

# STUDIO PRELIMINARE SULL'UTILIZZAZIONE DELLA CAFFEINA NELLE SCROFE AL PARTO

## PRELIMINARY STUDY ON THE USE OF CAFFEINE IN FARROWING SOWS

MAZZONI C. <sup>1</sup>, SABBIONI A. <sup>2</sup>, BERTINI E. <sup>3</sup>, MENOZZI A. <sup>3</sup>, PIANCASTELLI C. <sup>1</sup>,  
CATELLI E. <sup>1</sup>, ZANARDELLI P. <sup>2</sup>, ZAMBINI E.M. <sup>2</sup>, SALERI R. <sup>2</sup>, SUPERCHI P. <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Veterinario libero professionista. SUIVET - Reggio Emilia; <sup>2</sup> Dipartimento di Produzioni Animali, Biotecnologie Veterinarie, Qualità e Sicurezza degli Alimenti, Università degli Studi di Parma; <sup>3</sup> Dipartimento di Salute Animale, Università degli Studi di Parma

**Parole chiave:** suini, parto, caffeina

**Key Words:** pigs, farrowing, caffeine

**Riassunto.** Con l'obiettivo di migliorare la vitalità dei suinetti alla nascita, attraverso interventi di facile applicazione pratica, si è voluto verificare se la caffeina, somministrata oralmente alla scrofa, sia rilevabile nei liquidi biologici (sangue, colostro) della stessa e nel sangue dei suinetti alla nascita. A tale scopo, 6 scrofe pluripare di genetica commerciale ibrida olandese, hanno ricevuto il giorno prima del parto (gruppo 1D), nei due giorni prima del parto (gruppo 2D) o nei tre giorni prima del parto (gruppo 3D), 6 grammi/capo/giorno di caffeina, in un'unica somministrazione prima del pasto del mattino. La caffeina è stata rilevata, al momento del parto, nel sangue materno, nel sangue dei suinetti e nel colostro.

**Abstract.** With the aim to improve the vitality of piglets at birth, by means of an easy practical application, it was investigated whether caffeine orally administered to sows can be detected in biological fluids (blood, colostrum) of sow and in the blood of piglets at birth. For this study, 6 multiparous hybrid breeding sows received the day before delivery (group 1D), two days before delivery (group 2D) or three days before delivery (group 3D), 6 grams / head / day of caffeine, a single dose before the morning meal. Caffeine was detected at the time of delivery, in the maternal blood, in piglets blood and in colostrum.

### INTRODUZIONE

La caffeina (1,3,7-trimetilxantina), una delle sostanze psicoattive più conosciute ed utilizzate al mondo, è un analettico respiratorio in grado di stimolare il centro del respiro midollare, aumentando la sensibilità al diossido di carbonio, ed è in grado di indurre broncodilatazione e di migliorare la contrattilità dei muscoli diaframmatici (Orozco-Gregorio et al., 2011). I suoi effetti sono essenzialmente dovuti alle sue azioni di antagonista dei recettori adenosinici, per cui mentre l'adenosina riduce l'eccitabilità cellulare (Fredholm, 1980), la caffeina potenzia invece l'attività di neurotrasmettitori eccitatori (Carter et al., 1995).

Dal punto di vista farmacocinetico gli studi sinora condotti, per lo più nella specie umana, hanno messo in luce che la caffeina è rapidamente e completamente assorbita nello stomaco (Magkos e Kavouras, 2005) e, a motivo della sua liposolubilità, è in grado di attraversare le membrane cellulari e di distribuirsi in tutti i liquidi biologici ed i tessuti (Carrillo e Benitez, 2000); è stato accertato il suo passaggio per diffusione passiva attraverso la placenta (Mose et al., 2008; Adén, 2011) e, dopo somministrazione orale, si rinviene nel latte materno (Stavchansky et al.,

1988). La caffeina è metabolizzata a livello epatico mediante reazioni di demetilazione con formazione di mono e dimetilxantine tra le quali figurano principalmente la paraxantina, la teofillina e la teobromina (Harland, 2000).

La caffeina viene comunemente usata, nella specie umana, nell'ipossia che affligge i neonati prematuri e quelli sottopeso (Schmidt, 2005; Orozco et al., 2011). La riduzione del flusso ematico e di ossigeno al feto durante il processo del parto è un'evenienza assai nota anche nella specie suina dove la mortalità perinatale dei suinetti rimane tuttora un serio problema. Circa il 40% delle morti presvezzamento, che avvengono per lo più alla nascita o durante il primo giorno di vita del suinetto, possono essere associate infatti ad una condizione di ipossia al parto (Mota et al., 2005). Una scarsa vitalità alla nascita è associata inoltre ad un prolungamento del tempo necessario al suinetto per raggiungere per la prima volta il capezzolo materno e, conseguentemente, per assumere il colostro.

I protocolli terapeutici sinora adottati per superare le difficoltà respiratorie che si hanno in un suinetto disvitalo sono risultati inefficaci o di difficile applicazione pratica. Recentemente, Orozco et al. (2010) hanno osservato che la somministrazione, subito dopo la nascita, di capsule di gelatina contenenti caffeina a suinetti in condizioni di ipossia è in grado di migliorare nell'arco delle prime 24 ore alcuni parametri metabolici (glucosio, colesterolo, trigliceridi) e di normalizzare la lattacidemia ed il pH ematico. Sebbene tali risultati siano interessanti, il protocollo è indubbiamente di non facile attuazione in allevamento. Per tale motivo, abbiamo programmato una serie di esperimenti con l'intento di valutare i possibili effetti analettici della caffeina sulla vitalità dei suinetti attraverso la somministrazione del farmaco alla scrofa, operazione sicuramente più semplice. Scopo del presente lavoro è stato verificare se la caffeina somministrata oralmente nella scrofa, sia rilevabile nei liquidi biologici (sangue, colostro) e se, attraversando la barriera placentare, sia presente alla nascita nel sangue dei suinetti.

## **MATERIALI E METODI**

Per la prova sono state utilizzate 6 scrofe pluripare (n. parto  $3.2 \pm 0.97$ ) di genetica commerciale ibrida olandese suddivise in tre gruppi di due soggetti ciascuno (1-3D). Gli animali, allevati nella stessa sala parto, hanno ricevuto 6 grammi/capo/giorno di caffeina (Sigma-Aldrich®, St. Louis, Mo), miscelata a circa 200 g di mangime da lattazione, in un'unica somministrazione, prima del pasto del mattino. Il gruppo 1D ha ricevuto la caffeina il giorno prima del parto, il gruppo 2D nei due giorni prima del parto e il gruppo 3D nei tre giorni precedenti il parto. La dose di caffeina somministrata è stata uguale a quella utilizzata da Li e Hacher (1995), in uno studio effettuato per valutare gli effetti della somministrazione cronica di caffeina sullo sviluppo della ghiandola mammaria nella scrofa. Il parto è avvenuto per tutte le scrofe al 114° d di gestazione ed è stato indotto (Kirkwood et al., 1998): al 113° giorno di gestazione sono state effettuate due somministrazioni di Alfaprostol (Gabbrostim®, Ceva Vetem SpA), alla dose di 1 mg/cadauna (split dose), alle ore 8:00 *a.m.* e 14:00 *p.m.*, nella zona perianale (ad ore 4 e ore 8 rispetto all'ano), come indicato da Kirkwood et al. (1996). Per aumentare l'effetto di sincronizzazione (protocollo ad alta sincronizzazione), la mattina del parto previsto (114° giorno), sono state somministrate alle scrofe che non avevano ancora iniziato a partorire, 14 U.I. di ossitocina (Izossitocina®, IZO SpA), nella zona perianale (Raffi et al., 2011). Al momento del parto, sono stati prelevati campioni sangue dalla vena auricolare e di colostro da tutti i capezzoli funzionanti di una linea mammaria. I campioni di sangue di tre suinetti per scrofa sono stati invece raccolti direttamente dal cordone ombelicale al momento della nascita oppure dalla vena giugulare, prima dell'assunzione di colostro. Il sangue, raccolto in provette da 2,5 ml contenenti litio-eparina, è stato immediatamente centrifugato a 1800xg per 10 min. (Ultra-8 Centrifuge, InfraTec, Ferrara, Italia). I campioni di plasma e di colostro sono stati quindi conservati a -20°C

fino al momento delle analisi. I livelli di caffeina sono stati misurati mediante tecnica HPLC (High Performance Liquid Chromatography) con rilevatore UV/VIS (Perkin-Elmer, Inc. San Jose, California, USA), sulla base della metodica di O'Connell e Zurzola (1984).

I dati sono stati elaborati mediante analisi della varianza ad una via (fattore fisso: gruppo), con software SPSS (ver. 19). Si è inoltre applicata l'analisi della correlazione di Pearson fra le concentrazioni di caffeina nel sangue delle scrofe e quelle nel sangue dei suinetti o nel colostro.

## RISULTATI

Tutte le scrofe hanno assunto senza difficoltà la quantità di caffeina stabilita. I livelli più bassi di caffeina ( $P < 0.05$ ), come riportato nella tabella 1, sono stati rilevati nel plasma dei soggetti, scrofe e suinetti, appartenenti al gruppo 1D. Nessuna differenza significativa ( $P > 0,05$ ) si è invece riscontrata tra i soggetti appartenenti ai gruppi 2D e 3D. La concentrazione di caffeina non è risultata diversa ( $P > 0.05$ ) nel colostro dei tre gruppi.

**Tabella 1** Contenuto di caffeina ( $\mu\text{g/ml}$ ) nel plasma delle scrofe e dei suinetti e nel colostro (media  $\pm$  d.s.)

*Table 1* Caffeine content ( $\mu\text{g/ml}$ ) in plasma of sows and piglets and in colostrum (mean  $\pm$  s.d.).

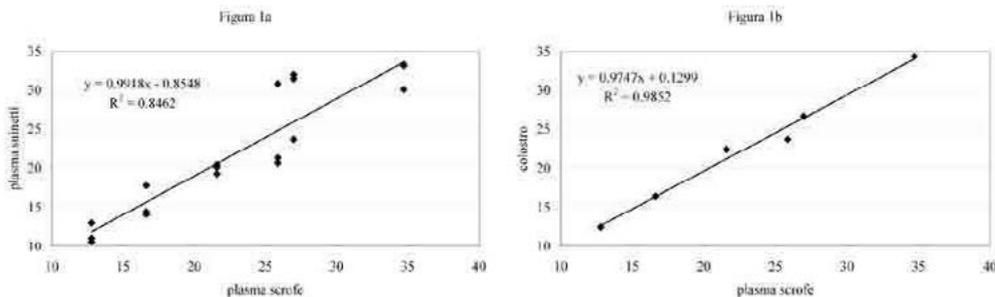
Gruppo	Plasma		Colostro
	scrofe	suinetti	
3D	25.47b $\pm$ 9.09	23.77b $\pm$ 9.33	25.36 $\pm$ 10.35
2D	27.40b $\pm$ 2.26	26.66b $\pm$ 5.33	25.16 $\pm$ 1.71
1D	17.18a $\pm$ 5.08	15.71a $\pm$ 4.70	17.39 $\pm$ 5.75

a,b:  $P < 0.05$

Le concentrazioni di caffeina nel plasma materno sono risultate altamente correlate a quelle presenti nel plasma dei suinetti ( $r = 0.920$ ;  $P < 0.0001$ ) e nel colostro ( $r = 0.993$ ;  $P < 0.0001$ ) (Figura 1).

**Figura 1** Relazione tra tenore di caffeina ( $\mu\text{g/ml}$ ) nel plasma materno e: a) nel plasma dei suinetti; b) nel colostro.

*Figure 1* Relationship between the caffeine content ( $\mu\text{g/ml}$ ) in plasma of sows and: a) in plasma of piglets; b) in colostrum.



## DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Pur tenendo conto del ridotto numero di soggetti coinvolti nello studio, i risultati ottenuti ci permettono di trarre alcune interessanti considerazioni. In primo luogo è possibile osservare che, analogamente a quanto riportato nella specie umana (Carrillo e Benitez, 2000), la caffeina, somministrata una volta al giorno alle scrofe per via orale, diffonde nei liquidi biologici. La sua presenza nel plasma di suinetti che non hanno ancora assunto il colostro ci permette inoltre di affermare che la caffeina è in grado di attraversare la barriera placentare. Alla luce dei confortanti risultati ottenuti in questa fase preliminare dello studio, le nostre indagini proseguiranno con l'intento, da un lato, di approfondire gli aspetti farmacocinetici della caffeina nella specie suina e, dall'altro, di verificare se essa è in grado di migliorare la vitalità dei suinetti alla nascita.

## BIBLIOGRAFIA

- Adén U. (2011) "Methylxanthines during pregnancy and early postnatal life". *Handb. Exp. Pharmacol.*, 200, 373-389.
- Carrillo J.A., Benitez J. (2000) "Clinically significant pharmacokinetic interactions between dietary caffeine and medications". *Clin. Pharmacokinet.*, 39, 127-153.
- Carter A.J., O'Connor W.T., Carter M.J., Ungerstedt U. (1995) "Caffeine enhances acetylcholine release in the hippocampus in vivo by a selective interaction with adenosine A1 receptors". *J Pharmacol Exp Ther.*, 273, 637-642.
- Fredholm B.B. (1980) "Are methylxanthine effects due to antagonism of endogenous adenosine?" *Trends. Pharmacol. Sci.*, 1, 129-132.
- Harland B.F. (2000) "Caffeine and nutrition". *Nutrition*, 16, 522-526.
- Kirkwood R.N., Aherne F.X. (1998). "Increasing the predictability of cloprostenol-induced farrowing in sows", *Swine Health and Production*, 6: 57-59.
- Kirkwood R.N., Thacker P.A., Aherne F.X., Goonewardene L.A. (1996). "The effect of dose and route of administration of prostaglandin F2a on the parturient response of sows", *Swine Health and Production*, 4: 123-126.
- Li S., Hacker R.R. (1995) "The effect of caffeine on mammary gland development and milk yield in primiparous sows" *J. Anim. Sci.*, 73, 534-540.
- Magkos F., Kavouras S.A. (2005) "Caffeine use in sports, pharmacokinetics in man, and cellular mechanisms of action". *Critical Rev. Food Nutr.*, 45, 535-562.
- Mose T., Kjaerstad M.B., Nielsen J.B., Edelfors S., Knudsen L.E. (2008) "Placental passage of benzoic acid, caffeine, and glyphosate in an ex vivo human perfusion system". *J Toxicol Environ Health A.*, 71, 984-991.
- Mota R.D., Martínéz-Burnes J., Trujillo O.M.E., López M.A., Rosales T.A.M., Ramírez N.R., Orozco G.H., Merino P.A., Alonso S.M. (2005) "Uterine and fetal asphyxia monitoring in parturient sows treated with oxytocin". *Anim. Reprod. Sci.*, 86, 131-141.
- O'Connell S.E., Zurzola F.J. (1984) "Rapid quantitative liquid chromatographic determination of caffeine levels in plasma after oral dosing". *J. Pharm. Sci.*, 73, 1009-1011.
- Orozco G.H., Mota R.D., Bonilla J.H., Trujillo O.M.E., Becerril H.M., Hernández G.R., Villanueva G.D. (2010) "Effects of administration of caffeine on metabolic variables in neonatal pigs with peripartum asphyxia". *Am. J. Vet. Res.*, 71, 1214-1219.
- Orozco G.H., Mota R.D., Villanueva G.D., Bonilla J.H., Suarez B.X., Torres G.L., Bolaños D., Hernández G.R., Martínez R.R., Trujillo O.M.E. (2011) "Caffeine therapy for apnea of prematurity: pharmacological treatment". *Af. J. Pharm. Pharmacol.*, 5, 564-571.

Raffi V., Donna R., Mazzoni C., Tonon F., Borri E., Scollo A., Bonilauri P., Gherpelli M. (2011) "Induzione del parto nella scrofa con protocollo farmacologico "ad alta sincronizzazione", Atti del XXXVII meeting annuale SIPAS, Piacenza 24-25 marzo, 157-163.

Schmidt B. (2005) "Methylxanthine therapy for apnea of prematurity: evaluation of treatment benefits and risks at age 5 years in the international caffeine for apnea of prematurity (CAP) trial". *Biol. Neonate*, 88, 208-213.

Stavchansky S., Combs A., Sagraves R., Delgado M., Joshi A. (1988) "Pharmacokinetics of caffeine in breast milk and plasma after single oral administration of caffeine to lactating mothers". *Biopharm Drug Dispos.*, 9, 285-299.