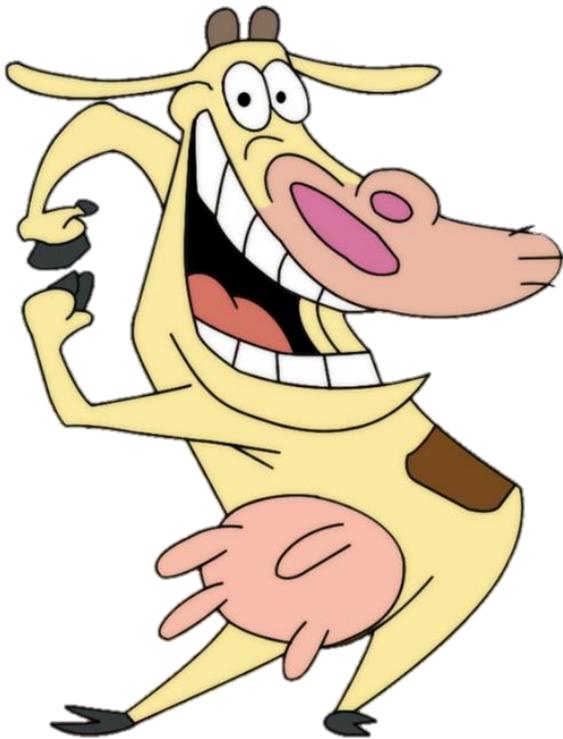
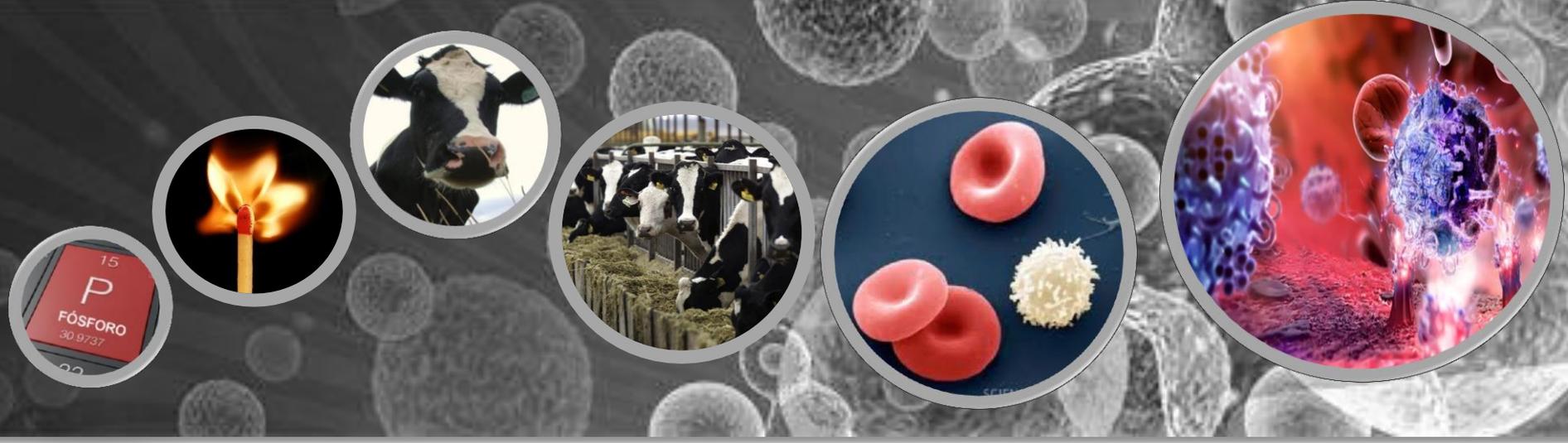


Antes de começar....



1. Quais são as possíveis causas da diminuição do fósforo na dieta de vacas leiteiras???

2. Quais são as semelhanças entre uma vaca leiteira no período de transição e um estudante universitário em final de semestre???



Influência da alimentação com uma dieta com baixos níveis de fósforo sobre a função leucocitária em vacas leiteiras

Patrícia Mattei . Thaís Casarin

Introdução



J. Dairy Sci. 97:5176–5184

<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8180>

© American Dairy Science Association®, 2014.

Influence of feeding a low-phosphorus diet on leucocyte function in dairy cows

S. W. F. Eisenberg,*¹ L. Ravesloot,* A. P. Koets,*[†] and W. Grünberg*²

*Department of Farm Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, NL-3584CL Utrecht, the Netherlands

[†]Division of Immunology, Department of Infectious Disease and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, NL-3584CL Utrecht, the Netherlands

✓ Artigo publicado em agosto de 2014

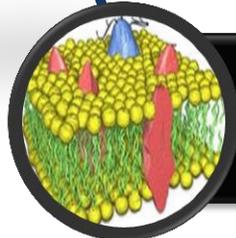


Pelotas, junho de 2014

Introdução



Formação da estrutura óssea/dentes



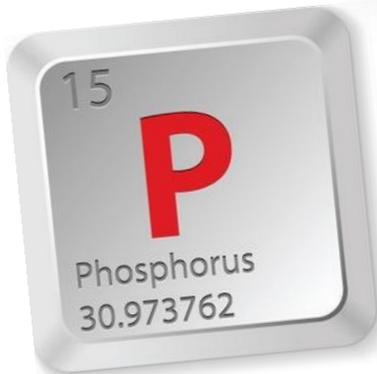
Constituinte de membranas celulares
(fosfolipídeos)



Componente de ácidos nucleicos e ativação de
enzimas/rotas metabólicas



Constituinte das moléculas de armazenamento de
energia (ATP)





*Quais são as possíveis
causas da diminuição do P
na dieta de vacas
leiteiras???*

Introdução



- ✓ Estimativa das necessidades é adequado - em relação à produção de leite, desempenho reprodutivo e estabilidade óssea.

Preocupação ambiental

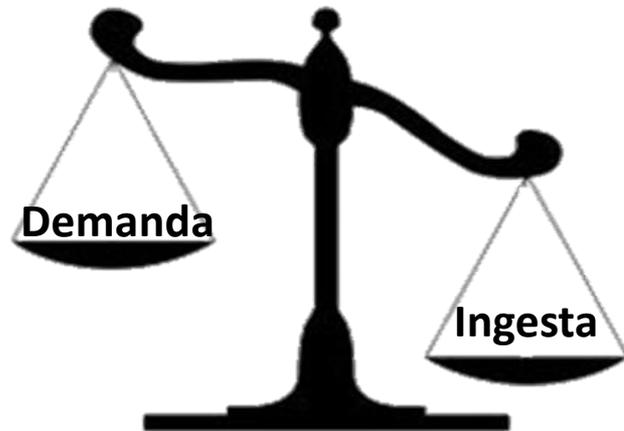
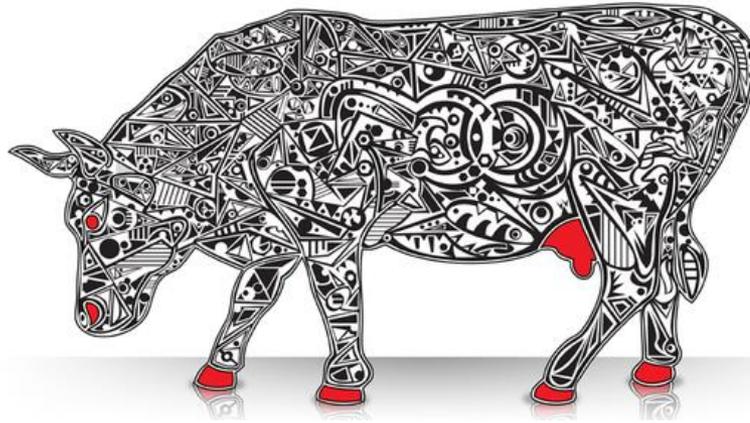


- ✓ **Leis que limitam o teor de P no solo**

- ✓ **Diminui P na dieta – diminui excreção**

Introdução

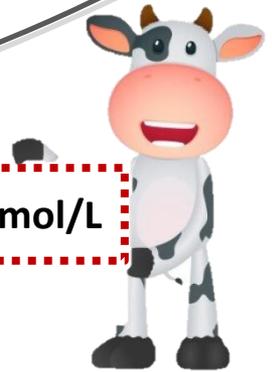
PERÍODO DE TRANSIÇÃO



B
E
N



Introdução



A necessidade de P varia de acordo com o estágio que a vaca se encontra

1,3-2,6mmol/L

**Terço médio: 1,9g/dia
Terço final: 5,4g/dia**

**Para o
crescimento fetal**

**Leite: 7-13mmol/L
Perda de até 40g/dia alta prod.**

Hipofosfatemia (por perda excessiva)

- ✓ Fragilidade muscular e hemólise;
- ✓ Afeta produção de ATP ;
- ✓ Dificuldade de liberação de oxigênio para os tecidos periféricos;
- ✓ Pode prejudicar o funcionamento ruminal;

**Síndrome da
vaca caída**

**Hemoglobinúria
pós-parto**

*Quais são as semelhanças
entre uma vaca leiteira no
período de transição e um
estudante universitário em
final de semestre???*



Introdução

IMUNOSSUPRESSÃO!



Introdução

IMUNOSSUPRESSÃO!



Introdução

IMUNOSSUPRESSÃO!



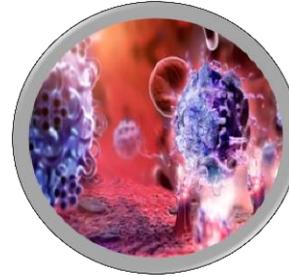
Introdução

FAIXA BÔNUS PARA PÓS GRADUANDOS



Introdução

IMUNOSSUPRESSÃO



Dieta com altos níveis de P: Aumento da proliferação de linfócitos

Dieta com baixos níveis de P: prejudica a fagocitose de polimorfonucleares

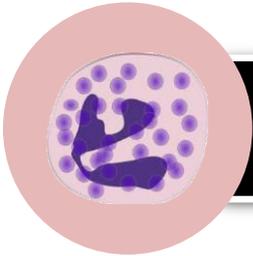


Introdução

Mularky et al., 2009

Vacas primíparas e multíparas entre 5 e 112 DEL

Níveis recomendados/Altos níveis de P



Sem diferença na proliferação de linfócitos e atividade fagocítica de neutrófilos



Dietas com baixos níveis de P?



Let's go study!





Objetivo

Explorar o efeito da depleção fósforo dietético ao longo de um período de quatro semanas em vacas leiteiras em lactação através de uma avaliação geral das células polimorfonucleadas e a função dos linfócitos, através de um ensaio de fagocitose e linfoproliferação.

Hipótese

A depleção crônica de fósforo interfere na função imune celular em vacas leiteiras.



Materiais e Métodos

- ✓ 8 vacas multíparas da raça Holandês;
- ✓ Animais clinicamente saudáveis (avaliados clínica, bioquímica e hematologicamente);
- ✓ Período: Metade da lactação;

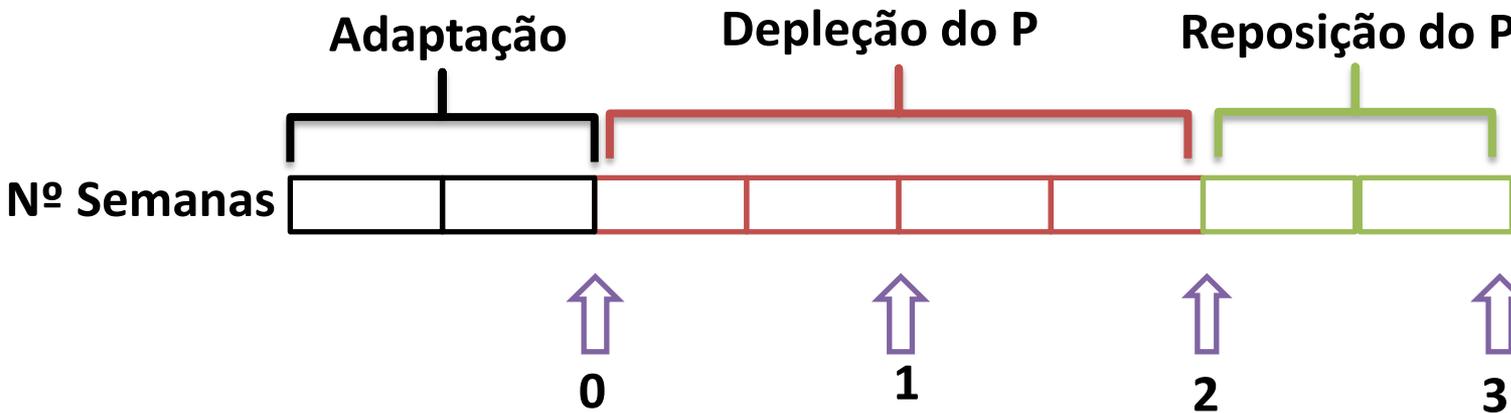


Eliminar a influência das alterações metabólicas e endócrinas que afetam a resposta imune da vaca no parto

- ✓ Alojadas em tie-stall, sobre tapetes de borracha cobertos com serragem e temperatura controlada



Materiais e Métodos



- ✓ **Adaptação:** 0,36% P/kg de MS
- ✓ **Depleção:** 0,2% P/kg de MS
- ✓ **Reposição:** 0,45% P/kg de MS

Determinação de Pi plasmático

Isolamento e contagem de leucócitos

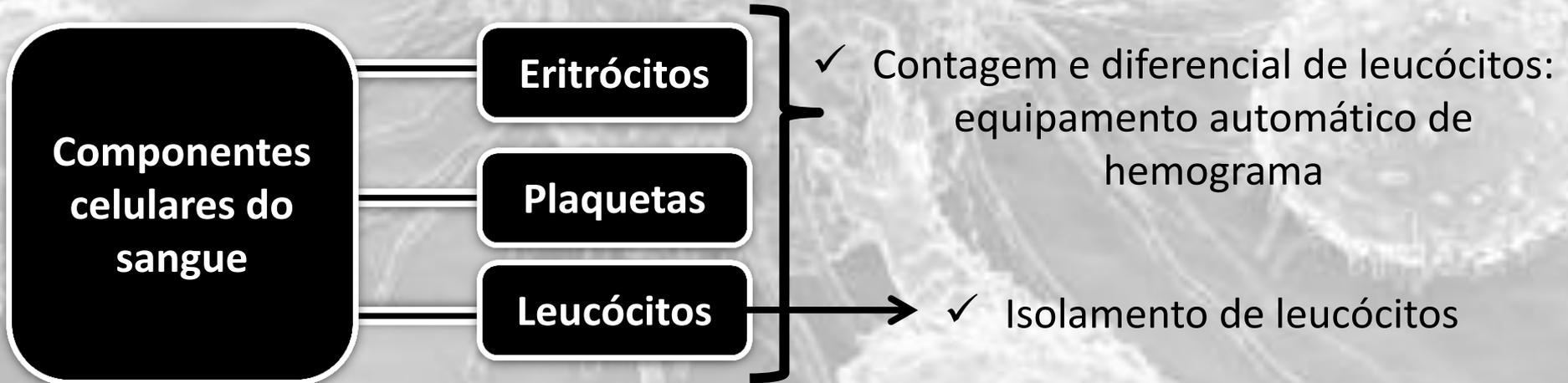
Ensaio de fagocitose



Materiais e Métodos

Análises Realizadas

- ✓ Pi plasmático por espectrofotometria

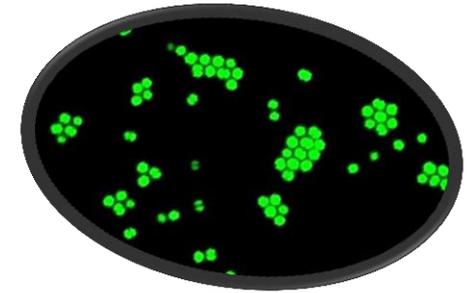


- ✓ Contagem em Câmara de Burker-Turk e viabilidade por azul de tripano

- ✓ Fenotipagem/identificação por citometria de fluxo

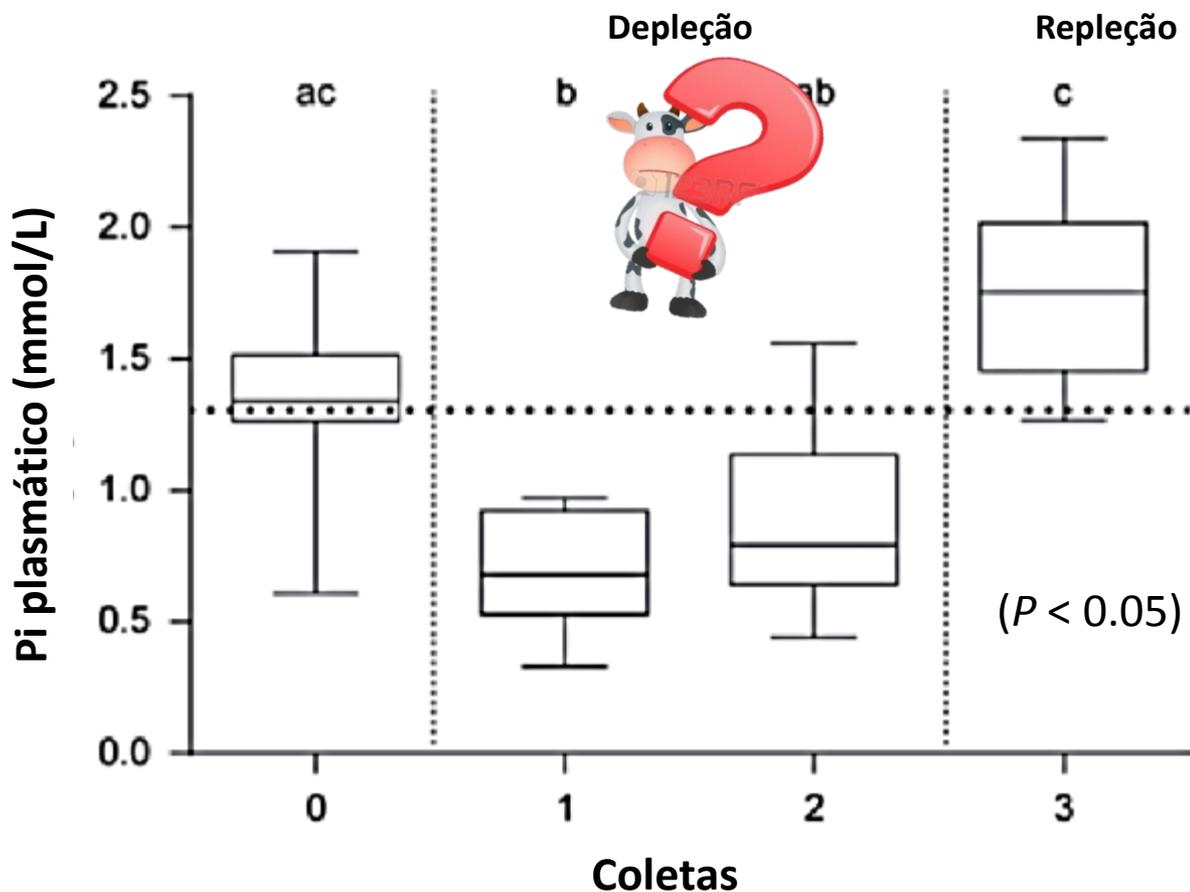
Materiais e Métodos

- ✓ Marcação de *Staphylococcus aureus* (SA) com fluoróforo
- ✓ Ensaio de Fagocitose com SA;
Foram incubadas 2 placas: uma à 4°C (controle negativo) e uma a 37°C;
- ✓ Grau de fagocitose: medido pela fluorescência emitida pelas SA marcadas;
- ✓ Intensidade de Fluorescência Média (IFM) de granulócitos foi determinada pelo número de bactérias fagocitadas por célula (Citometria de fluxo)
- ✓ Linfoproliferação: Ensaio de estimulação de linfócitos com substâncias mitogênicas – Medição: microscopia confocal



Resultados e discussão

Níveis de Pi plasmático



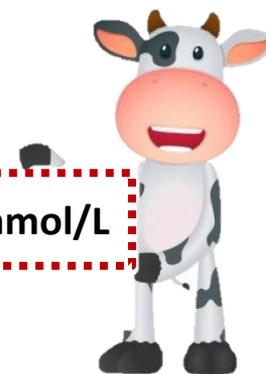
✓ Aumento numérico:
mecanismos
contrarreguladores (ex.
mobilização óssea)

✓ Os níveis dietéticos foram
adequados para causar a
depleção no plasma

Mecanismo contrarregulador lento? Problemas no pós parto?

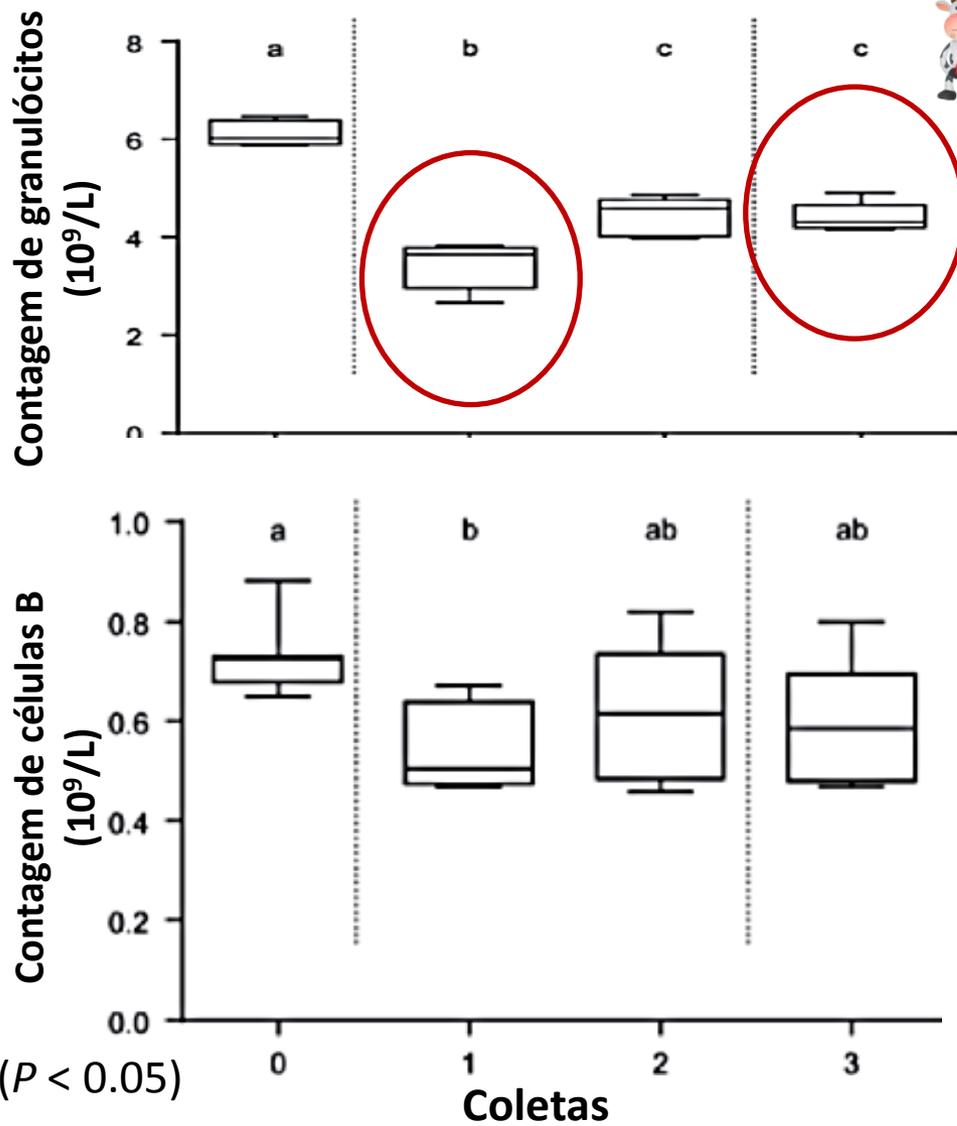


1,3-2,6mmol/L

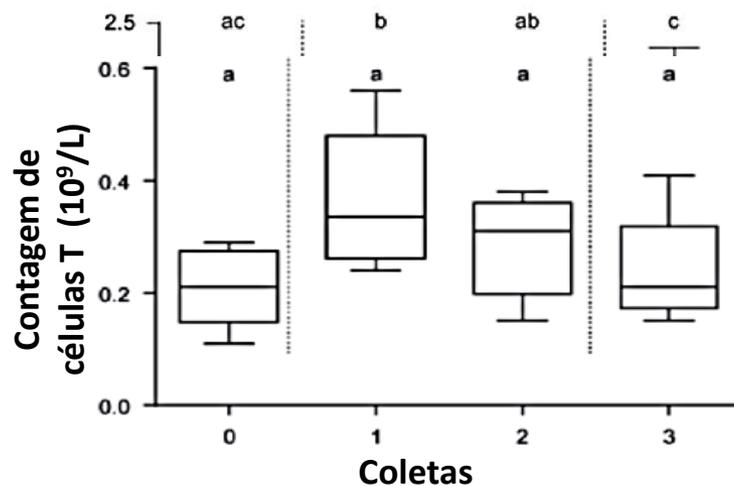


Resultados e discussão

Contagem de granulócitos e células B



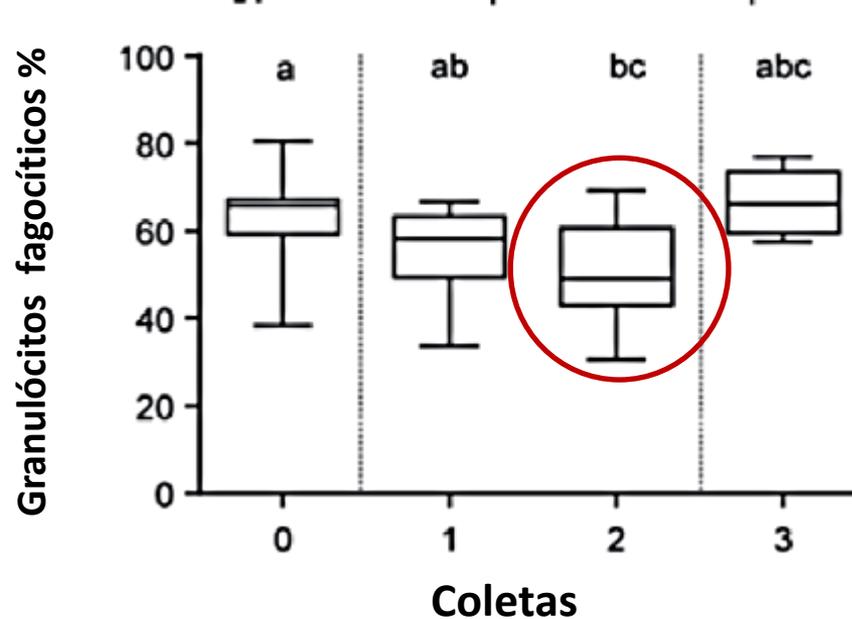
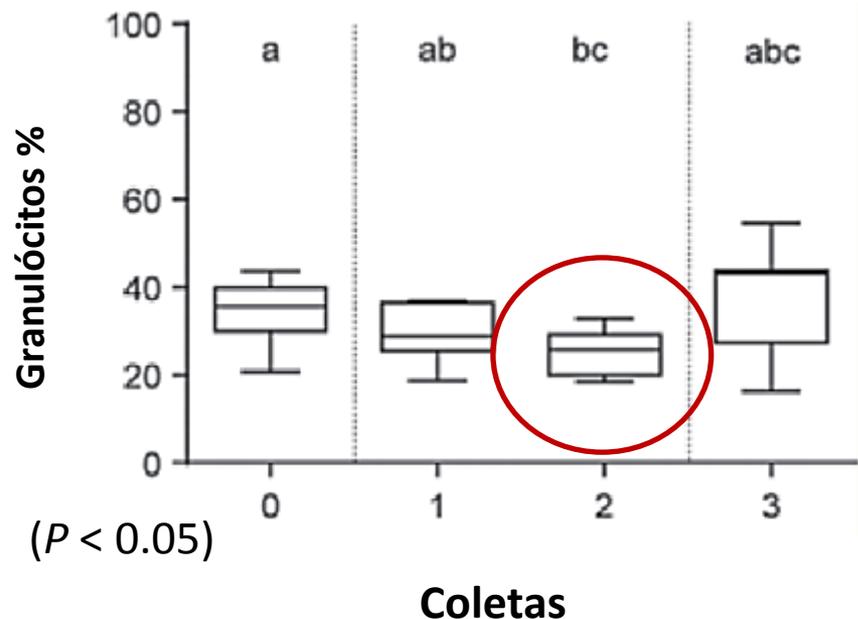
✓ Depleção de P afeta a atividade da medula óssea: depressão reversível



Reversível...mecanismo lento...
Problemas no pós-parto?

Resultados e discussão

Porcentagem de granulócitos e granulócitos fagocíticos após ensaio de fagocitose a 37°C



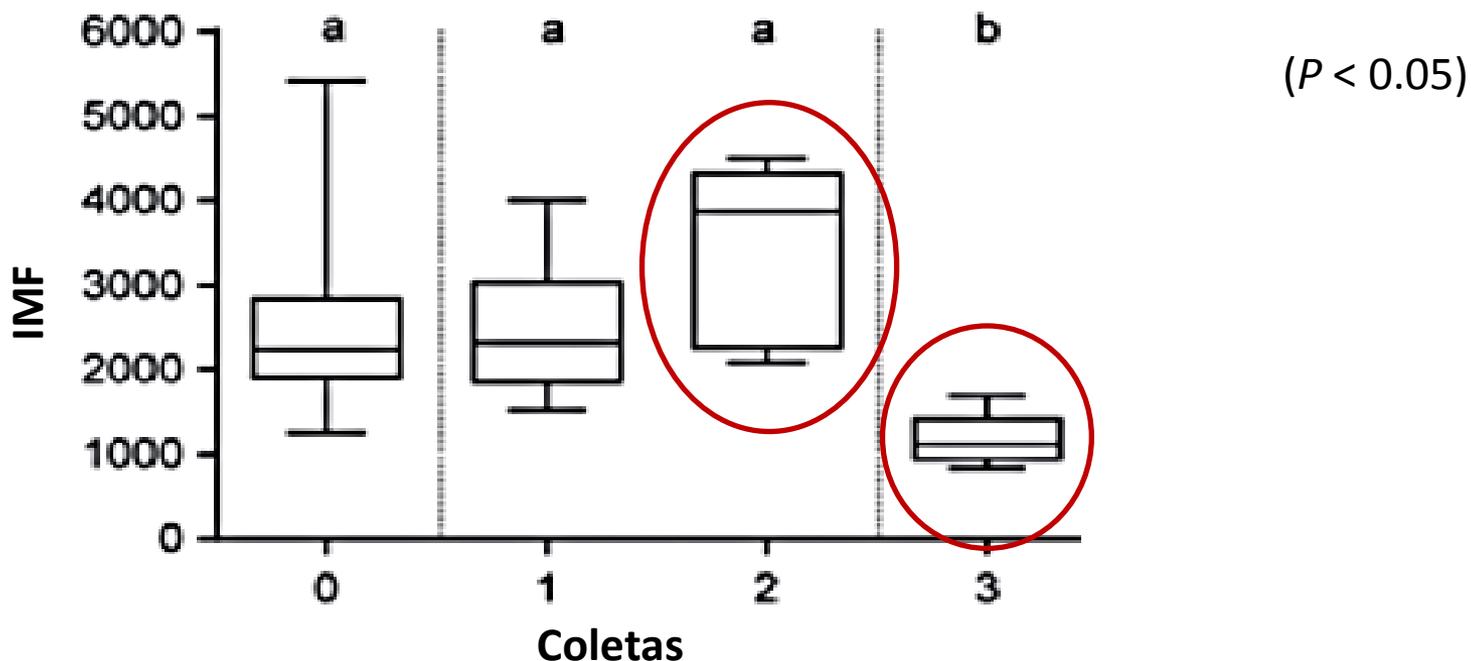
- ✓ Hipofosfatemia: efeito retardado na sobrevivência dos granulócitos
- ✓ Declínio do nº de granulócitos 2s antes foi compensado pelo aumento da granulopoiese: + granulócitos jovens, – granulócitos funcionais

O que esse “atraso” na resposta poderia causar?



Resultados e discussão

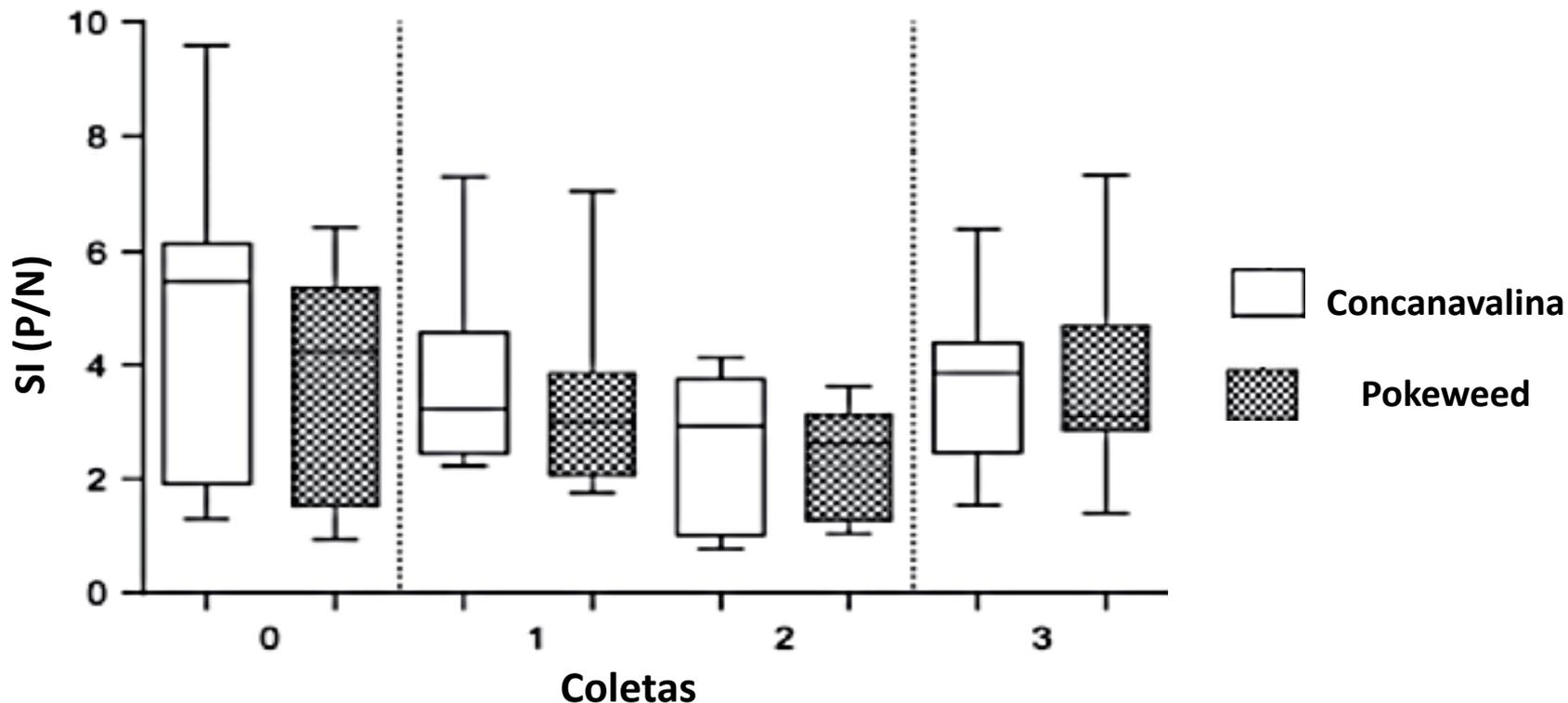
Intensidade média de fluorescência de granulócitos após incubação com SA



- ✓ Função fagocítica não foi afetada pela depleção de P
- ✓ Após a incubação com SA: menor nº de granulócitos viáveis. Aumento da proporção célula:SA, levando a um aumento do nº de SA fagocitados por cél.
- ✓ Toxicidade celular induzida por cálcio

Resultados e discussão

Ensaio de linfoproliferação usando dois mitógenos diferentes



✓ Tendência para uma diminuição na proliferação durante o período de depleção



Dieta com altos níveis de P: Aumento da proliferação de linfócitos

Conclusões

✓ Depleção crônica de P dietético interfere na imunidade Celular

✓ ↓ nº de granulócitos

✓ Pode prejudicar a sobrevivência de granulócitos

=



Porcentagem de granulócitos, após incubação com SA

Porém...

A capacidade fagocitária e a linfoproliferação não foram afetados



Take home message



P DIETÉTICO

Níveis de Pi plasmáticos: Mecanismo contrarregulador lento? Problemas no pós parto?

Contagem de granulócitos e células B: Reversível...mecanismo lento... Problemas no pós-parto?

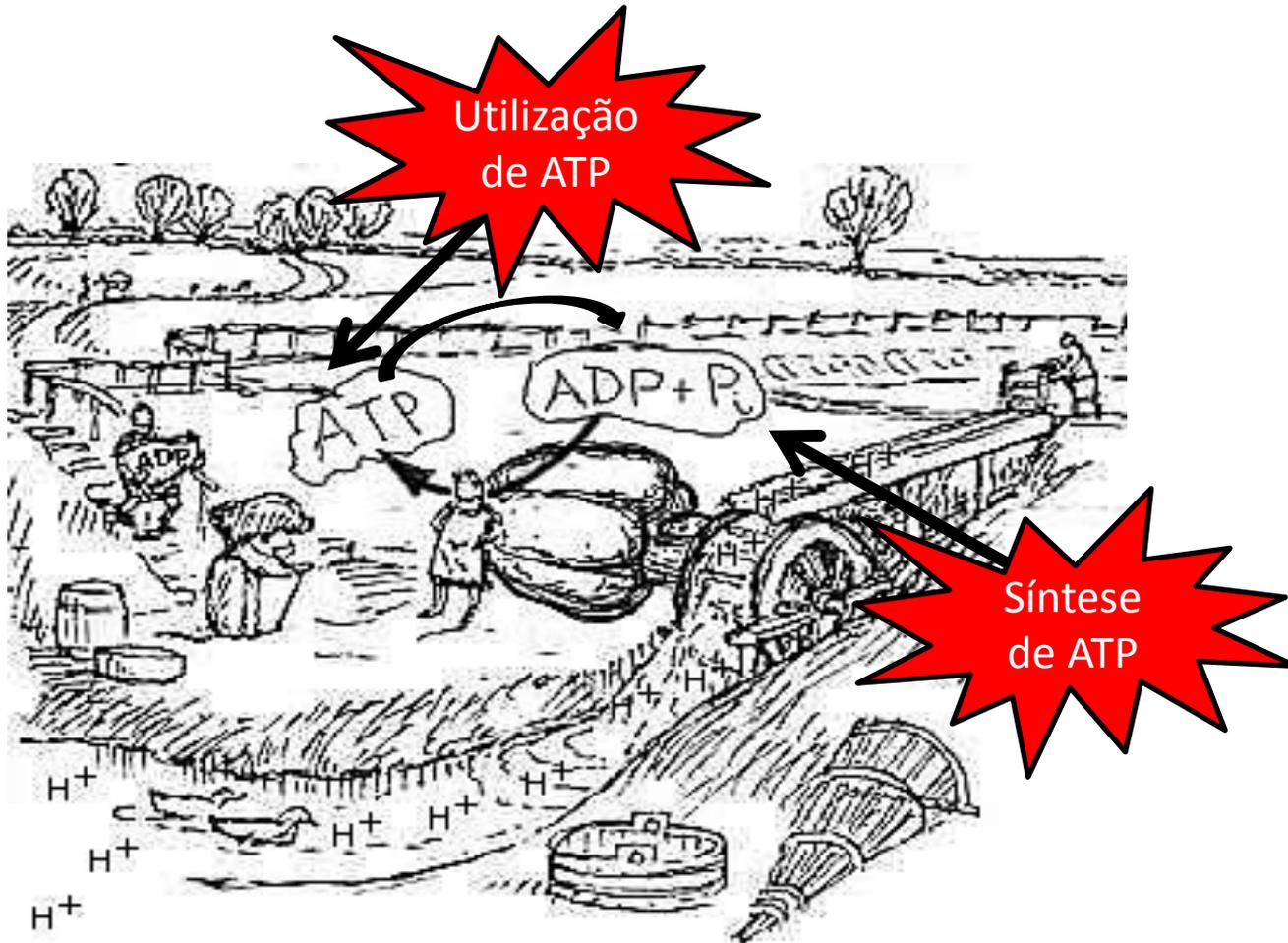
Porcentagem de granulócitos e granulócitos fagocíticos após ensaio de fagocitose: O que esse "atraso" na resposta poderia causar?



ESTRATÉGIAS???

Take home message

BUTAFOSFAN



Take home message

ORGÂNICO X INORGÂNICO

❖ Fósforo Orgânico:

- ✓ Íon de metal complexado a um molécula orgânica;
 - ✓ Maior solubilidade;
 - ✓ Maior estabilidade;
- ✓ Melhor absorção – meia vida mais longa;
 - ✓ Biodisponibilidade maior;
- ✓ Necessidade de menores concentrações;
- ✓ Diminui a possibilidade de inibição da absorção.



Trabalhos NUPEEC

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

PEREIRA et al., 2013



✓ 52 vacas da raça Holandês, de segunda parição, 150 DEL

✓ Foram divididas em **3 grupos**:

❖ **BC10** (n=18): 10 mL de Butafosfan e Cianocobalamina ;

❖ **BC20** (n=18): 20 mL de Butafosfan e Cianocobalamina ;

❖ **GC** (n=16): 10 mL de solução fisiológica (Controle).

Diminuição dos níveis de NEFA nos animais que receberam os tratamentos BC

Diminuição dos níveis de colesterol no grupo BC20 em relação aos grupos BC10 e GC

Trabalhos NUPEEC

Estratégias farmacêuticas com fósforo orgânico e vitamina B12 para melhorar a funcionalidade hepática de vacas leiteiras primíparas após o parto

Antunes et al., 2015



- ✓ 23 vacas primíparas, após o parto;
- ✓ Foram divididas em 3 grupos:

❖ **Grupo Catosal (CAT, n = 8):** 5 doses de 20 mL de Catosal[®] ;

❖ **Grupo Butafosfan (BUT, n = 8):** 5 doses de 20 mL de butafosfan 10%;

❖ **Grupo Controle (CTL, n = 7):** 5 doses de 20 mL de solução fisiológica 0,9%.

Diminuição dos níveis de NEFA nos animais do grupo BUT em relação ao CTL

Trabalhos NUPEEC

Efeito do Butafosfan na expressão de genes ligados ao metabolismo energético, qualidade oocitária e desenvolvimento embrionário

Lucas Hax; Maria Amélia; Thaís Casarin

- ✓ Foram utilizados 100 oócitos, divididos aleatoriamente:
- ✓ Quatro tratamentos de acordo com a adição de Butafosfan ao meio de MIV:]
 - ❖ $T_0 = 0,0 \text{ mg/L}$; ❖ $T_2 = 100 \text{ mg/L}$;
 - ❖ $T_1 = 50 \text{ mg/L}$; ❖ $T_3 = 200 \text{ mg/L}$.
- ✓ Não houve efeito ($P > 0,05$) entre tratamentos.



Trabalhos NUPEEC

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS

Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia



TESE

Efeito do butafosfan no metabolismo de vacas leiteiras saudáveis ou com mastite clínica

Vinicius Coitinho Tabeleão

Pelotas, 2014.

Small Ruminant Research 114 (2013) 140–145



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Small Ruminant Research

journal homepage: www.elsevier.com/locate/smallrumres



Metabolic parameters and dry matter intake of ewes treated with butaphosphan and cyanocobalamin in the early postpartum period



Rubens Alves Pereira^{a,*}, Samanta Fensterseifer^a, Vinicius Boechel Barcelos^a, Charles Ferreira Martins^a, Augusto Schneider^a, Eduardo Schmitt^{a,c}, Luiz Francisco Machado Pfeifer^{a,c}, Francisco Augusto Burkert Del Pino^{a,b}, Marcio Nunes Corrêa^a

^a Núcleo de Pesquisa, Ensino e Extensão em Pecuária (NUPEEC), Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal de Pelotas, S/N, BR, CEP 96201-900 Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil[†]

^b Laboratório de Bioquímica Clínica, Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Pelotas, CEP 96201-900 Pelotas, Rio Grande do Sul, Brazil

^c Centro de Pesquisa Agropecuária de Ruminantes - Embrapa CNPq - Estrada 127, Km 5,5 - Zona Rural, Caixa Postal 127, CEP 73881-5-800 Porto Velho, Rondônia, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 22 November 2012

Received in revised form 15 May 2013

Accepted 29 May 2013

Available online 25 June 2013

Keywords:

Butaphosphan

Cyanocobalamin

Ketone bodies

Ewes

Dry matter intake

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the effects of butaphosphan and cyanocobalamin injection on the dry matter intake and metabolic parameters of early postpartum ewes. Eighteen pregnant ewes (Texel breed) were divided into two experimental groups, at calving day: (1) Treatment Group (BTC Group; n=9), which received 3 injections of butaphosphan (1000 mg) and cyanocobalamin (0.5 mg) combination, every two days after calving (day 0–4 postpartum); and (2) Control Group (CTL Group; n=9), which received injections of saline solution (NaCl 0.9%) in the same way that the BTC Group. Blood samples were collected once a day, from day 1 to day 7 postpartum to determine concentrations of glucose, non-esterified fatty acids (NEFA), acetone, beta-hydroxybutyrate (BHB), calcium (Ca) and phosphorus (P). The dry matter intake was higher ($P=0.023$) in the BTC group (2.9 ± 0.2 vs. 2.0 ± 0.2 kg/day) while the NEFA concentration in this group was lower (0.47 ± 0.02 vs. 0.56 ± 0.02 mmol/L, $P=0.006$). The acetone blood concentration decreased on the BTC group ($P=0.068$) in the first week after calving (3.16 ± 0.34 mg/dL and 4.05 ± 0.33 mg/dL BTC and CTL group, respectively). The glucose and phosphorus concentration of the BTC group were higher ($P=0.027$ and $P<0.001$, respectively) than in the CTL group. The calcium and BHB concentrations decreased after calving in all ewes, but were not different between groups. In conclusion, butaphosphan and cyanocobalamin injections in the early postpartum period in ewes improved the energetic status and had an orexigenic effect.

© 2013 Elsevier B.V. All rights reserved.





Obrigada!

patymattei@gmail.com

thais_casarin@hotmail.com