

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA - UNIOESTE/UTFPR

DOUGLAS MACHADO DE SOUZA

**SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE 1,25 – DIHIDROXICOLECALCIFEROL
GLICOSÍDEO SOBRE O METABOLISMO DE MINERAIS, SEROTONINA E
DOPAMINA EM BOVINOS**

Marechal Cândido Rondon
2024

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CAMPUS DE MARECHAL CÂNDIDO RONDON
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA - UNIOESTE/UTFPR

DOUGLAS MACHADO DE SOUZA

**SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE 1,25 – DIHIDROXICOLECALCIFEROL
GLICOSÍDEO SOBRE O METABOLISMO DE MINERAIS, SEROTONINA E
DOPAMINA EM BOVINOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Oeste do Paraná como requisito parcial do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UNIOESTE/UTFPR, área de concentração em Produção e Nutrição Animal, para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Orientador: Dr. Ériton Egidio Lisboa Valente

Marechal Cândido Rondon
2024

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

Souza, Douglas Machado de
Suplementação oral de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo sobre o metabolismo de minerais, serotonina e dopamina em bovinos / Douglas Machado de Souza; orientador Ériton Egidio Lisboa Valente. -- Marechal Cândido Rondon, 2024.
57 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Marechal Cândido Rondon) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2024.

1. Nutrição de ruminantes. 2. Suplementação. 3. Vitamina D. I. Valente, Ériton Egidio Lisboa, orient. II. Título.

DOUGLAS MACHADO DE SOUZA

Suplementação oral de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo sobre o metabolismo de minerais, serotonina e dopamina em bovinos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia em cumprimento parcial aos requisitos para obtenção do título de "Mestre em Zootecnia", Área de Concentração "Produção e Nutrição Animal", Linha de Pesquisa "Produção e Nutrição de Ruminantes / Forragicultura", APROVADO pela seguinte Banca Examinadora:


Orientador / Presidente – Prof. Dr. Ériton Egídio Lisboa Valente

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus de Mal. Cândido Rondon*


Membro – Prof.ª Dr.ª Maximiliane Alavarise Zambom

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste) - *Campus de Mal. Cândido Rondon*

Membro – Dr.ª Juliana Reolon Pereira
Timab Magnesium (*participação remota síncrona*)

Membro – Dr.ª Daniela Batista Oss
Oligo Basics Innovad Group (*participação remota síncrona*)

Marechal Cândido Rondon, 21 de novembro de 2024.



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46

Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>

Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000

Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Dr.^a Juliana Reolon Pereira**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação do candidato **Douglas Machado de Souza**, aluno de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado **APROVADO** na banca realizada em 21/11/2024, com o trabalho intitulado **"Suplementação oral de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo sobre o metabolismo de minerais, serotonina e dopamina em bovinos"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Dr.^a Juliana Reolon Pereira

Timab Magnesium



unioeste

Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Campus de Marechal Cândido Rondon - CNPJ 78680337/0003-46
Rua Pernambuco, 1777 - Centro - Cx. P. 91 - <http://www.unioeste.br>
Fone: (45) 3284-7878 - Fax: (45) 3284-7879 - CEP 85960-000
Marechal Cândido Rondon - PR.



PARANÁ

GOVERNO DO ESTADO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

DECLARAÇÃO E PARECER DE PARTICIPAÇÃO EM BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE MESTRADO REALIZADA À DISTÂNCIA, DE FORMA SÍNCRONA, POR VIDEOCONFERÊNCIA

Eu, **Dr.^a Daniela Batista Oss**, declaro que **participei à distância, de forma síncrona e por videoconferência**, da Banca Examinadora de Defesa de Dissertação do candidato **Douglas Machado de Souza**, aluno de Mestrado deste Programa de Pós-Graduação.

Considerando o trabalho entregue, apresentado e a arguição realizada, **formalizo como Membro Externo**, para fins de registro, por meio desta declaração, minha decisão de que o candidato pode ser considerado APROVADO na banca realizada em 21/11/2024, com o trabalho intitulado **"Suplementação oral de 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo sobre o metabolismo de minerais, serotonina e dopamina em bovinos"**.

Descreva abaixo observações e/ou restrições (se julgar necessárias):

Documento assinado digitalmente
gov.br DANIELA BATISTA OSS
Data: 05/12/2024 10:24:01-0930
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

Dr.^a Daniela Batista Oss
Olígio Basics Innovad Group

Modelo 1 – Para membros de Banca Examinadora de Programa de Pós-graduação da UNIOESTE

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, a minha namorada Brenda que me apoiou e esteve ao meu lado e a toda a minha família, em especial minha mãe Elizandra e meu pai Ademir que sempre foram meus exemplos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por toda benção em minha vida, pela saúde e força para alcançar os objetivos e me tornar cada dia melhor.

À Universidade Estadual do Oeste do Paraná, em especial ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia – UNIOESTE/UTFPR, pela oportunidade da realização do Mestrado.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001.

Ao meu orientador Prof. Dr. Ériton Egidio Lisboa Valente pela oportunidade, confiança e ensinamentos.

À empresa Herbonis Animal Health, pelo incentivo à ciência e ao projeto.

À minha namorada Brenda, pelo apoio, carinho e por sempre estar ao meu lado.

Aos meus pais Ademir e Elizandra, por todo apoio e amor recebido.

Ao Sr. Cláudio responsável pela estação experimental por toda ajuda.

Aos amigos e colegas que contribuíram com ajuda e esforços para o experimento.

Aos membros da banca de avaliação Dra. Maximiliane Alavarse Zambom, Dra. Juliana Reolon Pereira e Dra. Daniela Batista Oss. É uma honra tê-los como avaliadores e contribuírem com o trabalho.

Muito obrigado!

**SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE 1,25-DIHDROXICOLECALCIFEROL
GLICOSÍDEO SOBRE O METABOLISMO DE MINERAIS, SEROTONINA E
DOPAMINA EM BOVINOS**

RESUMO

A 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo extrato de planta é o metabólito bioativo da vitamina D e tem importante papel na regulação de minerais no sangue. Entretanto não está bem entendido os efeitos da suplementação oral em doses contínuas sobre neurotransmissores serotonina e dopamina e doses seguras. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo sobre o metabolismo de cálcio, fósforo, magnésio, neurotransmissores e seu efeito tóxico em novilhos. Seis novilhos da raça Holandês, idade entre 18 e 24 meses com peso inicial médio de 472,5 ± 61,5 kg foram utilizados em delineamento quadrado latino 3 x 3 replicado. Cada período teve duração de 28 dias, sendo 5 dias de administração de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo e 23 dias para limpeza metabólica. A 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo foi administrada individualmente em doses equivalentes a 0, 0,2 e 0,4 µg/kg de peso corporal (PC) incorporado em suplemento proteico-mineral farelado. Os novilhos foram mantidos em área de pastagem com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. Amostras de sangue foram coletadas antes da oferta dos tratamentos (-120 h) e 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 e 168 horas após o fornecimento da última dose no 5º dia. Adicionalmente amostras de urina foram coletadas 6 e 12 horas após último fornecimento dos tratamentos. O comportamento dos novilhos foi avaliado no 5º dia por 12 horas. O cálcio e fósforo séricos aumentaram ($P > 0,05$) com a inclusão de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo. Doses de 0,2 e 0,4 µg/kg apresentaram acréscimo ($P < 0,001$) de 8,4% e 12,7% de cálcio respectivamente, comparado ao grupo controle, picos na concentração sérica encontrados entre 24 e 48 h após interrupção do tratamento. O fósforo apresentou aumento ($P < 0,001$) de 21,9% na dose de 0,2 µg/kg (PC) e 32,4% de 0,4 µg/kg (PC). Após interrupção do tratamento na dose de 0,4 µg/kg (PC) níveis séricos de cálcio retornaram aos valores basais após 4 dias e de fósforo após 7 dias. O magnésio sérico apresentou tendência de aumento ($P = 0,051$). Fosfatase alcalina, serotonina, dopamina e hormônio da paratireoide não alteraram. O cálcio na urina teve tendência de aumento ($P = 0,070$). Os novilhos não apresentaram sinais clínicos de intoxicação. Conclui-se que a suplementação oral de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo aumenta os níveis séricos de cálcio e fósforo nas doses de 0,2 e 0,4 µg/kg PC sem causar sinal clínico de intoxicação. Entretanto, doses superiores a 0,2 µg/kg apresentaram efeitos persistentes na elevação de cálcio e fósforo sérico.

Palavras-Chave: cálcio, fósforo, magnésio, *Solanum glaucophyllum*, vitamina D.

ORAL SUPPLEMENTATION OF 1,25-DIHYDROXYCHOLECALCIFEROL GLYCOSIDE ON METABOLISM OF MINERALS, SEROTONIN AND DOPAMINE IN CATTLE

ABSTRACT

The plant extract 1,25(OH)₂D₃ glycoside is the bioactive metabolite of vitamin D and plays an important role in the regulation of blood minerals. However, the effects of continuous oral supplementation on the neurotransmitters serotonin and dopamine and safe doses are not well understood. The study aimed to evaluate the effect of different doses of 1,25(OH)₂D₃ glycoside on the metabolism of calcium, phosphorus, magnesium, neurotransmitters and its toxic effect in steers. Six Holstein steers, aged between 18 and 24 months with an average initial weight of 472.5 ± 61.5 kg were used in a replicated 3 x 3 Latin square design. Each period lasted 28 days, with 5 days of 1,25(OH)₂D₃ glycoside administration and 23 days for metabolic cleansing. 1,25(OH)₂D₃ glycoside was administered individually at doses equivalent to 0, 0.2 and 0.4 µg/kg of body weight (BW) incorporated into a protein-mineral supplement in mash form. Steers were kept in a pasture area with *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. Blood samples were collected before the supply of treatments (-120 h) and 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 and 168 hours after the last dose on the 5th day. Additionally, urine samples were collected 6 and 12 hours after the last treatment supply. Steer behavior was evaluated on the 5th day for 12 hours. Serum calcium and phosphorus increased ($P > 0.05$) with the inclusion of 1,25(OH)₂D₃ glycoside. Doses of 0.2 and 0.4 µg/kg showed an increase ($P < 0.001$) of 8.4% and 12.7% in calcium, respectively, compared to the control group, with peaks in serum concentration found between 24 and 48 h after treatment interruption. Phosphorus increased ($P < 0.001$) by 21.9% at the dose of 0.2 µg/kg (BW) and by 32.4% at 0.4 µg/kg (BW). After treatment interruption at the dose of 0.4 µg/kg (BW), serum calcium levels returned to baseline values after 4 days and phosphorus levels after 7 days. Serum magnesium showed an increasing trend ($P = 0.051$). Alkaline phosphatase, serotonin, dopamine and parathyroid hormone did not change. Urinary calcium showed an increasing trend ($P = 0.070$). The steers did not show clinical signs of intoxication. It was concluded that oral supplementation of 1,25(OH)₂D₃ glycoside increases serum levels of calcium and phosphorus at doses of 0.2 and 0.4 µg/kg BW without causing clinical signs of intoxication. However, doses higher than 0.2 µg/kg showed persistent effects on elevation of serum calcium and phosphorus.

Key Words: calcium, phosphorus, magnesium, *Solanum glaucophyllum*, vitamin D.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1. Cálcio sérico ao longo do tempo em relação à última dosagem em novilhos recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo (0, 0,2 e 0,4 µg/kg PC) continuamente por 5 dias (-120 h é valor basal e 0 h corresponde à última dosagem). As letras a e b indicam diferenças (P < 0,05) das doses 0,4 e 0,2 em comparação com dose 0, respectivamente (n = 6).....41
- Figura 2. Fósforo sérico ao longo do tempo em relação à última dosagem em novilhos recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo (0, 0,2 e 0,4 µg/kg PC) continuamente por 5 dias (-120 h é valor basal e 0 h corresponde à última dosagem). As letras a e b indicam diferenças (P < 0,05) das doses 0,4 e 0,2 em comparação a 0, respectivamente (n = 6).....41
- Figura 3. Magnésio sérico ao longo do tempo em relação à última dosagem em novilhos recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo (0, 0,2 e 0,4 µg/kg PC) continuamente por 5 dias (-120 h é valor basal e 0 h corresponde à última dosagem). As letras a e b indicam diferenças (P < 0,05) das doses 0,4 e 0,2 em comparação a 0, respectivamente (n = 6).....42
- Figura 4. Fosfatase alcalina de novilhos após 5 dias recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo, 12 horas após a última dosagem (n = 6).....42
- Figura 5. Paratormônio sérico de novilhos após 5 dias recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo, 12 horas após a última dosagem (n = 6).....43
- Figura 6. Serotonina sérica (5-HT) de novilhos após 5 dias recebendo 1,25(OH)₂D3 glicosídeo, 12 horas após última dosagem (n = 6).....43
- Figura 7. Dopamina sérica de novilhos após 5 dias recebendo 1,25(OH)₂D3 glicosídeo, 12 horas após a última dosagem (n = 6).....44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual bromatológica e química do suplemento e do pasto.	38
Tabela 2. Concentração diária de minerais no soro e urina de novilhos em função de doses de 1,25(OH) ₂ D3 glicosídeo aplicados continuamente (n = 6).....	40
Tabela 3. Comportamento alimentar de novilhos após 5 dias recebendo 1,25(OH) ₂ D3 glicosídeo (n = 6)	44

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO	16
2.1 Bovinocultura e seus desafios	16
2.2 Metabolismo da vitamina D	17
2.3 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo	19
2.4 Metabolismo do cálcio e do fósforo	20
2.5 Metabolismo do magnésio.....	22
2.6 Neurotransmissores serotonina e dopamina	23
2.7 Hormônio da paratireoide.....	25
REFERÊNCIAS	27
3 SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE 1,25-DIHIDROXICOLECALCIFEROL GLICOSÍDEO SOBRE O METABOLISMO DE MINERAIS, SEROTONINA E DOPAMINA EM BOVINOS	32
3.1 Introdução.....	34
3.2 Material e Métodos	35
3.2.1 Local, animais e delineamento experimental	35
3.2.2 Amostragem	36
3.2.3 Análises laboratoriais	37
3.2.4 Comportamento e peso corporal.....	38
3.2.5 Análise estatística	38
3.3 Resultados.....	39
3.4 Discussão	44
3.5 Conclusão	50
3.6 Referências	51
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS	57

1 INTRODUÇÃO

As vitaminas são importantes catalisadores metabólicos utilizados na dieta de animais de produção. Requeridas em pequenas quantidades são fundamentais para o crescimento e reprodução (MCDOWELL, 2000). Quando em déficit as vitaminas causam distúrbios característicos de risco à vida, suas ações são específicas de maneira que não podem ser substituídas por outras substâncias (ANDRIGUETTO et al., 1981).

A vitamina D é sintetizada na pele por reações químicas quando expostas a luz solar, e as principais fontes naturais são o colecalciferol (D3) em animais e ergocalciferol (D2) predominantemente em plantas (MCDOWELL, 1992). A vitamina D2 é a principal fonte de suplementação para ruminantes, necessita passar por processo de ativação para estar disponível (PEREIRA; SALEK, 2019). Após absorção intestinal ocorrem duas conversões metabólicas buscando ativá-la, a primeira no fígado convertido em 25(OH)D3, a segunda nos rins produz 1,25(OH)₂D3 a qual é forma ativa da vitamina D e tem como principal regulador o hormônio da paratireoide (PTH) (ARNOLD et al., 2015; BARRAL; BARROS; ARAÚJO, 2007).

O PTH estimula o aumento de 1,25(OH)₂D3 nos rins, que no intestino aumenta a produção de calbindina na absorção de cálcio (MCDOWELL, 1992). A concentração de cálcio sérico aumentou com a suplementação oral de 1,25(OH)₂D3 devido ao efeito na absorção intestinal (SWANEK et al., 1999). Embora tenha um efeito secundário a 1,25(OH)₂D3 também contribui como regulador de fósforo intestinal em ruminantes (SCOTT; MCLEAN, 1981). Além dos bovinos a suplementação oral com 1,25(OH)₂D3 glicosídeo demonstra efeitos positivos no aumento de cálcio e fósforo (VENJAKOB et al., 2022) em aves (CHENG et al., 2004; NUNES et al., 2020) e suínos (SCHLEGEL; GUGGISBERG; GUTZWILLER, 2017).

Neurotransmissores também são influenciados pela presença de vitamina D, como a serotonina na remodelação óssea (CHABBI-ACHENGLI et al. 2012) e regula o transporte de cálcio para células epiteliais (LAPORTA et al., 2014). Autores relataram tendência de aumento da serotonina com uso de vitamina D em vacas no pós-parto (VIEIRA-NETO et al., 2017). Já a dopamina atua no sistema nervoso central onde o receptor da vitamina D (VDR) está presente em neurônios dopaminérgicos (CUI et al., 2013; EYLES et al., 2005). A dopamina periférica é relacionada ao estresse (MILLS et al., 2020), metabolismo energético (MIETLICKI-BAASE et al., 2015) e regulação imunológica (BROOME et al., 2020). Suplementação de vitamina D aumenta a expressão de RNAm para migração celular, reconhecimento de patógenos, sinalização de citocinas e mecanismos antimicrobianos (VIEIRA-NETO et al., 2021).

1,25(OH)₂D₃ de origem vegetal é um extrato da planta *Solanum glaucophyllum* e apresenta glicosídeos ligados a vitamina que precisa ser hidrolisado pela enzima glicosidase por bactérias do rúmen e do intestino de ruminantes e estar disponível ao organismo (MELLO, 2003; ZIMMERMAN et al., 2015). O excesso da ingestão da planta pode levar a intoxicações depositando minerais nos tecidos (MCDOWELL, 1992; COMBS; MCCLUNG, 2017).

A intoxicação por vitamina D ocorre quando os níveis elevados na circulação têm capacidade de competir com ligação ao VDR, em casos de comprometimento na enzima renal e inflamações crônicas (COMBS; MCCLUNG, 2017). Níveis cronicamente elevados de cálcio e fósforo resultam em calcinose (MELLO, 2003), atrofia da epiderme (GIMENO et al., 2000), alterações da proliferação celular e apoptose do epitélio intestinal (ZANUZZI et al., 2012). A intoxicação pode ocorrer de forma variável dependente da dosagem e duração da ingestão por se tratar de uma toxicidade cumulativa para bovinos (GIL; DALLORSO; HORST, 2007).

São escassas as informações sobre efeitos da suplementação oral e contínua de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo em bovinos sobre o metabolismo de minerais, neurotransmissores e quais doses seguras. A hipótese é que a inclusão de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo melhora as funções da vitamina D e aumenta os níveis séricos de minerais cálcio, fósforo e magnésio em doses seguras. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão de diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo na dieta e comportamento de novilhos sobre o metabolismo de minerais, neurotransmissores e seu potencial efeito tóxico.

2 REVISÃO

2.1 Bovinocultura e seus desafios

O Brasil é destaque na produção de alimentos tornando-se o principal exportador de carne bovina do mundo, o segundo maior produtor de carne bovina e o sexto maior produtor de leite, demonstra seu importante papel na eficiência e segurança alimentar (FAO, 2022; ABIEC, 2023). O crescimento do rebanho bovino aumentou sua taxa de ocupação para 1,32 cabeças por hectare e houve redução da área em 5,7%, cerca de 154 milhões de hectares (ABIEC, 2023). A abertura do mercado externo tem crescido para o Brasil e torna maior a exigência dos pecuaristas em buscar melhorias na gestão e produção para produzirem carcaças cada vez mais padronizadas. O abate em 2022 foi de 42,31 milhões de cabeças, com sua maioria criados em sistema extensivo a pasto, cerca de 18% terminados em confinamento (ABIEC, 2023).

A suplementação mineral é importante para aumentar a fertilidade, melhorar a eficiência alimentar e combater doenças. Fatores que afetam as necessidades de suplementação mineral, como a idade, peso, raça, categoria e nível de produção de leite ou carne, o clima e estação do ano. Correlações que existem entre as frações orgânicas e minerais presentes nos ingredientes como o oxalato de cálcio ou o fósforo ligado ao fitato dificultam elevar e manter níveis de mineralização adequado dos animais (MCDOWELL, 1996; PIRES, 2010).

Bovinos criados a pasto adquirem os minerais através da ingestão de forragens que extraem os elementos do solo. Os níveis de minerais presentes nas forrageiras dependem da espécie da gramínea, concentração do mineral, tipo de solo e das formas químicas com que os elementos estão presentes nas pastagens (PIRES, 2010). Bovinos exclusivamente a pasto possuem déficit tanto em macro quanto em micro minerais (BERCHIELLI; PIRES, OLIVEIRA, 2011; PIRES, 2010).

A suplementação mineral pode ser realizada de forma indireta ou direta, a primeira se dá através da utilização de fertilizantes, adubação e correção do pH do solo o que estimulam o desenvolvimento de espécies forrageiras e elevam a produção de matéria seca, além de aumentarem a quantidade de minerais nas forrageiras. Já a forma direta torna-se mais eficiente, fornecendo os minerais através de suplementos minerais *ad libitum* ou associado com concentrados proteico, proteico-energético ou rações totais, assegurando maior exatidão na quantidade a ser fornecida diariamente (PIRES, 2010). Importante salientar que além do

fornecimento de minerais, é fundamental níveis adequados de proteína e energia para o desenvolvimento ideal dos bovinos (BERCHIELLI; PIRES, OLIVEIRA, 2011).

As vitaminas atuam em processos metabólicos importantes para o crescimento dos bovinos, requeridas em pequenas quantidades, tem funções específicas e vitais ao organismo como cofatores de enzimas, metabolismo de minerais e no sistema imunológico (MCDOWELL, 1996; WEISS, 1998). A vitamina D é essencial por suas ações no intestino, rins, ossos e glândulas da paratireoide, atua na homeostase do cálcio e desenvolvimento do esqueleto, essencial para absorção de cálcio da dieta (ANDRIGUETTO et al., 1981).

Receptores desse hormônio podem ser encontrados em diversos tecidos (HOLICK, 2002). Porém, a principal função da vitamina D é aumentar os níveis de cálcio e fósforo plasmáticos por supersaturação, estimulando a absorção intestinal, a mobilização dos ossos e a reabsorção renal (ANDRIGUETTO et al., 1981).

As vitaminas devem estar incluídas na dieta dos bovinos para suprirem a necessidade diária onde volumosos não atendem à demanda basal deste nutriente, especialmente volumosos conservados, como silagem, feno e pré-secados que perdem qualidade com o tempo. Quando a absorção de vitaminas é inadequada, são observadas falhas no crescimento, redução da produção de leite e fertilidade, além de aumento da prevalência de doenças infecciosas (MCDOWELL, 1996; WEISS, 1998).

Segundo o NRC (2000), o requerimento é a quantidade de nutriente necessária para o animal estar saudável, permitindo ganho de peso, produção e reprodução. Recomendação é a quantidade de um nutriente que irá atingir os requerimentos aos animais e incluir uma margem de segurança para as variações na ingestão e produção. A recomendação deve considerar custos e o seu potencial de toxicidade.

O requerimento de vitamina D para bovinos de corte é de 275 UI/kg, sendo a UI estabelecida como 0,025 µg de colecalciferol ou seu equivalente (NRC, 2000). Já o requerimento para bovinos em crescimento é de 1163 UI/kg, vacas em lactação 1021 UI/kg, e vacas secas a demanda de vitamina D é maior 1710 UI/kg (NRC, 2021).

2.2 Metabolismo da vitamina D

Vitaminas são grupos de compostos orgânicos imprescindíveis para manutenção do organismo animal e são necessárias de maneira exógena. A falta de vitaminas causa distúrbios metabólicos. São consideradas essenciais na dieta por serem responsáveis por inúmeros processos celulares e são obtidas pela ingestão de alimentos (ANDRIGUETTO et al., 1981).

Sua classificação é dividida pela solubilidade, as vitaminas são divididas em hidrossolúveis (vitaminas do complexo B e C), e lipossolúveis (A, D, E e K) (MCDOWELL, 1992).

A vitamina D é encontrada na forma de ergocalciferol (D2) que está presente em plantas, e colecalciferol (D3) presente nos animais (MCDOWELL, 1992). Essencial para o organismo por suas ações no intestino, rins, ossos e glândula paratireoide, a vitamina D é fundamental para homeostase do cálcio, desenvolvimento do esqueleto, absorção na dieta de cálcio e fósforo, mobilização de cálcio dos ossos e imunidade (WEISS, 1998). A vitamina D é encontrada em diversos tecidos, e sua principal função é aumentar os níveis de cálcio e fósforo plasmáticos por supersaturação, absorção intestinal e renal, além de mobilização óssea (ANDRIGUETTO et al., 1981). Assim como, efeitos imunomoduladores observados sobre a população de linfócitos, macrófagos e citotoxinas na resposta imunológica (WEISS, 1998).

Tanto a vitamina D2 quanto D3 originam-se por irradiação das provitaminas D que são esteroides. Isso ocorre a partir da exposição aos raios ultravioletas B, o 7-deidrocolesterol que está presente na derme e epiderme é transformado em colecalciferol e tem função biológica e nutricional (CÂMARA et al., 2021).

Após absorção pela mucosa intestinal o colecalciferol entra na corrente sanguínea ligados à uma proteína de transporte, denominada proteína vitamina D (DBP-D) e são transportados até o fígado (BAYNES; DOMINICZAK, 2015). A primeira hidroxilação ocorre na posição do carbono 25, catalisada pela 25-hidroxilase após ser captada pelo fígado. O produto da reação é a principal forma circulante no plasma em condições normais, tornando-se uma importante forma de armazenamento da vitamina, 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD₃), ou calcidiol (HORST; LITLEDIKE, 1982). A 25(OH)D₃ associada DPB é transportada do fígado para as células renais no túbulo contornado proximal (PEREIRA; SALEK, 2019). Nas mitocôndrias destas células acontece a segunda hidrólise e posteriormente hidroxilada liga-se a sua proteína transportadora, transcalciferina, no carbono 1 da enzima mitocondrial 1 α -hidroxilase, formando 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)₂D₃) também chamado de calcitriol, potente metabólito na forma ativa da vitamina D. Sua produção ocorre quase exclusivamente nos rins e a proteína mitocondrial CYP27B1 que converte a 25(OH)₂D₃ em 1,25(OH)₂D₃, que apresenta meia vida no organismo animal de 6 horas a 24 horas (GONZÁLEZ; SILVA, 2019; SAPONARO; SABA; ZUCCHI, 2020).

A 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo atua com feedback sobre o PTH para promover a homeostase do cálcio e fósforo séricos, ocorre posteriormente à redução do paratormônio e à elevação da produção de fosfato (HORST, 1986). O PTH é o hormônio responsável pela regulação dos níveis séricos de cálcio e fósforo, e que provoca a liberação de fosfatos dos ossos

e absorção nos túbulos renais, sua ação no metabolismo do cálcio só ocorre na presença da vitamina D (HORST, 1986; WILKENS; MUSCHER-BANSE et al., 2020).

A ação biológica da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo é desencadeada juntamente com receptores celulares específicos. O receptor da vitamina D (VDR) atua nas células ligando-se ao receptor nuclear VDR, após ligação ocorre interação com o elemento de resposta da vitamina D (VDRE) no DNA levando a síntese de RNAm para enzimas e proteínas, entre elas a fosfatase alcalina, osteoblastos, osteocalcina e calbindina (BARRAL; BARROS; ARAÚJO, 2007).

Animais em crescimento que apresentam déficit de vitamina D podem apresentar raquitismo, onde os mais afetados são animais em sistemas de produção que precisam tem um desempenho acelerado, no entanto os sinais clínicos são semelhantes apresentando mineralização óssea inadequada com deformações estruturais (HORST; LITTLEDIKE, 1982; COMBS; MCCLUNG, 2017). Assim como, animais mais velhos que apresentam desmineralização dos ossos que caracteriza em osteoporose (COMBS; MCCLUNG, 2017).

Situações de comprometimento da 1-hidroxilação renal, limitando a função fisiológica da vitamina D apresenta principalmente falhas na mineralização óssea como a chamada discondroplasia tibial. Tanto a incidência como a gravidade da doença pode ser reduzidas pelo tratamento com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (CORBELLINI et al., 1992; COMBS; MCCLUNG, 2017).

Vacas leiteiras podem tornar-se hipocalcemias no início da lactação quando são alimentadas com dietas ricas em cálcio no pré-parto. A hipocalcemia puerperal, ocorre quando os níveis séricos de cálcio diminuem para menos de 5,0 mg/dL no pós-parto, resulta da incapacidade da vaca pós-parto suportar grandes perdas de cálcio na lactação, absorvendo cálcio da dieta e mobilizando matriz óssea em taxas suficientes para manter o cálcio plasmático em níveis normais (CORBELLINI et al., 1992). Pode ser prevenida com dietas aniônicas antes do parto e o tratamento com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ também é eficaz (HORST; LITTLEDIKE, 1982; NELSON et al., 2016; COMBS; MCCLUNG, 2017).

2.3 1,25-dihidroxicolecalciferol glicosídeo

Plantas que possuem em sua composição a forma bioativa da vitamina D apresentam um glicosídeo associado a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ como exemplo da *Solanum glaucophyllum*, nome popular espichadeira. E estas plantas começaram a ser observadas e avaliadas quando ruminantes consumiam junto ao pasto e apresentavam sinais de intoxicação calcinogênica quando ingeridas em excesso (ZIMMERMAN et al., 2015).

As folhas da *Solanum glaucophyllum* são conhecidas por sua toxicidade calcinogênica em ruminantes e foi observado que continham 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo e a liberação do hormônio livre clivados por bactérias ruminais provocaram resposta hipercalcêmica (ZIMMERMAN et al., 2015). Os efeitos de toxicidade desta vitamina estão diretamente correlacionados a picos de vitamina no núcleo das células, onde 1,25(OH)₂D₃ liga-se ao receptor de vitamina D e desencadeia expressão genética exacerbada (MATHIS et al., 2014).

As plantas da família *Solanaceae* possuem efeito calcinogênico por apresentarem o metabólito biologicamente ativo da vitamina D₃. Esses glicosídeos são clivados e hidrolisados pelas bactérias ruminais para que ocorra a liberação de 1,25(OH)₂D₃, por consequência pode ocorrer hipercalcemia, hiperfostatemia e deposição em tecidos moles (NAPOLI et al., 1977; MELLO, 2003). A toxicidade calcinogênica das folhas especialmente para ruminantes é atribuída ao hormônio livre, estas modificações exigem a presença de populações bacterianas específicas com as glicosidases necessárias para liberar 1,25(OH)₂D₃ (ZIMMERMAN et al., 2015). A calcinose foi caracterizada por emagrecimento progressivo, dificuldades locomotoras, calcificação tecidual sistêmica e pulmonar (MELLO, 2003).

A administração oral do metabólito biologicamente ativo pode ser uma estratégia eficiente para prevenir a hipocalcemia em bovinos, porém podem induzir um estado semelhante ao de hipervitaminose D, que altera a proliferação celular e leva a apoptose de células intestinais (ZANUZZI et al., 2012). A hipocalcemia reduz a função dos neutrófilos em menor fagocitose e explosão oxidativa (MARTINEZ et al., 2012). O cálcio atua na ativação de neutrófilos e aumentos transitórios mediados por receptores citosólico que são necessários para a ativação de fagocitose (VIEIRA-NETO et al., 2017; POINDEXTER et al., 2023).

Quando a 1,25(OH)₂D₃ sintética é comparada com a extraída da *Solanum glaucophyllum*, a de origem vegetal apresentou resultados com uma janela terapêutica de maior amplitude e melhor tolerância farmacológica (BACHMAN et al., 2013). A absorção lenta de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo de origem vegetal em períodos mais longos, evita que níveis de intoxicações sejam alcançados e pode ser utilizada com maior segurança, em virtude da sua liberação retardada que resulta em menor pico plasmático e meia vida de maior duração, representando menores riscos de efeitos adversos (MATHIS et al., 2014).

2.4 Metabolismo do cálcio e do fósforo

O cálcio é um elemento mineral fundamental para o animal e representa 1% a 2% do peso corporal onde aproximadamente 99% está presente nos ossos, dentes e fluídos corporais

(WILKENS et al., 2012). As funções do cálcio são a formação do esqueleto, coagulação do sangue, ritmo cardíaco e excitabilidade neuromuscular, permeabilização da membrana celular, secreção de hormônios, equilíbrio iônico de sódio e potássio, secreção de leite, ganho de peso e eficiência alimentar (MARTIN, 1993). A concentração nos tecidos ocorre de forma variável, sendo encontrado na célula principalmente no retículo sarcoplasmático e mitocôndrias (GRÜDTNER; WEINGRILL; FERNANDES, 1997).

O mecanismo de absorção do cálcio ocorre em etapas distintas, intraluminal, intracelular e plasmática que são dependentes de substâncias, como exemplo da vitamina D, ATPase, fosfatase alcalina, proteína de ligação de cálcio no enterócito, calbindina, proteína de ligação de cálcio no plasma (MCDOWELL, 1992). O cálcio é absorvido no intestino delgado por mecanismos transcelulares que é um processo ativo e saturável no duodeno e jejuno. Constitui o meio mais importante de absorção de cálcio em condições de baixa ingestão do mineral. O mecanismo paracelular é um processo não saturável que ocorre em todo o intestino e é o meio mais importante de absorção de cálcio. O metabólito ativo $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo estimula a absorção entérica em ambos os mecanismos (COMBS; MCCLUNG, 2017).

A concentração normal de cálcio no plasma de ruminantes é de 8,8 a 10,4 mg/dL, aproximadamente 40% do cálcio do sangue está ligado a proteínas plasmáticas, em que 80% ligam-se a albumina e 20% a globulina. Os demais 60% incluem cálcio ionizado e o cálcio complexado ao citrato, fosfato e sulfato (MCDOWELL, 1992; GRÜDTNER; WEINGRILL; FERNANDES, 1997). Trabalhos realizados por Swanek et al., (1999) demonstraram que o nível de cálcio no plasma bovino é controlado pela homeostase no qual o valor limita-se de 8 a 12 mg/dL. Quando as concentrações de cálcio na circulação estão baixas, a vitamina D₃ aumenta sua absorção intestinal e mobiliza o de cálcio dos ossos, a ação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ que atua na reabsorção de cálcio renal, estimula a entrada de cálcio nas células (GRÜDTNER; WEINGRILL; FERNANDES, 1997).

O fósforo é o segundo elemento mineral mais abundante no organismo animal e aproximadamente 80% de fósforo estão presentes nos ossos e dentes e 20% redistribuídos nos tecidos moles, células sanguíneas, músculos e nervos. As funções do fósforo são a formação do esqueleto, a manutenção da pressão osmótica e o equilíbrio acidobásico, a transmissão genética e o controle do metabolismo celular, o ganho de peso e a eficiência alimentar (MARTIN, 1993).

O metabolismo e utilização de cálcio e fósforo são dependentes de fatores como o fornecimento adequado na dieta, níveis de vitamina D séricos, atuação do hormônio da paratireoide e calcitonina, além de fatores individuais como idade do animal (MELLO, 2003). No fornecimento da dieta o excesso ou deficiência de um destes elementos pode interferir na

sua utilização. A relação de cálcio e fósforo séricos em níveis excessivos podem comprometer a utilização de outros minerais como o magnésio (GONZÁLEZ, 2000).

Em dietas onde há déficit de vitamina D, a absorção e utilização de cálcio são reduzidas e então o cálcio passa a ser absorvido por outro mecanismo chamado transporte ativo, em que a vitamina D combina-se a proteína ligada ao cálcio e atua na mobilização de cálcio dos ossos, assim como a do fósforo levando a uma inibição da eliminação na urina (MARTIN, 1993; GRÜDTNER; WEINGRILL; FERNANDES, 1997).

A vitamina D atua também na absorção de fósforo no intestino, está absorção tornando-se um processo secundário quando ocorre maior absorção de cálcio. Trabalhos demonstraram que a absorção de cálcio e fósforo são processos que acontecem de maneira independentes controlados pela vitamina D (MCDOWELL, 1992). Indivíduos saudáveis absorvem fosfato da dieta de maneira eficiente (60-65%) com a maior parte da absorção ocorre no duodeno e jejuno. O fosfato é absorvido por dois mecanismos: via paracelular não saturável e um processo saturável dependente de energia e de sódio na superfície do intestino (COMBS; MCCLUNG, 2017).

A disponibilidade alimentar de fósforo no organismo diminui com a idade. Os mais velhos têm níveis de fósforo reduzidos, o déficit em longo prazo pode causar o crescimento retardado, osteoporose, problemas reprodutivos de infertilidade e redução de produção. O nível sérico de fósforo abaixo de 3,0 mg/dL leva a perda de apetite do animal e, pastos com reduzida quantidade levam a hipofosfatemia (GONZÁLEZ, 2000).

2.5 Metabolismo do magnésio

O magnésio é o quarto cátion mais abundante no organismo e o segundo mais abundante no compartimento intracelular (WEISINGER; BELLORIN-FONT, 1998). Ele desempenha funções importantes no organismo incluindo sinalização intracelular, cofator para síntese de proteínas e DNA, fosforilação oxidativa, tônus cardiovascular, excitabilidade neuromuscular e formação óssea (BLAINE; CHONCHOL; LEVI, 2015). A presença de manifestações clínicas e mortes decorrentes da redução deste mineral são um dos principais problemas da indústria do leite e carne em alguns países (CORBELLINI et al., 1992).

Nas forragens a disponibilidade de magnésio é baixa (11 a 28%) e levemente superior nos concentrados e grãos (30-40%) (CORBELLINI et al., 1992). O magnésio encontrado no esqueleto pode ser aproveitado pelo animal em momentos de desafio ou falta no organismo. No entanto a mobilização do magnésio dos ossos é lenta e depende do magnésio da alimentação

para restabelecer as concentrações necessárias (GONZÁLEZ; CERONI, 2006; CORBELLINI et al., 1992). Nos bovinos é absorvido através do transporte ativo no rúmen a absorção depende da concentração deste mineral em solução no fluido ruminal e funcionamento dos mecanismos de transporte. O nível normal de magnésio no sangue é de 1,8 a 3,0 mg/dL, quando níveis plasmáticos são menores que 1,1 a hipomagneemia é considerada grave (GONZÁLEZ; CERONI, 2006; REINHARDT et al., 1988; CORBELLINI et al., 1992).

A absorção do magnésio é limitada e grande parte do mineral ingerido é eliminado nas fezes, existe uma relação direta entre a quantidade absorvida e excretada pelo rim de forma que os níveis urinários podem ser usados para indicar se a ingestão é adequada, sendo um indicador de hipomagneemia (LITTLEDIKE; GOFF, 1987). A concentração sérica de magnésio é regulada por um equilíbrio e interação entre o transporte intestinal e renal (BLAINE; CHONCHOL; LEVI, 2015).

Hormônios como a vitamina D, paratireoide, calcitonina, glucagon e insulina, aldosteona, hormônio antidiurético, prostaglandina E2 e catecolaminas estimulam a reabsorção de magnésio no rim. A diminuição de fosfatos reduz ainda mais a reabsorção de magnésio. No entanto em condições normais quase todo o magnésio é filtrado e reabsorvido nos túbulos renais por vários processos de transporte (CORBELLINI et al., 1992).

Em condições normais 96% do magnésio filtrado é reabsorvido nos túbulos renais por vários processos de transporte. A reserva óssea não está diretamente envolvida com o controle na corrente sanguínea, a mobilização é lenta e não ocorre por controle endócrino, sua absorção intestinal é equilibrada em relação à excreção renal (REINHARDT; HORST; GOFF, 1988). Em condições de déficit temporário de magnésio o organismo depende da disponibilidade do osso para manter a concentração sérica (FERRÉ; HOENDEROP; BINDELS, 2012).

2.6 Neurotransmissores serotonina e dopamina

A serotonina, 5-hidroxitriptamina (5-HT) atua como um neurotransmissor através de receptores de membrana no sistema nervoso central (SNC) e no sistema nervoso periférico (SNP). Ela também atua em tecidos não neuronais, circulação sanguínea, sistema gastrointestinal, sistema endócrino, sensoriais e cardiovasculares (HANNON; HOYER, 2008). A síntese de 5-HT é mediada pela enzima triptofano hidroxilase-1 (TPH1), a qual converte L-triptofano em 5-hidroxi-triptofano (5-HTP). Após esta etapa a l-aminoácido descarboxilase converte 5-HTP em 5-HT que exerce suas funções sinalizando diferentes subtipos de receptores (5-HTR) no organismo (HANNON; HOYER, 2008).

A 5-HT apresenta uma grande variedade de ações. Em virtude de múltiplos subtipos de 5-HTR presentes nos neurônios, musculatura lisa e células neuroendócrina, entre eles são sete tipos de receptores já identificados denominados 5-HT₁ a 5-HT₇. Receptores 5-HT₅, 5-HT₆ e 5-HT₇ estão presentes no cérebro, e 5-HT₁, 5-HT₂, 5-HT₃, 5-HT₄, 5-HT₇, são os receptores conhecidos por atuar na função motora do intestino (SIKANDER; RANA; PRASAD, 2009).

A serotonina tem importante papel no intestino pois é responsável pela redução dos potenciais pós-sinápticos excitatórios, contração ou relaxamento intestinal. Ela estimula os neurônios colinérgicos que atuam na contração do músculo liso intestinal, e através da ativação de neurônios inibitórios nitrérgicos atua estimulando o relaxamento do músculo liso. Além de ser uma molécula sinalizadora que participa da transdução sensorial da mucosa intestinal, as células enterocromafins liberam 5-HT onde inicia o reflexo peristáltico (SIKANDER; RANA; PRASAD, 2009).

A serotonina também atua na regulação dos níveis de cálcio durante a lactação através da indução mamária da proteína relacionada ao hormônio da paratireóide (PTHrP) e atua diretamente na remodelação óssea para apoiar a homeostase do cálcio. A 5-HT não neural participa ativamente no transporte de cálcio nas células epiteliais mamárias e é necessária para a expressão dos principais transportadores de cálcio na circulação, o que mantém a estrutura alveolar e apoia a proliferação das células mamárias durante a lactação (LAPORTA et al., 2014). A serotonina pode aumentar a diferenciação dos osteoclastos através de vias autócrina e parácrina, em virtude do seu papel na remodelação óssea (CHABBI-ACHENGLI et al., 2012).

A dopamina é um neurotransmissor do sistema nervoso central e tecidos periféricos, envolvido em importantes funções do organismo, como cognitivo, movimento, comportamento e recompensa (FELDMAN; LEE; CASTLEBERRY, 1987). Ela atua como mediador chave na resposta imunológica, produzido e liberado pelas próprias células do sistema imunológico (PINOLI et al., 2017). Enquanto a suplementação de vitamina D aumenta a expressão de mRNA de genes envolvidos na função das células imunológicas, incluindo genes relacionados a patógenos (VIEIRA-NETO et al., 2021).

A dopamina periférica pode ser mais facilmente quantificada na circulação sanguínea e relacionada a transtornos depressivos e alimentação excessiva. Na periferia está ligada a regulação homeostática da pressão arterial, respiração, motilidade intestinal, produção de insulina, também correlacionada ao eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) e resposta ao estresse, associada ao sistema nervoso simpático com maior estresse ligado a níveis elevados de dopamina na circulação (RUBÍ; MAECHLER, 2010).

Estudos sugerem que a dopamina atua como sensor calórico central, que interfere na ingestão de acordo com a densidade calórica de uma refeição (ARAÚJO et al., 2012). A dopamina é um mediador crítico da capacidade demonstrada pelos animais ao ingerir alimentos calóricos e desenvolverem preferências alimentares. A estimulação direta do trato gastrointestinal com nutrientes é suficiente para estimular a liberação de dopamina no cérebro (ARAÚJO et al., 2012). Além disso, a dopamina desempenha importante papel no metabolismo energético, e ingestão alimentar (MIETLICKI-BAASE et al., 2015).

A dopamina é sintetizada a partir de um precursor l-dihidroxipenilalanina (l-DOPA) que pode ser convertido em norepinefrina e epinefrina (PINOLI et al., 2017). Ela exerce suas funções com interação a receptores dopaminérgicos, que são classificados em dois grupos, receptores semelhantes ao D1 e receptores semelhantes ao D2 (ANDERSEN et al., 1990). Os receptores D1 estão localizados em vasos sanguíneos e túbulos renais, quando estimulados podem levar a hipotensão e aumento no fluxo sanguíneo para o cérebro, rins, vasos mesentéricos, coronária, diurese e natriurese (LECLAIRE; BERNDT; KNOX, 1998). Enquanto os receptores de dopamina D1 podem aumentar os níveis de cálcio intracelular, enquanto tipo D2 podem ter efeitos opostos (MISSALE et al., 1998).

A definição dos grupos de receptores está baseada na ligação com os mecanismos de transdução, pertencentes ao grupo D1 que estimulam a enzima adenilato ciclase e aumentam o nível intracelular de AMP cíclico, enquanto os do grupo D2 inibem essa enzima e diminuem o AMP cíclico intracelular (BEAULIEU; GAINETDINOV, 2011).

2.7 Hormônio da paratireoide

A paratireoide secreta o hormônio da paratireoide (PTH) que possui efeito sobre a elevação da calcemia. A liberação de PTH leva à desmineralização óssea elevando os níveis de fosfato sérico (MCDOWELL, 1992). O paratormônio age também sobre os rins reduzindo a eliminação de fósforo e estimula a produção de vitamina D ativa pela ativação da 1- α -hidroxilase renal para produzir 1,25(OH)₂D₃ (CORBELLINI et al., 1992). A secreção de paratormônio é sensível às concentrações de cálcio ou modificações na relação Ca:P quando estas estão diminuídas (MCDOWELL, 1992).

Fatores fisiológicos, farmacológicos e patológicos influenciam a absorção renal de cálcio. O regulador mais importante é o PTH que é um polipeptídeo secretado em resposta a uma redução na concentração plasmática de cálcio, portanto seu principal papel fisiológico é regular a homeostase de cálcio. O PTH atua aumentando a concentração plasmática de três

maneiras: estimulando a reabsorção óssea, aumentando a absorção intestinal de cálcio e fosfatos promovendo a formação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ no rim, e por último aumentando a absorção renal ativa do cálcio. Esses efeitos são revertidos por alterações leves na concentração sérica de cálcio que diminuem a secreção de PTH (BLAINE; CHONCHOL; LEVI, 2015).

A secreção do hormônio da paratireoide é regulada em nível transcricional e pós-transcricional, dependendo da concentração de cálcio extracelular onde a transcrição do gene PTH é aumentada pela hipocalcemia, glicocorticoides e estrógeno. Já a hipercalcemia também pode aumentar a degradação intracelular do PTH, a liberação de PTH é aumentada pela hipocalcemia, agonistas adrenérgicos, dopamina e prostaglandinas E_2 (GOODMAN; QUARLES, 2008). Estas alterações no cálcio sérico são detectadas pelo receptor sensor de cálcio (CaSR) que está localizado na membrana celular das células da paratireoide, este receptor permite que variações na concentração plasmática sejam detectadas pela glândula e ocorra a secreção desejada de PTH (GOODMAN; QUARLES, 2008).

Na hipocalcemia o PTH aumenta a atividade da enzima $1-\alpha$ -hidroxilase nas células tubulares proximais do néfron que aumenta a síntese de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Além disso, o PTH e a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estimulam a reabsorção de cálcio no túbulo contorcido distal. A vitamina D ativa aumenta a absorção do cálcio dietético pelo trato gastrointestinal onde todos esses mecanismos auxiliam no retorno do cálcio sérico (BLAINE; CHONCHOL; LEVI, 2015). Entretanto, tem sido relatado que em 20 a 30% das vacas que sofrem por hipocalcemia ocorre um atraso da elevação do PTH e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Essas vacas não têm resposta positiva ao tratamento e quando caem, não levantam, ou tornam a cair horas após o parto (REINHARDT; HORST; GOFF, 1988). Estudos indicam que a resposta dos rins e do tecido ósseo ao PTH está diminuída nos animais que tem hipocalcemia e que a resposta tissular se modifica em função da composição da dieta, em razão da quantidade de cátions fixos, sódio e potássio, que produzem uma leve alcalose metabólica (GOFF; HORST, 1997).

A reabsorção óssea a qual também é dependente da ação do PTH é reduzida nos animais com dietas catiônicas. E entende-se que um estado de alcalose metabólica por ingestão de sódio ou potássio, diminui o número de receptores celulares de membrana para o PTH que dificulta seu funcionamento. Segundo Corbellini et al. (1992) a adição de ânions na dieta de pré-parto restituiu a capacidade dos tecidos renais a responder ao paratormônio e previne hipocalcemia grave.

REFERÊNCIAS

- ANDERSEN, P.H.; GINGRICH, J.A.; BATES, M.D. et al. Dopamine receptor subtypes: beyond the D1/D2 classification. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 11, n. 6, p. 231–236, 1990.
- ANDRIGUETTO, J.M.; PERLY, L.; FLEMMING, J.S.; SOUZA, G.A.; BONA FILHO, A. **Nutrição animal**: as bases e os fundamentos da nutrição animal: os alimentos. 1.ed. São Paulo: Nobel, 1981. 395p.
- ARAUJO, I.E.; FERREIRA, J.G.; TELLEZ, L.A. et al. The gut–brain dopamine axis: A regulatory system for caloric intake. **Physiology & Behavior**, v. 106, n. 3, p. 394–399, 2012.
- ARNOLD, D.L.; ENQUOBAHRIE, D.A.; QIU, C. et al. Early Pregnancy Maternal Vitamin D: Concentrations and Risk of Gestational Diabetes Mellitus. **Paediatric and Perinatal Epidemiology**, v. 29, n. 3, p. 200–210, 2015.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DAS INDÚSTRIAS EXPORTADORAS DE CARNE - ABIEC. **Perfil da pecuária do Brasil**. 2023. Disponível em: <<https://www.abiec.com.br/wp-content/uploads/Final-Beef-Report-2023-Cap04.pdf>> Acesso em: 14/10/2023.
- BACHMANN, H.; OFFORD-CAVIN, E.; PHOTHIRATH, P. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3-glycoside of herbal origin exhibits delayed release pharmacokinetics when compared to its synthetic counterpart. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 136, n.1, p. 333–336, 2013.
- BARRAL, D.; BARROS, A.C.; ARAÚJO, R.P.C. Vitamina D: Uma Abordagem Molecular. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 7, n. 3, p. 309–315, 2007.
- BAYNES, J.W; DOMINICZAK, M.H. **Bioquímica Médica**. 4.ed. Amsterdã: Elsevier, 2015. 664p.
- BEAULIEU, J.M.; GAINETDINOV, R.R. The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors. **Pharmacological Reviews**, v. 63, n. 1, p. 182–217, 2011.
- BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. **Nutrição de Ruminantes**. 2.ed. Jaboticabal: Funep, 2011. 616p.
- BLAINE, J.; CHONCHOL, M.; LEVI, M. Renal control of calcium, phosphate, and magnesium homeostasis. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 10, n. 7, p.1257-1272, 2015.
- BROOME, S.T.; LOUANGAPHAY, K.; KEAY, K.A. et al. Dopamine: an immune transmitter. **Neural Regeneration Research**, v. 15, n. 12, p. 2173-2185, 2020.
- CÂMARA, J.L.; VILAS BOAS, R.R.; NASCIMENTO NETO, L.F.C. et al. Vitamina D: uma revisão narrativa. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 5904–5920, 2021.
- CHABBI-ACHENGLI, Y.; COUDERT, A.E.; CALLEBERT, J. et al. Decreased osteoclastogenesis in serotonin-deficient mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 7, p. 2567-2572, 2012.

- CHENG, Y.H. ; GOFF, J.P. ; SELL, J.L. et al. Utilizing *Solanum glaucophyllum* Alone or with Phytase to Improve Phosphorus Utilization in Broilers. **Poultry Science**, v. 83, n. 3, p. 406–413, mar. 2004.
- COMBS, G.F.; MCCLUNG, J.P. **The Vitamins**. 5.ed. Amsterdã: Elsevier, 2017. 612p.
- CORBELLINI, C.N.; MANGONI, A.; PATALOGOITY, J.F. et al. **Tetania hipomagnesémica em bovinos**. Buenos Aires : INTA Pergamino, 1992. p. 1-8.
- CUI, X.; PELEKANOS, M. ; LIU, P. Y. et al. The vitamin D receptor in dopamine neurons; its presence in human substantia nigra and its ontogenesis in rat midbrain. **Neuroscience**, v. 236, p. 77–87, 2013.
- EYLES, D. W. et al. Distribution of the Vitamin D receptor and 1α -hydroxylase in human brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 29, n. 1, p. 21–30, 2005.
- Food and Agriculture Organization of the United States - FAO. **Dairy market review: emerging trends and outlook**. Roma: FAO, 2022. Disponível em: <<https://www.fao.org/3/cc3418en/cc3418en.pdf> >. Acesso em: 01/07/2024.
- FELDMAN, J. M.; LEE, E. M.; CASTLEBERRY, C. A. Catecholamine and serotonin content of foods: effect on urinary excretion of homovanillic and 5-hydroxyindoleacetic acid. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 87, n. 8, p. 1031–5, 1987.
- FERRÈ, S.; HOENDEROP, J.G.; BINDELS, R.J. Sensing mechanisms involved in Ca^{2+} and Mg^{2+} homeostasis. **Kidney International**, v. 82, n. 11, p. 1157–1166, 2012.
- GIL, S.; DALLORSO, M.; HORST, R. Screening of Vitamin D activity (VDA) of *Solanum glaucophyllum* leaves measured by radioimmunoassay (RIA). **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 103, n. 5, p. 483–486, 2007.
- GIMENO, E.; COSTA, E.F.; GOMAR, M.S. J. et al. Effects of Plant-Induced Hypervitaminosis D on Cutaneous Structure, Cell Differentiation and Cell Proliferation in Cattle. **Journal of Veterinary Medicine**, v. 47, n. 4, p. 201–211, 2000.
- GOFF, J.P.; HORST, R.L. Effects of the Addition of Potassium or Sodium, but Not Calcium, to Prepartum Rations on Milk Fever in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v. 80, n. 1, p. 176–186, 1997.
- GOFF, J.P. Ruminant hypomagnesemic tetanies. In: HOWARD, J.L.; SMITH, R.A. (Ed.). **Current veterinary therapy: food animal practice**. 4.ed. Philadelphia: W.B. Saunders. 1998.
- GOODMAN, W.G.; QUARLES, L.D. Development and progression of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease: lessons from molecular genetics. **Kidney International**, v. 74, n. 3, p. 276–288, 2008.
- GONZALEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Introdução à Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2006. 358p.

- GONZÁLEZ, F.H.D. Indicadores sanguíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F.H.D.; BARCELLOS, J.O.; OSPINA, H.; RIBEIRO, L.A.O. (Ed.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. 1.ed. Porto Alegre: UFRGS, 2000. p.31-51.
- GRUDTNER, V.S.; WEINGRILL, P.; FERNANDES, A.L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 37, n. 3, p. 143-151, 1997.
- HANNON, J.; HOYER, D. Molecular biology of 5-HT receptors. **Behavioural Brain Research**, v. 195, n. 1, p. 198–213, 2008.
- HORST, R.L.; LITTLEDIKE, E.T. Comparison of plasma concentrations of vitamin D and its metabolites in young and aged domestic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 73, n. 3, p. 485–489, 1982.
- HORST, R.L. Regulation of Calcium and Phosphorus Homeostasis in the Dairy Cow. **Journal of Dairy Science**, v. 69, n. 2, p. 604–616, 1986.
- LAPORTA, J.; KEIL, K.P.; WEAVER, S.R. et al. Serotonin Regulates Calcium Homeostasis in Lactation by Epigenetic Activation of Hedgehog Signaling. **Molecular Endocrinology**, v. 28, n. 11, p. 1866 -1874, 2014.
- LECLAIRE, M.M.; BERNDT, T.J.; KNOX, F.G. Effect of renal interstitial infusion of L-dopa on sodium and phosph; hate excretions. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 132, n. 4, p. 308-312, 1998.
- LITTLEDIKE, E.T.; GOFF, J. Interactions of Calcium, Phosphorus, Magnesium and Vitamin D that Influence their Status in Domestic Meat Animals. **Journal of Animal Science**, v. 65, n. 6, p. 1727-1743, 1987.
- MARTIN, L.C.T. **Nutrição mineral de bovinos de corte**. 2.ed. São Paulo: Nobel, 1993. 173p.
- MATHIS, G.A.; TOGGENBURGER, A.; POKORNY, R. et al. Human pharmacokinetic profile of 1,25-dihydroxyvitamin D3-glycoside of herbal origin. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 144, n. 1, p. 40-43, 2014.
- MCDOWELL, L.R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**: Comparative Aspects to Human Nutrition. 1.ed. Amsterdã: Elsevier Science, 1992. 524p.
- MCDOWELL, L. R. Feeding minerals to cattle on pasture. **Animal Feed Science and Technology**, v. 60, n. 3–4, p. 247–271, ago. 1996.
- MCDOWELL, L.R. **Vitamins in Animal and Human Nutrition**. 2.ed. Ames: Iowa State University Press, 2000. 812p.
- MELLO, J.R.B. Calcinosis-calcinogenic plants. **Toxicon**, v. 41, n. 1, p. 1-12, 2003.
- MIETLICKI-BAASE, E.G.; REINER, D.J.; CONE, J.J. et al. Amylin Modulates the Mesolimbic Dopamine System to Control Energy Balance. **Neuropsychopharmacology**, v. 40, n. 2, p. 372-385, 2015.

- MILLS, J.G.; THOMAS, S.J.; LARKIN, T.A. et al. Overeating and food addiction in Major Depressive Disorder: Links to peripheral dopamine. **Appetite**, v. 148, 104586, 2020.
- MISSALE, C.; NASH, S.R.; ROBINSON, S.W. et al. Dopamine Receptors: From Structure to Function. **Physiological Reviews**, v. 78, n. 1, p. 189-225, 1998.
- NAPOLI, J. L.; REEVE, L.E.; EISMAN, J.A. et al. *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25 dihydroxyvitamin D 3. **Journal of Biological Chemistry**, v. 252, n. 8, p. 2580-2583, 1977.
- NRC. NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Nutrient requirements of beef cattle. Seventh revised edition, Washington D.C.: National Academy Press, 2000.
- NRC. NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE. **Nutrient Requirements of Dairy Cattle: Eighth Revised Edition**. Washington, DC: The National Academies Press, 2021.
- NUNES, R.A.; DUARTE, M.S. ; CAMPOS, P.H.R.F. et al. Active vitamin D3-glycoside preserves weight gain and modulates the inflammatory response in broiler chickens challenged with lipopolysaccharide. **Animal Feed Science and Technology**, v. 270, 114704, 2020.
- PEREIRA, M.; SALEK, C. Vitaminas Lipossolúveis. **ACTA MSM**, v.6, n.3, p. 180-188, 2019.
- PINOLI, M.; MARINO, F.; COSENTINO, M. Dopaminergic Regulation of Innate Immunity: a Review. **Journal of Neuroimmune Pharmacology**, v. 12, n. 4, p. 602-623, 2017.
- PIRES, A.V. **Bovinocultura de Corte**. 2.ed. Piracicaba: FEALQ, 2010. 975p.
- REINHARDT, V.; COWLEY, D.; EISELE, S. et al. Pairing compatible female rhesus monkeys for the purpose of cage enrichment has no negative impact on body weight. **Laboratory Primate Newsletter**, v. 27, n. 1, p. 13-15, 1988.
- REINHARDT, T.A.; HORST, R.L.; GOFF, J.P. Calcium, Phosphorus, and Magnesium Homeostasis in Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 4, n. 2, p. 331-350, 1988.
- RUBÍ, B.; MAECHLER, P. Minireview: New Roles for Peripheral Dopamine on Metabolic Control and Tumor Growth: Let's Seek the Balance. **Endocrinology**, v. 151, n. 12, p. 5570–5581, 2010.
- SAPONARO, F.; SABA, A.; ZUCCHI, R. An update on vitamin d metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 18, p. 1-19, 2020.
- SCOTT, D.; MCLEAN, A.F. Control of mineral absorption in ruminants. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 40, n. 3, p. 257-266, 1981.
- SCHLEGEL, P.; GUGGISBERG, D.; GUTZWILLER, A. Tolerance to 1,25 dihydroxyvitamin D3 glycosides from *Solanum glaucophyllum* by the growing pig. **Research in Veterinary Science**, v. 112, n. 1, p. 119–124, 2017.

- SIKANDER, A.; RANA, S.V.; PRASAD, K.K. Role of serotonin in gastrointestinal motility and irritable bowel syndrome. **Clinica Chimica Acta**, v. 403, n. 1-2, p. 47-55, 2009.
- SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N. et al. Vitamin D3 Supplementation of beef steers increases longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 77, n. 4, p. 874-881, 1999.
- VENJAKOB, P.L.; BAUERFEIND, L.; STAUFENBIEL, R. et al. Randomized clinical trial to evaluate the effects of a prepartum cholecalciferol injection on postpartum serum calcium dynamics and health and performance in early-lactation multiparous dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 2, p. 1573-1588, 2022.
- VIEIRA-NETO, A.; LIMA, I.R.P.; LOPES JUNIOR, F. et al. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5805-5823, 2017.
- VIEIRA-NETO, A. et al. Effects of injectable calcitriol on mineral metabolism and postpartum health and performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, p. 683–701, 2021.
- WEISS, W.P. Requirements of Fat-soluble Vitamins for Dairy Cows: A Review. **Journal of Dairy Science**, v. 81, n. 9, p. 2493-2501, 1998.
- WEISINGER, J.R.; BELLORIN-FONT, E. Magnesium and phosphorus. **The Lancet**, v. 352, n. 9125, p. 391-396, 1998.
- WILKENS, M.R.; MUSCHER-BANSE, A.S. Review: Regulation of gastrointestinal and renal transport of calcium and phosphorus in ruminants. **Animals**, v. 14, n.1, p. 29-43, 2020.
- WILKENS, M.R.; OBERHEIDE, I.; SCHRÖDER, B. et al. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 1, p. 151-164, 2012.
- ZANUZZI, C.N.; NISHIDA, F.; PORTIANSKY, E.L. et al. Effects of *Solanum glaucophyllum* toxicity on cell proliferation and apoptosis in the small and large intestine of rabbits. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 336–342, 2012.
- ZIMMERMAN, D.R.; KOSZEWSKI, N.J.; HOY, D.A. et al. Targeted delivery of 1,25-dihydroxyvitamin D3 to colon tissue and identification of a major 1,25-dihydroxyvitamin D3 glycoside from *Solanum glaucophyllum* plant leaves. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 148, n. 1, p. 318-325, 2015.

3 SUPLEMENTAÇÃO ORAL DE 1,25-DIHDROXICOLECALCIFEROL GLICOSÍDEO SOBRE O METABOLISMO DE MINERAIS, SEROTONINA E DOPAMINA EM BOVINOS

RESUMO

A 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo é um extrato de planta que têm demonstrado importante atividade na regulação de cálcio e fósforo em ruminantes. Entretanto não há estudos que avaliem o efeito da suplementação oral contínua em doses moderada/alta sobre o efeito de intoxicação. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito de diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo sobre o metabolismo de cálcio, fósforo, magnésio, serotonina, dopamina e potencial efeito tóxico. Seis novilhos da raça Holandês idade entre 18 a 24 meses peso inicial médio de 472,5 ± 61,5 kg foram utilizados em delineamento quadrado latino 3 x 3 replicado. Cada período teve duração de 28 dias sendo 5 dias de administração de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo e 23 dias para limpeza metabólica. Nas doses 0, 0,2 e 0,4 µg/kg PC misturado com suplemento proteico-mineral farelado, e mantidos em área de pastagem com *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. Amostras de sangue foram coletadas antes da administração dos tratamentos (-120 h) e 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 168 horas (h) após o fornecimento da última dose no 5º dia. Amostras de urina foram coletadas 6 e 12 h após última dose. O comportamento foi avaliado no 5º dia por 12 h. Cálcio e fósforo séricos aumentaram ($P < 0,05$) com a inclusão de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo. O cálcio sérico apresentou pico entre 24 e 48 h após a última dose e teve acréscimo ($P < 0,001$) de 8,4% e 12,7% comparado ao grupo controle nas doses 0,2 e 0,4 µg/kg PC respectivamente, e retornou aos valores basais após 4 dias na dose mais alta. O fósforo sérico aumentou ($P < 0,001$) 21,9% e 32,4% comparado ao grupo controle nas doses de 0,2 e 0,4 µg/kg PC respectivamente, e mantiveram-se elevados por mais de 7 dias. O magnésio sérico apresentou tendência de aumento ($P = 0,051$). Os dados apresentaram resposta significativa de tempo para cálcio, fósforo e magnésio ($P > 0,05$). Fosfatase alcalina, serotonina, dopamina e PTH não alteraram. Na urina houve tendência de aumento de cálcio ($P = 0,070$) e relação Ca/creatinina ($P = 0,080$). Os novilhos não apresentaram ($P > 0,05$) alteração comportamental e sinais clínicos de intoxicação. Conclui-se que a suplementação de forma oral de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo aumenta os níveis séricos de cálcio e fósforo nas doses de 0,2 e 0,4 µg/kg PC sem sinais clínicos de intoxicação, doses acima de 0,2 µg/kg PC causam efeitos persistentes na elevação de cálcio e fósforo após interrupção do fornecimento.

PALAVRAS-CHAVE: cálcio, fósforo, magnésio, hipocalcemia, vitamina d.

ORAL SUPPLEMENTATION OF 1,25-DIHYDROXYCHOLECALCIFEROL GLYCOSIDE ON METABOLISM OF MINERALS, SEROTONIN AND DOPAMINE IN CATTLE ABSTRACT

1,25(OH)₂D₃ glycoside is a plant extract that has demonstrated important activity in the regulation of calcium and phosphorus in ruminants. However, there are no studies evaluating the effect of continuous oral supplementation at moderate/high doses on the intoxication effect. The study aimed to evaluate the effect of different doses of 1,25(OH)₂D₃ glycoside on the metabolism of calcium, phosphorus, magnesium, serotonin, dopamine and potential toxic effect. Six Holstein steers aged between 18 and 24 months with an average initial weight of 472.5 ± 61.5 kg were used in a replicated 3 x 3 Latin square design. Each period lasted 28 days, with 5 days of administration of 1,25(OH)₂D₃ glycoside and 23 days for metabolic cleansing. At doses of 0, 0.2 and 0.4 µg/kg BW mixed with protein-mineral supplement in bran, and kept in a pasture area with *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. Blood samples were collected before treatment administration (-120 h) and 0, 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 168 hours (h) after the last dose on the 5th day. Urine samples were collected 6 and 12 h after the last dose. Behavior was evaluated on the 5th day for 12 h. Serum calcium and phosphorus increased ($P < 0.05$) with the inclusion of 1,25(OH)₂D₃ glycoside. Serum calcium peaked between 24 and 48 h after the last dose and increased ($P < 0.001$) by 8.4% and 12.7% compared to the control group at doses of 0.2 and 0.4 µg/kg BW, respectively, and returned to baseline values after 4 days at the highest dose. Serum phosphorus increased ($P < 0.001$) by 21.9% and 32.4% compared to the control group at doses of 0.2 and 0.4 µg/kg BW, respectively, and remained elevated for more than 7 days. Serum magnesium showed a trend toward increase ($P = 0.051$). The data showed a significant time response for calcium, phosphorus, and magnesium ($P > 0.05$). Alkaline phosphatase, serotonin, dopamine, and PTH did not change. In urine, there was a tendency for increased calcium ($P = 0.070$) and Ca/creatinine ratio ($P = 0.080$). The steers did not show ($P > 0.05$) behavioral changes or clinical signs of intoxication. It is concluded that oral supplementation of 1,25(OH)₂D₃ glycoside increases serum levels of calcium and phosphorus at doses of 0.2 and 0.4 µg/kg BW without clinical signs of intoxication, doses above 0.2 µg/kg BW cause persistent effects on elevated calcium and phosphorus after interruption of supply.

KEYWORDS: calcium, phosphorus, magnesium, hypocalcemia, vitamin d.

3.1 Introdução

A 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo é o metabólito bioativo da vitamina D e atua na homeostase do cálcio elevando este mineral no sangue, além de estimular a absorção de cálcio da dieta e realizar a reabsorção dele nos rins e ossos (WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020; VIEIRA-NETO et al., 2017). A suplementação com vitamina D para bovinos tem demonstrado melhora no crescimento animal (NELSON et al., 2016), no equilíbrio de cálcio e fósforo no pós-parto prevenindo a hipocalcemia (VENJAKOB et al., 2022), na produção de leite (POINDEXTER et al., 2023), na imunidade (NELSON et al., 2016; POINDEXTER et al., 2023) e maciez da carne (PEDREIRA et al., 2003).

Entre as funções da 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo são correlacionados neurotransmissores serotonina e dopamina, no qual a suplementação com 1,25(OH)₂D₃ tende a aumentar a serotonina em vacas leiteiras (VIEIRA-NETO et al., 2017), têm importante papel na remodelação do tecido ósseo para osteoclastogênese (CHABBI-ACHENGLI et al., 2012) e regula o transporte de cálcio para células da glândula mamária durante a lactação (LAPORTA et al., 2013) além de estimular a produção de proteínas do hormônio da paratireoide na ativação dos osteoclastos mobilizando o cálcio dos ossos (LAPORTA et al., 2014).

A dopamina não-periférica atua no sistema nervoso central e na ingestão de alimentos, enquanto a dopamina periférica é ligada ao estresse (MILLS et al., 2020), metabolismo energético (MIETLICKI-BAASE et al., 2015) e resposta imunológica (BROOME et al., 2020). Após ativação pela 1,25(OH)₂D₃, o receptor da vitamina D (VDR) atua como fator de transcrição no desenvolvimento de neurônios dopaminérgicos (CUI et al., 2013).

A planta *Solanum glaucophyllum* apresenta 1,25(OH)₂D₃ associado a um glicosídeo que precisa ser hidrolisado no rúmen ou intestino para absorção e fica por mais tempo disponível no organismo (ZIMMERMAN et al., 2015). Estudos demonstraram efeito benéfico da inclusão de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo no aumento de minerais séricos e prevenção de hipocalcemia em bovinos (WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020; VIEIRA-NETO et al., 2017). Entretanto a suplementação oral e o tempo de ingestão de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo não estão bem elucidados. Sua aplicação injetável ou através de bolus ruminal não trazem de maneira evidente o potencial de intoxicação (VIEIRA-NETO et al., 2021; MEYER-BINZEGGER et al., 2022).

Com isso, além da 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo elevar mineiras circulantes não estão claras quais são as doses seguras para melhorar o desempenho dos bovinos (ISHII et al., 2015). Quando há níveis cronicamente elevados de cálcio na circulação resultam na calcinose,

deposição nos tecidos moles, coração, rim, sistema vascular e respiratório (MELLO, 2003; COMBS; MCCLUNG, 2017). A intoxicação ocorre de forma variável dependente da dose e tempo de ingestão por se tratar de maneira cumulativa em bovinos (GIL; DALLORSO; HORST, 2007).

São escassas as informações sobre efeitos da suplementação oral e contínua de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo em bovinos sobre o metabolismo de minerais, neurotransmissores e quais doses seguras. A hipótese é que a inclusão de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo melhora as funções da vitamina D e aumenta os níveis séricos de minerais cálcio e fósforo em doses seguras. O estudo teve como objetivo avaliar o efeito da inclusão de diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo na dieta e comportamento de novilhos sobre o metabolismo de minerais, neurotransmissores e potencial efeito tóxico.

3.2 Material e Métodos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais de Produção (CEUAP) da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, protocolo 029/22.

3.2.1 Local, animais e delineamento experimental

O experimento foi conduzido entre os meses de janeiro a maio de 2023 na Estação Experimental Professor Dr. Alcebíades Luiz Orlando, pertencentes à Unioeste campus Marechal Cândido Rondon, localizada no município de Entre Rios do Oeste, Paraná. Latitude 24° 42' 14" S, 54° 14' 32" W, altitude aproximada de 260 metros, clima subtropical úmido de acordo com classificação de Koppen-Geiger: cfa, qual a temperatura média nos meses mais quentes é superior a 22°C e dos meses frios inferior a 18°C (ALVARES et al., 2014).

Foram utilizados 6 novilhos da raça Holandês com idade entre 18 e 24 meses, peso corporal inicial médio de 452 ± 61,5 kg em delineamento quadrado latino 3 x 3 replicado. Em três períodos de experimento onde cada período teve duração de 28 dias, com 5 dias consecutivos de fornecimento dos tratamentos e 23 dias para limpeza metabólica.

Os tratamentos foram doses de 0, 0,2 e 0,4 µg/kg de peso corporal (PC) de vitamina 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo em fornecimento contínuo. A fonte 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo foi proveniente de extrato seco em pó de folhas de *Solanum glaucophyllum* (Panbonis®, Herbonis Animal Health GmbH, Rheitrasse, Augst, Switzerland) contendo 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo na

concentração de 10 PPM. As doses foram escolhidas com base em testes prévios com diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo e duração de administração (até 5 dias consecutivos) para definição de doses máximas potencialmente seguras sem causar sinal clínico de intoxicação (dados não publicados). Após os testes foram aguardados trinta dias até início do experimento para limpeza metabólica. O aditivo foi misturado com um suplemento mineral-energético (Tabela 1). O suplemento mineral foi fornecido individualmente na quantidade equivalente de 1,2 g/ kg de PC sem ocorrência de sobras às 07:00 horas. A água foi disponibilizada *ad libitum* durante todo o experimento.

Os novilhos foram mantidos em uma mesma área de oito hectares de pastagem com gramínea de *Urochloa brizantha* cv. Xaraés. Para realizar a coleta de amostras, os novilhos foram conduzidos por um corredor central até o curral antiestresse. O controle de endo e ectoparasitas foi realizado antes de iniciar o experimento.

3.2.2 Amostragem

Amostras de sangue foram coletadas na veia jugular, antes de iniciar o fornecimento dos tratamentos no 1º dia (-120 h) às 07:00 h, e após os cinco dias de fornecimento de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo. Foram coletadas amostras de sangue imediatamente antes do último fornecimento no 5º dia (0 h) e 3 h, 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, 96 h e 168 h após a última dose. Todos os novilhos foram movidos para o curral de manejo para coleta de amostras e posteriormente retornavam para a pastagem. As amostras de sangue foram coletadas com auxílio de um tubo de 10 mL com vácuo e ativador de coágulo. Os tubos com as amostras foram mantidos a temperatura ambiente protegidos da luz por 30 minutos para coagulação e centrifugados a 1500 x g por 20 minutos, acondicionados à temperatura de 4 °C até a análise de minerais séricos (em até 24 horas).

Amostras de sangue para análises de serotonina, dopamina, PTH, e fosfatase alcalina foram coletadas no período de 12 horas após fornecimento da última dose. Para serotonina, PTH e fosfatase alcalina, foram utilizados tubos de 10 mL com ativador de coágulo. Após os tubos serem mantidos a temperatura ambiente protegidos da luz por 30 minutos realizou-se a centrifugação a 1500 x g por 20 minutos. O soro foi congelado em microtubos de 1,5 mL a -80 °C. Para dopamina foram utilizados tubos de fundo cônico com volume de 13 mL de sangue com 20 uL de HCl (6M), 400 uL de EDTA.Na₂ (0,1M), e 80 uL de Na₂S₂O₂ (0,5M), conforme Valente et. al., (2023), homogeneizados e centrifugados por 30 minutos a 1500 x g, separando o plasma para um novo tubo e acondicionados a -80 °C.

Foram utilizados funis coletores de urina acoplados ao abdômen no quinto dia de cada período e amostras (50 mL) foram coletados por micção espontânea as 6 e 12 horas após fornecimento da última dose de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo. O pH da urina foi ajustado (2,5) com ácido clorídrico (6M) e mantidos a 4°C até análise (em até 24 horas). As quantidades adicionais de HCl adicionadas para ajuste do pH foram registradas para cálculo da diluição da urina. Análises de creatinina na urina foram realizadas em amostras sem ajuste de pH acondicionadas a 4 °C até análise (24 horas).

Foram coletadas amostras qualitativas da pastagem em cada período do experimento, totalizando três amostras por meio da simulação manual de pastejo. As amostras foram pesadas, homogeneizadas e retirada uma fração para fazer amostra composta dos três períodos, corresponde à 1.3 UA/há.

3.2.3 Análises laboratoriais

Cálcio, fósforo, magnésio, fosfatase alcalina e creatinina foram analisados em triplicata e demais análises foram realizadas em duplicatas.

O cálcio no soro e na urina foi analisado pelo método colorimétrico cresolftaleína complexona utilizando kit comercial (Interkit, Belo Horizonte, MG, Brasil). O fósforo no soro e na urina foi analisado pelo método colorimétrico-Fosfomolibdato utilizando kit comercial (Gold Analisa, Belo Horizonte, MG, Brasil). O magnésio sérico foi analisado em kit comercial (Gold Analisa, Belo Horizonte, MG, Brasil) pelo método colorimétrico do sulfonato magon. A fosfatase alcalina foi analisada pelo método cinético-colorimétrico utilizando kit comercial (Gold Analisa, Belo Horizonte, MG, Brasil). Análise da creatinina na urina foi realizada pelo método picrato alcalino com kit comercial (Gold Analisa, Belo Horizonte, MG, Brasil). O paratormônio foi analisado por método de quimioluminescência em laboratório comercial (Bionostic, Cascavel, PR, Brasil). A serotonina foi analisada em cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) conforme Valente et al. (2021) e dopamina analisada em HPLC conforme Valente et al. (2023).

As amostras de forragem e ingredientes do suplemento foram homogeneizadas secas em estufa de ventilação forçada de ar a 55°C por 72 horas e trituradas em moinho tipo Willey com peneiras de 1 mm (DETMANN et al., 2012). As amostras de forragem foram avaliadas em duplicatas quanto aos valores de matéria seca (MS) método INCT-CA G-003/1, matéria mineral (MM), método INCT-CA M-001/1 (DETMANN et al., 2012), proteína bruta (PB) e fibra em detergente neutro (FDN) método de análise bromatológica físico e químico (RODRIGUES,

2010). Análise do suplemento foi realizado por espectroscopia por infravermelho próximo (NIR) método número 11 (SINDIRAÇÕES, 2017).

Tabela 1. Composição percentual bromatológica e química do suplemento e do pasto.

Ingredientes		Composição (% MS)
Milho		66,15
Farelo de soja		13,23
Ureia		3,96
Mistura mineral ¹		16,66
Composição química (% MS)		
Pasto ²	Suplemento	
Matéria seca	37,37	86,76
Matéria mineral	8,55	10,23
Fibra em detergente neutro	68,68	11,29
Proteína bruta	4,55	24,05

Suplementação: 1,2 g/kg de peso corporal.

¹Ca – 210g/kg, P – 40g/kg, Na – 140g/kg, Mg – 5000mg/kg, S – 10 g/kg, Cu – 818mg/kg, I – 41mg/kg, Mn – 818mg/kg, Se – 16mg/kg, Co – 36mg/kg, Zn – 2455mg/kg, F – 400mg/kg.

²Amostra da simulação manual de pastejo.

3.2.4 Comportamento e peso corporal

A avaliações comportamentais e sintomáticas dos novilhos foram realizadas no quinto dia de cada período iniciando após a administração dos tratamentos e monitorados por 12 horas contínuas, das 7:00 às 19:00 horas, por método de observações visuais a cada 10 minutos. Foram avaliados o tempo pastejando, ingerindo água, ócio em pé, ócio deitado, ruminando em pé e ruminando deitado. Os novilhos foram monitorados durante todo o experimento para avaliar a ocorrência de qualquer comportamento anormal que poderia indicar sinais clínicos de intoxicação.

Os novilhos foram pesados sem jejum no primeiro dia de cada período entre 06:30 h e 07:30 h com balança digital (Toledo® MGR 4000, São Bernardo do Campo, SP, Brasil).

3.2.5 Análise estatística

Os dados foram analisados em delineamento quadrado latino 3 x 3 replicado usando o procedimento MIXED do SAS (OnDemand for Academics, 2023; SAS Inst. Inc. Cary, NC) utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + P_j + D_k + LS_l + e_{ijkl}$$

Onde, Y_{ijkl} são as variáveis dependentes, μ é a média geral, A_i é o efeito do animal, P_j é o efeito do período, D_k é o efeito do nível de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo, LS_l é o efeito do Quadrado Latino e e_{ijkl} é o erro aleatório.

Os minerais no soro foram analisados como medidas repetidas no tempo para amostras coletadas até 24 h após a administração da última dose. A concentração sérica dos minerais antes da administração dos tratamentos foi utilizada como covariável. O modelo incluiu os efeitos fixos do tratamento, hora da amostragem, sua interação e o efeito aleatório do animal e do período. Várias estruturas de covariância de erros foram ajustadas, a melhor estrutura para cada variável foi selecionada com base no menor critério de informação Bayesiano (BIC). Utilizado o seguinte modelo:

$$Y_{ijklm} = \mu + A_i + P_j + D_k + T_l + D \times T_{kl} + LS_m + e_{ijklm}$$

Onde, Y_{ijklm} são as variáveis dependentes, μ é a média geral, A_i é o efeito do animal, P_j é o efeito do período, D_k é o efeito do nível de 1,25(OH)₂D3 glicosídeos, T_l é o efeito do tempo de amostragem, $D \times T_{kl}$ é a interação entre tratamento e tempo, LS_m é o efeito do Quadrado Latino e e_{ijklm} é o erro aleatório.

Os níveis circulantes de minerais foram comparados pelo teste T de Fisher dentro de cada tempo de amostragem para avaliação da duração dos efeitos da 1,25(OH)₂D3 glicosídeo após a interrupção do fornecimento. Diferenças foram consideradas estatisticamente significantes quando $P \leq 0,05$ e tendência quando $0,05 < P \leq 0,10$.

3.3 Resultados

Não houve interação ($P > 0,05$) entre tratamento x tempo para nenhuma variável (Tabela 2). As concentrações séricas de cálcio e fósforo aumentaram ($P < 0,05$) com a inclusão de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo na dieta.

Apesar da dose de 0,4 µg/kg terem elevado a concentração de cálcio sérico em relação a de 0,2 µg/kg ($P < 0,05$), a concentração de fósforo sérico foi semelhante ($P > 0,05$) entre as doses 0,2 e 0,4 µg/kg de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo.

Tabela 2. Concentração diária de minerais no soro e urina de novilhos em função de doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo aplicados continuamente (n = 6)

Item	1,25(OH) ₂ D3 (µg /kg PC)			EPM	P-valor ⁴		
	0	0,2	0,4		TRT	Tempo	TRT x Tempo
Ca sérico, mg/dL	8,87c	9,61b	9,99a	0,13	<0,001	0,034	0,902
P sérico, mg/dL	7,21b	8,78a	9,54a	0,54	0,001	0,002	0,717
Mg sérico, mg/dL	1,89	1,87	1,94	0,02	0,051	0,042	0,169
Ca urina, mg/dL	15,27	17,21	18,24	1,60	0,070	0,320	0,310
Ca/creat urina, mg/mg ¹	0,62	0,71	1,01	0,25	0,080	0,430	0,360
P urina, mg/dL	5,33	5,73	7,19	1,50	0,370	0,280	0,290
P/creat urina, mg/mg ²	0,26	0,25	0,51	0,27	0,180	0,220	0,270

¹Cálcio urinário/creatinina urinária (mg/mg)

²Fósforo urinário/creatinina urinária (mg/mg)

⁴TRT é o efeito do tratamento. O tempo é o efeito do tempo de amostragem e TRT x Tempo é a interação entre TRT e TEMPO.

A concentração média do cálcio sérico teve um incremento ($P < 0,001$) de 8,4% e 12,7% quando comparado ao grupo controle (8,87 mg/dL) nas doses 0,2 e 0,4 µg/kg (9,61 mg/dL e 9,99 mg/dL), respectivamente (Tabela 2).

A mesma concentração do fósforo sérico ($P > 0,05$) entre as doses 0,2 e 0,4 µg/kg, apresentaram um acréscimo ($P < 0,05$) em comparação ao controle (7,21 mg/dL) de 21,9% e 32,4% para as doses 0,2 e 0,4 µg/kg (8,78 mg/dL e 9,54 mg/dL), respectivamente (Tabela 2).

O magnésio sérico apresentou tendência de aumento ($P = 0,05$) entre os tratamentos.

Os resultados para variáveis de tempo (Tabela 2) também demonstraram aumento significativo para o cálcio ($P = 0,034$), fósforo ($P = 0,002$) e magnésio ($P = 0,042$).

Foi observado na urina tendência de aumento do cálcio ($P = 0,070$), e da relação Ca/creatinina ($P = 0,080$) com a suplementação oral de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo. As concentrações de fósforo e relação P/creatinina na urina não diferiram ($P > 0,05$) entre os tratamentos (Tabela 2).

Após o início do tratamento contínuo (-120 h) o cálcio sérico demonstrou um aumento que persistiu mesmo após a interrupção do tratamento (Figura 1), com maiores respostas entre 24 e 48 h após último fornecimento de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo. A concentração sérica de cálcio retornou aos níveis basais entre 72 e 96 h após interrupção dos tratamentos nas doses de 0,2 e 0,4 µg/kg, respectivamente.

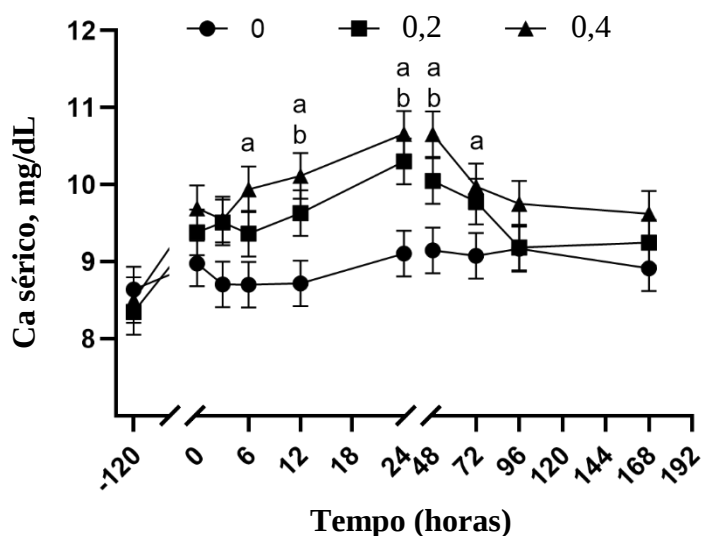


Figura 1. Cálcio sérico ao longo do tempo em relação à última dosagem em novilhos recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo (0, 0,2 e 0,4 µg/kg PC) continuamente por 5 dias (-120 h é valor basal e 0 h corresponde à última dosagem). As letras a e b indicam diferenças (P < 0,05) das doses 0,4 e 0,2 em comparação com dose 0, respectivamente (n = 6).

O fósforo sérico não apresentou um pico evidente (Figura 2). Seu maior nível de concentração sérica foi entre 24 e 48h. Entretanto apresentou resposta de persistência e se manteve elevado após 168 h do último fornecimento para ambas as doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo.

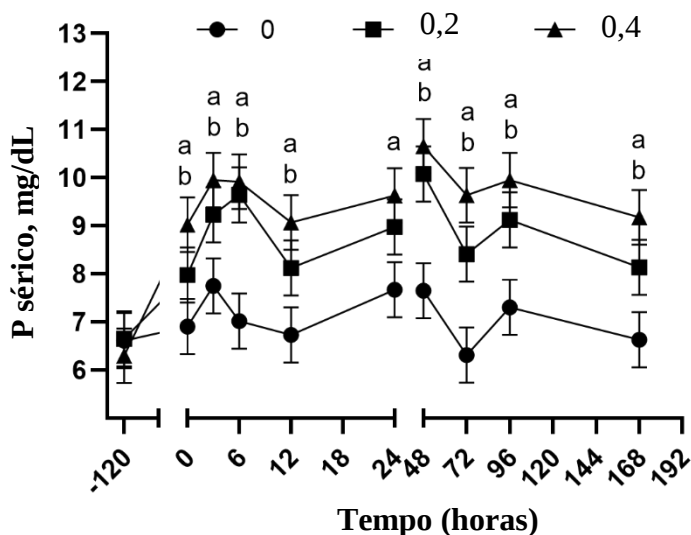


Figura 2. Fósforo sérico ao longo do tempo em relação à última dosagem em novilhos recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo (0, 0,2 e 0,4 µg/kg PC) continuamente por 5 dias (-120 h é valor basal e 0 h corresponde à última dosagem). As letras a e b indicam diferenças (P < 0,05) das doses 0,4 e 0,2 em comparação a 0, respectivamente (n = 6).

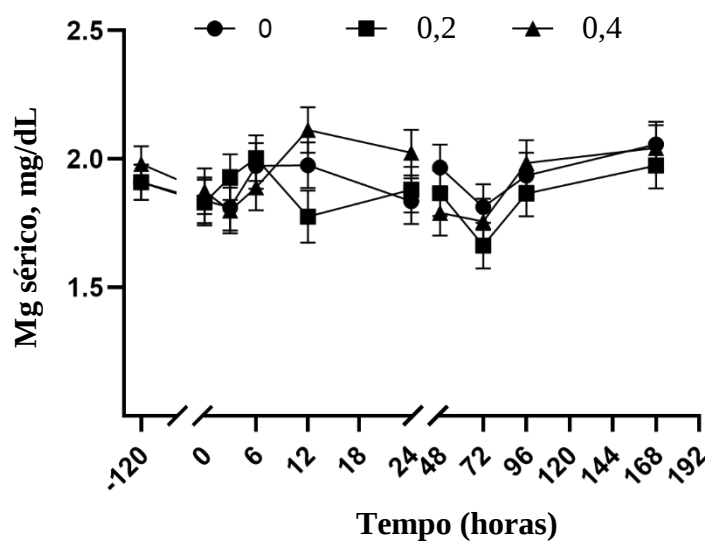


Figura 3. Magnésio sérico ao longo do tempo em relação à última dosagem em novilhos recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo (0, 0,2 e 0,4 µg/kg PC) continuamente por 5 dias (-120 h é valor basal e 0 h corresponde à última dosagem). As letras a e b indicam diferenças ($P < 0,05$) das doses 0,4 e 0,2 em comparação a 0, respectivamente ($n = 6$).

As doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo não alteraram as concentrações séricas de fosfatase alcalina ($P = 0,298$) (Figura 4), hormônio da paratireoide ($P = 0,183$) (Figura 5), e neurotransmissores serotonina ($P = 0,428$) nem de dopamina ($P = 0,846$) (Figuras 6 e 7).

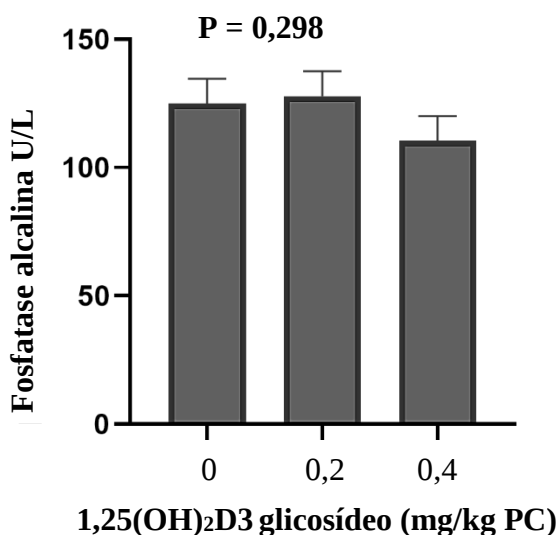


Figura 4. Fosfatase alcalina de novilhos após 5 dias recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo, 12 horas após a última dosagem ($n = 6$).

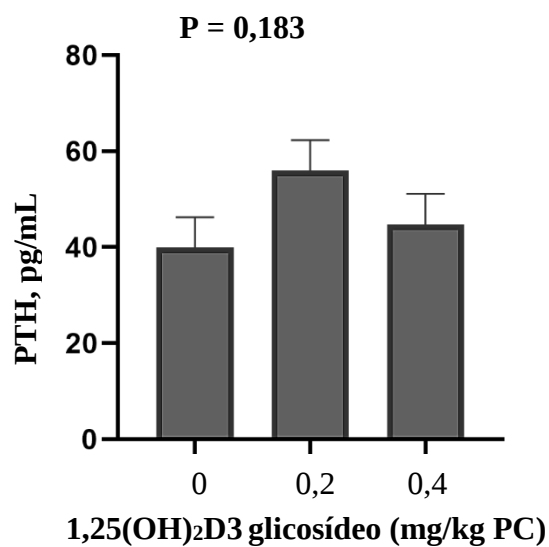


Figura 5. Paratormônio sérico de novilhos após 5 dias recebendo diferentes doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo, 12 horas após a última dosagem (n = 6).

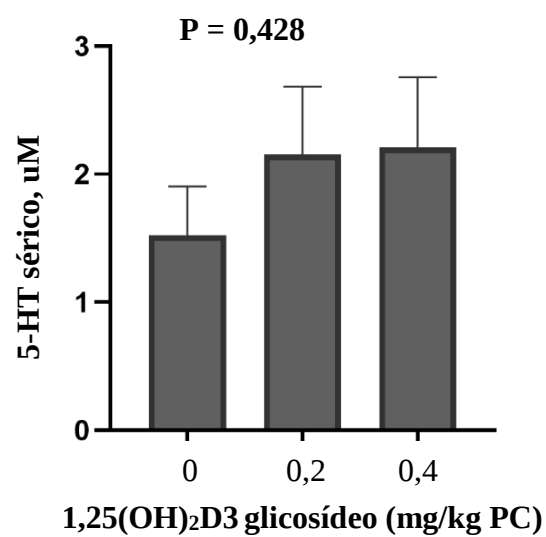


Figura 6. Serotonina sérica (5-HT) de novilhos após 5 dias recebendo 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo, 12 horas após última dosagem (n = 6).

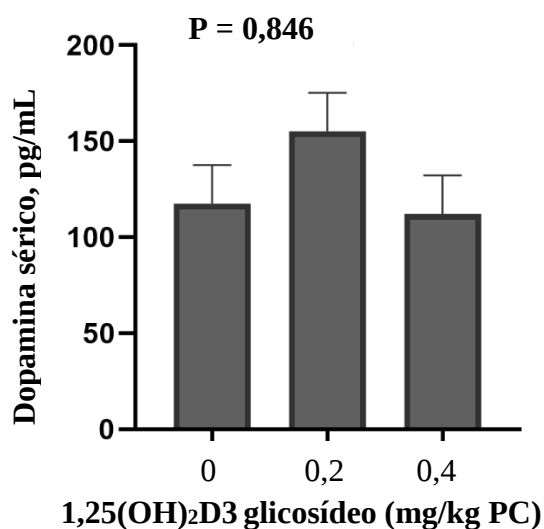


Figura 7. Dopamina sérica de novilhos após 5 dias recebendo 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo, 12 horas após a última dosagem (n = 6).

Não foi observada diferenças nos comportamentos dos novilhos pastejando, ingerindo água, em ócio deitado, em ócio em pé, ruminando deitado e ruminando em pé entre os tratamentos ($P > 0,05$) (Tabela 3). Também não foram observados durante o estudo sinais clínicos evidentes de intoxicação pela ingestão em nenhuma das doses de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo.

Tabela 3. Comportamento alimentar de novilhos após 5 dias recebendo 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo (n = 6)

Item ¹	1,25(OH) ₂ D ₃ glicosídeo (µg/kg PC)			EMP	P-Valor
	0	0,2	0,4		
Pastejando	220,0	228,0	238,0	35,0	0,649
Ingestão de água	43,3	46,7	46,7	79,0	0,905
Ócio deitado	365,0	360,0	360,0	43,0	0,976
Ócio em pé	43,3	31,7	26,7	14,3	0,407
Ruminando deitado	41,7	36,7	23,3	7,0	0,126
Ruminando em pé	6,7	16,7	25,0	6,7	0,171

¹comportamento (minutos) avaliado por 12 horas durante o dia após última dose de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo.

3.4 Discussão

A persistência nos níveis séricos dos minerais é dependente da dose utilizada de 1,25(OH)₂D₃ glicosídeo. Isso evidencia a capacidade desta forma suplementar de vitamina em contornar controles metabólicos e aumentar consideravelmente o cálcio e fósforo sérico (WILKENS et al., 2012). Em situações de normocalcemia em bovinos está entre 8,3 e 10,4

mg/dL (GOFF, 2014). Foi demonstrado que o aumento sérico de cálcio com a inclusão de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo chegou a níveis máximos considerados fisiológicos. Vários mecanismos fisiológicos evitam que a concentração de cálcio no sangue fique excessivamente elevado garantindo assim a manutenção da homeostase (TOKA et al., 2012). A 1,25(OH)₂D3 aumenta o cálcio no sangue estimulando a absorção na dieta, reabsorção de cálcio nos rins e nos ossos (WILKENS et al., 2012; WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020; VIEIRA-NETO et al., 2017).

O uso da 1,25(OH)₂D3 glicosídeo tem apresentado aumento nos níveis séricos de cálcio em bovinos com hipocalcemia (BACHMANN et al., 2017; ISHII et al., 2015; HORST et al., 2003). Bachmann et al. (2013) avaliaram suplementação oral de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo de planta *Solanum glaucophyllum* em ratos de elevada persistência nos níveis de cálcio em doses contínuas sem atingir uma hipercalcemia. Houve rápido aumento nos níveis séricos de 1,25(OH)₂D3 em 12 horas (BACHMANN et al., 2013; ZIMMERMAN et al., 2015).

Já com a utilização de Bolus ruminal de liberação lenta, a concentração sérica de cálcio aumentou com valores máximos observados em 48 horas, o que difere dos resultados encontrados no estudo com suplementação oral contínua de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo observados em 24 horas (MEYER-BINZEGGER et al., 2022).

Bachmann et al., (2013) avaliaram a farmacocinética e concentrações séricas de 1,25(OH)₂D3 glicosídeo a meia vida foi de 29 horas para doses baixas e 32 horas em doses altas, indicando absorção e eliminação mais tardia de 1,25(OH)₂D3 extraída de *Solanum glaucophyllum*. A 1,25(OH)₂D3 sintética apresenta meia vida de 4 a 6 horas, isso indica que os níveis persistentes de cálcio e fósforo sérico no estudo estão associados a um glicosídeo (SAPONARO; SABA; ZUCCHI, 2020; GONZÁLEZ; CERONI, 2019).

Vieira-Neto et al. (2017) relataram que em vacas que receberam uma injeção subcutânea de 1,25(OH)₂D3 apresentaram aumento nos níveis séricos de cálcio em 24 horas após administração, os níveis permaneceram elevados por três dias, pressupondo que poderia originar-se de um aumento da absorção intestinal de cálcio, independente do PTH, mas mediado pelo aumento do nível sérico de 1,25(OH)₂D3. No presente estudo os níveis de cálcio sérico também aumentaram em 24 horas e se mantiveram elevados por até 4 dias devido ao efeito de doses altas (GONZÁLEZ; SILVA, 2019).

Estudos demonstraram que a 1,25(OH)₂D3 glicosídeo de origem *Solanum glaucophyllum* teve características de absorção e eliminação mais lenta comparada a sintética. Sua efetividade de absorção está relacionada a quebra enzimática do glicosídeo pelas bactérias do rúmen e intestino (BACHMANN et al., 2013; ZIMMERMAN et al., 2015) podendo ter

contribuído para a persistência observada da elevação sérica de cálcio por até 4 dias após a interrupção do tratamento. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ aumenta o transporte transcelular de cálcio através do epitélio intestinal pela regulação positiva do receptor transitório vanil-loide tipo 6 (TRPV6), calbindina, e Ca^{2+} ATPases que facilitam o transporte apical, difusão citosólica, e extrusão de cálcio através do epitélio (HOENDEROP; NILUS; BINDELS, 2005).

O aumento na demanda de cálcio eleva as concentrações séricas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e induz absorção de cálcio através do transportador calbindina (HORST et al., 2003). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo é um potente estimulador da osteoclastogênese e a administração de altas doses pode exercer um efeito de reabsorção óssea, além de ação oxidativa na resposta imune (ÖZKAN; HATUN; BEREKET, 2012; VIEIRA-NETO et al., 2017).

A vitamina D é um potente hormônio fosfotrópico (HORST et al., 2003; VIEIRA-NETO et al., 2017). Os resultados de fósforo apresentaram aumento significativo e houve interação com relação ao tratamento e tempo de avaliação. Manteve-se elevado por um período maior que 7 dias. Bachmann et al. (2017) relataram níveis séricos elevados por até 9 dias após interrupção de tratamento com bolus de liberação lenta. Os valores médios de fósforo sérico antes do fornecimento de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo estavam dentro de uma faixa normal para bovinos de 4,2 a 7,7 mg/dL (GOFF, 2008), doses moderadas/altas elevaram consideravelmente o aumento e persistência dos níveis séricos. Outros autores encontraram aumento do fósforo sérico com administração $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo em bovinos (MARKS et al., 2006; VIEIRA-NETO et al., 2021; WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020; ISHII et al., 2015; MEYER-BINZEGGER et al., 2022).

O controle metabólico de fósforo sérico é menos rigoroso comparado ao do cálcio. E têm sido observados efeitos persistentes sobre o efeito de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo na concentração sérica de fósforo em bovinos (BACHMANN et al., 2017; ISHII et al., 2015). O mecanismo pelo qual o fósforo sérico é aumentado após administração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo permanece não completamente elucidado, porém a influência de reabsorção renal de fosfatos contribui (ISHII et al., 2015). Como relatado no estudo a persistência na elevação de fósforo sérico por mais de 7 dias (VIEIRA-NETO et al., 2021).

Concentrações de fósforo na circulação são mantidas pela vitamina D e regulada pelo fator de crescimento fibroblastos-23 da absorção intestinal, reabsorção óssea, excreção fecal e urinária (GRÜNBERG, 2014). Grande parte da absorção de fósforo ocorre no intestino delgado. A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ estimula a absorção intestinal através da regulação positiva do co-transportador Pi, dependente de sódio (WILKENS; MUSCHER-BANSE, 2020).

Uma associação positiva entre valores séricos de cálcio e fósforo também foi relatada em vacas com e sem hipocalcemia clínica (VENJAKOB; BORCHARDT; HEUWIESER, 2017). A suplementação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo no pré-parto aumentou as concentrações de fósforo sérico e teve efeito positivo com dieta aniônica (RODNEY et al., 2018). Tanto a dose quanto o momento do tratamento com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo são importantes para a prevenção da hipocalcemia (HORST et al., 2003; BACHMANN et al., 2017). Outro estudo de bovinos com diferentes doses de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo por 14 dias, resultou em aumento de cálcio e fósforo sérico paralelo a dose (ISHII et al., 2015). Altas concentrações de fósforo no plasma em níveis superiores inibem a ação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ renal, diminuindo a reabsorção de cálcio, limitando o aumento da concentração sérica de cálcio (GOFF, 2014).

O cálcio e fósforo na urina apresentaram baixa relação com minerais séricos, evidenciando baixo potencial de uso da urina como indicador desses minerais no sangue. Com o aumento de cálcio e fósforo séricos, a concentração de urina apresentou tendência de aumento para o cálcio, sem resposta para o fósforo, provavelmente devido a reabsorção renal (MEYER-BINZEGGER et al., 2022). Outros estudos encontraram aumento dos níveis de minerais na urina, consequentemente aumento da excreção e a relação cálcio:creatinina (RODNEY et al., 2018; POINDEXTER et al., 2023).

O magnésio sérico apresentou tendência de aumento de acordo com os tratamentos. Estudos anteriores relataram redução do magnésio sérico após suplementação com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo associado a níveis de cálcio elevados de maneira excessiva (MEYER-BINZEGGER et al., 2022; RODNEY et al., 2018; ISHII et al., 2015). Bachmann et al. (2017) não observaram efeito de aumento sérico de magnésio após suplementação com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo. Absorção de magnésio da dieta ocorre no rúmen por processos de transporte transcelular ativo e é influenciada pelo potássio (MARTENS et al., 2018). Embora mecanismos específicos de controle de magnésio pela vitamina D não estejam estabelecidos, foi relatado que a vitamina D interfere na absorção de magnésio em ruminantes e formas ativas da vitamina alteram as concentrações de magnésio sérico (YANO et al., 1984; POINDEXTER et al., 2023).

A hipomagnesemia aumenta a susceptibilidade de apresentar hipocalcemia, dificultando a mobilização de cálcio do osso e menor liberação de PTH (CORBELLINI et al., 1992). A ação do PTH reduz a excreção renal de magnésio e contribui para o aumento dos níveis séricos de magnésio. Como não foi relatada interferência do níveis de PTH séricos o magnésio pode ter sido excretado em maior quantidade (TSIAMADIS et al., 2016). O aumento de cálcio combinado à redução de PTH, eleva perda urinária de magnésio que reduz magnésio sérico (VIEIRA-NETO et al., 2017; MARTÍN-TERESO; MARTENS, 2014). A relação entre

o magnésio e a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é fundamental para o metabolismo do cálcio e o magnésio é essencial para a ativação da vitamina D (LITTLEDIKE et al., 1983).

No presente estudo não houve efeito significativo na avaliação de fosfatase alcalina, já outros autores encontraram níveis baixos da enzima no sangue (ÖZKAN; HATUN; BEREKET, 2012). Em casos de severa desmineralização óssea a atividade da fosfatase alcalina pode aumentar (GONZÁLEZ; SILVA, 2019). A ligação de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ao receptor da vitamina D (VDR) aumenta a transcrição de genes de fosfatase alcalina (BARRAL; BARROS; ARAÚJO, 2007). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo atua sobre os receptores dos osteoblastos, aumentando a produção da fosfatase alcalina, embora atuem juntos, níveis aumentados de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ também inibem a síntese e liberação de PTH e interage com os osteoblastos para aumentar a expressão de fosfatase alcalina (HOLICK, 2002). A maior atividade da fosfatase alcalina ocorre no desenvolvimento ósseo, é atribuído ao fato de que a vitamina D estimula sua produção sinergicamente com o PTH na ativação e maturação das células osteoclásticas (PREMAOR; FURLANETTO, 2006).

Os resultados do estudo sobre o PTH não sofreram alteração com as doses utilizadas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo. Outros autores relataram que vacas tratadas com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ apresentaram concentrações reduzidas de PTH (MARTÍN-TERESO; MARTENS, 2014). Níveis séricos de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ são rigidamente controlados por efeitos coordenados de PTH (WILKENS et al., 2012). Outro estudo com tratamento injetável de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ reduziu as concentrações de PTH no plasma (VIEIRA-NETO et al., 2017). À medida que os bovinos desenvolvem hipocalcemia, a glândula da paratireoide aumenta a secreção de PTH, que ativa a reabsorção renal e óssea, e aumenta a produção renal de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (WILKENS et al., 2012; VIEIRA-NETO et al., 2017).

Foi demonstrado que o PTH estimula a remodelação óssea através do receptor da vitamina D (VDR) que atua nos osteoblastos, que controlam a síntese e secreção de proteínas específicas como osteocalcina, osteopontina, colágeno e fosfatase alcalina, os efeitos da vitamina D são similares ao PTH, mobilizando cálcio e fósforo da matriz óssea (MARTÍN-TERESO; MARTENS, 2014; GONZÁLEZ; SILVA, 2019). Bovinos jovens com deficiência de vitamina D desenvolvem raquitismo devido a não ocorrer a mineralização da matriz cartilaginosa, a administração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ restabelece a calcificação no crescimento (GONZÁLEZ; SILVA, 2019).

Laporta et al., (2013) relataram que o aumento de serotonina na circulação é positivamente associado ao aumento de cálcio sérico e relataram que vacas com hipocalcemia clínica tiveram menores concentrações de serotonina. A serotonina é um fator chave para a

homeostase do cálcio modulando a concentração de cálcio sérico (HERNÁNDEZ-CASTELLANO et al., 2017b). A serotonina regula o transporte de cálcio nas células epiteliais mamárias durante a formação de colostro e lactação (LAPORTA et al., 2013). Ao avaliarem a administração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ em vacas no pós-parto houve aumento nas concentrações de serotonina durante os primeiros 7 dias pós-parto (VIEIRA-NETO, 2017). Por outro lado, há estudos em que não houve alterações nas concentrações de serotonina em resposta ao incremento de vitamina D (RODNEY et al., 2018). Hernández-Castellano et al., (2017a) apoiam a hipótese de que a serotonina pode também regular o cálcio através de um ciclo de feedback diferente da via tradicional do PTH e vitamina D.

São escassas informações sobre a relação da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sobre dopamina em bovinos, alterações nos níveis de dopamina podem estar associadas a ingestão de alimentos e mudanças no comportamento (MILLS et al., 2020; GINANE et al., 2015). A dopamina pode melhorar o consumo de alimento e reduzir o estresse (VALENTE et. al., 2023). Apesar da dopamina circulante não ter sido alterada neste estudo, essa resposta não exclui outros potenciais efeitos da vitamina D sobre este neurotransmissor. Circuitos de dopamina são modulados pela sinalização da vitamina D e podem servir como alvos diretos ou indiretos para $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ exógeno (TRINKO et al., 2016). O VDR atua como fator de transcrição após ativação pela $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ e é expresso no desenvolvimento de neurônios dopaminérgicos (CUI et al., 2013). Já foi observado que o tratamento com $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ levou a alterações transcricionais de genes relacionados à dopamina (TRINKO et al., 2016) e aumento da dopamina no corpo estriado (CASS; PETERS, 2017).

A não alteração dos níveis séricos de serotonina e dopamina não necessariamente implicam em ausência de efeito em outros locais como no SNC. Neurônios dopaminérgicos no mesencéfalo e seus neurônios-alvo expressam a proteína receptora da vitamina D (TRINKO et al., 2016). A $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auxilia a promover recuperação do funcionamento dopaminérgico em neurônios nigrostriatais lesionados (CASS; PETERS, 2017).

Na avaliação do comportamento com uso de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo não foram observados sinais clínicos de intoxicação, no entanto níveis séricos de minerais após tratamento tiveram tempo prolongado (BACHMANN et al., 2013). A alta afinidade da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ pelo VDR dominam a fisiologia normal tornando o único ligante com acesso a transcrição gênica (JONES, 2008). Ativação excessiva do VDR devido altas doses em bovinos resulta em anorexia e calcificação de tecidos (HORST; LITTLEDIKE, 1982). Consequentemente a hipercalcêmica em casos de intoxicação resulta predominantemente da reabsorção óssea pelo efeito da vitamina D e não pela participação direta da absorção intestinal (SHANE; IRANI, 2006). Alterações no

comportamento e intoxicação estão associados a níveis excessivamente elevados de cálcio sérico por tempo prolongado o que evidencia os novilhos do experimento não terem apresentado sinais clínicos de intoxicação, no entanto doses altas e contínuas podem influenciar.

Medições bioquímicas sequenciais em casos de intoxicação mostraram a persistência de cálcio urinário mesmo após a normalização do cálcio sérico, enfatizando que a reabsorção óssea aumentada é uma característica proeminente da vitamina D (GOLTZMAN, 2010; ÖZKAN; HATUN; BEREKET, 2012). O cálcio excessivamente absorvido leva a deposição nos tecidos moles e resulta em calcinose (GIMENO et al., 2000; MELLO, 2003). Caracterizada por perda de peso, dificuldades locomotoras no sistema nervoso central, calcificação tecidual sistêmica, pulmonar, e comprometimento da função gastrointestinal, renal, vascular e na pele (MELLO, 2003; MESA MANTECA et al., 1983; GIMENO et al., 2000; ZANUZZI et al., 2012). Geralmente apresentam níveis séricos normais ou elevados de fósforo, baixos de fosfatase alcalina, elevados de vitamina D, PTH baixo, e níveis elevados de cálcio/creatinina na urina (ÖZKAN; HATUN; BEREKET, 2012; FONTANA et al., 2009).

Segundo Celi et al. (2018) bezerros suplementados com fontes de vitamina D por 90 dias não desenvolveram calcificação de tecidos, porém os autores relataram aumento das concentrações séricas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Doses excessivas ou administrações contínuas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ representam um risco de toxicidade e perturbação do sistema endócrino da vitamina D (VIEIRA-NETO et al., 2017).

Não houve interação de comportamento entre os parâmetros avaliados, a avaliação visual permite acompanhar o desenvolvimento de sinais clínicos de intoxicação (BACHMANN et al., 2013). Considerando que o bovino tem atividades seletivas, o aumento ou redução no tempo de pastejo implica em alterações nas demais variáveis do comportamento entre elas o tempo de ruminação, ócio e manejos (CARVALHO et al., 2007).

3.5 Conclusão

A suplementação oral de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo nas doses de 0,2 e 0,4 $\mu\text{g/kg}$ PC aumentam os níveis séricos de cálcio e fósforo. No entanto doses contínuas acima de 0,2 $\mu\text{g/kg}$ PC mostraram persistência nos valores séricos e podem apresentar intoxicações subclínicas. Serotonina, dopamina e hormônio da paratireoide não diferiram estatisticamente entre os tratamentos. Não foram percebidos sinais clínicos evidentes de intoxicação em doses contínuas de até de 0,4 $\mu\text{g/kg}$ PC por cinco dias consecutivos.

3.6 Referências

- ALVARES, C.A.; STAPE, J.L.; SENTELHAS, P.C. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v.22, n.6, p.711-728, 2014.
- ARAUJO, I.E.; FERREIRA, J.G.; TELLEZ, L.A. et al. The gut–brain dopamine axis: A regulatory system for caloric intake. **Physiology & Behavior**, v. 106, n. 3, p. 394–399, 2012.
- BACHMANN, H.; LANZ, M.; KEHRLE, S. et al. Effects of a sustained release formulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃-glycosides for milk fever prevention on serum 1,25-dihydroxyvitamin D₃, calcium and phosphorus in dairy cows. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 173, p. 301-307, 2017.
- BACHMANN, H.; OFFORD-CAVIN, E.; PHOTHIRATH, P. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃-glycoside of herbal origin exhibits delayed release pharmacokinetics when compared to its synthetic counterpart. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 136, p. 333-336, 2013.
- BARRAL, D.; BARROS, A.C.; ARAÚJO, R.P.C. Vitamina D: Uma Abordagem Molecular. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v. 7, n. 3, p. 309–315, 2007.
- BROOME, S.T.; LOUANGAPHAY, K.; KEAY, K.A. et al. Dopamine: an immune transmitter. **Neural Regeneration Research**, v. 15, n. 12, p. 2173-2185, 2020.
- CARVALHO, P.C.F.; KOZLOSLI, G.V.; RIBEIRO FILHO, H.M.N. et al. Avanços metodológicos na determinação do consumo de ruminantes em pastejo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, suplemento especial, p. 151–170, 2007.
- CASS, W.A.; PETERS, L.E. Reduced ability of calcitriol to promote augmented dopamine release in the lesioned striatum of aged rats. **Neurochemistry International**, v. 108, n. 1, p. 222–229, 2017.
- CELI, P.; WILLIAMS, S.; ENGSTROM, M. et al. Safety evaluation of dietary levels of 25-hydroxyvitamin D₃ in growing calves. **Food and Chemical Toxicology**, v. 111, n. 1, p. 641–649, 2018.
- CHABBI-ACHENGLI, Y.; COUDERT, A.E.; CALLEBERT, J. et al. Decreased osteoclastogenesis in serotonin-deficient mice. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 109, n. 7, p. 2567-2572, 2012.
- COMBS, G. F.; MCCLUNG, J. P. **The Vitamins**. 5.ed. Amsterdã: Elsevier, 2017. 612p.
- CORBELLINI, C.N.; HUERTAS, H.P.; CERUTTI DE MATTOS, A. Producción animal: prevención de hipocalcemia puerperal en vacas lecheras por manejo nutricional preparto. **Revista de Medicina Veterinaria**, v.73, n.6, p. 258-263, 1992.
- CUI, X.; PELEKANOS, M.; LIU, P. Y. et al. The vitamin D receptor in dopamine neurons; its presence in human substantia nigra and its ontogenesis in rat midbrain. **Neuroscience**, v. 236, n. 1, p. 77–87, abr. 2013.

- DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C. et al. **Métodos para análise de alimentos**. 1.ed. Visconde do Rio Branco: Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal-INCT, 2012. 214 p.
- EYLES, D.W.; SMITH, S.; KINOBE, R. et al. Distribution of the Vitamin D receptor and 1 α -hydroxylase in human brain. **Journal of Chemical Neuroanatomy**, v. 29, n. 1, p. 21–30, 2005.
- FONTANA, P.A. ; ZANUZZI, C.N. ; BARBEITO, C.G. et al. Thymic atrophy in cattle poisoned with *Solanum glaucophyllum*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 266–274, 2009.
- GIL, S.; DALLORSO, M.; HORST, R. Screening of Vitamin D activity (VDA) of *Solanum glaucophyllum* leaves measured by radioimmunoassay (RIA). **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 103, n. 5, p. 483–486, 2007.
- GIMENO, E.J.; COSTA, E.F.; GOMAR, M.S. et al. Effects of Plant-Induced Hypervitaminosis D on Cutaneous Structure, Cell Differentiation and Cell Proliferation in Cattle. **Journal of Veterinary Medicine** , v. 47, n. 4, p. 201–211, 2000.
- GINANE, C.; BONNET, M. ; BAUMONT, R. et al. Feeding behaviour in ruminants: a consequence of interactions between a reward system and the regulation of metabolic homeostasis. **Animal Production Science**, v. 55, n. 3, p. 247, 2015.
- GOFF, J.P. Calcium and Magnesium Disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 359-381, 2014.
- GOFF, J.P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 50-57, 2008.
- GOLTZMAN, D. Vitamin D action. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1192, n. 1, p. 145-152, 2010.
- GONZÁLEZ, F.H.D.; SILVA, S.C. **Minerais e vitaminas no metabolismo animal**. 1.ed. Porto Alegre: Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2019. 135p.
- GRÜNBERG, W. Treatment of Phosphorus Balance Disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 30, n. 2, p. 383–408, 2014.
- HERNÁNDEZ-CASTELLANO, L.E.; HERNANDEZ, L.L.; SAUERWEIN, H. et al. Endocrine and metabolic changes in transition dairy cows are affected by prepartum infusions of a serotonin precursor. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 6, p. 5050-5057, 2017 (a).
- HERNÁNDEZ-CASTELLANO, L.E.; HERNANDEZ, L. L.; WEAVER, S. et al. Increased serum serotonin improves parturient calcium homeostasis in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 2, p. 1580-1587, 2017 (b).
- HOENDEROP, J.G.J.; NILIUS, B.; BINDELS, R.J.M. Calcium Absorption Across Epithelia. **Physiological Reviews**, v. 85, n. 1, p. 373–422, 2005.

- HOLICK, M.F. Vitamin D. **Clinical Reviews in Bone and Mineral Metabolism**, v. 1, n. 3, p. 181–207, 2002.
- HORST, R.L. ; GOFF, J.P. ; GILL, S. et al. Using *Solanum Glaucophyllum* as a source of 1,25-dihydroxyvitamin D to prevent hypocalcemia in dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 44, n. 1, p. 67, 2003.
- HORST, R.L.; LITTLEDIKE, E.T. Comparison of plasma concentrations of vitamin D and its metabolites in young and aged domestic animals. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 73, n. 3, p. 485-489, 1982.
- ISHII, J.; URAMOTO, A.; NAGAO, Y. et al. Feeding *Solanum glaucophyllum* to preparturient multiparous cows prevents postparturient hypocalcemia. **Animal Science Journal**, v. 86, n. 10, p. 869-877, 2015.
- JONES, G. Pharmacokinetics of vitamin D toxicity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 88, n. 2, p. 582-586, 2008.
- LAPORTA, J.; KEIL, K.P.; WEAVER, S.R. et al. Serotonin Regulates Calcium Homeostasis in Lactation by Epigenetic Activation of Hedgehog Signaling. **Molecular Endocrinology**, v. 28, n. 11, p. 1866-1874, 2014.
- LAPORTA, J.; MOORE, S.A.E.; PETERS, M.W. et al. Short communication: Circulating serotonin (5-HT) concentrations on day 1 of lactation as a potential predictor of transition-related disorders. **Journal of Dairy Science**, v. 96, n. 8, p. 5146-5150, 2013.
- LITTLEDIKE, E. T.; STUEDEMANN J. A.; WILKINSON S. R.; HORST R. L. Grass tetany syndrome. in Proc. John Lee Pratt Int. Symp. Role Magnes. **Anim. Nutr. Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, VA.** p 173. 1983.
- MARKS, J.; SRAI, S.K.; BIBER, J. et al. Intestinal phosphate absorption and the effect of vitamin D: A comparison of rats with mice. **Experimental Physiology**, v. 91, n. 3, p. 531-537, 2006.
- MARTENS, H.; MAREK, S.L. ; RONTGEN,M. et al. Magnesium homeostasis in cattle: absorption and excretion. **Nutrition Research Reviews**, v. 31, n. 1, p. 114–130, 2018.
- MARTINEZ, N.; RISCO, C.A. ; LIMA, F.S. et al. Evaluation of peripartal calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 12, p. 7158–7172, dez. 2012.
- MARTÍN-TERESO, J.; MARTENS, H. Calcium and Magnesium Physiology and Nutrition in Relation to the Prevention of Milk Fever and Tetany (Dietary Management of Macrominerals in Preventing Disease). **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 643-670, 2014.
- MELLO, J.R.B. Calcinosis-calcinogenic plants. **Toxicon**, v. 41, n. 1, p. 1-12, 2003.
- MESA MANTECA, J.; SALA, A.S.; ALFONSO, G.O. et al. Vitamin D intoxication in 3 cases of hypothyroidism. **Revista clinica espanola**, v. 171, n. 4, p. 297–299, 30 nov. 1983.

- MEYER-BINZEGGER, M.; OLLAGNIER, C.; EGGERSCHWILER, L. et al. Pharmacokinetics of 1,25-dihydroxyvitamin D3 glycosides from *Solanum glaucophyllum* extract given in a rumen bolus on blood mineral profiles in dry pregnant dairy cows. **Research in Veterinary Science**, v. 142, n.1, p. 70-77, 2022.
- MIETLICKI-BAASE, E. G.; REINER, D. J.; CONE, J.J. et al. Amylin Modulates the Mesolimbic Dopamine System to Control Energy Balance. **Neuropsychopharmacology**, v. 40, n. 2, p. 372-385, 2015.
- MILLS, J.G.; THOMAS, S.J.; LARKIN, T.A. et al. Overeating and food addiction in Major Depressive Disorder: Links to peripheral dopamine. **Appetite**, v. 148, 104586, 2020.
- NAPOLI, J. L.; REEVE, L.E.; EISMAN, J.A. et al. *Solanum glaucophyllum* as source of 1,25 dihydroxyvitamin D 3. **Journal of Biological Chemistry**, v. 252, n. 8, p. 2580-2583, 1977.
- NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE - NASEM. **Nutrient Requirements of Beef Cattle**. 8.ed. Washington: National Academies Press, 2016. 494p.
- NELSON, C.D.; LIPPOLIS, J.D.; REINHARDT, T.A. et al. Vitamin D status of dairy cattle: Outcomes of current practices in the dairy industry. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 12, p. 10150-10160, 2016.
- ÖZKAN, B.; HATUN, Ş.; BEREKET, A. Vitamin D intoxication. **The Turkish Journal of Pediatrics**, v. 54, n. 2, p. 93-98, 2012.
- PEDREIRA, A.C.M.S.; LUCHIARI FILHO, A.; LEITE, V.B.O. et al. Quality characteristics of *Longissimus dorsi* muscle from *Bos indicus* animals treated with vitamin D3. **Scientia Agrícola**, v. 60, n. 4, p. 637-642, 2003.
- POINDEXTER, M.B.; ZIMPEL, R.; VIEIRA-NETO, A. et al. Effect of source and amount of vitamin D on serum concentrations and retention of calcium, magnesium, and phosphorus in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 106, n. 2, p. 954-973, 2023.
- PREMAOR, M. O.; FURLANETTO, T. W. Hipovitaminose D em adultos: entendendo melhor a apresentação de uma velha doença. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 1, p. 25-37, 2006.
- REINHARDT, T.A.; HORST, R.L.; GOFF, J.P. Calcium, Phosphorus, and Magnesium Homeostasis in Ruminants. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 4, n. 2, p. 331-350, 1988.
- RODNEY, R. M.; MARTINEZ, N.; BLOCK, E. et al. Effects of prepartum dietary cation-anion difference and source of vitamin D in dairy cows: Vitamin D, mineral, and bone metabolism. **Journal of Dairy Science**, v. 101, n. 3, p. 2519-2543, 2018.
- RODRIGUES, R.C. **Métodos de análises bromatológicas de alimentos: métodos físicos, químicos e bromatológicos**. 1ed. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010. 177p.

- SAPONARO, F.; SABA, A.; ZUCCHI, R. An update on vitamin d metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 18, p. 1-19, 2020.
- SINDICATO NACIONAL DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL- SINDIRAÇÕES. **Compêndio Brasileiro de Alimentação Animal. Método nº 11 - Espectrofotometria de Reflectância no Infravermelho Próximo (NIR)**. 5.ed. São Paulo: SINDIRAÇÕES 2017. p. 67 - 68.
- SHANE E.; IRANI D. Hypercalcemia: Pathogenesis, clinical manifestations, differential diagnosis, and management. In: BILEZIKIAN, J.P.; BOUILLON, R.; CLEMENS, T. (Ed.) **Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism**. 1.ed. Washington: American Society for Bone and Mineral Research, 2006. p. 176-180.
- TOKA, H.R. ; ROMAIH, K.A. ; KOSHY, J.M. et al. Deficiency of the Calcium-Sensing Receptor in the Kidney Causes Parathyroid Hormone–Independent Hypocalciuria. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 23, n. 11, p. 1879–1890, 2012.
- TRINKO, J.R. ; LAND, B.B. ; SOLECKI, W.B. et al. Vitamin D3: A Role in Dopamine Circuit Regulation, Diet-Induced Obesity, and Drug Consumption. **eneuro**, v. 3, n. 3, p. 1-16, 2016.
- TSIAMADIS, V.; BANOS, G.; PANOUSIS, N. et al. Genetic parameters of calcium, phosphorus, magnesium, and potassium serum concentrations during the first 8 days after calving in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 99, n. 7, p. 5535–5544, 2016.
- VALENTE, E. E. L.; KLOTZ, J.; EGERT-MCLEAN, A.M. et al. Influence of intra-abomasal administration of L-DOPA on circulating catecholamines and feed intake in cattle. **Frontiers in Animal Science**, v. 4, 1127575, p. 1-11, 2023.
- VALENTE, E.E.L.; KLOTZ, J.L.; HARMON, D.L. 5-Hydroxytryptophan strongly stimulates serotonin synthesis in Holstein steers. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 74, 06560, p. 1-8, 2021.
- VENJAKOB, P.L.; BAUERFEIND, L.; STAUFENBIEL, R. et al. Randomized clinical trial to evaluate the effects of a prepartum cholecalciferol injection on postpartum serum calcium dynamics and health and performance in early-lactation multiparous dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 2, p. 1573-1588, 2022.
- VENJAKOB, P.L.; BORCHARDT, S.; HEUWIESER, W. Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 11, p. 9258-9266, 2017.
- VIEIRA-NETO, A.; LIMA, I.R.P.; LOPES JUNIOR, F. et al. Use of calcitriol to maintain postpartum blood calcium and improve immune function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 100, n. 7, p. 5805-5823, 2017.
- VIEIRA-NETO, A.; NEGRO, G.; ZIMPEL, R. et al. Effects of injectable calcitriol on mineral metabolism and postpartum health and performance in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 104, n. 1, p. 683-701, 2021.

- WILKENS, M.R.; MUSCHER-BANSE, A.S. Review: Regulation of gastrointestinal and renal transport of calcium and phosphorus in ruminants. **Animal**, v. 14, suplemento 1, p. 29-43, 2020.
- WILKENS, M.R.; OBERHEIDE, I.; SCHRÖDER, B. et al. Influence of the combination of 25-hydroxyvitamin D3 and a diet negative in cation-anion difference on peripartal calcium homeostasis of dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 95, n. 1, p. 151-164, 2012.
- YANO, F.; HORIUCCHI, K.; MATSUI, T. et al. effect of 1α (OH)D3 injection on Ca and Mg absorption in thyroparathyroidectomized sheep. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 64, n. 5, p. 223–224, 1984.
- ZANUZZI, C.N. ; NISHIDA, F.; PORTIANSKY, E.L. et al. Effects of *Solanum glaucophyllum* toxicity on cell proliferation and apoptosis in the small and large intestine of rabbits. **Research in Veterinary Science**, v. 93, n. 1, p. 336–342, 2012.
- ZIMMERMAN, D.R.; KOSZEWSKI, N.J.; HOY, D.A. et al. Targeted delivery of 1,25-dihydroxyvitamin D3 to colon tissue and identification of a major 1,25-dihydroxyvitamin D3 glycoside from *Solanum glaucophyllum* plant leaves. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 148, n. 1, p. 318-325, 2015.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da administração oral de 1,25-dihidroxicolicalciferol glicosídeo em novilhos proporcionou dados sobre efeitos no metabolismo de cálcio, fósforo e magnésio. Os resultados obtidos destacam a interação entre a suplementação e a fisiologia, evidenciando a importância do controle de parâmetros sanguíneos para saúde e o bem-estar dos animais. A variação nas doses demonstrou resultados diferenciados indicando a necessidade de uma cuidadosa avaliação da dosagem para otimizar os benefícios de aditivos sem efeitos indesejáveis.

As descobertas do trabalho contribuem para o avanço do conhecimento científico na área da nutrição animal e da fisiologia bovina, para aprimorar as práticas de suplementação mineral em sistemas de produção pecuária. Diante disso, é fundamental que futuras pesquisas explorem ainda mais os efeitos da suplementação oral de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ glicosídeo em diferentes condições e populações animais.

Ampliação da amostra deve-se considerar a possibilidade de aumentar o número de animais estudados para fortalecer a validade estatística dos resultados e das conclusões. Avaliação de parâmetros complementares, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sérica, como marcadores de estresse, perfil metabólico e avaliação do sistema imunológico, para obter uma visão mais abrangente dos efeitos da suplementação. Contextualizar os resultados obtidos com a literatura existente destacando as contribuições do estudo para o conhecimento atual e aplicações práticas. Publicação dos resultados em periódicos científicos para compartilhar as descobertas com a comunidade acadêmica e profissional.

Ao implementar essas sugestões o trabalho poderá ser aprimorado em termos de metodologia, profundidade de análise e relevância dos resultados, contribuindo para o avanço do conhecimento na área da nutrição de ruminantes.