteína, sólidos totais e CCS) não foram observadas diferenças entre os grupos ($p > 0,05$).

Em relação ao intervalo parto-concepção e à taxa de concepção, não encontrou-se nenhuma diferença significativa ($P > 0,05$) entre os grupos estudados.

DISCUSSÃO

Os exames bioquímicos das vacas no período pós-parto revelaram níveis séricos de NEFA maiores no GC em relação ao BC10, e este por sua vez maior que do BC20, conforme observa-se na tabela 1. Todos os achados estão acima dos níveis fisiológicos, condição comum no período pós-parto, devido ao BEN (Drackley 1999, Douglas 2004).

O nível elevado de NEFA é um fator determinante para o acúmulo de triglicerídeos (TAGs) no fígado comprometendo a função hepática e tendo repercussões negativas tanto na produção quanto na reprodução (Grummer 1993). Os níveis elevados no GC podem ser resultado da menor obtenção de energia e o conseqüente intenso BEN devido à mobilização de tecido adiposo, comum no início da lactação (Drackley 1999, Douglas 2006). Os baixos níveis apresentados pelos grupos BC10 e BC20 podem ser atribuídos à capacidade do Butafosfan de melhorar a produção de energia, através da ressíntese de ATP a partir do ADP, melhorando as condições energéticas das células, amenizando o BEN e reduzindo a mobilização de lipídeos para suprir as necessidades fisiológicas (Simões et al. 2006), e da cianocobalamina ter importante participação, como co-fator enzimático da enzima metilmalonil-CoA mutase, que age diretamente no metabolismo energético, convertendo ácidos graxos em succinil-CoA, um essencial passo para a entrada destes no ciclo de Krebs e a sua utilização como um substrato gliconeogênico (Kennedy 1990). Os resultados deste estudo contrariam os obtidos por Flaschoff (1974), Larscheid (1994) e Schuh (1994) sobre o Butafosfan no metabolismo de bovinos, porém são semelhantes aos de Hansel et al. (1992), que observaram uma redução dos níveis de NEFA e BHBA em animais tratados com

Butafosfan após estresse metabólico induzido. A combinação de Butafosfan e Cianocobalamina tem influência direta sobre o metabolismo energético e por isso facilita a redução nos níveis de NEFA e BHBA (Cuteri et al. 2008, Sarasola et al. 2008). A redução nos níveis destes marcadores foram observadas também por Deniz et al. (2008). As concentrações séricas de BHBA menores nos grupos BC10 e BC20 (figura 1) evidenciam a eficácia do Butafosfan e Cianocobalamina no controle da cetose subclínica. Estes achados estão de acordo com estudos de Cuteri e colaboradores (2008) e corroboram com os achados de Lohr et al. (2006), que obteve um declínio nos níveis de BHBA em vacas com cetose secundária comparado à animais não tratados.

O doseamento do colesterol revelou que os grupos BC10 e GC tiveram níveis acima dos valores fisiológicos (90-120mg/dL) (Kaneco, 1997), fato comum no período lactacional, atribuído à maior concentração plasmática de lipoproteínas (González & Silva 2006). Já o BC20 apresentou uma colesterolemia menor que os demais (figura 3). Isso possivelmente tenha ocorrido pelo colesterol ser transportado juntamente com os triacilgliceróis (TAGs) através das VLDL (lipoproteínas de densidade muito baixa) e devido à secreção hepática destas lipoproteínas estar associada à taxa de conversão de NEFA em TAGs (Grummer 1993). Atribui-se a concentração também elevada no BC10, à menor dose de Butafosfan e Cianocobalamina administrada, talvez insuficiente para a redução dos níveis de colesterol, já que este depende das VLDL e estas, por sua vez, da conversão de NEFA em TAGs (Grummer 1993).

Quanto ao perfil protéico, os níveis de uréia sérica não diferiram entre os grupos estudados, sugerindo não haver alteração na intensidade da proteólise endógena processo intensificado em animais com déficit de energia (González & Silva 2006). Porém neste estudo, não foi observado diferença entre os grupos nos níveis de uréia, indicando baixa degradação protéica provinda do tecido muscular (Bauman 1992). Possivelmente pela uréia ter influência no controle da ingesta alimentar, e por ter havido manutenção do fornecimento de energia e proteína através de uma dieta que propiciou todos os requerimentos exigidos pelas vacas no período pós-parto, mesmo com algum nível de BEN, comum neste período.

Em relação aos níveis glicêmicos, não observou-se diferença estatística entre os grupos estudados (figura 2), confirmando os achados de Deniz e colaboradores (2008), no tratamento pré-natal visando otimizar o metabolismo pós parto, e contrariando os resultados de Hansel et al. (1992), que observou uma redução nos níveis de cortisol e um conseqüente aumento de insulina e glicose, em bovinos tratados com Butafosfan e Cianocobalamina. Este achado vem de encontro aos resultados obtidos por Cuteri e colaboradores (2008), podendo ser atribuído ao fato da glicose ser muito estável, em função dos diversos mecanismos de homeostase da glicemia.

As concentrações de Ca e P no sangue, bem como a relação Ca:P não apresentaram diferenças entre os grupos. Apesar do fosfato, oriundo da molécula de Butafosfan, ter influência na absorção de Ca, o equilíbrio metabólico destes elementos é estabelecido por mecanismos dinâmicos, com rápida recuperação da relação sérica (Flasshoff 1974, Schuh 1994). Os resultados refletem as respostas obtidas por Karatzias (1985), relativos à administração de solução fosfórica em vacas leiteiras, que mostraram não haver influência sobre os níveis séricos de fósforo, e conseqüentemente de Ca, mantendo-se os teores fisiológicos durante todo o período experimental.

A manutenção dos níveis de Mg pode ser atribuída à rápida adaptação do organismo à administração fosfórica e, conseqüente, restabelecimento dos seus níveis fisiológicos (González et al. 2001, Barcellos et al. 2003). Pelo fato dos minerais participarem de diversas reações ligadas ao metabolismo energético, atuando principalmente como co-fatores enzimáticos, além de participarem diretamente de processos ativos de liberação de determinados hormônios, é que seu equilíbrio metabólico é tão importante e rapidamente buscado (El-Samad et al. 2002).

O tratamento com Butafosfan e Cianocobalamina não causa sobrecarga e nem lesão hepática, e não desenvolve lipidose no fígado, permitindo ainda uma melhora na condição do órgão devido à redução da atividade β -oxidativa de NEFA, que se encontra diminuído nos grupos BC10 e BC20 (Rico et al. 1977, Gonzáles & Silva 2006). Estudos realizados por Sommer et al. (1971) com bovinos, revelaram uma redução na atividade da AST demonstrando, não apenas a manutenção da integridade, mas uma melhora na função hepática. Flasshoff (1974) e Schuh (1994) estudaram a influência do Butafosfan na atividade enzimática durante o parto e não observaram variação significativa entre os animais tratados e não tratados. Lohr (2006) também não encontrou nenhuma alteração significativa na atividade sérica da AST em vacas com deslocamento do abomaso e com cetose, tratadas com Butafosfan. Estes achados são benéficos, pois demonstram que administração destes compostos, que necessitam de metabolismo hepático, não sobrecarregam o órgão.

Por não termos encontrado diferenças entre os grupos experimentais, quanto aos CC na urina, devemos considerar que, apesar da urina servir como uma forma eficiente para o diagnóstico da cetose clínica, deve-se considerar que apenas 10% dos CC são excretados pela urina, leite e ar exalado, além de serem muito voláteis (acetona) ou quimicamente instáveis (acetoacetado), e também por servirem como fonte de energia para diversos tecidos, inclusive o renal. Pequenos níveis de CC no sangue não chegam a alcançar a urina, pois mesmo sendo filtrados pelos glomérulos, em seguida são reabsorvidos pelos túbulos renais (Ortolani 2003). Além disso, cabe a consideração de que os animais não estavam em condições nutricionais ruins e, portanto, não apresentavam casos clínicos de cetose.

Os resultados de ECC sugerem que, apesar do incremento na produção leiteira nos grupos BC10 e BC20, houve uma manutenção dos ECC dos animais destes grupos, ratificando que, mesmo com o incremento na produção, os ECC dos animais foram mantidos (Pedron 1993).

Na avaliação da produção leiteira no período de 15 aos 150 dias da lactação (total de 135 dias), observou-se um melhor desempenho dos animais dos grupos BC10 e BC20, demonstrando uma melhora no metabolismo energético, possivelmente devido à uma maior ingesta alimentar (Lopez et al. 2004). O Butafosfan garante a disponibilização de maiores concentrações intracelulares de íons P para formação de novas moléculas de ATP, tornando mais eficiente o ciclo de Krebs, principal responsável pela geração de energia (Deniz 2008). Já a vitamina B12, que tem papel fundamental como co-fator enzimático e age diretamente no metabolismo energético, possivelmente tenha facilitado a conversão de ácidos graxos em succinil-CoA, um essencial passo para a entrada destes no ciclo de Krebs e a sua utilização como um substrato gliconeogênico (Kennedy et al. 1990).

Quanto aos componentes do leite (gordura, lactose, proteína, sólidos totais e CCS), geralmente através do aumento da produtividade há a tendência destes serem diluídos, ou seja, a apresentarem concentrações reduzidas (Behmer 1999). Porém, isso não foi observado nesse estudo.

Os resultados de intervalo parto concepção e taxa de concepção não diferiram entre os grupos, contrariando os efeitos encontrados há décadas por Sommer et al. (1971) e não reproduzem os benefícios da vitamina B12 observada por Musewe (1980), em estudos relacionando a cianocobalamina e a eficiência na reprodução. Possivelmente possa haver efeito dos tratamentos na eficiência reprodutiva, porém como o número de animais utilizados no estudo é considerado baixo para este tipo de análise e a heterogeneidade do grupo também existe (diferentes ECC, data do parto), são necessários estudos com um número maior de animais, para que conclusões confiáveis possam ser geradas (De Rensis & Scaramuzzi 2003).

CONCLUSÃO

Os resultados deste estudo demonstraram que a administração do Butafosfan e Cianocobalamina no pós parto de vacas leiteiras, não causa sobrecarga hepática, nem desequilíbrio mineral. Além disso, proporciona melhores condições energéticas, reduzindo o BEN e melhorando o desempenho produtivo.

Agradecimentos: Ao Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária pelo auxílio na realização deste trabalho. Ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia da UFPel. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- Ballou, M. A., Gomes, R. C., Juchem, S. O., Depeters, E. J. Effects of dietary supplemental fish oil during the peripartum period on blood metabolites and hepatic fatty acid compositions and total triacylglycerol concentrations of multiparous Holstein cows. **Journal Dairy Science**. v. 92, 657-669, 2009.
- BARCELLOS, J.O.J. et al. **Suplementação mineral de bovinos em regiões subtropicais**. Porto Alegre : UFRGS, 2003. p.19-51.
- Bauman, D.E. Bovine somatotropina: review of emerging animal technology. **Journal of Dairy Science**, v.12, p.3432-3451, 1992.
- Bauman, D.E., Veron, R. G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Annals Revist Nutrition**. N.13. p. 437. 1993.
- Behmer, M. L. A. **Tecnologia do leite**, SP: 13º ed. Editora Noel, 1999.
- Caldeira R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. *Revista Portuguesa de Clinicas Veterinária*; v.100; p.125-139, 2005.
- Carvalho, A.L. **Qualidade do leite centro-oeste**. Goiânia, editora da UFG, 1995.
- Chilliard, Y.; Remond, B.; Sauvant, D.; Vermorel, M. Particularités du métabolisme énergétique. In: Particularités nutritionnelles des vaches à haut potentiel de production. **Bull. Tech. CRZV**, v.53, p.37-64, 1983.
- Church, C.D. **El ruminante: fisiología digestiva y nutrición**. Editorial Acribia: Zaragoza, 645 p. 1993.
- Cozzolino, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. SP: Manole, p. 67-175, 2007.
- Cuteri V, Nisoli L, Attili AR, Romero Tejada A, Preziuso S, Fruganti A. Clinical Field evaluation of a butafosfan + vitamin B12 compound in the treatment of subclinical ketosis in dairy cows. Oral and Poster Presentations. Proc **XXVth World Buiatrics Congress**. (Budapest). Hungary; 2008.
- De Rensis, F., R. J. Scaramuzzi. Heat stress and seasonal effects on reproduction in the dairy cow—a review. **Theriogenology**, v. 60, p. 1139–1151, 2003.
- Delpont PC, Fourie L, Schmidt B: Efficacy and safety of Catosal in the treatment of parturient paresis in cows. **XXIV World Buiatrics Congress** 2006, Nice, France.
- Deniz A, Westphal B, Illing C. Effects of prepartum metaphylactic treatment with Catosal on postpartum metabolic functions in cows. Oral and Poster Presentations. **Proc XXVth World Buiatrics Congr**. (Budapest); Hungary; 2008: 26-31
- Douglas, G.N.; Overton T.R.; Bateman, H.G.; Dann, H.M. and Drackley, J.K. Prepartal Plane of Nutrition, Regardless of Dietary Energy Source, Affects Periparturient Metabolism and Dry Matter Intake in Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 89, p. 2141–2157, 2006.
- Douglas, G.N.; Overton, T.R.; Bateman, H.G and Drackley, J.K. Peripartal Metabolism and Production of Holstein Cows Fed Diets Supplemented with Fat During the Dry Period. **Journal of Dairy Science**, v. 87, p. 4210–4220, 2004.
- Drackley, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259–2273, 1999.

- Drackley, J.K.; Overton, T.R.; and Douglas, G.N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 100–112, 2001.
- El-Samad, H.; Goff, J. P.; Khammash, M. Calcium Homeostasis and Parturient Hypocalcemia: An Integral Feedback Perspective. **Journal of Theoretical Biology**, v. 29, p. 214 – 217, 2002.
- Flasshoff FH: Clinical and chemical blood serum investigations in cattle and treatment studies with ornithine-aspartate-product HMV 20 and with Catosal for the reduction of fertility and health disorders. **Doctorate Thesis**, Tierärztliche Hochschule Hannover, Germany 1974.
- Fleming, S.A. Cetose dos ruminantes (acetonemia). In Smith, B.P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Editora Manole, vol. 2, p. 1297-1304, 1993.
- Garrett, O.R. Ketosis and Hepatic Lipidosis in Dairy Herds. **Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies**. 36th Annual Conference, September . Columbus, OH. p15-17, 2003.
- Goff, J.P. and Horst, R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1260–1268, 1997.
- González, F. H. D. Campos, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. In: González, F.H.D., Campos, R. (eds.): **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica da Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 31-47, 2003.
- González, F. H. D.; Silva, S. C.; **Introdução à Bioquímica Veterinária**; Editora da UFRGS; 2^a Edição; p.55, 229-230, 2006.
- Graulet, B.; Matte, J.J.; Desrochers, A.; Doepel, L.; Palin, M.F.; Girard, C. L. Effects of Dietary Supplements of Folic Acid and Vitamin B12 on Metabolism of Dairy Cows in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**. V. 90, p.3442–3455, 2007.
- Grummer, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3882, 1993.
- Grummer, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.
- Gulay, M. S.; Hayen, M. J.; Liboni, M. et al. Low Doses of Bovine Somatotropin During the Transition Period and Early Lactation Improves Milk Yield, Efficiency of Production, and Other Physiological Responses of Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v.9, n.87, p.948- 960, 2004.
- Hänsel A, Fuhrmann H, Sallmamann H, Klee W. Intravenöse Infusion flüchtiger Fettsäuren als Stoffwechselbelastungstest zur Überprüfung möglicher Butafosfanwirkungen auf den Energiestoffwechsel des Rindes. **Berl Münch Tierärztl Wschr**. 105, 11: 361-6; 1992.
- Huber K. Molekulare Grundlagen der Phosphor-Homöostase beim kleinen Wiederkäuer. **Habilitationsschrift Med. Vet**. Hannover: Tierärztliche Hochschule; 2003.
- Kaneko, J.J.; Harvey, J.W.; Bruss, M.L. (eds.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. 5th ed. New York: Academic Press, 1997.
- Karatzias H. Untersuchungen über die Wirksamkeit des Präparates Phosphojet zur Behandlung der puerperalen Hämoglobinurie bei Milchkühen in Griechenland. **Dtsch Tierärztl Wschr**. 85: 92-3; 1985.
- Kennedy, D. G., A. Cannavan, A. Molloy, F. O'Harte, S. M. Taylor, S. Kennedy, and W. J. Blanchflower. 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**. 64:721–732; 1990..
- Larscheid HP. **Untersuchungen zur Wirkung von Butafosfan (Bayer/Leverkusen) in der Präventive und Therapie der Neugeborenen-Enteritis und enzootischen Bronchopneumonie der Kälber**. [Dissertation med. vet.]. Gießen: Veterinärmedizinische Fakultät; 1994.
- Lohr B, Brunner B, Janowitz H, Hummel M, Seeger T, Weber I, Wittek T, Schmidt B, Hellmann K: Efficacy of Catosal® for the treatment of ketosis in cows with left abomasal displacement. **Tierärztl Umschau**; 61 (4): 187 – 190; 2006.

- López, S. E.; López, J.; Stumpf Junior, W. Parâmetros séricos de vacas leiteiras na fase inicial de lactação suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, Vol. 12, No. 3, Septiembre-Diciembre, pp. 96-102, 2004.
- Mallette, M. F.; Althouse, P. M.; Clagett, C.O.; **Biochemistry of Plants and Animals**; John Wiley & Sons, Inc; p.387-388; 1960.
- Mandebvu, P.; Ballard, C.S.; Sniffen, C.J.; Tsang, D.S.; Valdez, F.; Miyoshi, S.; Schlatter, L. Effect of feeding an energy supplement prepartum and postpartum on milk yield and composition, and incidence of ketosis in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 105, p. 81–93, 2003.
- Mcdowell, L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. 3 ed., University of Florida , 92 p., 1999.
- Musewe VO, Gombe S. Plasma vitamin B 12 and reproductive performance of cows on cobalt-deficient pastures in the Rift Valley of Kenya **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**. 50(3): 272-82; 1980.
- Ortolani, E.L. Diagnóstico e tratamento de alterações ácido-básicas em ruminantes. In: González, F.H.D., Campos, R. (eds.): **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p. 17-29. 2003.
- Pedron, O.; Cheli, F.; Senatori, E. et al. Effect of body condition score on performance, some blood parameters, and milk fat, acid composition in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, n.9, p.2528-2535, 1993.
- Radostits O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C.; Hinchcliff, K.W. **Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan S.A. 9ª ed. p.288-298; 2000.
- Rico, A.G.; Braun, J.P.; Benard, P.; Thouvenot, J.P.; Blood and Tissue Distribution of Gamma Glutamyl Transferase in the Cow. **Journal of Dairy Science**, Vol. 60, No. 8, 1977.
- Sarasola P, Aramendi U, Spiecker-Hauser U, Schmidt B. Preliminary results from an ongoing field study on the effect of Catosal® in the treatment of subclinical ketosis in cows. Oral and Poster Presentations. Proc. **XXVth World Buiatrics Congress** (Budapest); Hungary. 2008.
- SAS Institute Inc. **SAS® 9.1.3**. Cary, NC: SAS Institute Inc. **SAS® 9.1.3**. 2004.
- Scheia, I.; Volden, H.; Bvre, L. Effects of energy balance and metabolizable protein level on tissue mobilization and milk performance of dairy cows in early lactation. **Livestock Production Science**, v. 95, 35–47, 2005.
- Schuh R. **Untersuchungen über die Wirksamkeit von Butafosfan in der Präventive von Stoffwechselstörungen bei Milchkühen im peripartalen Zeitraum**. Dissertation med. vet. Gießen: Veterinärmedizinische Fakultät; 1994.
- Simões J., Madureira M. e Dias da Silva A. Prevenção das patologias metabólicas de alta produção. **Veterinária Técnica**, 11: 20-30; 2006.
- Sommer H, Marx D, Starker G: Studies to reduce reproductive disorders in cattle by using Catosal® as metaphylaxis. **Dtsch.Tierärztl.Wschr.** 78: 593 – 616; 1971.
- Ternouth, J.H.; Sevilla, C.L. Dietary calcium and phosphorus repletion in lambs. **Australian Journal of Agricultural Research**, V.41, n.2, p.413–420, 1990.
- Van der Staay FJ, De Groot J, Van Reenen CG, Hoving-Bolink AH, Schuurmann T, Schmidt BH: Effects of Butafosfan on salivary cortisol and behavioral response to social stress in piglets. **Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. 2007; 30: 410–416.

LEGENDA DAS FIGURAS

Fig. 1. Concentrações séricas de β -hidroxibutirato (mmol/dL) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos ($P<0,05$).

Fig. 2. Concentrações plasmáticas de glicose (mg/dL) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos ($P<0,05$).

Fig. 3. Concentrações séricas de colesterol (mg/dL) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos ($P<0,05$).

TABELAS

Tabela 1. Determinação das médias e erro padrão das médias (\pm EPM) dos perfis energético, protéico, mineral, enzimático e produção leiteira (até 150 dias de lactação) de vacas leiteiras no período pós-parto, tratadas com diferentes doses de solução aquosa de Butafosfan e Cianocobalamina ou solução fisiológica. Letras diferentes indicam diferença entre os grupos ($P<0,05$).

<i>Parâmetros</i>	<i>Grupo BC10</i>	<i>Grupo BC20</i>	<i>Grupo Controle</i>	<i>P</i>
<i>Perfil energético</i>				
Glicose (mg/dL)	54,70 \pm 0,91	55,82 \pm 0,86	54,58 \pm 0,91	NS
NEFA (mg/dL)	35,67 \pm 2,45 ^a	18,27 \pm 2,45 ^b	49,64 \pm 2,52 ^c	*
BHBA (mmol/dL)	0,25 \pm 0,01 ^a	0,25 \pm 0,01 ^a	0,35 \pm 0,01 ^b	*
Colesterol (mg/dL)	133,7 \pm 5,03 ^a	94,75 \pm 5,63 ^b	145,25 \pm 5,58 ^a	*
<i>Perfil Protéico</i>				
Uréia (mg/dL)	32,60 \pm 1,14	30,14 \pm 1,08	31,82 \pm 1,24	NS
<i>Perfil Mineral</i>				
Cálcio (mg/dL)	9,57 \pm 0,12	9,25 \pm 0,11	9,63 \pm 0,12	NS
Fósforo (mg/dL)	5,61 \pm 0,22	5,55 \pm 0,21	5,41 \pm 0,22	NS
Magnésio (mg/dL)	2,13 \pm 0,036	2,10 \pm 0,034	2,07 \pm 0,036	NS
<i>Perfil enzimático</i>				
AST (U/L)	41,84 \pm 3,84	29,82 \pm 3,63	34,94 \pm 3,84	NS
GGT (U/L)	41,87 \pm 2,57	40,71 \pm 2,43	38,90 \pm 2,57	NS
<i>Perfil produtivo</i>				
Produção (L)	24,28 \pm 0,36 ^a	25,15 \pm 0,38 ^b	23,01 \pm 0,42 ^a	*

Letras diferentes na mesma linha diferem entre si com $P<0,05$.

* $P<0,05$

Não Significativo – $P>0,05$

FIGURAS

Figura 1

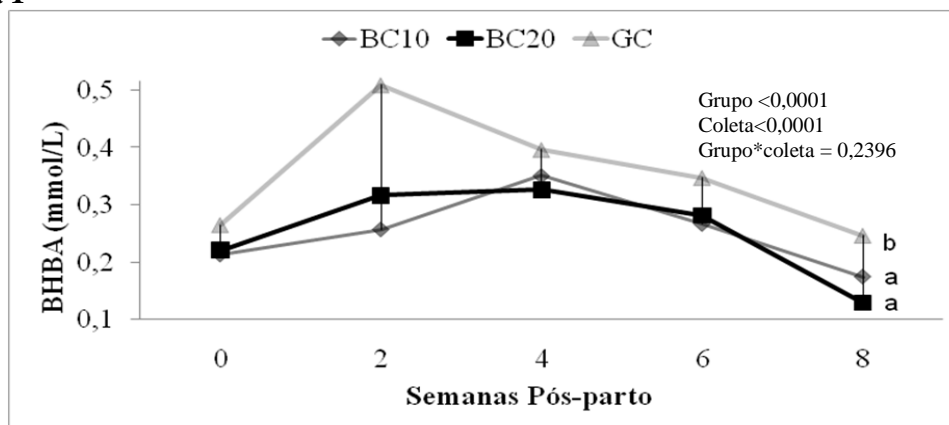


Figura 2

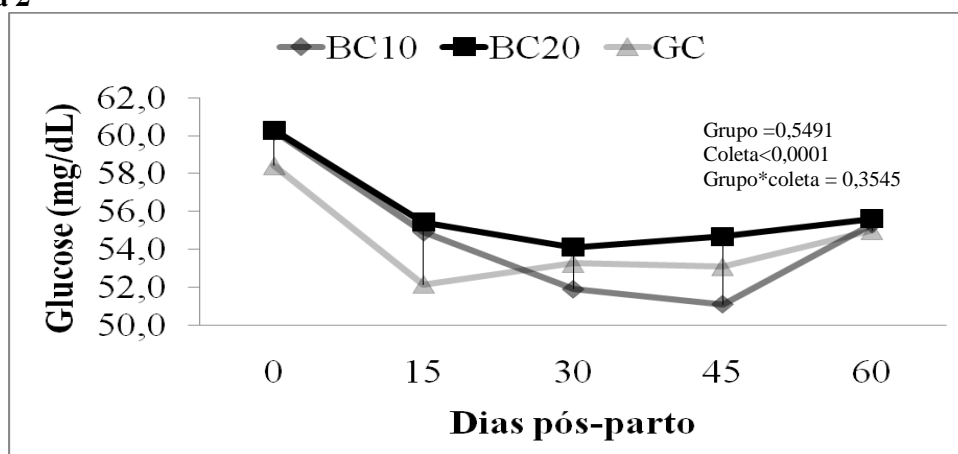
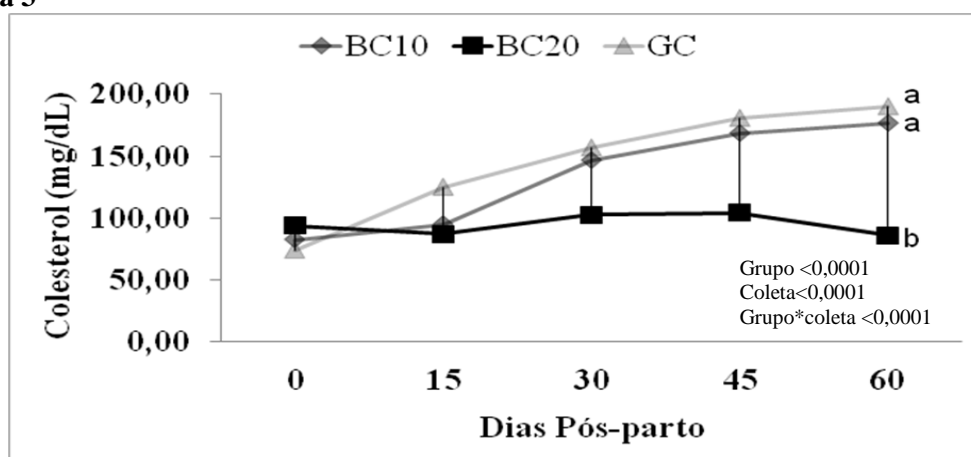


Figura 3



5. Conclusão Geral

Estes resultados demonstraram que o uso do Butafosfan e da Cianocobalamina como estratégia para garantir um melhor aproveitamento energético durante o período pós-parto de vacas leiteiras, pode ser eficaz, justificado pelo melhor desempenho produtivo e pelas concentrações reduzidas de NEFA dos animais tratados.

A manutenção da homeostase dos minerais no sangue indica que esta fonte de fósforo orgânico pode ser utilizado com segurança no pós-parto de vacas leiteiras, até porque observou-se uma manutenção da saúde hepática dos animais, sem sobrecarga ao órgão.

Entretanto, há a necessidade de estudos mais minuciosos que possam, de fato, elucidar melhor o mecanismo de ação deste composto, através do traçado de seu perfil de biodisponibilidade, bem como de investigações criteriosas de seus mecanismos, farmacodinâmico e farmacocinético.

6. Referências Bibliográficas

BACILA, M. **Bioquímica Veterinária**; São Paulo. Editora Varela livros, 2º edição. 534p., 2003.

BAUMAN, D.E., VERNON, R. G. Effects of exogenous bovine somatotropin on lactation. **Annals Revist Nutrition**. N.13. p. 437. 1993.

CALDEIRA R. M. Monitorização da adequação do plano alimentar e do estado nutricional em ovelhas. **Revista Portuguesa de Clinicas Veterinária**. v.100; p.125-139; 2005.

CHILLIARD, Y.; REMOND, B.; SAUVANT, D.; VERMOREL, M. Particularités du métabolisme énergétique. In: Particularités nutritionnelles des vaches à haut potentiel de production. **Bull. Tech. CRZV**, v.53, p.37-64, 1983.

CHURCH, C.D. **El ruminante: fisiología digestiva y nutrición**. Editorial Acribia: Zaragoza, 645 p. 1993.

COZZOLINO, S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. SP: Manole, p. 67-175, 2007.

CUTERI V, NISOLI L, ATTILI AR, ROMERO TEJADA A, PREZIUSO S, FRUGANTI A. Clinical Field evaluation of a butafosfan + vitamin B12 compound (Phosphorum B12®/Catosal®) in the treatment of subclinical ketosis in dairy cows. Oral and Poster Presentations. **Proc XXVth World Buiatrics Congress**. (Budapest). Hungary; 2008.

DENIZ A, WESTPHAL B, ILLING C. Effects of prepartum metaphylactic treatment with Catosal on postpartum metabolic functions in cows. Oral and Poster Presentations. **Proc XXVth World Buiatrics Congr**. (Budapest); Hungary; p. 26-31; 2008.

DRACKLEY, J.K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier. **Journal of Dairy Science**, v. 82, p. 2259–2273, 1999.

DRACKLEY, J.K.; OVERTON, T.R.; and DOUGLAS, G.N. Adaptations of glucose and long-chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. **Journal of Dairy Science**, v. 84, p. 100–112, 2001.

DUFFIELD, T.F.; KELTON, D.F.; LESLIE, K.E.; LISSEMORE, K.D.; LUMSDEN, J.H. Use of test day milk fat and milk protein to detect subclinical ketosis in dairy cattle in Ontario, **Can. Vet. J.** v. 38, p. 713–718, 1997.

FLEMING, S.A. Cetose dos ruminantes (acetonemia). In SMITH, B.P. **Tratado de Medicina Interna de Grandes Animais**. São Paulo: Editora Manole, vol. 2, p. 1297-1304, 1993.

GARRETT, O.R. Ketosis and Hepatic Lipidosis in Dairy Herds. Preconvention Seminar 7: Dairy Herd Problem Investigation Strategies. **36th Annual Conference, September** . Columbus, OH. p15-17, 2003.

GOFF, J.P. and HORST, R.L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 80, p. 1260–1268, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D. CAMPOS, R. Indicadores metabólico-nutricionais do leite. In: GONZÁLEZ, F.H.D., CAMPOS, R. (eds.): **Anais do I Simpósio de Patologia Clínica da Veterinária da Região Sul do Brasil**. Porto Alegre: Gráfica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p. 31-47; 2003.

GONZÁLEZ, F. H. D.; SILVA, S. C.; **Introdução à Bioquímica Veterinária**; Editora da UFRGS; 2^a Edição; p.55, 229-230, 2006.

GRAULET, B.; MATTE, J.J.; DESROCHERS, A.; DOEPEL, L.; PALIN, M.F.; GIRARD, C. L. Effects of Dietary Supplements of Folic Acid and Vitamin B12 on Metabolism of Dairy Cows in Early Lactation. **Journal of Dairy Science**. V. 90, p.3442–3455, 2007.

GROHN, Y.T.; ERB, H.N.; MCCULLOCH, C.E. and SALONIEMI, H.S. Epidemiology of metabolic disorders in dairy cattle: Association among host characteristics, disease and production. **Journal of Dairy Science**, v. 72, p. 1876–1885, 1989.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.76, p. 3882, 1993.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of Animal Science**, v. 73, p. 2820-2833, 1995.

GULAY, M. S.; HAYEN, M. J.; LIBONI, M. et al. Low Doses of Bovine Somatotropin During the Transition Period and Early Lactation Improves Milk Yield, Efficiency of Production, and Other Physiological Responses of Holstein Cows. **Journal of Dairy Science**, v.9, n.87, p.948- 960, 2004.

HUBER K. Molekulare Grundlagen der Phosphor-Homöostase beim kleinen Wiederkäuer. **Habilitationsschrift Med. Vet.** Hannover: Tierärztliche Hochschule; 2003.

INGVARTSEN, K.L. Feeding- and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal Feed Science and Technology**, v. 126, p. 175–213, 2006.

KENNEDY, D. G., A. CANNAVAN, A. MOLLOY, F. O'HARTE, S. M. TAYLOR, S. KENNEDY, and W. J. BLANCHFLOWER. 1990. 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**. 64:721–732.

LÓPEZ, S. E.; LÓPEZ, J.; STUMPF JUNIOR, W. Parâmetros séricos de vacas leiteiras na fase inicial de lactação suplementadas com diferentes fontes de gordura. **Archivos Latinoamericanos de Produccion Animal**, Vol. 12, No. 3, Septiembre-Diciembre, pp. 96-102, 2004.

MALLETTE, M. F.; ALTHOUSE, P. M.; CLAGETT, C.O.; **Biochemistry of Plants and Animals**; John Wiley & Sons, Inc; 1960; p.387-388.

MANDEBVU, P.; BALLARD, C.S.; SNIFFEN, C.J.; TSANG, D.S.; VALDEZ, F.; MIYOSHI, S.; SCHLATTER, L. Effect of feeding an energy supplement prepartum and postpartum on milk yield and composition, and incidence of ketosis in dairy cows. **Animal Feed Science and Technology**, v. 105, p. 81–93, 2003.

MCDOWELL, L.R. **Minerais para ruminantes sob pastejo em regiões tropicais, enfatizando o Brasil**. 3 ed., University of Florida , 92 p., 1999.

MILLS, S.E.; BEITZ, D.C.; YOUNG, J.W. Evidence for impaired metabolism in liver during induced lactation ketosis of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 69, p. 362–370, 1986.

MULLIGAN, F.J.; O'GRADY, L.; RICE, D.A. and DOHERTY, M.L. A herd health approach to dairy cow nutrition and production diseases of the transition cow. **Animal Reproduction Science**, v. 96, p. 331–353, 2006.

RADOSTITS O.M.; GAY, C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHCLIFF, K.W. **Clínica Veterinária**. Rio de Janeiro: ed. Guanabara Koogan S.A. 9ª ed. 2000. p.288-298.

RICO, A.G.; BRAUN, J.P.; BENARD, P.; THOUVENOT, J.P.; Blood and Tissue Distribution of Gamma Glutamyl Transferase in the Cow. **Journal of Dairy Science**, Vol. 60, No. 8, 1977.

SAS Institute Inc. 2004. **SAS® 9.1.3**. Cary, NC: SAS Institute Inc. **SAS® 9.1.3**.

SCHEIA, I.; VOLDEN, H.; BVRE, L. Effects of energy balance and metabolizable protein level on tissue mobilization and milk performance of dairy cows in early lactation. **Livestock Production Science**, v. 95, 35–47, 2005.

TERNOUTH, J.H.; SEVILLA, C.L. Dietary calcium and phosphorus repletion in lambs. **Australian Journal of Agricultural Research**, V.41, n.2, p.413–420, 1990.

VAN SAUN, R. Blood profiles as indicators of nutritional status. In: **Western Canadian Dairy Seminar**, Alberta, V12. p.1-7. 2000.