

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

LUDGERO REHERMANN LOUREIRO DA SILVA¹; ANDREZA EBERSOL DOS ANJOS²; URIEL SECCO LONDERO³; JOSIANE DE OLIVEIRA FEIJÓ⁴; VIVIANE ROHRIG RABASSA⁵

¹*Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC-ludgero.l@hotmail.com*

²*Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC- andrezaanjos2014@hotmail.com*

³*Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC – uriel_londero@hotmail.com*

⁴*Universidade Federal de Pelotas-NUPEEC – josianeofeijo@gmail.com*

⁵*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 princípio hormônio em resposta à hipocalcemia é o paratormônio (PTH) que é produzido por 4 glândulas paratireoides, transportada através do retículo endoplasmático rugoso e armazenada em grânulos receptores; sua intervenção tem como alvos, 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 transitória. 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 têm bastante quantidade desse mineral dificultando a aplicação, e a segunda através de adição de sais anionicos, 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 transitória, 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 término da infusão os níveis voltaram ao fisiológico.

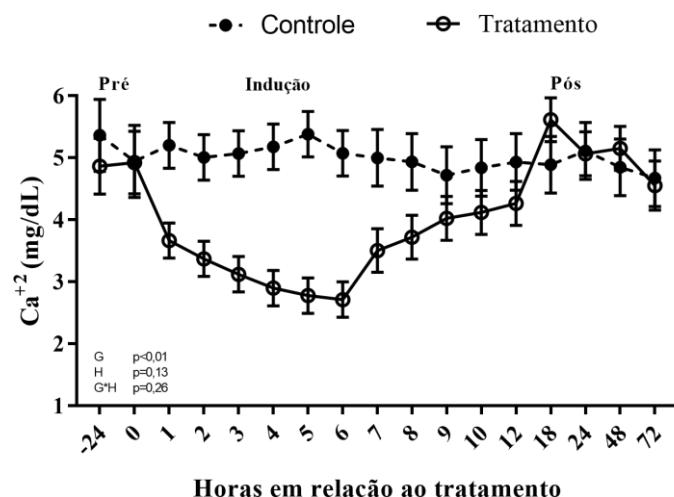


Figura 1: Média ± erro padrão dos níveis de cálcio em vacas que receberam ou não a infusão intravenosa do princípio ativo no pré-parto

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

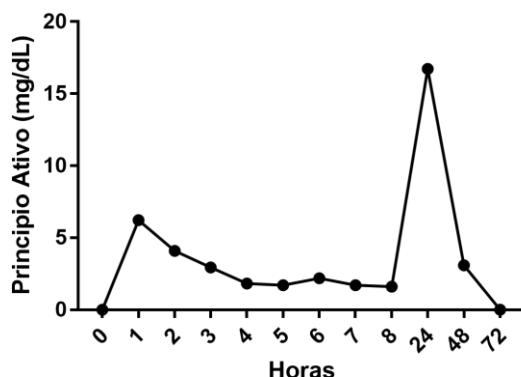


Figura 2: Média do nível do princípio ativo em relação ao tempo de liberação do mesmo.

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 fármaco.

Este foi o primeiro teste *in vitro* desta forma farmacêutica nos mostrando um resultado importante, podendo ser esse um candidato de veículo para carregar 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 positivo pois 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, devido ele possuir rumen, sendo a maioria dos produtos desenvolvidos via injetável.

4. CONCLUSÕES

Este são os primeiros testes para uma possível veículo do princípio ativo já testado em animais. Esses resultados são de suma importância pois o produto final é passível de transfréncia tecnológica e com isso o mercado terá alternativas 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 Gas and regulates PTHrP and ACTH secretion in pituitary cells. **The Journal of endocrinology**, v. 204, n. 3, p. 287, 2010.