

## DESENVOLVIMENTO DE UM PRODUTO PARA ACELERAR A HOMEOSTASE DO CÁLCIO EM VACAS LEITEIRAS

LUDGERO REHERMANN LOUREIRO DA SILVA<sup>1</sup>; ANDREZA EBERSOL DOS ANJOS<sup>2</sup>; URIEL SECCO LONDERO<sup>3</sup>; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ<sup>4</sup>; VIVIANE ROHRIG RABASSA<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC–ludgero.l@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC– andrezaanjos2014@hotmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC – uriel\_londero@hotmail.com

<sup>4</sup>Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC – josianeofeijo@gmail.com

<sup>5</sup>Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC- vivianerabassa@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O período de transição da vaca leiteira, que consiste em 21 dias pré e 21 dias pós-parto, é um momento de grande desafio, onde a maioria dos transtornos metabólicos ocorrem, podendo prejudicar a produção durante a lactação, resultando em grandes impactos econômicos (ALVARENGA et al., 2015). Um desses transtornos é a hipocalcemia, que em sua forma subclínica pode chegar até 50% de incidência em animais de grande produção, além da perda de leite, esse transtorno pode acarretar na maior chance no desenvolvimento de várias doenças como metrite, mastite e cetose

O principal hormônio em resposta à hipocalcemia é o paratormônio (PTH) que é produzido por 4 glândulas paratireóides, transportada através do retículo endoplasmático rugoso e armazenada em grânulos receptores; sua intervenção tem como alvo, o rim, onde mimetiza a reabsorção do cálcio a nível renal no túbulo distal e promover a produção de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e a fração óssea, agindo nos osteoblastos e osteócitos (GOFF et al., 2014).

A homeostase do cálcio é realizada através de três fontes distintas: resorção óssea, absorção intestinal e reabsorção renal; a concentração extracelular de cálcio é estabelecida por receptores presentes na superfície das células da paratireoide, possuem capacidade de se ligar ao cálcio ionizado e regular a liberação de PTH (CASTRO et al, 2017).

Para a ativação desses mecanismos homeostáticos, o animal deve passar por uma hipocalcemia transiente. Atualmente as estratégias de prevenção são adotadas ainda no pré-parto, sendo elas principalmente pela manipulação da dieta em duas formas. Uma é a redução de cálcio disponível na dieta, entretanto as pastagens tem bastante quantidade desse mineral dificultando a aplicação, e a segunda através de adição de sais aniónicos, porém apresenta baixa palatabilidade e alto custo (GOFF et al., 2014). Sendo assim importante o desenvolvimento de novas estratégias para prevenção do transtorno

Nosso grupo de pesquisa desenvolveu uma estratégia que é capaz de causar essa hipocalcemia transiente, entretanto é necessário o desenvolvimento de uma forma farmacêutica de fácil manipulação para o produtor. Com isso o objetivo deste projeto foi desenvolver e testar uma nova forma farmacêutica de administração do princípio ativo com finalidade de ativar os mecanismos de homeostase de cálcio.

### 2. METODOLOGIA

Por se tratar de um projeto de inovação tecnológica, contendo termo de sigilo, e que ainda será posto a campo para mais testes não se pode publicar o nome dos princípios ativos.

Primeiramente o princípio ativo foi testado em animais no pré-parto, com cerca de 15 a 21 dias da data prevista do parto, onde foi administrado por via intravenosa por 6 horas, para induzir a uma hipocalcemia subclínica transiente, sendo comparado com um controle que recebeu solução fisiológica (NaCl 0,9%) pelo mesmo período. As coletas de sangue foram feitas um dia antes da infusão (hora -24), antes da infusão (hora 0), de hora em hora até a hora 10, e nas horas 12, 18, 24, 48 e 72, sendo analisadas quanto aos níveis plasmáticos de cálcio. A partir dos resultados obtidos serem promissores, foi buscada uma forma farmacêutica viável para o produtor.

Para isso foi desenvolvido um bolus para administração oral, de liberação lenta do princípio ativo. Para o desenvolvimento as matérias primas foram pesadas e secadas em estufa a 40°C por 24 horas. Posteriormente, o princípio ativo foi misturado a matéria-prima do bolus e foi colocado em chapa quente, a aproximadamente 120°C e adicionado 3 mL de água, a qual foi misturada continuamente adicionando 10 mL em frações de 1 mL até que a composição ganhasse consistência. Com o bolus pronto, moldou-se em forma cilíndrica e foi armazenado em geladeira a uma temperatura de 4° a 8° C, deixado por *overnight*.

Para a realização dos testes *in vitro*, o bolus foi colocado em recipientes com quatro litros de água destilada em estufa a 40°C para simular a temperatura ruminal, sendo que a água foi trocada de hora em hora por 8, e as 24, 48 e 72 horas após o início do experimento. Todos os testes foram realizados em triplicatas.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analizando a figura 1 podemos observar que o princípio ativo quando testado em animais foi capaz de induzir a queda dos níveis cálcio por pelo menos seis horas, sendo que algumas horas após o termino da infusão os níveis voltaram ao fisiológico.

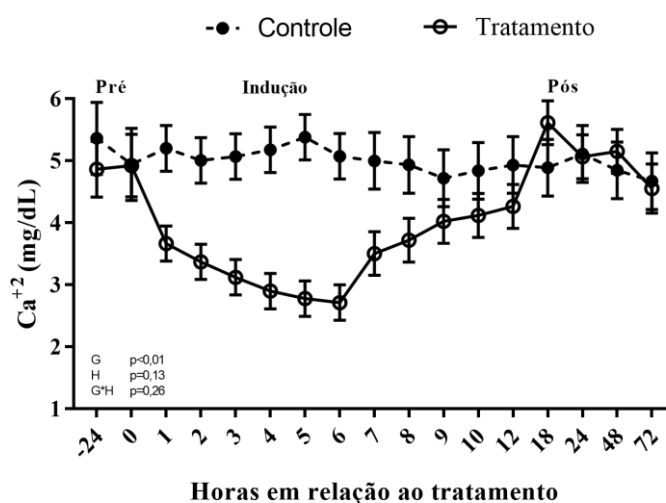


Figura 1: Média  $\pm$  erro padrão dos níveis de cálcio em vacas que receberam ou não a infusão intravenosa do princípio ativo no pré-parto

Com os resultados promissores obtidos com a infusão intravenosa do princípio ativo, buscou-se o desenvolvimento de uma forma farmacêutica que facilitasse sua aplicabilidade.

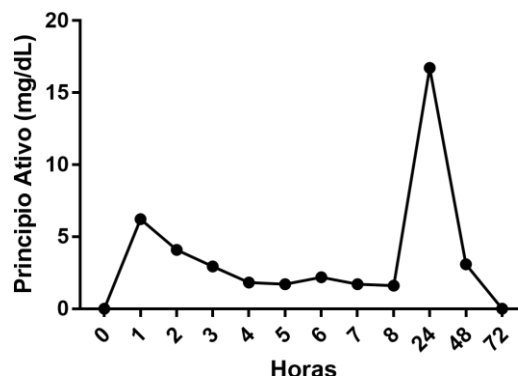


Figura 2: Média do nível do princípio ativo em relação ao tempo de liberação do mesmo.

Conforme a figura 2 pode-se observar que a liberação do P.A (princípio Ativo) foi de forma lenta e controlada, por cerca de 48 horas. Como era um meio isolado, sem interferência de outros fatores, o pico que ocorre as 24 horas, é devido ao acúmulo da liberação do farmaco.

Este foi o primeiro teste *in vitro* desta forma farmacêutica nos mostrando um resultado importante, podendo ser esse um candidato de veículo para carrear o P.A.O nosso bolus foi capaz de liberar o princípio ativo por um vários horas, sendo que este é capaz de reduzir os níveis de cálcio e assim se mostrando um resultado positivopois essa queda será capaz de acionar os receptores de PTH, pois em condições normais as concentrações de cálcio variam entre 8.0- 10.0 mg/dl, os receptores de cálcio se encontram preenchidos, assim a secreção de PTH mantém-se estável, em caso de hipocalcemia os receptores ficam livres, consequentemente há um aumento na secreção de PTH ( CASTRO et al., 2017). São necessário mais testes *in vitro* para que posteriormente possamos realizar testes em animais, levando em consideração que produtos de via oral para ruminantes é um grande desafio, devio ele possuir rumem, sendo a mioria dos produtos desenvolvidos via ingetavel.

#### 4. CONCLUSÕES

Este são os primeiros testes para uma possível veiculo do principio ativo já testado em animais. Esses resultados são de suma importância pois o produto final é passível de transfrência tecnológica e com isso o mercado terá alterantivas para sanar o problema da hipocalcemia em bovinos de leite.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAVARENGA, E.A; MOREIRA, G.H.F.A; ELIAS, J.F.F; FABÍOLA, O.P.L; SANDRA, G.C; LÍVIO, R.M; JULIANA, A.M.L; ANTONIO, U.C Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça holandesa durante o período de transição. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 281-290, 2015.

CASTRO, P.F.S. **Comparação de três protocolos de prevenção de hipocalcemia com bolos intra-ruminais de cálcio em bovinos de leite**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade de Évora.

GOFF, Jesse P. Calcium and magnesium disorders. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 359-381, 2014.

GOFF, Jesse P.; LIESEGANG, Annette; HORST, R. L. Diet-induced pseudohypoparathyroidism: a hypocalcemia and milk fever risk factor. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 3, p. 1520-1528, 2014.

MAMILLAPALLI, Ramanaiah; WYSOLMERSKI, John. The calcium-sensing receptor couples to G $\alpha$ s and regulates PTHrP and ACTH secretion in pituitary cells. **The Journal of endocrinology**, v. 204, n. 3, p. 287, 2010.