



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

INFLUÊNCIA DA GLUTAMINA E VITAMINA "E" SOBRE O
DESEMPENHO, RESPOSTA IMUNOLÓGICA E
MORFOMETRIA INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE

Autora: Márcia Izumi Sakamoto
Orientadora: Dra. Alice Eiko Murakami

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM ZOOTECNIA, no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá - Área de Concentração Produção Animal

MARINGÁ
Estado do Paraná
Julho de 2005

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S158i Sakamoto, Márcia Izumi
Influência da glutamina e vitamina E sobre o desempenho, resposta imunológica e morfometria intestinal em frangos de corte / Márcia Izumi Sakamoto. -- Maringá : [s.n.], 2005.
70 f. : il. color.

Orientadora : Prof. Dr. Alice Eiko Murakami.
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2005.

1. Frango de corte - Desempenho. 2. Títulos de anticorpos. 3. Vitamina E. 4. Mucosa intestinal. 5. PSE. I. Universidade Estadual de Maringá. Programa de Pós-Graduação em Zootecnia.

CDD 21.ed. 636.5

Devemos ser muito cautelosos com o que desejamos,
Pois não podemos mentir em vão para nós mesmos.

Quando não somos realistas a respeito
Do que queremos na vida, machucamos aos outros e,
Sobretudo a nós mesmos.

Pense claramente no que mais deseja.
Para você, o que realmente faz a vida valer à pena?
O que é que você de fato quer fazer com o tempo
Limitado de que dispõe?

Qual é a marca que pretende deixar no mundo?

Mas não gaste a vida inteira

Pensando no futuro, porque a chave do amanhã é **HOJE**.

Faça algo que você jamais imaginou

Que seria capaz de fazer - Viver no **PRESENTE!!!!**

Ao longo da jornada, lembre-se sempre

De que cada dia é uma dádiva preciosa.

Se você souber aproveitá-la e,

Dela tirar o que há de melhor, então

Acredite, haverá outro presente extraordinário

Esperando por você,

O AMANHÃ.

Bradley Trevor Greive

DEDICAÇÃO ESPECIAL

Aos meus Pais

Mitijiro e Haruka,

Por representarem tudo em minha vida!!!

Pela educação, amor, carinho, compreensão e auxílio à mim dedicados

Tornando possível mais esta etapa em minha vida.

"Dôumo Arigatôu!!!"

OFEREÇO

Aos meus Irmãos,

Marcos, Carlos e principalmente a Ana,

pelo constante incentivo, apoio, carinho e auxílio

nos momentos mais difíceis desta jornada.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Profa. Dra. ALICE EIKO MURAKAMI, pela confiança à mim depositada. Pela orientação de todos estes anos, com muita seriedade, dedicação e acima de tudo com muita amizade, incentivando-me sempre para o crescimento pessoal e profissional.

MINHA ETERNA GRATIDÃO

AGRADECIMENTOS

À DEUS, pela vida, saúde e o privilégio de aprender e ser utilizada como instrumento para o Caminho traçado por Ele;

Aos professores do Curso de Pós-Graduação em Produção Animal/PPZ/UEM, em especial ao Prof. Dr. Antônio Cláudio Furlan e Prof. Dr. Elias Nunes Martins, que sempre me acompanharam e incentivaram nesta difícil caminhada, minha profunda admiração e afeto;

À Profa. Dra. Maria Raquel Marçal Natali/DCM pela valiosa colaboração, atenção, dedicação e amizade à mim prestada;

À Profa. Dra. Thaís G. V. Silveira/DAC pela atenção, colaboração e sugestões ao trabalho;

Aos secretários do Curso de Pós-Graduação: Waldirene e Denilson, pelo auxílio e colaboração durante o curso;

Às "técnicas-Marias" do laboratório de Histotécnica Animal/DCM/UEM: Maria Euride e Maria dos Anjos, pelos ensinamentos, pela colaboração, amizade e carinho durante toda a confecção do material;

Aos técnicos do laboratório de Imunogenética/DAC/UEM: Paulo, Marina e "Dona Ivone", pela colaboração e auxílio durante as análises laboratoriais;

Ao técnico José Antônio de Souza, do laboratório de imagens DCM/UEM, pela colaboração nas capturas das imagens histológicas;

À minha querida amiga Luciana Maria Garcia de Souza (Nani), pelo constante apoio, incentivo, carinho e amizade em todos os momentos desta "atribulada" e gratificante jornada: *"Um irmão pode não ser um amigo, mas um amigo será sempre um irmão"*;

Às amigas Cláudia Yurika Tamehiro (Yuka) e Jovanir Inês Müller Fernandes (Jô), pelo companheirismo, ensinamentos, amizade e apoio em mais esta importante caminhada;

Ao meu amigo José Rodrigo Galli Franco, pela amizade, companheirismo e cumplicidade de todos estes anos;

Aos "irmãos" da Avicultura: Luís Daniel G. Bruno, Suelen Regina, Elis Regina, Ana Paula Ton, Fábio Bratti, Mariela, Eliany e Rafael, pela colaboração, amizade e por momentos agradáveis que ficarão registrados em minha mente;

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi/FEI: Célio Passolongo, Pedro Gasparotto, Valentim, "Toninho" Parma, "Toninho" Moraes, "Seu Clóves", Wilson, "Seu Carlos", pela colaboração e ajuda prestada durante a condução deste e de todos os experimentos realizados;

Aos amigos do curso: Marianne Kutschenko, Erica T. Tsuzuki, Patrícia Faquinello, Augusto Manoel, Fabiana Martins, Sara, Marcos, Diovani, Jaime, Ângela e Néelson, pelos momentos amigáveis que passamos juntos;

Aos amigos da "Histologia": Angélica Soares, Angélica Marese, Eleandro Tronchini, Cristiano Tashima, João Paulo (JP), Priscila e Luciana Patrícia, pelo companheirismo e pelos momentos agradáveis e divertidos que passamos no laboratório (dia e noite);

Aos amigos Antônio Carlos (Carlão) e Meiby de Paula, pelo auxílio, colaboração e amizade nas análises estatísticas deste e de muitos outros experimentos;

Às secretárias da Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação/PPG: Josinete Aparecida Orlandini (Josi) e Marina Camargo Antunes, pelos constantes "auxílios" nas prestações de contas;

À DEUS, novamente, por ter colocado em meu caminho pessoas abençoadas que só me fizeram crescer e que me auxiliaram em todos os obstáculos que me fizeram cair; deixando marcas que ficarão registradas com toda a minha gratidão.

"DÔUMO ARIGATÔU"!!!!!!

アリガトウ

ÍNDICE

	Página
1 - RESUMO.....	01
2 - ABSTRACT.....	02
3 - CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	03
4- CAPÍTULO 1: INFLUÊNCIA DA GLUTAMINA E VITAMINA E SOBRE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE DE FRANGOS DE CORTE.....	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	13
INTRODUÇÃO.....	15
MATERIAL E MÉTODOS.....	20
RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	26
CONCLUSÃO.....	33
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34
5- CAPÍTULO 2: SUPLEMENTAÇÃO DA GLUTAMINA E VITAMINA E SOBRE A MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE.....	39
RESUMO.....	40
ABSTRACT.....	42
INTRODUÇÃO.....	44
MATERIAL E MÉTODOS.....	49
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	52
CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	65
6- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	70

INFLUÊNCIA DA GLUTAMINA E VITAMINA "E" SOBRE O DESEMPENHO, RESPOSTA IMUNOLÓGICA E MORFOMETRIA INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO

O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação da glutamina (Gln) e vitamina E (VE) na dieta sobre a intensidade da resposta imunológica (título de anticorpos e hipersensibilidade cutânea basófila), morfometria intestinal, desempenho e qualidade da carne em frangos de corte (Cobb-Vantress[®]). O delineamento foi inteiramente casualizado num esquema fatorial 2 x 3 (VE x Gln). Os níveis de VE utilizados foram de 10 e 500 mg/kg, com e sem a utilização de 1% de Gln (de 1 a 7 dias ou 1 a 14 dias de idade). Os dados obtidos de cada parâmetro foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$), utilizando o programa SAS (2000). Os resultados evidenciaram uma melhora significativa ($P \leq 0,05$) na morfometria da mucosa intestinal, porém não observando diferenças entre os tratamentos quanto ao desempenho dos frangos com a suplementação. Apesar da Gln ter apresentado efeito linear ($P < 0,05$) decrescente sobre o pH muscular, este não caracterizou efeito PSE (*Pale, Soft, Exudative*) na carne do peito. Quanto à resposta imune, o título de anticorpos dos frangos não foi influenciado ($P > 0,05$) pelos tratamentos, porém houve maior proliferação celular após 12 horas da inoculação com o nível de 10 mg de VE/kg. De acordo com os resultados obtidos, pode-se concluir que a suplementação de Gln (na 1^a semana de idade) com 10 mg de VE/kg proporcionaram melhor desenvolvimento da mucosa intestinal, bem como favoráveis condições para o sistema imune dos frangos de corte.

Palavras - chave: mucosa intestinal, qualidade da carne, títulos de anticorpos

ABSTRACT

The experiment was carried out to evaluate the effect of glutamine (Gln) and vitamin E (VE) supplementation in diets on immunologic responses intensity (antibody titers and cutaneous basophil hypersensitivity), intestinal mucosa morphometric, performance and meat quality of broiler chickens (Cobb-Vantress®). The experimental design was completely randomized in a factorial scheme 2 x 3 (VE x Gln). The VE levels used were 10 and 500 mg/kg, with and without 1% of Gln (1 to 7 days or 1 to 14 days of age). The obtained data of each parameter were submitted to variance analysis and the averages compared by Tukey's test ($P \leq 0.05$), using the SAS program (2000). The results evidenced a significant improvement ($P \leq 0.05$) in the intestinal mucosa morphometric, even so not observed differences among the treatments in relation to the performance of chickens with supplementation. In spite of Gln presented linear effect ($P \leq 0.05$) decreasing on the pH of muscle, this did not characterize effect PSE (*Pale, Soft, Exudative*) in the meat. In relation to the immune response, the antibody titers of the chickens was not influenced ($P > 0.05$) for the treatments, even so there was higher cellular proliferation after 12 h of the inoculation with 10 mg VE/kg. In agreement with the obtained results, can be concluded that the Gln supplementation (in first week of age) with 10 mg VE/kg provided better intestinal mucosa development, as well as favourable conditions for the immune system of broiler chickens.

Key words: antibody titers, intestinal mucosa, meat quality

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O bem-estar animal faz parte das boas práticas de produção, buscando melhores alternativas para o desempenho produtivo. A ambiência, a nutrição e o manejo adequado geram o bem-estar animal e sempre foram requisitos para a viabilidade econômica (Prestes, 2005). Várias pesquisas têm sido realizadas na área da nutrição e da sanidade de frangos de corte buscando melhorar a produção e a saúde animal. Outro problema bem caracterizado é a qualidade da carne produzida, visto que os consumidores estão cada vez mais exigentes e preocupados com a qualidade dos produtos que consomem.

A exposição natural dos frangos aos patógenos endêmicos no ambiente de produção e o uso de vacinas fornecem um desafio ao sistema imune. Durante este período ocorrem alterações metabólicas específicas que desviam nutrientes necessários à elevação do estresse imunológico para a imediata sobrevivência, assim como o prolongamento da resposta imune contra os mecanismos invasores. Geralmente, o efeito deste estresse é observado com a redução da taxa de crescimento e piora na conversão alimentar, já que os nutrientes são desviados para a resposta imune (Bains, 1996).

Os componentes do sistema imune têm que: reconhecer um antígeno estranho (invasor); processar e apresentar este antígeno aos tipos apropriados de células do sistema imune; organizar uma resposta imune eficiente, eliminar o antígeno; e desenvolver uma memória imunológica. Portanto, a função chave do sistema imune é especificidade (isto é, responde somente a antígenos estranhos) e além disso, estabelece uma memória para que possa responder mais eficientemente no próximo encontro com um antígeno previamente reconhecido (Qureshi, 2002).

Sabe-se que durante a resposta imunológica, as células como os fagócitos, liberam radicais livres com o objetivo de eliminar o agente infeccioso invasor. No entanto, estes radicais livres reagem agressivamente no tecido vivo do próprio animal, causando danos como a peroxidação dos lipídeos, alterando a permeabilidade das membranas celulares. Uma medida preventiva aos danos celulares provocados pelas células imunológicas seria a ingestão de altas doses de nutrientes antioxidantes, como a vitamina E, além de aumentar a resposta imune à doenças infecciosas (Barbi et al., 1999).

A vitamina E age como antioxidante biológico a nível das membranas celulares e sua capacidade de evitar a destruição oxidativa das membranas, sugere que ela possa eventualmente ser útil na prevenção de condições associadas a destruição de radicais livres, tais como o envelhecimento e efeitos de toxinas ambientais (Siqueira et al., 1997), além de aumentar a estabilidade da cor da carne e diminuir os níveis de rancificação (Barreto et al., 1996)

A proteção da ação oxidante começa no período embrionário das aves, onde a dieta materna apresenta efeito determinante, persistindo durante o período inicial pós-eclosão (Surai, 1999). O autor observou que dietas de matrizes contendo altos níveis de vitamina E (100 a 200 ppm) propiciaram aumento na concentração de glutathione no fígado do recém-nascido. A glutathione é considerada um dos antioxidantes hidrossolúveis mais importantes para a célula e sua concentração elevada pode ser considerada como um indicativo de aumento da proteção aos tecidos.

Na eclosão, o sistema digestório dos pintos está anatomicamente completo (Overton & Shoup, 1964), mas sua capacidade funcional ainda está imatura se comparado às aves adultas. Assim, após a eclosão, o trato gastrointestinal (TGI) sofre gradativa maturação funcional do intestino, as quais envolvem mudanças morfológicas e fisiológicas, que proporcionam um aumento na área de superfície de digestão e de absorção.

A mucosa intestinal compreende uma extensa área, exposta a agentes exógenos presentes durante a ingestão, digestão e absorção de nutrientes. É considerada a maior interface entre o hospedeiro e ambiente. Suas células regulam a entrada de nutrientes da ingesta e defendem o organismo contra os agentes nocivos presentes no lúmen (Maiorka et al., 2000). Tem crescimento contínuo e é afetada não apenas pelos hormônios metabólicos (insulina, GH, tiroxina e glicocorticóides) mas também por outros fatores relacionados com o alimento, como as características físicas e químicas dos nutrientes e microflora intestinal (Zhao et al., 1998). O epitélio da mucosa do intestino delgado é bem organizado, formado por vilosidades e criptas mantidas por pequenos vasos sanguíneos e linfáticos, sustentados por tecidos conjuntivos da lâmina própria e da submucosa. Outros elementos celulares, incluindo macrófagos e fibroblastos, realizam funções especializadas que auxiliam na preservação da integridade da mucosa (Williamson, 1978).

A presença do alimento é um estímulo importante para o crescimento da mucosa intestinal, embora o intestino seja único na habilidade de rápida adaptação ao estresse nutricional (Francis & Schleiffer, 1996). Segundo Macari & Maiorka (2000), a mucosa gastrointestinal de frangos de corte pode ser influenciada por fatores tróficos, relacionados com a ingestão e absorção de alimentos e por suas características químicas e físicas. Um destes fatores considerado como estimulante da proliferação intestinal é o aminoácido glutamina (Gln) que é considerado o principal metabólito que nutre as células intestinais. O glutamato, derivado da hidrólise da Gln, pode ser utilizado na síntese protéica ou convertido em α -cetogluturato, pela ação da glutamato-desidrogenase e originar α -cetogluturato e alanina (Souba et al., 1985). A energia gerada pela oxidação do α -cetogluturato, no ciclo do ácido cítrico, torna a Gln um substrato energético para as células do intestino delgado.

A Gln é o aminoácido livre mais abundante na circulação e nos espaços intracelulares, além de ser precursor da síntese de aminoácidos, nucleotídeos, ácidos nucléicos, açúcares aminados e proteínas (Souba, 1993). É considerado aminoácido essencial em algumas espécies sob condições inflamatórias, de desafio sanitário ou cirurgias (Newsholme, 2001).

Moran & Stillborn (1994) relataram que a suplementação de glutamina melhorou o peso corporal de frangos com sete semanas de idade, mas não apresentou efeito sobre a eficiência alimentar acumulada ou sobre a mortalidade das aves.

Yi et al. (2001a) observaram que o fornecimento de uma dieta com 1% de Gln para frangos de corte, diminuíram a profundidade das criptas no duodeno e no jejuno aos 3 dias de idade, e melhorou a proporção vilos:cripta no jejuno aos 14 dias de idade. Em estudo com perus, o fornecimento de dieta com 1% de Gln aumentou a taxa de crescimento na primeira semana e a eficiência alimentar durante as três primeiras semanas de idade, mas não teve efeitos benéficos sobre a morfometria da mucosa no duodeno e no jejuno em comparação a uma dieta controle (Yi et al., 2001b).

A Gln pode ser utilizada para a proliferação dos linfócitos, mas por outro lado o local de ação da Gln ainda não é bem conhecida. É sugerido que a mesma pode ser utilizada com grande rapidez pelas células do sistema imune (macrófagos, linfócitos e neutrófilos), otimizando as funções celulares, no caso de alterações no sistema imune (Lebow & Souba, 2000; Medina, 2001). De acordo com Yi & Allee (2005), a Gln também tem grande importância na gliconeogênese e na homeostase do pH muscular.

Devido ao crescimento da produção de industrializados e de consumidores cada vez mais exigentes, um dos maiores desafios das indústrias de carnes é oferecer produtos macios, suculentos, com cor e sabor agradáveis e que estas características de frescor mantenham-se estáveis durante toda a sua vida de prateleira, com a maior segurança e o menor custo possíveis. Dentro deste aspecto, um dos maiores problemas enfrentados pela indústria processadora, é a questão da carne PSE (Olivo & Shimokomaki, 2002).

O termo PSE (*Pale, Soft, Exudative*) cuja tradução literal significa carnes com características pálida, flácida e exsudativa, é reconhecido como um sério problema devido à sua importância econômica. Durante a conversão do músculo em carne, quando da instalação do *rigor mortis*, ocorre o abaixamento do pH, devido à produção do ácido lático, em função da glicólise anaeróbica. A rápida glicólise causa desnaturação protéica, levando ao comprometimento das propriedades funcionais das carnes, conferindo assim, pobres características de processamento, com redução dos rendimentos dos produtos (Olivo, 2004).

Diante do exposto, este experimento foi conduzido com objetivo de avaliar a influência da suplementação de glutamina e vitamina E, sobre a intensidade das respostas imunológicas, morfometria da mucosa intestinal, desempenho zootécnico e qualidade da carne de frangos de corte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAINS, B.S. The role of vitamin C in stress management. *World Poultry Misset*, v.12, n.4, p.38-41, 1996.
- BARBI, J.H., BECKER, B.G., ROBEY, E.W. Antioxidantes em rações avícolas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO AVÍCOLA, 1999, Campinas. *Anais...* Campinas, 1999. p.219-246.
- BARRETO, A.C.S., IDA, E.I., OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M., SILVA, R.S.F. Modelling for controlling poultry sliced sausage lipid oxidation and discoloration by response surface methodology. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF MEAT SCIENCE AND TECHNOLOGY, 42, Lillehammer, 1996. *Proceedings...* Norwegian Food Research Institute, 1996, p.119-120.
- FRANCIS, R., SCHLEIFFER, R. Intestinal adaptation to nutritional stress. *Proceeding of the Nutrition Society*, v.55, p.279-289, 1996.
- LEBOW, B.I., SOUBA, W.W. Glutamine. *World Journal of Surgery*, v.24, p.1503-1513, 2000.
- MACARI, M., MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo...*Anais*, Campinas:FACTA, 2000, v.2, p.161-174.
- MAIORKA, A., SILVA, A.V.F., SANTIN, E., BORGES, S.A., BOLELI, I.C., MACARI, M. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.52, n.5, p.487-490, 2000.
- MEDINA, M.A. Glutamine and cancer. *Journal of Nutrition*, v.131, n.9, p.2539S-2542S, 2001.
- MORAN, JR., E.T., STILLBORN, H.L. Responses of broilers to glutamic acid when given reduced CP feeds high and low in potassium. *Poultry Science*, v.73, n.1, p.74, 1994.
- NEWSHOLME, P. Why is L-Glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *Journal of Nutrition*, n.131, p.2515S-2522S, 2001.

- OLIVO, R. Atualidades na qualidade da carne de aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2004, Santos, São Paulo....*Anais*, Santos:FACTA, 2004, v.2, p.143-151.
- OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No caminho da pesquisa**, 2^a. Edição, Cocal do Sul:Imprint, 2002. 155p.
- OVERTON, J., SHOUP, J. Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick. *Journal Cell Biology*, v.21, p.75-82, 1964.
- PRESTES, J.A. Bem-Estar animal: O que as empresas estão fazendo para atender as demandas internacionais. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2005, Santos, São Paulo....*Anais*, Santos:FACTA, 2005, v.2, p.67-78.
- QURESHI, M.A. Interação entre nutrição e o sistema imune e produtividade das aves. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2002, Campinas, São Paulo....*Anais*, Campinas:FACTA, 2002, p.243-254.
- SAS INSTITUTE (2000). SAS® (Statistical Analysis System) User's guide, Statistics, versão 8.1, v.2, 4^a. ed. Cary. 2000.
- SIQUEIRA, F.M., OETTERER, M., REGITANO-D'ARCE, M.A.B. Nutrients oxidantes. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência de Tecnologia de Alimentos*. Campinas, v.31, n.2, p.192-199, 1997.
- SOUBA, W.W., SMITH, R.J., WILMORE, D.W. Glutamine metabolism by the intestinal tract. *Journal of Parenteral Enteral Nutrition*, v.9, p.608-617, 1985.
- SOUBA, W.W. Intestinal glutamine metabolism and nutrition. *Journal Nutrition of Biochemistry*, v.4, p.2-9, 1993.
- SURAI, P.F. Vitamin E in avian reproduction. *Poultry and Avian Biology Reviews*, v.10, n.1, p.1-60, 1999.
- WILLIAMSON, R.C.N. Intestinal adaptation. Structural, functional and cytokinetic changes. *New England Journal of Medicine*, v.298, p.1444-1452, 1978.
- YI, G.F., ALLEE, G.L., FRANK, J.W., SPENCER, J.D., TOUCHETTE, K.J. Impact of glutamine, menhaden fish meal and spray-dried plasma on the growth and intestinal morphology of broilers. *Poultry Science*, v.80, Supplement 1 (Abstract), 2001a.
- YI, G.F., ALLEE, G.L., SPENCER, J.D., FRANK, J.W., GAINES, A.M. Impact of glutamine, menhaden fish meal and spray-dried plasma on the growth and intestinal

morphology of turkey poult. *Poultry Science*, v.80, Supplement 1 (Abstract), 2001b.

YI, G.F., ALLEE, G.L. Revisão de literatura: Glutamina (Gln) e Glutamato (Glu). www.lisina.com.br. Acesso em 15/01/2005.

ZHAO, F., OKINE, E.K., CHEESEMAN, C.I. Glucose transport gene expression in lactating bovine gastrointestinal tract. *Animal Science*, v.76, p.2921-2929, 1998.

CAPÍTULO 1

INFLUÊNCIA DA GLUTAMINA E VITAMINA "E" SOBRE A
RESPOSTA IMUNOLÓGICA, DESEMPENHO E QUALIDADE DA
CARNE EM FRANGOS DE CORTE

INFLUÊNCIA DA GLUTAMINA E VITAMINA "E" SOBRE A RESPOSTA IMUNOLÓGICA, DESEMPENHO E QUALIDADE DA CARNE EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO: O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da suplementação da glutamina (Gln) e vitamina E (VE) nas rações sobre a resposta imunológica, desempenho e qualidade da carne em frangos de corte (Cobb-Vantress®). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado num esquema fatorial 2 x 3 (VE x Gln). Os níveis de VE utilizados foram de 10 e 500 mg/kg de ração, com e sem a utilização da Gln (1%) e dois períodos de administração das rações iniciais com Gln (de 1 a 7 dias e 1 a 14 dias de idade), totalizando seis tratamentos com cinco repetições de 50 aves por unidade experimental. No período de crescimento (de 22 a 41 dias de idade), os tratamentos consistiram apenas nos respectivos níveis de VE. Os parâmetros analisados foram: desempenho zootécnico (ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar); pH muscular; peso relativo do baço, bursa de Fabrício e timo; título de anticorpos (imunidade humoral) e hipersensibilidade cutânea basófila (imunidade celular). Aos 41 dias de idade, duas aves por repetição foram abatidas para retirada do peito, baço, bursa de Fabrício e timo. O pH da carne foi medido a cada 5 minutos, durante 60 minutos no músculo *Pectoralis major*. Para avaliação imunológica, duas aves por repetição foram inoculadas com uma suspensão de eritrócitos de carneiro (*Sheep Red Blood Cells* - SRBC), intramuscular no peito das aves, para determinar o título de anticorpos. Outras duas aves por repetição foram inoculadas intradermicamente, no espaço interdigital entre o 3º e 4º dedo do pé direito com Fitohemaglutinina-P (PHA-P) para determinação da hipersensibilidade cutânea basófila (CBH). O espessamento da pele do espaço interdigital foi medido antes (tempo zero), 6, 12 e 24 horas após a injeção de PHA-P. Aos dados obtidos foram aplicados análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Os tratamentos não apresentaram efeito ($P > 0,05$) sobre o desempenho e o título de anticorpos dos frangos de corte. Quanto à resposta imune celular (CBH), a VE apresentou efeito ($P = 0,01$) linear decrescente para os níveis avaliados, sendo que no tempo de 12 horas pós-inoculação, o nível de 10 mg VE/kg proporcionou maior proliferação celular quando comparado com 500 mg VE/kg. Em relação ao peso relativo dos órgãos linfóides, somente o baço apresentou efeito ($P = 0,035$) para a Gln, cuja utilização na primeira

semana de idade apresentou maior peso em relação ao período de 1 a 14 dias de idade. A Gln influenciou ($P=0,001$) linearmente o pH muscular dos frangos, porém nenhuma fase apresentou indícios da ocorrência de PSE (*Pale, Soft, Exudative*) na carne. Os resultados mostraram que o nível de 10 mg VE/kg com a Gln (de 1 a 7 dias de idade) promoveram melhores condições ao sistema imune dos frangos de corte.

Palavras-chave: anticorpos, glicólise, hipersensibilidade cutânea, PSE

INFLUENCE OF GLUTAMINE AND VITAMIN E ON IMMUNOLOGIC RESPONSES, PERFORMANCE AND MEAT QUALITY IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT: This experiment was carried out to evaluate the influence of glutamine (Gln) and vitamin E (VE) supplementation in diets on immunologic responses, performance and meat quality of broiler chickens (Cobb-Vantress®). The experimental design was completely randomized in a factorial scheme 2 x 3 (VE x Gln). The VE levels used were 10 and 500 mg/kg, with and without the Gln (1%) utilization and two periods supplying the starter diets with Gln (1 to 7 days and 1 to 14 days of age), totalizing six treatments with five replicates of 50 birds for experimental unit. In the grower period (22 to 41 days of age), the treatments only consisted of the respective VE levels. The analyzed parameters were: performance (body weight gain, feed intake and feed:gain ratio); pH of muscle; relative weight of spleen, Fabricius' bursa and thymus; antibody titers (humoral immune system) and cutaneous basophil hypersensitivity (cellular immune system). At 41 days of age, two birds per replicate were slaughtered to collect the breast muscle, spleen, Fabricius' bursa and thymus. For immunologic evaluation, two birds per replicate were intramuscularly injected with a sheep red blood cells (SRBC) suspension in the breast, to determine the antibody titers. Other two birds were intradermally injected, in the interdigital space between third and fourth right foot digits with phytohemagglutinin-P (PHA-P) to determine of the cutaneous basophil hypersensitivity (CBH). The skin thickness of the interdigital space was measured before (time zero), 6, 12 and 24 h after the PHA-P injection. The obtained data were submitted to variance analysis and the averages compared by Tukey's test ($P \leq 0.05$). The treatments did not present effect ($P > 0.05$) on performance and antibody titers of broilers. In relation to the cellular immune response (CBH), the VE presented a linear decreasing effect ($P = 0.01$) for the analysed levels, where the 10 mg VE/kg level presented higher cellular proliferation at 12 h after injection when compared with 500 mg VE/kg. Considering to relative organ weights, only the spleen presented effect ($P = 0.035$) for Gln, which the first week of age utilization presented higher weight in relation to the period of 1 to 14 days of age. The Gln influenced ($P = 0.001$) linearly the pH in broiler's meat, but none of the phase presented indications PSE (*Pale, Soft, Exudative*) occurrence in the meat. The results showed that the 10 mg

VE/kg level with Gln (1 to 7 days of age) provided better conditions for immune system for broiler chickens.

Key words: antibody, cutaneous basophil hypersensitivity, glycolysis, PSE

INTRODUÇÃO

Ação da vitamina E sobre a resposta imunológica e qualidade da carne

A vitamina E é o antioxidante natural mais amplamente conhecido e o alfa-tocoferol é a forma biologicamente mais ativa da vitamina E para as funções fisiológicas, mas tem eficácia limitada como antioxidante. As formas delta e gama são superiores como antioxidantes, mas são menos eficientes em sua capacidade de sustentar o crescimento e o desempenho animal (Rutz & Lima, 1994).

O alfa-tocoferol é depositado na bicamada lipídica das membranas formando um complexo com os fosfolipídeos aumentando a viscosidade e facilitando a união dos ácidos graxos poliinsaturados, elevando assim, a estabilidade das membranas e conferindo melhores características funcionais, aumentando a estabilidade da oximioglobina e dos lipídeos, resultando respectivamente, em menor descoloração e rancificação nas carnes (Jensen et al., 1995; Liu et al., 1996; Guidera et al., 1997; Morrissey et al., 1998). O alfa-tocoferol também inibe a enzima fosfolipase A2 prevenindo a hidrólise dos fosfolipídeos das membranas (Surai, 1999).

A vitamina E doa elétrons aos radicais livres tornando-os estáveis, evitando que eles se liguem aos ácidos graxos, inibindo assim, a reação de oxidação, mantendo com isto a integridade da membrana celular (Rutz & Lima, 1994).

De acordo com Klasing (1998), além da vitamina E ser a primeira linha de defesa do organismo contra a ação dos radicais livres, protegendo as células hospedeiras e modulando a resposta imune, atua também na redução da síntese de prostaglandinas, leucotrienos e citocinas modulando a resposta inflamatória e assim reduzindo os danos que o processo inflamatório causa aos tecidos.

Chung & Boren (1999) avaliaram os benefícios da suplementação da vitamina E na dieta de frangos e verificaram que as aves que receberam 240 mg de vitamina E/kg tiveram melhora na conversão alimentar de 2,3 % em relação ao grupo controle (33 mg de vitamina E/kg). As aves que receberam 240 mg de vitamina E/kg na dieta tiveram redução de 34%, 25% e 61% nas condenações de carcaças por doenças, septicemia/toxemia e processos inflamatórios, respectivamente, quando comparadas ao grupo controle.

No entanto, Erf et al. (1998) alimentando frangos de corte com dietas contendo níveis crescentes de vitamina E (0, 17, 46 e 87 mg de dl- α -tocoferol/kg) não verificaram

efeito da suplementação sobre a porcentagem de linfócitos B e macrófagos do timo e do baço, porém verificaram que a suplementação de vitamina E, independente da dose, resultou em uma maior produção de células T ($CD4^+$ e $CD8^+$) quando comparada as aves que não receberam vitamina E.

Boa-Amponsem et al. (2000) ao alimentarem frangos com dietas contendo 10 e 300 mg de vitamina E/kg e desafiarem as aves com uma solução intravenosa de eritrócitos de carneiro, verificaram que a suplementação de vitamina E não teve influência sobre o título de anticorpos anti-hemácias de carneiro, mas observaram aumento da relação heterófilos/linfócitos, indicando que a vitamina E melhora a capacidade fagocitária do sistema imune, protegendo a ave contra a invasão de microrganismos patogênicos.

Por outro lado, Leshchinsky & Klasing (2001) avaliando a suplementação de vitamina E (0, 10, 25, 50, 100 e 200 UI de D α -tocoferol/kg) sobre a resposta imune de frangos de corte, observaram que níveis entre 25 e 50 UI/kg promoveram melhores respostas aos títulos de anticorpos, após 7 dias de inoculação com eritrócitos de carneiro, em relação aos altos níveis de vitamina E.

Após a morte do animal, o músculo transforma-se em carne através do processo de *rigor mortis*, onde interrompe a circulação e conseqüentemente cessa o fornecimento de oxigênio e nutrientes, promovendo a alteração do metabolismo celular aeróbico para anaeróbico, que vai produzir energia, na forma de trifosfato de adenosina (ATP), através da glicólise anaeróbica, sendo essa condição mais rápida nos músculos de fibras brancas do que fibras vermelhas (Addis, 1986). A taxa de glicólise pode apresentar variação dentro da mesma espécie, sendo que na musculatura do peito de frango, este processo requer aproximadamente 4 a 5 horas (Dawson et al., 1987).

A dureza ou maciez da carne está relacionada com a taxa de glicólise *pós-mortem*. Estudos com aves têm mostrado que o estresse pré-abate provoca a liberação de uma descarga de adrenalina acelerando a glicólise *pós-mortem* gastando o ATP muscular e produzindo ácido láctico, o que reduz o pH muscular e provoca rapidamente o *rigor mortis* (dureza da carne) (Ali et al., 1999).

Um outro problema é a oxidação dos lipídeos das membranas das células musculares que provoca a rancificação da carne, ocorre exsudação e alteração do odor, do sabor e da cor (escura). Também pode ocorrer o PSE (*Pale, Soft, Exudative*) caracterizado pela desnaturação das proteínas musculares causada pela redução do pH

(menor que 5,7) devido à rápida glicólise (produção de ácido láctico). A desnaturação protéica aumenta a permeabilidade das membranas celulares reduzindo a capacidade do músculo reter água. O baixo pH também provoca a alteração na coloração por desencadear processos enzimáticos (Swatland, 1995; Van Laack et al., 2000).

Devido ao rápido crescimento da produção de industrializados de carne de aves e os problemas observados com a textura, coesividade e suculência, a questão do PSE ganhou importância (Sosnicki, 1993; Ferket et al., 1995). Pesquisas têm sido realizadas com carne de perus (Barbut, 1993; Ferket et al., 1995; Barbut, 1996; McCurdy et al., 1996; Mckee & Sams, 1998; Sosnicki et al., 1998) e somente mais recentemente, com frangos (Shimokomaki et al., 1997; Barbut, 1997; Olivo et al., 1998)

A suplementação da vitamina E na dieta das aves tem mostrado prevenir a oxidação lipídica (rancificação) bem como a ocorrência de PSE. Ferket et al. (1995) observaram que a suplementação da vitamina E inibiu a ocorrência de carne PSE em perus, corroborado por Sheldon et al. (1997) que verificaram reduzida rancificação e ocorrência de PSE com a suplementação de 300 mg de vitamina E/kg na dieta de perus, mantendo as características normais da carne.

Olivo et al. (2001) observaram que a suplementação de vitamina E (150 e 200 UI de α -tocoferol/kg) na dieta reduziu a velocidade da glicólise *pós-mortem* prevenindo a queda brusca do pH e a desnaturação protéica reduzindo a incidência de PSE. A vitamina E também aumentou a capacidade de emulsificação da carne dos frangos, indicativo de maior estabilização dos lipídeos de membrana.

Ação da glutamina sobre a resposta imunológica

A glutamina (Gln) é um aminoácido não essencial, neutro, livre que se encontra em maior quantidade no tecido muscular e no plasma, em concentrações que representam aproximadamente 50 a 80% do total de aminoácidos livres corporais. Por ter, em sua estrutura dois grupos nitrogenados mobilizáveis, a Gln pode funcionar como veículo para intercâmbio tissular de nitrogênio e desempenhar papel crucial em diversas e importantes vias metabólicas (Marliss et al., 1971; Smith, 1990).

A Gln é reconhecida como substrato energético vital para células com rápida divisão, podendo atuar sobre a imunidade humoral local, ou seja, em determinados

"sítios" das superfícies mucosas, tais como o trato respiratório e trato gastrointestinal, com o aumento no número de nódulos linfáticos em mamíferos (Newsholme, 2001).

Yi et al. (2005) observaram a importância da suplementação da Gln (1%) na dieta até o 28^o dia de idade em frangos de corte, apresentando melhor desempenho (ganho de peso, eficiência alimentar e viabilidade) quando comparada às aves não suplementadas. Estes resultados discordam de Maiorka et al. (2000), que não observaram efeito sobre o desempenho de frangos tratados com Gln na mesma proporção e período.

Embora o mecanismo imunomodulatório de vários ingredientes dietéticos ainda sejam alvos de muitas pesquisas, pode-se sugerir a extrema importância dos aspectos relacionados com o sistema imune de qualquer tipo de dieta utilizada na produção de aves, aumentando assim a resistência geral das espécies aviárias contra infecções.

O sistema imune apresenta uma das interações moleculares e celulares mais complexas da biologia, compreendendo o sistema celular e humoral, sendo o linfócito a célula primária atuante em ambos os sistemas. Os linfócitos T (células T) originam-se na medula óssea e são diferenciados no timo depois de serem atraídos por hormônios secretados pelas células tímicas epiteliais. Uma vez no timo, estes linfócitos sofrem um rápido processo de divisão, onde parte migram e colonizam os órgãos linfóides secundários com células T e são responsáveis pela imunidade celular, isto é, processos imunológicos do tipo reatividade cutânea tardia. Os linfócitos B (células B) desenvolvem-se na bursa de Fabrício nas aves e provavelmente nos tecidos linfóides intestinais, tal como as placas de Peyer, e pela medula óssea nos mamíferos, e são responsáveis pela imunidade humoral, que é expressa pela produção de proteínas plasmáticas circulantes específicas, denominadas anticorpos (Tizard, 1985).

Os anticorpos são produzidos nos tecidos linfóides secundários, que incluem não somente o baço e os linfonodos, mas também a medula óssea, as tonsilas cecais e os tecidos linfóides distribuídos pelo corpo, principalmente nos tratos respiratório, digestório e urogenital (Tizard, 1985).

Ao nascimento, o sistema imune das aves está parcialmente desenvolvido e os órgãos primários, timo e bursa, estão presentes e povoados pelas células linfóides. No entanto, os órgãos secundários, como o baço, tonsilas cecais, divertículo de Meckel e os tecidos linfóides dispersos no sistema digestório e respiratório ainda estão incompletos na eclosão (Dibner & Richards, 2004).

A seleção genética intensa para ganho de peso e eficiência alimentar levou à obtenção de aves menos eficientes em alguns aspectos da resposta imunológica. Ao se comparar linhagens comerciais de frangos, foi observado que as linhagens de 1991 foram menos eficientes na produção de anticorpos, quando comparadas à linhagens de frangos de 1957. É interessante observar que a manipulação genética não foi capaz de alterar a resposta imune natural (Qureshi & Havestein, 1994).

Os sistemas intensivos de produção aumentam os riscos de propagação às doenças infecciosas, obrigando a adoção de medidas no sentido de preservar cada vez mais a saúde das aves. As práticas de produção também impuseram uma maior pressão por agentes patogênicos, bem como modificações no ambiente, tanto climáticas como comportamentais, às quais as aves não estavam adaptadas (Siegel, 1985).

A proibição no mercado da utilização de alguns aditivos alimentares utilizados para melhorar o rendimento e o lucro de criação de frangos, tal como alguns antimicrobianos e probióticos, estimularam estudos com outros aditivos que permitam o máximo aproveitamento dos nutrientes pelas aves, favorecendo a total expressão do potencial genético (Perry, 1995; Rosen, 1996).

Com a finalidade de contribuir com a pesquisa na nutrição avícola e considerando a escassez de informações na literatura à respeito destes dois nutrientes (Gln e VE), realizou-se este experimento com o objetivo de avaliar a influência da nutrição (suplementação da Gln e VE) sobre a intensidade da resposta imunológica, desempenho zootécnico e qualidade da carne em frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá e Laboratórios de Nutrição Animal/LANA/DZO/UEM e Imunogenética/DAC/UEM, sob aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA/UEM.

Foram utilizados 1.500 pintos de corte machos de um dia de idade, da linhagem Cobb-Vantress[®]. As aves foram alojadas em um galpão convencional de 30 m de comprimento e 8 m de largura, com cobertura de telha francesa e lanternim, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com 40 cm de altura, sendo o restante da parede

completada com tela de arame até o telhado, providos de cortinas móveis. O galpão foi dividido em 30 boxes de 5,1 m² cada com capacidade para 50 aves.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado num esquema fatorial 2 x 3 (VE x Gln). Os níveis de vitamina E (VE) utilizados foram de 10 e 500 mg de D α -tocoferol/kg de ração, com e sem a utilização da glutamina - Gln (1%) e dois períodos de administração das rações iniciais com Gln (de 1 a 7 dias e 1 a 14 dias de idade), totalizando seis tratamentos com cinco repetições de 50 aves por unidade experimental. No período de crescimento (de 22 a 41 dias de idade), os tratamentos consistiram apenas nos respectivos níveis de vitamina E. O premix mineral vitamínico utilizado nas rações foi isento de VE. As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja de modo a atenderem as exigências nutricionais das aves de acordo com Rostagno et al. (2000) - Tabelas 1 e 2.

As rações foram fornecidas de acordo com as fases estabelecidas, sendo que tanto as aves como as rações foram pesadas no início e no final de cada período para determinação do desempenho das aves (consumo médio de ração, ganho de peso médio e conversão alimentar). A mortalidade, bem como as sobras de ração, foram devidamente registradas para a determinação do real consumo de ração pelas aves.

TABELA 1 - Composição percentual e calculada das rações para frangos de corte na fase inicial (de 1 a 21 dias de idade)

Ingredientes	Nível de vitamina E (mg/kg de ração)			
	10		500	
	s/ Gln	c/ Gln (1%)	s/ Gln	c/ Gln (1%)
Milho grão	55,86	55,86	55,77	55,77
F. de soja 45%	36,34	36,34	36,35	36,35
F. Bicálcico	1,82	1,82	1,82	1,82
Calcário	1,08	1,08	1,08	1,08
Óleo de soja	2,85	2,85	2,88	2,88
Sal comum	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-met - 99%	0,23	0,23	0,23	0,23
Supl. Min-vitam. ¹	0,40	0,40	0,40	0,40
Vitamina E ²	0,001	0,001	0,050	0,050
L-Glutamina ³	-	1,00	-	1,00
Inerte ⁴	1,00	-	1,00	-
BHT	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Exigências Atendidas				
EM (kcal/kg)	3.000			
PB (%)	21.50			
Ca (%)	1.00			
P disp (%)	0.45			
Met+cis (%)	0.90			
Lis (%)	1.15			
Sódio (%)	0.20			
Cloro (%)	0.27			
Potássio (%)	0.84			

1 - Níveis nutricionais para cada kg do produto: Vit A - 2.500 UI/g; Vit D3 - 625 UI/g; Vit K3 - 650 mg/kg; Vit B1 - 122,50 mg/kg; Vit B2 - 1.500 mg/kg; Vit B6 - 247,50 mg/kg; Vit B12 - 4.375 mcg/kg; Pantotenato de Cálcio - 2.450 mg/kg; Niacina - 7.425 mg/kg; Ácido fólico - 100 mg/kg; Colina - 87.500 mg/kg; Zinco - 15.740,63 mg/kg; Ferro - 12.250 mg/kg; Cobre - 13.125 mg/kg; Manganês - 19.375 mg/kg; Iodo - 239,69 mg/kg; Selênio - 63,28 mg/kg; Cobalto - 49,88 mg/kg; Violeta Genciana - 3.125 mg/kg; BHT - 1.250 mg/kg.

2 - Vitamina E (DL-alfa-tocoferol): 60 %

3 - Ajinomoto Interamericana: Analytical results - Transmittance 98%; Chloride (Cl) 0.020%; Ammonium (NH4) 0.10%; Sulfate (SO4) 0.020%; Iron (Fe) 10ppm; Heavy metals (Pb) 10 ppm; Arsenic (As203) 1 ppm; Loss on drying 0.01%; Assay 100.3%; pH 5.6

4- Areia lavada, em substituição à glutamina utilizada

TABELA 2 - Composição percentual e calculada das rações para frangos de corte na fase de crescimento (de 22 a 41 dias de idade)

Ingredientes	Nível de vitamina E (mg/kg de ração)	
	10	500
Milho grão	64,89	64,78
F. de soja 45%	29,19	29,22
F. Bicálcico	1,58	1,58
Calcário	1,02	1,02
Óleo de soja	2,34	2,38
Sal comum	0,32	0,32
DL-met - 99 %	0,19	0,19
L-Lisina HCl - 78 %	0,03	0,03
Supl. Min-vitamínico ¹	0,40	0,40
Vitamina E ²	0,001	0,050
BHT	0,01	0,01
Total	100,00	100,00
Exigências Atendidas		
EM (kcal/kg)	3.100	
PB (%)	19.00	
Ca (%)	0.90	
P disp (%)	0.40	
Met+cis (%)	0.80	
Lis (%)	1.00	
Sódio (%)	0.17	
Cloro (%)	0.23	
Potássio (%)	0.73	

1 - Níveis nutricionais para cada kg do produto: Vit A - 2.500 UI/g; Vit D3 - 625 UI/g; Vit K3 - 650 mg/kg; Vit B1 - 122,50 mg/kg; Vit B2 - 1.500 mg/kg; Vit B6 - 247,50 mg/kg; Vit B12 - 4.375 mcg/kg; Pantotenato de Cálcio - 2.450 mg/kg; Niacina - 7.425 mg/kg; Ácido fólico - 100 mg/kg; Colina - 87.500 mg/kg; Zinco - 15.740,63 mg/kg; Ferro - 12.250 mg/kg; Cobre - 13.125 mg/kg; Manganês - 19.375 mg/kg; Iodo - 239,69 mg/kg; Selênio - 63,28 mg/kg; Cobalto - 49,88 mg/kg; Violeta Genciana - 3.125 mg/kg; BHT - 1.250 mg/kg.

2 - Vitamina E (DL-alfa-tocoferol): 60 %

A cama utilizada foi de cepilho de maravalha reutilizada (5^o uso) para que as aves pudessem ser submetidas a um maior desafio na criação. As aves foram vacinadas no incubatório contra a doença de Marek, sendo que após o alojamento, as mesmas não receberam nenhuma vacina. Foi adotado um programa de luz contínuo durante os primeiros 10 dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. As temperaturas médias dentro do galpão foram de: máxima de 30° C e mínima de 22° C; e umidade relativa média de 30%. O percentual de mortalidade registrado durante todo o período experimental foi de 1,50%.

Título de Anticorpos (Resposta Humoral)

No 14^o e 24^o dia de idade, duas aves por box, retiradas ao acaso e devidamente identificadas com uma anilha numerada na asa direita, foram inoculadas com 0,5 ml de uma suspensão de eritrócitos de carneiro (*Sheep Red Blood Cells* - SRBC) diluída em meio PBS (solução salina tamponada fosfatada) a 0,5%. A inoculação foi feita via intramuscular em cinco pontos equidistantes do peito da ave, sendo injetado 0,1 ml por ponto. No 14^o e 35^o dia de idade (dia zero e 21 dias após a primeira inoculação) foi coletado sangue da veia braquial, na quantidade de 3 ml/ave, para posterior obtenção do soro. O sangue foi centrifugado a 3.000 rpm por 10 minutos (Fanem - Excelsa[®] II, modelo 206 MP) e o soro obtido foi armazenado em tubos de polietileno do tipo Eppendorf (1 ml) devidamente identificados, em freezer a - 20°C até a realização das análises. Antes das análises, o soro foi inativado em banho maria a 56^o C por 30 minutos, e o tampão diluente utilizado foi o PBS com 1% de albumina sérica bovina (BSA/Fort Dodge[®]-22%). A resposta imune específica do tipo humoral foi avaliada mediante a determinação do título de anticorpos anti-eritrócitos de carneiro (suspensão a 0,5%), segundo a técnica de hemaglutinação simples, descrita por Wegmann & Smithies (1965). O mesmo procedimento foi realizado com outras duas aves por box, porém inoculadas com solução fisiológica salina, servindo estas de controle negativo. Na ordem de leitura das placas, as células que apresentaram aglutinação completa formando um "tapete" róseo, determinaram assim a proporção de diluição de cada amostra, conforme demonstrado na Figura 1. Os títulos foram expressos como log₂ da maior diluição observada pelas aglutinações.

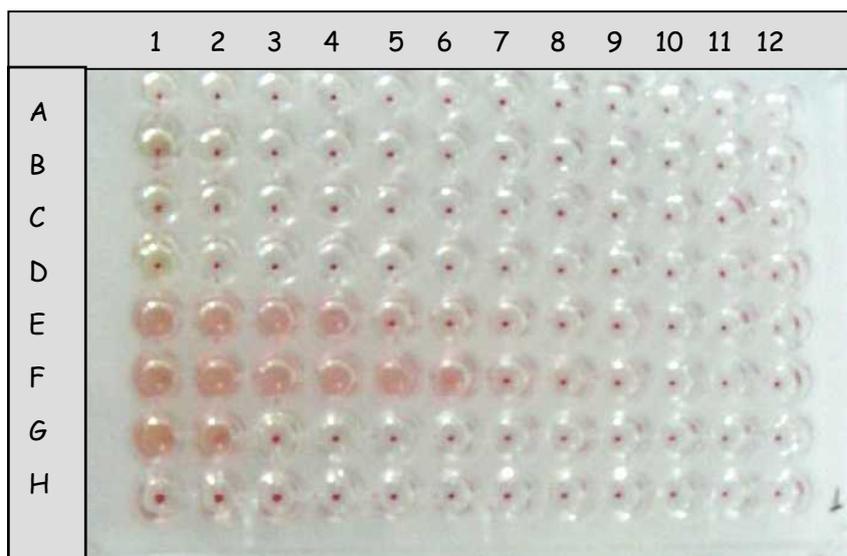


FIGURA 1- Placa ilustrativa de microtitulação de anticorpos contra eritrócitos de carneiro (SRBC), testando soro de frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com glutamina e vitamina E.

Reação de Hipersensibilidade Cutânea Basófila - CBH (Resposta Celular)

No 36º dia de idade, duas aves por box foram utilizadas para avaliação da resposta imune inespecífica tardia. Cada ave foi devidamente identificada com anilhas numeradas na asa esquerda, inoculada intradermicamente, no espaço interdigital entre o 3º e 4º dedo do pé direito com 100 µg de Fitohemaglutinina-P (PHA-P - Gibco®), uma lecitina extraída do feijão rosa (*Phaseolus vulgaris*) que estimula as células T a se dividirem, diluída em solução fisiológica salina estéril na dose de 0,10 ml. Um volume equivalente de solução fisiológica salina estéril foi injetada no espaço interdigital do pé esquerdo para o controle negativo.

O espessamento da pele do espaço interdigital, direito e esquerdo, foi medido em milímetros usando um paquímetro manual imediatamente antes da injeção (tempo zero), 6, 12 e 24 horas após a injeção de PHA-P. A resposta do teste de hipersensibilidade cutânea foi calculada da seguinte maneira (Corrier & DeLoach, 1990):

$$CBH = \text{resposta PHA-P (pé direito)} - \text{resposta controle (pé esquerdo)}$$

Onde:

Resposta PHA-P= espessamento pós-injeção (pé direito) - espessamento tempo zero (pé direito)

Resposta controle= espessamento pós-injeção (pé esquerdo) - espessamento tempo zero (pé esquerdo)

Peso relativo dos órgãos e qualidade da carne

No 41º dia de idade, duas aves por box, foram abatidas por atordoamento com choque elétrico (220W), para coleta do baço, timo e da bursa de Fabrícus. O peso relativo de cada órgão foi obtido pela fórmula:

$$\text{Peso relativo} = (\text{peso órgão/peso vivo}) \times 100$$

Foram retiradas também o peito inteiro das mesmas, identificados em sacos plásticos e refrigerados a 4º C por 06 horas *post-mortem* para as medidas do pH (Micronal®) durante 60 minutos, com intervalos de 5 minutos, através da introdução direta do eletrodo de vidro na região apical do músculo *Pectoralis major*.

Análise Estatística

Os dados obtidos de cada parâmetro foram submetidos às análises de variância e testes de médias ($P \leq 0,05$) de acordo com suas distribuições, utilizando o programa SAS (2000).

O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ijk} = \mu + V_i + G_j + VG_{ij} + e_{ijk}$$

Onde:

Y_{ijk} = observação da repetição l que recebeu o tratamento com o nível de V_i , e G_j ;

μ = média geral de todas as observações;

V_i = efeito do nível i da suplementação de vitamina E, $i = 1, 2$ ($1 = 10$; $2 = 500$ mg vitamina E/kg);

G_j = efeito do período j com Gln (1%), $j = 1, 2, 3$ ($1 =$ isento; $2 =$ de 1 a 7 dias; $3 =$ de 1 a 14 dias de idade);

VG_{ij} = efeito da interação da vitamina E e Gln;

e_{ij} = erro experimental.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados médios dos parâmetros de desempenho, encontram-se na Tabela 3. A associação da Gln e VE não apresentou efeito ($P > 0,05$) sobre o desempenho dos frangos de corte em nenhuma fase de criação, no entanto, um baixo percentual de mortalidade foi observado durante todo o período experimental. Nossos resultados

corroboram com Maiorka et al. (2000) que não observaram efeito da suplementação da Gln sobre o desempenho de frangos de corte e com Konjufca et al. (2004) que avaliando diferentes níveis de VE, não apresentou efeito sobre o peso corporal de frangos. No entanto, Yi et al. (2005) relataram uma maior eficiência alimentar, ganho de peso e viabilidade dos frangos alimentados com 1% de Gln.

Para o peso relativo dos órgãos linfóides, apenas o baço apresentou efeito ($P=0,035$) entre as fases de utilização da Gln no período inicial de criação, onde as aves alimentadas com Gln (de 1 a 7 dias de idade) apresentaram um maior peso médio relativo em relação ao período de 1 a 14 dias, conforme apresentado na Tabela 4. Como a Gln é utilizada em altas taxas por células isoladas do sistema imune, como linfócitos, macrófagos e neutrófilos, além de ser importante para a proliferação de linfócitos e produção de citocinas, atividades de fagocitose e secreção dos macrófagos (Newsholme, 2001), poderia justificar o maior peso relativo do baço observado neste experimento.

A vitamina E não apresentou efeito ($P>0,05$) para o peso relativo dos órgãos neste experimento, concordando com Gore & Qureshi (1997) que não encontraram diferença no peso relativo do baço e da bursa em frangos aos 35 dias de idade, que receberam 10 UI de vitamina E injetado nos embriões aos 18 dias de incubação. Konjufca et al. (2004) avaliando a suplementação de vitamina E, na forma de D1- α -tocoferol, não observaram diferença entre os tratamentos sobre o peso relativo dos órgãos, com exceção do baço que apresentou um aumento na sétima semana de idade, em frangos alimentadas com 110 e 220 mg vit.E/kg quando comparadas ao tratamento controle de 16 mg vit.E/kg (0,14; 0,18 e 0,10, respectivamente).

TABELA 3 - Valores médios dos parâmetros de desempenho (peso final; ganho de peso; consumo de ração individual; conversão alimentar) e percentual de mortalidade dos frangos de corte de 1 a 41 dias de idade

Tratamento	Vitamina E (mg/kg)		Glutamina		MÉDIA		
	10	500	Isento	1 a 7 dias	1 a 14 dias		
Período(dias)	<i>Peso Final (g)</i>						CV (%) ¹
1 a 7	168,267	165,574	164,680	168,382	167,700	166,921	3,25
1 a 14	442,994	437,757	437,241	441,469	442,416	440,376	3,13
1 a 21	875,564	879,388	875,863	887,565	869,000	877,476	3,51
1 a 41	2612,385	2619,838	2610,463	2613,215	2624,657	2616,112	2,49
	<i>Ganho de Peso (g)</i>						
1 a 7	123,530	120,798	120,084	123,654	122,756	122,165	4,24
1 a 14	398,258	392,981	392,645	396,741	397,472	395,619	3,42
1 a 21	830,828	834,612	831,267	842,837	824,056	832,720	3,68
1 a 41	2567,649	2575,062	2565,867	2568,487	2579,713	2571,356	2,53
	<i>Consumo de Ração (g/ave)</i>						
1 a 7	139,520	136,840	136,520	139,660	138,360	138,180	3,52
1 a 14	507,133	500,951	500,960	505,077	506,089	504,042	2,55
1 a 21	1154,445	1147,962	1145,577	1155,748	1152,285	1151,203	2,39
1 a 41	4464,532	4484,482	4481,110	4463,683	4478,727	4474,506	2,20
	<i>Conversão Alimentar (g/g)</i>						
1 a 7	1,129	1,133	1,137	1,129	1,127	1,131	1,71
1 a 14	1,273	1,275	1,276	1,273	1,273	1,274	1,37
1 a 21	1,390	1,376	1,379	1,371	1,399	1,383	1,86
1 a 41	1,739	1,741	1,747	1,738	1,736	1,740	1,46
	<i>Mortalidade Total Acumulada (%)</i>						
1 a 7							0,13
1 a 14							0,34
1 a 21							0,49
1 a 41							1,50

(P>0,05)

1- CV (%) das médias/tratamento

TABELA 4 - Valores médios do peso relativo (% em relação ao peso vivo da ave) do baço, bursa de Fabricius, timo e do tamanho da bursa¹ dos frangos de corte aos 41 dias de idade

	Baço	Bursa	Timo	Bursômetro ¹
Vitamina E (mg/kg)				
10	0,126	0,063	0,475	4,233
500	0,129	0,060	0,479	4,133
<i>Valor de P</i>	<i>0,418</i>	<i>0,515</i>	<i>0,868</i>	<i>0,383</i>
Glutamina (1%)				
1- Sem Glutamina	0,131 ab	0,066	0,477	4,200
2- De 1 a 7 dias	0,134 a	0,061	0,460	4,150
3- De 1 a 14 dias	0,121 b	0,057	0,492	4,200
<i>Valor de P</i>	<i>* 0,035</i>	<i>0,182</i>	<i>0,475</i>	<i>0,918</i>
Vit.E*Gln (<i>Valor de P</i>)	<i>0,383</i>	<i>0,625</i>	<i>0,692</i>	<i>0,467</i>
CV (%)	11,92	23,82	16,08	10,54

* Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo Teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

1. Valores médios do tamanho da bursa de Fabrícus, medida pela régua da Solvay - Bursine[®]-2

Quanto à resposta imune dos frangos, os níveis de vitamina E utilizados apresentaram efeito ($P=0,001$) semelhante sobre a resposta celular (Hipersensibilidade Cutânea Basófila - CBH) conforme demonstrado na Figura 2. A resposta à CBH foi detectada de forma linear decrescente conforme as horas mensuradas, sendo que no tempo 12 horas após a inoculação, o nível de 10 mg vit.E/kg apresentou uma maior proliferação celular em relação a 500 mg vit.E/kg, sendo que após 24 horas este efeito não pôde mais ser verificado, de acordo com a Tabela 5. A suplementação de vitamina E acima da recomendação do NRC (1994) apresentou efeito inibitório sobre as células T-mediadoras do sistema imune, tal efeito também foi observado por Boa-Amponsem et al. (2000) que encontraram maior valor de CBH para aves tratadas com 10 UI vit.E/kg ($x=0,40 \pm 0,03$ mm) em comparação ao nível de 300 UI vit.E/kg ($x=0,30 \pm 0,03$ mm) após 24 horas da inoculação.

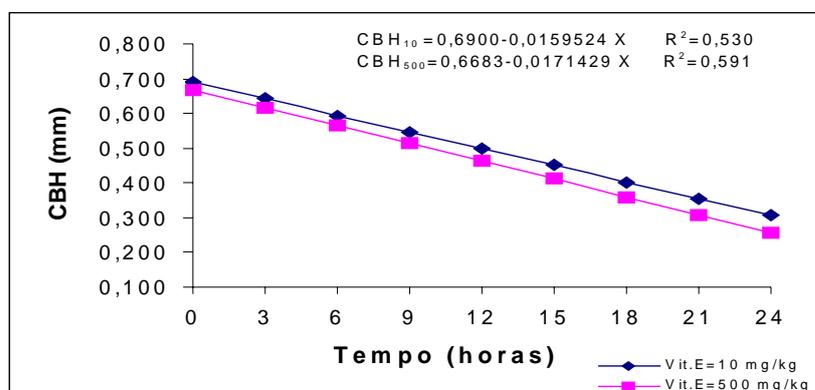


FIGURA 2 - Efeito da vitamina E sobre a resposta imune celular - Hipersensibilidade Cutânea Basófila - CBH (mm), em frangos de corte aos 36 dias de idade

TABELA 5 - Valores médios de CBH¹ (mm) em função dos níveis de vitamina E em frangos de corte aos 36 dias de idade²

Vitamina E	Tempo de medidas (horas)			CV (%)
	6	12	24	
10	0,577 ± 0,025	0,524 ± 0,021 a	0,299 ± 0,018	24,18
500	0,552 ± 0,027	0,483 ± 0,023 b	0,250 ± 0,014	25,17

1- CBH= (espessamento, PHA-P / pé direito) - (espessamento, controle-solução salina / pé esquerdo)

2- Valor médio + erro padrão

* Letras diferentes na mesma coluna diferem significativamente pelo teste de médias ($P \leq 0,05$)

A resposta CBH informa por uma simples inoculação de PHA-P, uma pré-imunização num curto período de tempo, onde a resposta ao teste cutâneo pode avaliar a imunocompetência das células T-mediadoras em aves recém-nascidas. De acordo com Corrier & DeLoach (1990) que avaliaram dosagens de PHA-P (100 e 200 µg) sobre a hipersensibilidade cutânea em frangos na fase inicial de criação (até 14 dias de idade), observaram a presença das células T-mediadoras do sistema imune já ao 3º dia de idade, cujas mensurações no espessamento da pele pôde ser observado às 6 horas pós-inoculação, máximo às 12 horas e queda às 24 horas. O aumento no espessamento da pele interdigital foi de 0,64 para 0,88 mm em 12 horas pós inoculação. Por outro lado, Leshchinsky & Klasing (2001) não observaram efeito da suplementação da vitamina E sobre a hipersensibilidade cutânea basófila em frangos de corte.

Para avaliar a resposta imune humoral, neste experimento optou-se pelos eritrócitos de carneiro (SRBC) por serem freqüentemente utilizados como instrumento

nas pesquisas imunológicas, pois são uma fonte muito econômica de antígenos e os anticorpos contra estas células de carneiro produzidos em outras espécies de animais tendem a se direcionar principalmente contra antígenos específicos do carneiro, além de que anticorpos naturais contra eritrócitos de carneiro são encontrados no soro de muitos animais normais (Tizard, 1985).

Os valores médios dos títulos de anticorpos estão apresentados na Tabela 6. Não houve efeito ($P>0,05$) dos tratamentos sobre o título de anticorpos dos frangos aos 35 dias de idade. No entanto, pôde ser observado uma maior produção de anticorpos pelas aves tratadas com 10 mg vit.E/kg e Gln na primeira semana de idade.

TABELA 6 - Valores médios dos títulos de anticorpos (Ac) medidos aos 21 dias após a 1ª inoculação com SRBC em frangos de corte alimentados com dietas suplementadas com níveis de Glutamina e vitamina E

	Vitamina E (mg/kg)		Glutamina (1%)			CV (%)
	10	500	Isento	1 a 7 dias	1 a 14 dias	
Título Ac ¹	2,733	2,400	2,500	2,650	2,550	25,05
Erro Padrão	0,348	0,320	0,316	0,428	0,496	

1. Valores expressos como Log₂ da maior diluição observada nas aglutinações ($P>0,05$)

Gore & Qureshi (1997), avaliando a vitamina E na forma de D α -tocoferol, injetadas em embriões de perus aos 18 dias de incubação, observaram um aumento no título de anticorpos para as aves que receberam 10 UI vit.E/kg em relação as que não receberam vitamina (4,2 vs 3,0), aos 14 dias pós-inoculação com SRBC, sugerindo que a suplementação de vitamina E pode ter um efeito imunomodulador, aumentando a resistência à doenças com a produção de anticorpos. Um possível mecanismo para esta melhor função imune pode ser uma modulação (para menos) da biossíntese de prostaglandina, a qual é considerada inibitória para vários parâmetros de imunidade.

Os resultados encontrados neste experimento foram próximos aos observados por Boa-Amponsem et al. (2000), cujos níveis de vitamina E utilizados (10 e 300 UI/kg) em frangos de corte não apresentaram efeito significativo aos 20 dias pós-inoculação com SRBC, cuja média do título de anticorpos foi de 2,53.

Yang et al. (2000), trabalhando com galinhas de alta e baixa resposta à produção de anticorpos e vitamina E (10 e 300 UI/kg), observaram uma queda no título de anticorpos nas aves de baixo potencial genético alimentadas com alto nível de vitamina E, nos períodos de 6 e 10 dias pós-inoculação com SRBC (2,4 vs 1,5 para 6 dias e 1,9 vs

1,2 para 10 dias, respectivamente para 10 e 300 UI vit.E/kg). Ao 20º dia pós-inoculação, este efeito sobre a título de anticorpos não pôde mais ser observado.

Por outro lado, Leshchinsky & Klasing (2001) observaram um aumento no título de anticorpos de frangos com a suplementação de 50 UI vit.E/kg (\bar{x} =3,35 aos 7 dias pós-inoculação), concluindo que níveis moderados de vitamina E (25 a 50 UI/kg) apresentaram melhor modulação do sistema imune do que altos níveis (100 a 200 UI/kg), correspondendo aos níveis necessários de vitamina E para a inibição da peroxidação lipídica e proteção das mitocôndrias do fígado contra o estresse oxidativo.

Em relação à qualidade da carne, as medidas do pH no músculo *Pectoralis major* dos frangos aos 41 dias de idade estão representados na Figura 3. A vitamina E não apresentou efeito ($P>0,05$) sobre o pH da carne, porém a Gln apresentou efeito linear decrescente ($P=0,001$) sobre o mesmo, sendo que a queda gradativa não caracterizou efeito de PSE (*Pale, Soft, Exudative*) no músculo dos frangos de corte, originalmente proposto por Kijowski & Niewiarowicz (1978). Estes autores propõem que o valor de pH abaixo de 5,7 dentro do tempo *post mortem* de 15 minutos acarreta o desenvolvimento de carnes com características PSE.

De acordo com Yi & Allee (2005), a Gln é importante na gliconeogênese e na homeostase do pH, além da diferenciação e crescimento celular. São os principais combustíveis da mucosa do intestino delgado e são precursores essenciais da síntese intestinal de glutatona.

A glutatona contém selênio (Se) e constitui uma explicação das observações de que o Se é eficaz na prevenção de algumas deficiências que também são evitadas pelo tocoferol. O Se atua ao nível do citosol complementando o tocoferol que age à nível de membrana (Ewan,1993).

As medidas de pH neste experimento foram realizadas sob temperatura ambiente de 22°C após um resfriamento de 6 horas a 4°C. Nos frigoríficos, as carcaças seguem um fluxo contínuo e são imediatamente resfriadas logo após o abate, onde a temperatura inicial próxima a 40°C passa para temperatura interna abaixo de 10°C num intervalo de aproximadamente 60-70 minutos (Olivo & Shimokomaki, 2002).

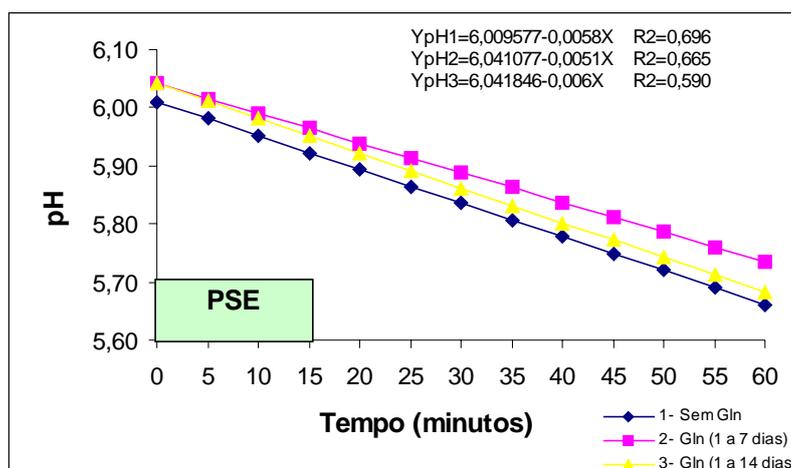


FIGURA 3 - Influência da glutamina na glicólise de frangos de corte e a indução de carne PSE. A área indicada (pH 5,7/15 min.) é o período de tempo em que ocorre PSE em carnes de frangos de corte - Kijowski & Niewiarowicz (1978).

A suplementação de aminoácidos gluconeogênicos parece reduzir o catabolismo tecidual, mantendo o glicogênio muscular e prevenindo características indesejáveis na carne, como o PSE ou DFD - *Dark, Firm and Dry* (Schaefer et al., 2001).

De acordo com Millward et al. (1989) e Rennie et al. (1989), a Gln dietética reduz a perda muscular em situações de estresse, sendo a Gln muscular uma fonte de reserva de nitrogênio, que é mobilizado durante o estresse.

Apesar da suplementação da VE não ter influenciado ($P>0,05$) na glicólise da carne dos frangos de corte neste experimento, os resultados médios revelaram que a VE pode retardar os processos bioquímicos indutores da formação de carne PSE, conforme apresentado na Figura 4, onde os valores do pH considerados críticos somente foram alcançados após 55 minutos.

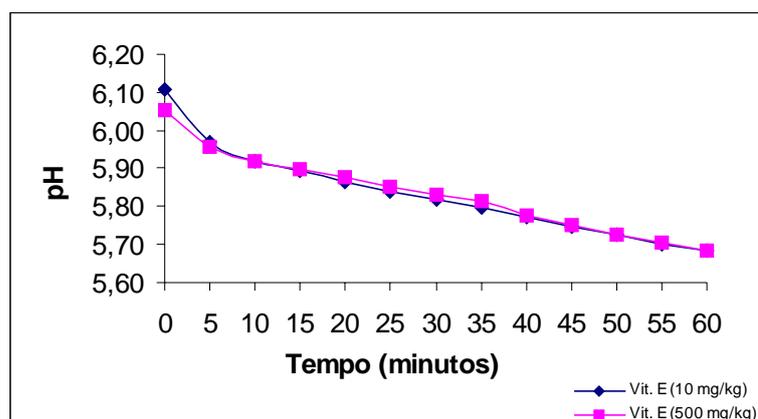


FIGURA 4 - Influência da suplementação da vitamina E sobre o pH muscular de frangos de corte ($P>0,05$)

Olivo et al. (2001) avaliando o efeito do estresse e da suplementação de vitamina E sobre as propriedades funcionais da carne de frangos, encontraram efeitos benéficos desta vitamina sobre o pH muscular, onde a suplementação de 150 e 200 UI/kg, respectivamente, para as fases inicial (1 a 21 dias) e crescimento (22 a 49 dias de idade) proporcionaram uma inibição na velocidade da instalação do *rigor mortis*, retardando os processos bioquímicos indutores da formação de carne PSE.

CONCLUSÃO

A associação de 10 mg de vitamina E/kg com Glutamina (nos primeiros 7 dias de idade) na ração, proporcionou melhores condições imunológicas aos frangos, porém não influenciou o desempenho zootécnico. A Glutamina comportou-se positivamente em relação ao pH da carne não caracterizando o efeito PSE em frangos de corte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADDIS, P.B., Poultry muscle as food. In: BECHTEL, P.J. (ed) *Muscle as Food*. London, Academic Press, p.371-404, 1986.
- ALI, A.S.A., HARRISON, A.P., JENSEN, J.F. Effect of some ante-mortem stressors on peri-mortem and post-mortem biochemical changes and tenderness in broiler breast muscle: a review. *World's Poultry Science Journal*, v.55, n.4, p.403-414, 1999.
- BARBUT, S. Colour measurements for evaluating the pale soft exudative (PSE) occurrence in turkey meat. *Food Research International*, Essex, v.26, p.39-43, 1993.
- BARBUT, S. Estimates and detection of the PSE problem in young turkey breast meat. *Can. J. Anim. Sci.*, v.76, p.455-457, 1996.
- BARBUT, S. Problem of pale soft exudative meat in broiler chickens. *British Poultry Science*, v.38, p.355-358, 1997.
- BOA-AMPONSEM, K., PRICE, S.E.H., PICARD, M. et al. Vitamin E and immune responses of broiler pureline chickens. *Poultry Science*, v.79, p.466-470, 2000.
- CHUNG, T.K., BOREN, B. Vitamin E use in commercial flocks examined. *Feedstuffs*, September, n.6, p.11-14, 1999.
- CORRIER, D.E., DeLOACH, J.R. Evaluation of cell-mediated cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. *Poultry Science*, v.69, p.403-408, 1990.
- DAWSON, P.L., JANKY, D.M., DUKES, M.G. et al. Effect of post-mortem boning time during simulated commercial processing on tenderness of broiler breast meat. *Poultry Science*, v.66, n.8, p.1331-1333, 1987.
- DIBNER, J.J., RICHARDS, J.D. The digestive system: Challenges and opportunities. *Journal Applied Poultry Research*, v.13, p.86-93, 2004.
- ERF, G.F., BOTTJE, W.G., BERSI, T.K. et al. Effects of dietary vitamin E on the immune system in broilers: Altered proportions of CD4 T cells in the thymus and spleen. *Poultry Science*, v.77, p. 529-537, 1998.
- EWAN, R.C. Vitaminas. In: SWENSON, M.J., REECE, W.O. **Dukes:Fisiologia dos animais domésticos**.11^a. ed. Guanabara Koogan, 1993, p.457-469.
- FERKET, P.R., QURESHI, M.A., GARLICH, J.D. et al. Vitamin E affects performance, immunity and meat quality. *World Poultry*, Surrey, v.11, n.2, p.10-15, 1995.

- GORE, A.B., QURESHI, M.A. Enhancement of humoral and cellular immunity by vitamin E after embryonic exposure. *Poultry Science*, v.76, p.984-991, 1997.
- GUIDERA, J., KERRY, J.P., BUCKLEY, D.J. et al. The effect of dietary vitamin E supplementation on the quality of fresh and frozen lamb meat. *Meat Science*, v.45, p.33-43, 1997.
- JENSEN, C., SKIBSTED, L.H., JAKOBSEN, L., BERTELSEN, G. Supplementation of broiler diets with all- α -tocopherol or a mixture of natural source α , γ , β -tocopherol acetate. 2. Effect on the oxidative stability of raw and precooked broiler meat products. *Poultry Science*, v.74, p.2048-2056, 1995.
- KIJOWSKI, J., NIEWIAROWICZ, A. Emulsifying properties of proteins end meat from broiler breast muscles as affected by their initial pH values. *J. Food. Technol.*, Dorking, v.13, n.5, p.451-459, 1978.
- KLASING, K.C. Nutritional modulation of resistance to infectious diseases. *Poultry Science*, v.77, p. 1119-1125, 1998.
- KONJUFCA, V.K., BOTTJE, W.G., BERSI, T.K., ERF, G.F. Influence of dietary vitamin E on phagocytic functions of macrophages in broilers. *Poultry Science*, v.83, p.1530-1534, 2004.
- LESHCHINSKY, T.V., KLASING, K.C. Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. *Poultry Science*, v.80, p.1590-1599, 2001.
- LIU, Q., SCHELLER, K., ARP, S.C. et al. Color coordinates for assessment of dietary vitamin E effects on beef color stability. *Journal Animal Science*, v.74, p. 106-116, 1996.
- MAIORKA, A., SILVA, A.V.F., SANTIN, E. et al. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v. 52, n.5, p.487-490, 2000.
- MARLISS, E.B., AOKI, T.T., POZEFSKY, T. et al. Muscle and splanchnic glutamine and glutamate metabolism in post absorptive and starved man. *Journal of Clinical Investigation*, v.50, p.814-817, 1971.
- McCURDY, R.D., BARBUT, S., QUINTON, M. Seasonal effects on pale soft exudative (PSE) occurrence in young turkey breast meat. *Food Research International*, Essex, v.29, p.363-366, 1996.

- MCKEE, S.R., SAMS, A.R. Rigor mortis development at elevated temperatures induces pale exudative turkey meat characteristics. *Poultry Science*, v.77, p.169-174, 1998.
- MILLWARD, D.J., JEPSON, M.M., OMER, A. Muscle glutamine concentration and protein turnover in vivo in malnutrition and endotoxemia. *Metabolism*, v.38, suppl.1, p.6-13, 1989.
- MORRISSEY, P.A., SHEEHY, P.J.A., GALVIN, K. et al. Lipid stability in meat and meat products. *Meat Science*, v.49, suppl., p.S73-S86, 1998.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. Nutrient requirements of domestic animals. 9th Edition, Washington, DC, 1994.
- NEWSHOLME, P. Why is L-Glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *Journal of Nutrition*, n.131, p.2515S-2522S, 2001.
- OLIVO, R., SHOMOKOMAKI, M, FUKUSHIMA, S. Carne PSE em frangos. *Revista Nacional de Carnes*, São Paulo, v.27, n.252, p.32-34, 1998.
- OLIVO, R., SOARES, A.L., IDA, E.I. SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry*, v.25, p.271-283, 2001.
- OLIVO, R., SHIMOKOMAKI, M. **Carnes: No caminho da pesquisa**. 2^a. ed. Cocal do Sul:IMPRINT, 2002, 155p.
- PERRY, F.G. Biotechnology in animal feeds and animal feeding: an overview. In: WALLACE, R.J., CHESON, A. **Biotechnology in animal feeds and animal feeding**. UK, p.1-15, 1995.
- QURESHI, M.A., HAVESTEIN, G.B. A comparison of the immune performance of a 1991 commercial broiler with a 1957 randombred strain when fed "typical" 1957 and 1991 broiler diets. *Poultry Science*, v.73, p.1805-1812, 1994.
- RENNIE, M.J., MACLENNAN, P.A., HUNDAL, H.S. et al. Skeletal muscle glutamine transport, intramuscular glutamine concentration and muscle protein turnover. *Metabolism*, v.38, suppl.1, p.47-51, 1989.
- ROSEN, G.D. Feed additive nomenclature. *World's Poultry Science Journal*, v.52, p.53-57, 1996.

- ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 1ª edição. Ed. Imprensa Universitária, Viçosa, 141p., 2000.
- RUTZ, R., LIMA, G.J.M.M. Uso de antioxidantes em rações e subprodutos. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1994, Santos. *Anais...* Santos:APINCO, 1994, p.73-84.
- SAS INSTITUTE (2000). SAS® (Statistical Analysis System) User's guide, Statistics, versão 8.1, v.2, 4ª ed. Cary. 2000.
- SCHAEFER, A.L., DUBESKI, P.L., AALHUS, J.L., TONG, A.K.W. Role of nutrition in reducing antemortem stress and meat quality aberrations. *Journal Animal Science*, v.79 (suppl), p.E91-E101, 2001.
- SHELDON, B.W., CURTIS, P.A., DAWSON, P.L., et al. Effect of dietary vitamin E on the oxidative stability, flavor, color and volatile profiles of refrigerated and frozen turkey breast meat. *Poultry Science*, v.76, n.4, p.634-641, 1997.
- SHIMOKOMAKI, M., OLIVO, R., FRANCO, F.O. Qualidade da carne de frango suplementado com dieta contendo vitamina E. In: SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE CIÊNCIA DE ALIMENTOS, 1997. Campinas... *Proceedings*, Campinas, 1997, p.179.
- SIEGEL, H.S. Immunological responses as indicators of stress. *World's Poultry Science Journal*, v.41, p.36-44, 1985.
- SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. *J. Parent. Enter. Nutrition*, v.14, p.40S-44S, 1990.
- SOSNICKI, A.A. PSE in turkey. *Meat Focus Int.*, Wallingford, v.2, n.2, p.75-78, 1993.
- SOSNICKI, A.A., GREASER, M.L., PIETRZAK, M. et al. PSE-like syndrome in breast muscle of domestic turkeys: a review. *J. Muscle Foods*, Trumbull, v.9, p.13-23, 1998.
- SURAI, P.F. Vitamin E in avian reproduction. *Poultry and Avian Biology Reviews*, v.10, n.1, p.1-60, 1999.
- SWATLAND, H.J. On line evaluation of meat. *Technomic Publishing Co.*, Lancaster, p.343, 1995.
- TIZARD, I. **Introdução à Imunologia Veterinária**. 2ª edição, Ed. Roca, 1985. 323p.
- VAN LAACK, R.L.J.M., LIU, C.H., SMITH, M.O. et al. Characteristics of Pale, Soft, Exudative broiler breast meat. *Poultry Science*, v.79, n.7, p.1057-1061, 2000.

- WEGMANN, T.G., SMITHIES, O. A simple hemagglutination system requiring small amounts of red blood cells and antibodies. *Transfusion*, v.6, p.67-73, 1965.
- YANG, N., LARSEN, C.T., DUNNINGTON, E.A. et al. Immune competence of chicks from two lines divergently selected for antibody response to Sheep Red Blood Cells as affected by supplemental vitamin E. *Poultry Science*, v.79, p.799-803, 2000.
- YI, G.F., ALLEE, G.L., KNIGHT, C.D., DIBNER, J.J. Impact of glutamine and oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*, v.84, p.283-293, 2005.
- YI, G.F., ALLEE, G.L. Revisão de literatura: Glutamina (Gln) e Glutamato (Glu). www.lisina.com.br. Acesso em 15/01/2005.

CAPÍTULO 2

SUPLEMENTAÇÃO DA GLUTAMINA E VITAMINA "E"
SOBRE A MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL
EM FRANGOS DE CORTE

SUPLEMENTAÇÃO DA GLUTAMINA E VITAMINA "E" SOBRE A MORFOMETRIA DA MUCOSA INTESTINAL EM FRANGOS DE CORTE

RESUMO: O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a influência da suplementação da glutamina (Gln) e vitamina E (VE) na ração de frangos de corte (Cobb-Vantress[®]) sobre a morfometria da mucosa intestinal. O delineamento utilizado foi inteiramente casualizado num esquema fatorial 2 x 3 (VE x Gln), cujos níveis de VE foram de 10 e 500 mg/kg de ração, com e sem a utilização da Gln (1%) e dois períodos de administração das rações iniciais com Gln (de 1 a 7 dias e 1 a 14 dias de idade), totalizando seis tratamentos com cinco repetições de 50 aves por unidade experimental. No período de crescimento (de 22 a 41 dias de idade), os tratamentos consistiram apenas nos respectivos níveis de VE. Aos 7, 14, 21 e 41 dias de idade, duas aves por repetição foram abatidas e retiradas amostras do duodeno, jejuno e íleo, fixadas em solução de Bouin e posterior inclusão em parafina. Em seguida, foram preparados cortes de 5µm de espessura e corados com hematoxilina-eosina (HE). Os parâmetros analisados foram: comprimento de vilos (VI) e profundidade das criptas (CRI). Aos dados obtidos foram aplicados análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$). Para o duodeno houve interação ($P=0,038$) entre 10 mg VE/kg x sem Gln, para a CRI aos 7 dias de idade, cuja maior profundidade média foi de 162,2 µm. Aos 14 dias de idade, para o VI houve ($P=0,041$) interação entre 500 mg VE/kg x Gln (de 1 a 14 dias de idade), apresentando maior altura média de 1.394,3 µm. Após o 21º dia de idade, verificou-se manutenção em relação ao VI no duodeno, no entanto, a CRI apresentou efeito ($P=0,022$) para a VE, sendo que criptas mais profundas foram para o nível de 10 mg/kg. O jejuno apresentou efeito ($P=0,017$) da VE para a CRI durante as duas primeiras semanas de idade, onde o nível de 10 mg/kg apresentou maiores CRI. Aos 41 dias de idade, houve ($P=0,001$) interação entre 500 mg VE/kg x sem Gln para o VI do jejuno, que por sua vez não diferiu das aves alimentadas com 10 mg VE/kg com a suplementação da Gln, independente do período de utilização (durante 1 ou 2 semanas). Em relação ao íleo, não houve efeito ($P > 0,05$) dos tratamentos para VI e CRI nas duas primeiras semanas de idade. Aos 21 dias de idade, o VI foi influenciado ($P=0,021$) pela VE (10 mg/kg) apresentando maior altura média de 555,43 µm. Houve interação ($P=0,012$) entre 10 mg VE/kg x Gln (de 1 a 7 dias de idade) aos 41 dias de idade para o VI cuja maior altura média foi de 921 µm. Considerando que vilos mais

curtos prejudicam a absorção dos nutrientes por reduzirem a área das células do epitélio intestinal, em consequência da redução da absorção osmótica da água, pode-se concluir que o nível de 10 mg VE/kg com Gln (de 1 a 7 dias de idade) proporcionou melhores condições para o desenvolvimento da mucosa intestinal de frangos de corte.

Palavras - chave: cripta, frangos de corte, intestino delgado, vilos

GLUTAMINE AND VITAMIN E SUPPLEMENTATION ON THE INTESTINAL MUCOSA MORPHOMETRIC IN BROILER CHICKENS

ABSTRACT: The experiment was carried out to evaluate the influence of glutamine (Gln) and vitamin E (VE) supplementation in diet of broiler chickens on the intestinal mucosa morphometric. The experimental design was completely randomized in a factorial scheme 2 x 3 (VE x Gln), with VE levels of 10 and 500 mg/kg, with and without the Gln (1%) utilization and two periods supplying the starter diets with Gln (from 1 to 7 and 1 to 14 days of age), totalising six treatments with five replicates of 50 birds for experimental unit. In the grower period (from 22 to 41 days of age), the treatments just consisted of the respective VE levels. At 7, 14, 21 and 41 days of age, two birds for replicates were slaughtered and duodenum, jejunum and ileum samples were retired, fixed in Bouin solution and embedded in paraffin. Five micrometer slices were prepared and stained with hematoxylin-eosin (HE). The analyzed parameters were: villus height (VI) and crypt depth (CRI). The obtained data were subjected to variance analysis and the averages compared by Tukey's test ($P \leq 0.05$). Considering the duodenum there was interaction ($P=0.038$) between 10 mg VE/kg x without Gln, for CRI at 7 days of age with higher crypt depth was 162.2 μm . At 14 days of age, to the VI there was interaction ($P=0.041$) between 500 mg VE/kg x Gln (from 1 to 14 days of age), presenting higher average height of 1,394 μm . After the 21^o day of age, it was observed a maintenance in relation to the VI in the duodenum, however, the CRI presented a VE effect ($P=0.022$), where the more crypt depth was to 10 mg/kg. The jejunum presented a VE effect ($P=0.017$) for CRI during the first two weeks of age, where the 10 mg/kg level presented higher CRI. At 41 days of age, there was interaction ($P=0.001$) between 500 mg VE/kg x without Gln to the jejunum VI, that did not differ from the birds fed with 10 mg VE/kg and the supplementation of Gln, independent of the period (during one or two weeks). In relation to the ileum, the treatments did not presented VI and CRI effects ($P > 0.05$) in the first two weeks of age. At 21 days of age, the VI was influenced ($P=0.021$) by VE (10 mg/kg), presenting higher average height ($\bar{x}=555.43$ μm). The interaction between 10 mg VE/kg x Gln (from 1 to 7 days of age) presented effect ($P=0.012$) at 41 days of age for VI, with the higher average height was 921 μm . Considering that shorter villus affect the absorption of the nutrients reducing the intestinal epithelium cells area, in consequence of the of water osmotic absorption

reduction, it can be concluded that the 10 mg VE/kg level and Gln (of 1 to 7 days of age) provided better conditions to the intestinal mucosa development of broiler chickens.

Key words: broiler chickens, crypt, small intestine, villus

INTRODUÇÃO

Durante o desenvolvimento embrionário os nutrientes são supridos pelo ovo e após a eclosão esses animais iniciam a utilização de dietas exógenas. Essa mudança necessita de um período de adaptação do trato gastrointestinal (TGI) das aves, sendo que o TGI sofre um processo de maturação pós-natal que pode afetar significativamente o desempenho, principalmente nas duas primeiras semanas de idade, que representa, aproximadamente, 30% da vida útil da ave.

O TGI dos animais possui as funções de armazenamento do conteúdo alimentar, secreção, digestão e absorção dos nutrientes. Estudos morfológicos apontam que no momento da eclosão, o peso do intestino delgado representa de 1,2 a 2,6% do peso vivo da ave e ao atingir seu desenvolvimento máximo passa a representar de 6,2 a 6,6% e que o pico de desenvolvimento do intestino delgado mostrou ser entre 5 a 7 dias pós-eclosão (Sell, 1996). No entanto, Noy & Sklan (1998) relataram o período de 6 a 8 dias como sendo o pico de crescimento para o intestino delgado, fortalecendo a premissa de que a adequada alimentação na primeira semana de idade do pinto tem papel relevante no desempenho dos frangos de corte.

A imaturidade do TGI na primeira semana de vida é um fator limitante para o desenvolvimento da ave, pois a maior capacidade em secretar enzimas, o aumento da área de absorção através do crescimento longitudinal do intestino e o aumento da altura das vilosidades são eventos ainda por acontecer. Até os primeiros 4 a 5 dias de vida, o pintainho também recebe nutrientes provenientes do saco vitelínico da gema, localizada na cavidade peritoneal (Macari, 1998).

Nir (1998) observou que pintos de corte apresentam uma correlação negativa entre ingestão alimentar e digestibilidade dos nutrientes durante a primeira semana de vida. Este autor afirma que na segunda semana de vida das aves, esta correlação torna-se positiva, o que pode estar relacionado com a otimização do crescimento intestinal e da atividade enzimática. A partir da terceira semana não existe mais relação entre consumo de alimento e digestibilidade, provavelmente porque o TGI já atingiu o seu ponto de equilíbrio.

O intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) tem função primordial nos processos de digestão e absorção de nutrientes. A estrutura e a função da mucosa intestinal, que tem a mais alta taxa de renovação (*turnover*) de todos os tecidos do

corpo, dependem do equilíbrio entre a proliferação, migração celular e apoptose. De acordo com Macari (1998), a renovação total da mucosa leva em torno de 90 a 96 horas para frangos de corte, no entanto, o tempo de renovação difere entre os segmentos, no duodeno a renovação é mais rápida, podendo durar ao redor de 48 horas.

A mucosa do intestino delgado é caracterizada por projeções alongadas (epitélio e lâmina própria) denominadas de vilosidades ou vilos, em direção ao lúmen intestinal. No duodeno, as vilosidades possuem forma de folhas, gradualmente assumindo forma de dedos à medida que se aproximam do íleo. Entre os vilos existem pequenas aberturas de glândulas tubulares simples chamadas de criptas ou glândulas de Lieberkühn (Junqueira & Carneiro, 2004).

A organização complexa do epitélio intestinal apresenta pelo menos três linhagens de células que se originam a partir das células tronco situadas na base das criptas, as quais diferenciam-se durante a migração ao longo do eixo cripta-vilosidade. Ao deixar as criptas, os enterócitos, as células caliciformes e as enteroendócrinas perdem sua atividade mitótica e dirigem-se para a extremidade dos vilos onde após um determinado período de atividade, entram em apoptose antes de serem eliminadas para a luz. Assim, a proliferação normal das células da mucosa ocorre em células precursoras localizadas nas criptas do intestino delgado e no ceco das aves (Silva, 2004).

Os enterócitos são células polarizadas que constituem a maior população de células epiteliais que revestem o intestino. Durante o processo de diferenciação e migração para a vilosidade, ocorre um aumento no tamanho absoluto das células e no tamanho relativo do citoplasma, no número de mitocôndrias, do retículo endoplasmático e de microvilosidades das células. Ao mesmo tempo que os enterócitos adquirem novas aptidões metabólicas, passam a expressar receptores e transportadores relacionados com o processo de absorção e a secretar enzimas digestivas (Van Dongen et al., 1976). Ainda nas criptas, os enterócitos adquirem novos mecanismos de sobrevivência e perdem a capacidade de proliferação antes da migração, tornando-se aptos a regular de maneira orquestrada a absorção de fluidos e nutrientes (Potten & Loeffler, 1990; Ruemmele et al., 1999; Gauthier et al., 2001). Outro fator relevante para a absorção dos nutrientes na membrana luminal é a quantidade de microvilos existentes nos enterócitos, o número de microvilos atua como um amplificador de área para a absorção dos nutrientes (Macari & Maiorka, 2000).

De acordo com Uni et al. (1998) e Applegate et al. (1999), o desenvolvimento da mucosa consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, o que corresponde a um aumento em número de suas células epiteliais. Decorre primariamente de dois eventos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação das células localizadas na cripta e ao longo dos vilos) e perda celular (extrusão que ocorre normalmente no ápice dos vilos).

O mecanismo envolvendo a regulação do "*turnover*" das células intestinais por nutrientes, ainda é pouco conhecido. Entretanto, há fortes evidências de que tanto os neurônios intrínsecos, como os aferentes extrínsecos primários mediam as respostas mecânica e quimiosensitivas do TGI, permitindo ajustes locais e informando ao sistema nervoso central o conteúdo luminal e o processo de absorção dos nutrientes (Raybould, 2002).

Pesquisas têm sugerido que a estimulação do TGI por diferentes substratos, logo após a eclosão, podem acelerar o seu desenvolvimento. Segundo Noy & Sklan (1995), a digestão do nitrogênio (N) no intestino delgado aumenta de 78% no 4º dia para 92% no 21º dia em frangos de corte.

Alguns nutrientes são essenciais para a homeostase intestinal. Segundo Ruemmele et al. (1999), a carência de glutamina e poliaminas inibem a proliferação, a migração e a apoptose. Além disso, a glutamina é um substrato imprescindível na construção da barreira passiva de mucina às bactérias, pois é necessária para a síntese de bases nitrogenadas e de amino-açúcares da matriz extracelular com a N-acetilglicosamina e a N-acetilgalactosamina, e para a glicosilação das mucinas (Reeds & Burrin, 2001).

A glutamina (Gln) é um aminoácido não essencial, neutro, livre que se encontra em maior quantidade no tecido muscular e no plasma, em concentrações que representam aproximadamente 50 a 80% do total de aminoácidos livres corporais. Por ter em sua estrutura dois grupos nitrogenados mobilizáveis, a Gln pode funcionar como veículo para o intercâmbio tissular de nitrogênio e desempenhar papel crucial em diversas e importantes vias metabólicas (Marliss et al., 1971; Smith, 1990). É responsável pela manutenção da estrutura da mucosa, na síntese de mucina e na manutenção de uma barreira contra ataques bacterianos (Khan et al, 1999), além de promover a maturidade e integridade da flora intestinal associada ao sistema imune (Yi et al., 2005).

As células da mucosa do trato digestivo, assim como outras células de proliferação rápida, têm uma exigência obrigatória de Gln que pode envolver o papel da mesma como fornecedora de até metade da exigência de N para a síntese de purina e pirimidina via ação da carbamil-fosfato sintetase II do citosol (Lobley et al., 2001).

O efeito da Gln sobre a reconstituição da mucosa intestinal, após algum dano, tem sido investigado devido ao fato desse aminoácido ser o principal metabólito que nutre os enterócitos. A Gln é reconhecida como substrato energético vital para células com rápida divisão como as intestinais (Lacey & Wilmore, 1990), podendo atuar sobre a imunidade humoral local, ou seja, em determinados "sítios" das superfícies mucosas, tais como o trato respiratório e trato gastrointestinal, com o aumento no número de nódulos linfáticos em mamíferos (Newsholme, 2001).

A oxidação da Gln estimula as trocas sódio/hidrogênio (Na^+/H^+) na membrana do enterócito, levando a uma maior absorção de Na^+ e Cl^- tanto em um epitélio íntegro como em um epitélio lesado, de acordo com Rhoads et al. (1997). Estes mesmos autores sugerem que o estímulo à proliferação da mucosa intestinal pela Gln possa ser devido ao aumento da atividade da enzima ornitina descarboxilase (ODC).

Há evidências que altos níveis de ODC estão associados com as células maduras e conseqüentemente com as funções primárias dos enterócitos de digestão e absorção de nutrientes (Johnson & McCormack, 1994). Outros pesquisadores têm sugerido que a ODC e poliaminas regulam a maturação e diferenciação das células da mucosa intestinal com uma maior atividade nas células da extremidade e medial dos vilos do que nas células das criptas (Ball et al., 1976 e Baylin et al., 1978).

Recentes estudos têm demonstrado que as células da mucosa intestinal das criptas e das vilosidades sintetizam simultaneamente Gln, sugerindo que este pode não ter um papel estritamente metabólico no intestino (Reeds & Burrin, 2001), indicando assim que a Gln tenha um papel mais regulatório que metabólico ao ativar uma série de genes associados com o ciclo de progressão das células e que a inibição da síntese de Gln inibe tanto a proliferação, quanto a diferenciação das células da mucosa (Rhoad et al., 1997; Blikslager et al., 1999, Reeds & Burrin, 2001).

A exposição natural dos frangos aos patógenos endêmicos no ambiente de produção devido ao sistema de criação intensivo, fornece um desafio ao sistema imune. Durante este período de elevação do estresse imunológico ocorrem alterações metabólicas específicas que desviam nutrientes necessários para a imediata

sobrevivência, assim como o prolongamento da resposta imune contra os mecanismos invasores (Bains, 1996). A exposição ao estresse estimula a produção de citocinas pelos macrófagos, que agem no sistema nervoso central causando anorexia, letargia e alterações neuroendócrinas (Klasing, 1988).

Sabe-se que durante a resposta imunológica, as células como os fagócitos, liberam radicais livres, com o objetivo de eliminar o agente infeccioso invasor. No entanto, estes radicais livres reagem agressivamente no tecido vivo do próprio animal, causando danos como a peroxidação dos lipídeos e alterando a permeabilidade das membranas celulares. A Gln pode agir na eliminação desses radicais livres por ser um precursor da síntese da glutatona (Wu, 1998).

Uma medida preventiva aos danos celulares provocados pelas células imunológicas seria a ingestão de altas doses de nutrientes antioxidantes, como a vitamina E (Barbi et al., 1999). A vitamina E age como antioxidante biológico a nível das membranas celulares, atuando também na prevenção da rancificação da carne, melhorando a qualidade da carne e aumentando o tempo de prateleira, uma vez que o bom desempenho do animal e conseqüentemente o produto final é devido a um melhor aproveitamento dos nutrientes fornecidos nas dietas.

Olivo et al. (2001) avaliando o efeito do estresse e da suplementação de vitamina E sobre as propriedades funcionais da carne de frangos, encontraram efeitos benéficos desta vitamina sobre o pH muscular, onde a suplementação de 150 e 200 UI/kg, proporcionaram uma inibição na velocidade da instalação do *rigor mortis*, retardando os processos bioquímicos indutores da formação de carne PSE (*pale, soft, exudative*), uma característica indesejável da carne.

Do ponto de vista da produção de frangos, a manutenção da sanidade do lote, em especial os agentes que atuam no TGI, bem como o seu desenvolvimento é fundamental, pois esta é a via de entrada dos nutrientes para o melhor desempenho da ave. Considerando que a ração representa entre 70 e 80% do custo de produção, e a integridade das células epiteliais da mucosa assegura o bom desempenho e produção, realizou-se este experimento com o objetivo de avaliar a influência da nutrição (suplementação da Glutamina e vitamina E) sobre a morfometria da mucosa intestinal em frangos de corte.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi/FEI/UEM e no laboratório de Histotécnica Animal do Departamento de Ciências Morfofisiológicas/DCM/UEM, sob aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal - CEEA/UEM.

Foram alojados 1.500 pintos de corte machos de um dia de idade, da linhagem Cobb-Vantress[®], em um galpão convencional de 30 m de comprimento e 8 m de largura, com cobertura de telha francesa e lanternim, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com 40 cm de altura, sendo o restante da parede completada com tela de arame até o telhado, providos de cortinas móveis. O galpão foi dividido em 30 boxes de 5,1 m²/cada com capacidade para 50 aves.

O delineamento utilizado neste experimento foi inteiramente casualizado num esquema fatorial 2 x 3 (VE x Gln), cujos níveis de VE utilizados foram de 10 e 500 mg/kg de ração, com e sem a utilização da Gln (1%) e dois períodos de administração das rações iniciais com Gln (de 1 a 7 dias e 1 a 14 dias de idade), totalizando seis tratamentos e cinco repetições de 50 aves por unidade experimental. No período de crescimento (de 22 a 41 dias de idade), os tratamentos consistiram apenas nos respectivos níveis de VE. O premix mineral vitamínico utilizado nas rações foi isenta de VE. As dietas foram formuladas à base de milho e farelo de soja atendendo as exigências nutricionais das aves de acordo com Rostagno et al. (2000) - Tabelas 1 e 2.

A cama utilizada foi de cepilho de maravalha reutilizada (5^o uso) para que as aves pudessem ser submetidas a um maior desafio na criação, sendo que as mesmas receberam apenas a vacina contra a doença de Marek, no incubatório. Foi adotado um programa de luz contínua durante os primeiros 10 dias e o restante do período experimental com 23 horas de luz/dia. As temperaturas médias dentro do galpão foram de: máxima de 30^o C e mínima de 22^o C e umidade relativa média de 30%. O percentual de mortalidade registrado durante todo o período experimental foi de 1,50%.

TABELA 1 - Composição percentual e calculada das rações para frangos de corte na fase inicial (de 1 a 21 dias de idade)

Ingredientes	Nível de vitamina E (mg/kg de ração)			
	10		500	
	s/ Gln	c/ Gln (1%)	s/ Gln	c/ Gln (1%)
Milho grão	55,86	55,86	55,77	55,77
F. de soja 45%	36,34	36,34	36,35	36,35
F. Bicálcico	1,82	1,82	1,82	1,82
Calcário	1,08	1,08	1,08	1,08
Óleo de soja	2,85	2,85	2,88	2,88
Sal comum	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-met - 99 %	0,23	0,23	0,23	0,23
Supl. Min-vitam. ¹	0,40	0,40	0,40	0,40
Vitamina E ²	0,001	0,001	0,050	0,050
L-Glutamina ³	-	1,00	-	1,00
Inerte ⁴	1,00	-	1,00	-
BHT	0,01	0,01	0,01	0,01
Total	100,00	100,00	100,00	100,00
Exigências Atendidas				
EM (kcal/kg)	3.000			
PB (%)	21.50			
Ca (%)	1.00			
P disp (%)	0.45			
Met+cis (%)	0.90			
Lis (%)	1.15			
Sódio (%)	0.20			
Cloro (%)	0.27			
Potássio (%)	0.84			

1 - Níveis nutricionais para cada kg do produto: Vit A - 2.500 UI/g; Vit D3 - 625 UI/g; Vit K3 - 650 mg/kg; Vit B1 - 122,50 mg/kg; Vit B2 - 1.500 mg/kg; Vit B6 - 247,50 mg/kg; Vit B12 - 4.375 mcg/kg; Pantotenato de Cálcio - 2.450 mg/kg; Niacina - 7.425 mg/kg; Ácido fólico - 100 mg/kg; Colina - 87.500 mg/kg; Zinco - 15.740,63 mg/kg; Ferro - 12.250 mg/kg; Cobre - 13.125 mg/kg; Manganês - 19.375 mg/kg; Iodo - 239,69 mg/kg; Selênio - 63,28 mg/kg; Cobalto - 49,88 mg/kg; Violeta Genciana - 3.125 mg/kg; BHT - 1.250 mg/kg.

2 - Vitamina E (DI-alfa-tocoferol): 60 %

3 - Ajinomoto Interamericana: Analytical results - Transmittance 98%; Chloride (Cl) 0.020%; Ammonium (NH₄) 0.10%; Sulfate (SO₄) 0.020%; Iron (Fe) 10ppm; Heavy metals (Pb) 10 ppm; Arsenic (As₂₀₃) 1 ppm; Loss on drying 0.01%; Assay 100.3%; pH 5.6

4. Areia lavada, em substituição à glutamina utilizada

TABELA 2 - Composição percentual e calculada das rações para frangos de corte na fase de crescimento (de 22 a 41 dias de idade)

Ingredientes	Nível de vitamina E (mg/kg de ração)	
	10	500
Milho grão	64,89	64,78
F. de soja 45%	29,19	29,22
F. Bicálcico	1,58	1,58
Calcário	1,02	1,02
Óleo de soja	2,34	2,38
Sal comum	0,32	0,32
DL-met - 99 %	0,19	0,19
L-Lisina HCl - 78 %	0,03	0,03
Supl. Min-vitamínico ¹	0,40	0,40
Vitamina E ²	0,001	0,050
BHT	0,01	0,01
Total	100,00	100,00
Exigências Atendidas		
EM (kcal/kg)	3.100	
PB (%)	19.00	
Ca (%)	0.90	
P disp (%)	0.40	
Met+cis (%)	0.80	
Lis (%)	1.00	
Sódio (%)	0.17	
Cloro (%)	0.23	
Potássio (%)	0.73	

1 - Níveis nutricionais para cada kg do produto: Vit A - 2.500 UI/g; Vit D3 - 625 UI/g; Vit K3 - 650 mg/kg; Vit B1 - 122,50 mg/kg; Vit B2 - 1.500 mg/kg; Vit B6 - 247,50 mg/kg; Vit B12 - 4.375 mcg/kg; Pantotenato de Cálcio - 2.450 mg/kg; Niacina - 7.425 mg/kg; Ácido fólico - 100 mg/kg; Colina - 87.500 mg/kg; Zinco - 15.740,63 mg/kg; Ferro - 12.250 mg/kg; Cobre - 13.125 mg/kg; Manganês - 19.375 mg/kg; Iodo - 239,69 mg/kg; Selênio - 63,28 mg/kg; Cobalto - 49,88 mg/kg; Violeta Genciana - 3.125 mg/kg; BHT - 1.250 mg/kg.

2 - Vitamina E (DI-alfa-tocoferol): 60 %

No 7º, 14º, 21º e 41º dia de idade, duas aves por repetição, retiradas ao acaso, foram abatidas por atordoamento, com choque elétrico (220 W), e obtidos fragmentos de aproximadamente 5 cm de comprimento de cada uma das três regiões do intestino delgado (duodeno: a partir do piloro até a porção distal da alça duodenal; jejuno: a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo de Meckel; e íleo: porção anterior aos cecos). Em seguida foram colocados em placas de isopor, abertos longitudinalmente, lavados com soro fisiológico, fixados em solução de Bouin por 24 horas e processados até inclusão de parafina conforme descrito por Beçak & Paulete (1976). Cada fragmento foi submetido à cortes semi-seriados de 5 µm de espessura e corados pelo método da

hematoxilina e eosina (HE). Para o estudo morfológico, as imagens foram capturadas através da microscopia de luz (Olympus BX 50) utilizando-se o sistema analisador de imagens computadorizado (Image Pro-Plus - Versão 5.2 - Média Cibernética). Foi mensurada a altura de 30 vilos e a profundidade de 30 criptas de cada repetição por segmento e destes valores foi obtida a média.

Os dados obtidos foram submetidos a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ao nível de 5% de significância, utilizando o programa SAS (2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenvolvimento intestinal de frangos de corte alimentados com dieta padrão (isenta de Glutamina e suplementada com 10 mg VE/kg de ração), independente da idade, revelou ser o duodeno, o segmento cuja mucosa intestinal apresentou maior desenvolvimento (maior altura de vilos e profundidade das criptas), seguido do jejuno e íleo. Estes resultados estão apresentados na Tabela 3 e Figuras 1 e 2 (A,B e C).

Maior desenvolvimento do duodeno em relação aos outros segmentos também foi verificado por Uni (1999) e Kondo (2003) em frangos de corte. Segundo Macari (1998), este maior desenvolvimento pode ser atribuído ao fato de ser o segmento de mais rápida renovação celular e ainda por ser o primeiro segmento do intestino delgado a receber estímulos físicos, químicos e hormonais desencadeados pela presença da dieta no lúmen.

Verificamos na literatura controvérsias em relação aos períodos de maior desenvolvimento da mucosa intestinal. Os resultados deste experimento indicam que o desenvolvimento do duodeno completou-se aos 21 dias de idade, enquanto que no jejuno e íleo até o final do período experimental (41 dias de idade) observou-se gradual crescimento das vilosidades, conforme demonstrado na Figura 1.

Para Uni (1999), o desenvolvimento completo dos vilos duodenais ocorreu até aos sete dias de idade, entretanto os vilos do jejuno e íleo continuaram até aos 14 dias de idade. Por outro lado, Kondo (2003) em um estudo comparativo entre diferentes linhagens de frangos de corte, observou gradual desenvolvimento nas diferentes regiões intestinais de frangos até 36 dias de idade, cuja relação vilo:cripta diminuiu ao longo do intestino, onde no duodeno a altura dos vilos foi de 7,39 vezes maior que a

profundidade das criptas, no jejuno esta relação caiu para 5,39 e no íleo para 4,01, concluindo que o maior desenvolvimento do intestino delgado ocorreu na primeira semana de vida dos frangos.

Santin et al. (2001), utilizando dietas contendo *Saccharomyces cerevisiae* (Pronady 500[®]) em rações de frangos de corte, observaram valores médios inferiores para a mucosa dos segmentos duodeno e jejuno, do tratamento controle aos 42 dias de idade, quando comparados com os resultados obtidos neste presente experimento. Por outro lado, a altura dos vilos nas diferentes regiões do intestino delgado foi próxima as encontradas por Loddi (2003) em frangos de corte aos 21 e 42 dias de idade, com exceção para a profundidade das criptas que apresentaram-se maior em nosso estudo.

TABELA 3. Desenvolvimento regional do intestino delgado de frangos de corte em diferentes idades

Segmento	Idade (dias)	Vilos (μm)	Cripta (μm)
Duodeno	7	888,40 \pm 78,50 Ac	162,20 \pm 6,91 Ab
	14	1273,00 \pm 45,61 Ab	154,90 \pm 10,60 Ab
	21	1494,70 \pm 109,60 Aa	192,40 \pm 10,30 Aa
	41	1513,60 \pm 33,12 Aa	182,70 \pm 6,80 Aa
CV (%)		12,04	11,69
Jejuno	7	522,10 \pm 45,20 Bc	104,40 \pm 7,40 Bb
	14	596,20 \pm 30,90 Bc	108,80 \pm 5,30 Bb
	21	761,50 \pm 43,20 Bb	110,20 \pm 11,60 Bb
	41	1046,79 \pm 57,60 Ba	152,50 \pm 9,80 Ba
CV (%)		13,96	13,07
Íleo	7	399,90 \pm 19,80 Cc	78,90 \pm 3,40 Cc
	14	506,70 \pm 46,70 Cb	103,30 \pm 4,60 Cb
	21	550,50 \pm 20,80 Cb	85,20 \pm 4,30 Cc
	41	740,90 \pm 37,10 Ca	133,90 \pm 3,60 Ca
CV (%)		14,97	13,16

Letras diferentes na mesma coluna: A-C (segmento), a-c (idade), diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

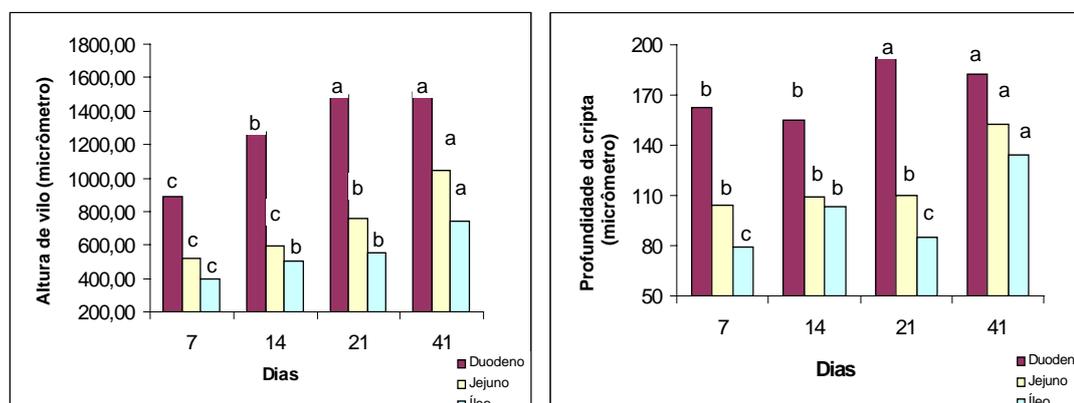


FIGURA 1. Desenvolvimento da altura dos vilos (μm) e profundidade das criptas (μm) das regiões do intestino delgado em diferentes idades dos frangos de corte.

Com relação aos tratamentos, os parâmetros morfométricos estão apresentados nas Tabelas 4 e 5. O maior interesse da suplementação de Gln e VE nas rações está primariamente associado com o importante papel da Gln em fornecer energia para o desenvolvimento da mucosa intestinal e da ação antioxidante da VE na proteção das células. O duodeno apresentou criptas mais profundas, aos 7 dias de idade, para a interação ($P=0,038$) entre o nível de 10 mg VE/kg x sem Gln, sendo que aos 14 dias de idade, para a altura dos vilos e a relação vilos:cripta houve interação ($P=0,041$ e $P=0,002$, respectivamente) para as aves tratadas com 500 mg VE/kg x Gln (1 a 14 dias de idade), apresentando valores médios de 1.394,3 μm e 9,2, respectivamente. Após o 21º dia de idade, foi observado apenas uma manutenção em relação à altura dos vilos duodenais, no entanto, para a profundidade das criptas houve efeito ($P=0,022$) da VE, onde criptas mais profundas foram observadas para o nível de 10 mg/kg. Entretanto, este efeito não pôde mais ser observado aos 41 dias de idade, devido ao completo desenvolvimento.

Na mucosa do jejuno, a profundidade das criptas apresentou efeito ($P=0,017$) para o nível de 10 mg VE/kg, aos 7 dias de idade. No entanto, aos 14 dias, houve interação ($P=0,030$) entre 10 mg VE/kg x Gln (de 1 a 7 dias) para as criptas. Neste mesmo período, uma maior relação vilos:cripta foi obtida para as aves alimentadas com 500 mg VE/kg x Gln (de 1 a 7 dias), no entanto, aos 21 dias de idade, apenas o nível de 500 mg VE/kg apresentou efeito ($P=0,011$) sobre a relação vilos:cripta. Aos 41 dias, a altura dos vilos apresentou-se maior para a interação ($P=0,001$) entre 500 mg VE/kg x

sem Gln, cuja média da altura foi de 1.364,5 μm , que por sua vez não diferiu das aves alimentadas com 10 mg/kg com suplementação da Gln, independente do período de utilização (durante 1 ou 2 semanas).

Em relação ao íleo, aos 7 dias de idade, para a relação vilos:cripta houve interação ($P=0,015$) entre 10 mg VE/kg x Gln (de 1 a 7 dias). Já aos 21 dias, para a altura dos vilos e a relação vilos:cripta houve efeito ($P=0,021$ e $P=0,001$, respectivamente) para o nível de 10 mg VE/kg, apresentando maiores resultados médios. Houve interação ($P=0,012$) entre 10 mg VE/kg x Gln (de 1 a 7 dias) para altura dos vilos, aos 41 dias de idade, apresentando altura média de 921,0 μm .

Apesar da altura dos vilos estar correlacionada positivamente com o ganho de peso corporal e o consumo de ração (Kelly et al., 1991), o mesmo não pôde ser observado neste experimento, pois os parâmetros de desempenho (ganho de peso, consumo médio de ração e conversão alimentar) não apresentaram efeito significativo em relação aos tratamentos, conforme resultados apresentados no capítulo 1.

Maiorka et al. (2000), avaliando o efeito da suplementação de Gln (1%) em frangos de corte, não observaram efeito do tratamento sobre o desempenho zootécnico (consumo de ração, ganho de peso e conversão alimentar) em nenhuma das fases do desenvolvimento, corroborando com os resultados obtidos neste experimento. Em relação ao desenvolvimento da mucosa intestinal, houve efeito da suplementação da Gln para a altura dos vilos (1.139 μm), profundidade das criptas (123 μm) e relação vilos:cripta (9,48) para o duodeno, e para a altura dos vilos no íleo (505 μm) aos 7 dias de idade, com valores superiores aos encontrados em nosso experimento. Estes mesmos autores ao realizarem a morfometria da mucosa aos 14 dias de idade não encontraram diferença entre os tratamentos. Assim o efeito da Gln sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal sugere que este aminoácido pode ter papel importante na maturação das células da mucosa dos pintos nos primeiros dias de idade.

Por outro lado, Yi et al. (2001a) avaliando o impacto da Gln sobre o desempenho e morfometria da mucosa do duodeno e jejuno em frangos de corte até 21 dias de idade, observaram que o fornecimento de uma dieta com 1% de Gln, não apresentou diferença quanto ao desempenho dos frangos. No entanto, esta dieta causou a diminuição na profundidade da cripta no duodeno e no jejuno aos 3 dias de idade, sendo que nenhuma diferença foi observada quanto à relação vilos:cripta nos segmentos, aos 3, 7 ou 14 dias de idade.

Em trabalho recente, Yi et al. (2005), avaliando a influência da Gln (1%) sobre grupos de frangos alimentados ou não, logo após o alojamento, observou que aves alimentadas com dietas suplementadas com Gln imediatamente após o alojamento, apresentaram melhor peso corporal, ganho de peso e conversão alimentar durante as duas primeiras semanas de idade, quando comparadas aos demais tratamentos. Quanto à morfometria intestinal, estas aves também tiveram maior profundidade das criptas aos 2 dias de idade e maior altura de vilos aos 7 dias de idade, do intestino médio, quando comparadas ao grupo em jejum por 48 hs + Gln. Entretanto, não houve diferença morfométrica na mucosa intestinal das aves alimentadas com ou sem Gln que tiveram acesso à dieta logo após o alojamento. Sendo assim, um efeito benéfico da Gln pôde ser observado, sobre o desempenho e desenvolvimento intestinal, em situações de maior estresse ou devido à desafios ao sistema imune. A Gln pode agir como um sinalizador ou regulador da demanda metabólica, aumentando a síntese protéica ou diminuindo a degradação protéica no músculo esquelético em frangos jovens (Haussinger et al., 1994).

Por outro lado, a Gln também está envolvida em outras importantes potencialidades metabólicas que incluem a síntese de prolina, arginina e glutathione (Wu, 1996, Reeds et al., 1997). A síntese da glutathione na mucosa é muito alta e sua atuação na proteção da mucosa contra danos peroxidativos e de toxinas das dietas é de grande importância para a saúde do animal (Aw & Williams, 1992; Jahoor et al, 1996; Wu, 1998).

A vitamina E pode ter atuado na proteção das células à nível de membrana, pois a ação do tocoferol é suplementada pela presença de glutathione no componente solúvel da célula, catabolisando a conversão de peróxidos orgânicos e peróxidos de H⁺ em álcoois ou água, evitando lesão nas células (Ewan, 1993). De acordo com os resultados obtidos neste experimento, pequenas doses desta vitamina mostraram-se suficientes na proteção das células, em relação à altas doses. A deficiência ou o excesso da VE diminui a atividade da glutathione peroxidase, desbalanceando a ação antioxidante nas células, podendo aumentar a formação de radicais livres no citosol prejudicando assim o sistema imunomodulatório das aves (Leshchinsky & Klasing, 2001).

Os resultados deste estudo indicam que a Gln e a VE melhoram as condições intestinais da mucosa, comprovado pelo comportamento das vilosidades, podendo ser atribuído ao efeito trófico destes nutrientes. Vilos mais curtos prejudicam a absorção

dos nutrientes por reduzirem a área das células do epitélio intestinal, em consequência da redução da absorção osmótica da água.

TABELA 4 - Médias de altura dos vilos (μm), profundidade das criptas (μm) e relação vilos:cripta dos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) dos frangos de corte, aos 7 e 14 dias de idade, alimentados com dietas contendo Glutamina (Gln) e Vitamina E (VE)

Tratamento		ALTURA DOS VILOS (μm)			PROFUNDIDADE DAS CRIPTAS (μm)			VILO:CRIPTA		
VE	Gln	DUODENO	JEJUNO	ÍLEO	DUODENO	JEJUNO	ÍLEO	DUODENO	JEJUNO	ÍLEO
<i>7 DIAS DE IDADE</i>										
10	Isento	888,4 \pm 78,5	522,1 \pm 45,2	399,9 \pm 19,8	162,2 \pm 6,9 Aa	104,4 \pm 7,4 a	78,9 \pm 3,4	5,5 \pm 0,39	5,1 \pm 0,42	5,1 \pm 0,17 AB
	1-7d	904,4 \pm 79,5	460,1 \pm 33,2	381,1 \pm 33,1	135,9 \pm 4,2 Ba	90,4 \pm 4,8 a	67,3 \pm 4,1	6,7 \pm 0,54	5,1 \pm 0,23	5,7 \pm 0,22 A
	1-14d	919,7 \pm 71,8	527,2 \pm 32,9	369,4 \pm 28,5	136,9 \pm 4,5 Ba	103,4 \pm 10,2 a	76,6 \pm 5,5	6,8 \pm 0,49	5,4 \pm 0,29	4,9 \pm 0,27 AB
500	Isento	803,9 \pm 55,9	454,6 \pm 12,1	384,2 \pm 19,3	128,9 \pm 8,3 Bb	95,9 \pm 5,7 b	74,0 \pm 4,0	6,4 \pm 0,49	4,8 \pm 0,31	5,3 \pm 0,22 AB
	1-7d	825,3 \pm 53,5	413,8 \pm 33,5	384,1 \pm 26,5	116,8 \pm 2,9 Bb	78,7 \pm 8,1 b	84,9 \pm 5,7	7,2 \pm 0,66	5,4 \pm 0,30	4,6 \pm 0,23 B
	1-14d	855,3 \pm 44,6	493,2 \pm 54,6	382,5 \pm 25,9	116,6 \pm 4,0 Bb	78,9 \pm 5,1 b	76,7 \pm 4,9	7,4 \pm 0,43	6,3 \pm 0,59	5,0 \pm 0,22 AB
CV (%)		16,87	17,39	15,15	9,28	16,89	13,76	17,14	15,84	9,95
Valor P	VE	0,167	0,127	0,996	* 0,001	* 0,017	0,276	0,122	0,248	0,176
	Gln	0,819	0,175	0,824	* 0,002	0,112	0,993	0,066	0,114	0,615
	VE * Gln	0,987	0,903	0,854	* 0,038	0,491	0,060	0,922	0,235	* 0,015
<i>14 DIAS DE IDADE</i>										
10	Isento	1273,0 \pm 45,6 B	596,2 \pm 30,9	506,7 \pm 46,7	154,9 \pm 10,6	108,8 \pm 5,3ABa	103,3 \pm 4,6	8,4 \pm 0,50 ABb	5,5 \pm 0,13 ABb	4,9 \pm 0,27
	1-7d	1294,2 \pm 57,9 AB	696,4 \pm 57,0	495,7 \pm 29,9	171,6 \pm 15,1	125,0 \pm 5,5 Aa	102,6 \pm 7,8	7,7 \pm 0,43 ABb	5,6 \pm 0,35 ABb	4,9 \pm 0,27
	1-14d	1209,9 \pm 39,1 B	634,0 \pm 59,1	426,4 \pm 27,1	181,2 \pm 8,7	115,1 \pm 6,5ABa	86,6 \pm 4,1	6,7 \pm 0,32 Bb	5,3 \pm 0,19 Bb	4,9 \pm 0,17
500	Isento	1250,1 \pm 48,9 AB	603,4 \pm 49,4	402,9 \pm 25,1	171,5 \pm 17,7	100,0 \pm 4,8 Bb	85,3 \pm 5,4	7,6 \pm 0,66 ABa	6,0 \pm 0,30 ABa	4,7 \pm 0,14
	1-7d	1256,4 \pm 36,2 AB	658,6 \pm 44,3	452,1 \pm 26,3	152,1 \pm 6,7	99,8 \pm 5,2 Bb	94,2 \pm 3,9	8,4 \pm 0,20 ABa	6,7 \pm 0,26 Aa	4,9 \pm 0,31
	1-14d	1394,3 \pm 44,5 A	633,6 \pm 41,6	462,8 \pm 34,6	152,8 \pm 7,1	100,4 \pm 3,5 Bb	90,1 \pm 6,8	9,2 \pm 0,23 Aa	6,4 \pm 0,38 ABa	5,2 \pm 0,13
CV (%)		8,03	16,95	14,99	16,01	10,69	12,92	11,81	10,84	9,94
Valor P	VE	0,283	0,800	0,153	0,287	* 0,001	0,096	* 0,038	* 0,001	0,945
	Gln	0,673	0,311	0,630	0,903	0,341	0,195	0,988	0,383	0,557
	VE * Gln	* 0,041	0,887	0,093	0,149	* 0,030	0,160	* 0,002	* 0,050	0,721

Letras diferentes na mesma coluna: A-B (interação = VE*Gln), a-b (VE), diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

TABELA 5 - Médias de altura dos vilos (μm), profundidade das criptas (μm) e relação vilos:cripta dos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) dos frangos de corte, aos 21 e 41 dias de idade, alimentados com dietas contendo Glutamina (Gln) e Vitamina E (VE)

Tratamento		ALTURA DOS VILOS (μm)			PROFUNDIDADE DAS CRIPTAS (μm)			VILO:CRIPTA		
VE	Gln	DUODENO	JEJUNO	ÍLEO	DUODENO	JEJUNO	ÍLEO	DUODENO	JEJUNO	ÍLEO
<i>21 DIAS DE IDADE</i>										
10	Isento	1494,7 \pm 109,6	761,5 \pm 43,2	550,5 \pm 20,8 a	192,4 \pm 10,3 a	110,2 \pm 11,6	85,2 \pm 4,3	7,8 \pm 0,36	7,2 \pm 0,20 b	6,5 \pm 0,17 a
	1-7d	1416,9 \pm 103,1	805,6 \pm 37,7	568,7 \pm 23,6 a	197,6 \pm 5,4 a	120,1 \pm 3,1	91,8 \pm 5,6	7,2 \pm 0,47	6,8 \pm 0,36 b	6,3 \pm 0,26 a
	1-14d	1625,9 \pm 77,7	867,8 \pm 33,6	547,1 \pm 31,1 a	186,1 \pm 6,6 a	115,4 \pm 8,4	87,8 \pm 4,2	8,8 \pm 0,42	7,6 \pm 0,37 b	6,3 \pm 0,23 a
500	Isento	1513,6 \pm 109,7	900,9 \pm 37,1	481,2 \pm 22,1 b	176,7 \pm 9,4 b	108,1 \pm 5,6	85,4 \pm 2,6	8,7 \pm 0,68	8,4 \pm 0,23 a	5,6 \pm 0,23 b
	1-7d	1503,3 \pm 102,8	830,9 \pm 55,8	490,1 \pm 37,4 b	172,4 \pm 4,5 b	113,9 \pm 5,3	87,6 \pm 6,4	8,8 \pm 0,68	7,3 \pm 0,33 a	5,6 \pm 0,17 b
	1-14d	1600,4 \pm 105,6	843,5 \pm 29,9	507,7 \pm 43,8 b	182,5 \pm 7,8 b	106,2 \pm 3,8	99,3 \pm 5,3	8,7 \pm 0,48	8,0 \pm 0,28 a	5,1 \pm 0,25 b
CV (%)		14,66	10,78	13,23	8,87	13,81	12,30	14,29	9,12	8,47
Valor P	VE	0,752	0,175	* 0,021	* 0,022	0,327	0,542	0,072	* 0,011	* 0,001
	Gln	0,310	0,645	0,895	0,995	0,511	0,263	0,328	0,310	0,203
	VE * Gln	0,854	0,153	0,805	0,351	0,882	0,276	0,340	0,410	0,527
<i>41 DIAS DE IDADE</i>										
10	Isento	1513,6 \pm 33,4	1046,8 \pm 57,6 B	740,9 \pm 37,1 B	182,7 \pm 6,8	152,5 \pm 9,8	133,9 \pm 3,6	8,4 \pm 0,22	6,9 \pm 0,11	5,5 \pm 0,24
	1-7d	1591,1 \pm 26,9	1297,4 \pm 24,4 A	921,0 \pm 40,7 A	181,6 \pm 4,5	168,6 \pm 3,4	154,8 \pm 3,9	8,8 \pm 0,29	7,7 \pm 0,12	6,0 \pm 0,39
	1-14d	1550,1 \pm 44,8	1286,9 \pm 91,4 A	801,7 \pm 51,0 AB	179,9 \pm 3,2	159,9 \pm 9,3	140,4 \pm 8,5	8,6 \pm 0,36	8,1 \pm 0,42	5,7 \pm 0,23
500	Isento	1564,6 \pm 59,8	1364,5 \pm 15,0 A	839,0 \pm 47,2 AB	197,0 \pm 5,1	174,4 \pm 6,5	141,8 \pm 7,6	7,9 \pm 0,36	7,9 \pm 0,33	5,9 \pm 0,24
	1-7d	1512,7 \pm 57,6	1168,1 \pm 87,3 AB	879,7 \pm 35,6 AB	194,1 \pm 5,3	164,3 \pm 6,6	146,6 \pm 7,9	7,8 \pm 0,23	7,1 \pm 0,38	6,0 \pm 0,31
	1-14d	1587,4 \pm 66,5	1220,9 \pm 35,7AB	740,0 \pm 12,1 B	196,4 \pm 5,2	175,9 \pm 4,4	140,2 \pm 6,5	8,1 \pm 0,35	6,9 \pm 0,25	5,3 \pm 0,31
CV (%)		9,91	10,85	10,76	7,13	9,55	10,39	8,96	8,90	10,63
Valor P	VE	0,953	0,411	0,961	0,070	0,065	0,974	0,230	0,301	0,916
	Gln	0,911	0,723	* 0,010	0,936	0,810	0,168	0,749	0,898	0,268
	VE * Gln	0,593	* 0,001	* 0,012	0,946	0,175	0,510	0,645	0,400	0,350

Letras diferentes na mesma coluna: A-B (interação = VE*Gln), a-b (VE), diferem significativamente pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

CONCLUSÃO

Dietas com 10 mg de VE/kg de ração, suplementadas com Glutamina na primeira semana de idade, proporcionaram melhor desenvolvimento da mucosa intestinal em frangos de corte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APPLEGATE, T.J., DIBNER, J.J., KITCHELL, M.L., et al. Effect of turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. *Comparative Biochemistry and Physiology*, v. 124B, p.381-389, 1999.
- AW, T.Y., WILLIAMS, M.W. Intestinal absorption and lymphatic transport of peroxidized lipids in rats: effect of exogenous GSH. *American Journal Physiology*, v.263, p.G665-G672, 1992.
- BAINS, B.S. The role of vitamin C in stress management. *World Poultry Misset*, v.12, n.4, p.38-41, 1996.
- BALL, W.J., SALSER, J.S., BALIS, M.E. Biochemical changes in preneoplastic rodent intestines. *Cancer Research*, v.36, p.2686-2689, 1976.
- BARBI, J.H., BECKER, B.G., ROBEY, E.W. Antioxidantes em rações avícolas. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE NUTRIÇÃO AVÍCOLA, 1999, Campinas. *Anais...* Campinas, 1999. p.219-246.
- BAYLIN, S.B., STEVENS, S.A., MOHAMED SHAKIR, K.M. Association of diamine oxidase and ornithine decarboxylase with maturing cells in rapidly proliferating epithelium. *Biochim Biophys Acta*, v.541, p.415-419, 1978.
- BEÇAK, W., PAULETE, J. *Técnicas de citologia e histologia*. Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., Rio de Janeiro, 1976, 305p.
- BLIKSLAGER, A.T., RHOADS, J.M., BRISTOL, D.G., ROBERTS, M.C., ARGENZIO, R.A. Glutamine and transforming growth factor-alpha stimulate extracellular regulated protein kinase and enhance recovery of villous surface area in porcine ischemic-injured intestine. *Surgery*, n.125, p.186-194, 1999.
- EWAN, R.C. Vitaminas. In: SWENSON, M.J., REECE, W.O. **Dukes: Fisiologia dos animais domésticos**. 11^a. ed. Guanabara Koogan, 1993, p.457-469.
- GAUTHIER, R., HARNOIS, C., DROLET, J.F., REED, J.C., VEZINA, A., VACHON, P.H. Human intestinal epithelial cell survival: differentiation state-specific control mechanisms. *American Journal Physiology Cell Physiology*, v.280, p.C1540-1554, 2001.

- HAUSSINGER, D., LANG, F., GEROK, W. Regulation of cell function by cellular hydration state. *American Journal Physiology*, v.267, p. E343-E355, 1994.
- JAHOOOR, F., WYKES, L.J., REEDS, P.J., HENRY, J.F., DEL ROSARIO, M., FRAZER, E.M. Protein deficient pigs cannot maintain reduced glutathione homeostasis when subjected to the stress of inflammation. *Journal of Nutrition*, n. 125, p. 1462-1472, 1996.
- JOHNSON, L.R., McCORMACK, S.A. Regulation of gastrointestinal mucosal growth. In: JOHNSON, L.R. **Physiology of the gastrointestinal tract**. 3^o Edition, Raven Press, New York, 1994. p.611-641.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. 10^a Edição. Guanabara Koogan, 2004, p.284-316.
- KELLY, D., SMITH, J.A., McCRACKEN, K.J. Digestive development of the early-weaned pig. 1. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. *British Journal Nutrition*, v. 65, p.169-180, 1991.
- KHAN, J., LIBOSHI, Y., CUI, L., WASA, M., SANDO, K., TAKAGI, Y., OKADA, A. Alanyl-glutamine-supplemented parenteral nutrition increases luminal mucus gel and decreases permeability in the rat small intestine. *Journal Parenteral Enteral Nutrition*, n.23, p.24-31, 1999.
- KLASING, K.C. Nutritional aspect of leukocytic cytokines. *Journal of Nutrition*, n.118, p.1436-1446, 1988.
- KONDO, N. *Estudo das características morfológicas de diferentes regiões do intestino delgado e índices zootécnicos em quatro linhagens de frangos de corte*. 2003. 119p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu.
- LACEY, J.M., WILMORE, D.W. Is glutamine a conditionally essential aminoacid? *Nutrition Review*, v.48, p.297-309, 1990.
- LESHCHINSKY, T.V., KLASING, K.C. Relationship between the level of dietary vitamin E and the immune response of broiler chickens. *Poultry Science*, v.80, p.1590-1599, 2001.

- LOBLEY, G.E., HOSKINM S.O., MCNEIL, C.J. Glutamine in animal science and production. *Journal of Nutrition*, n.131, p.255S-2531S, 2001.
- LODDI, M.M. *Probióticos, prebióticos e acidificante orgânico em dietas para frangos de corte*. 2003. 52p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-FCAV, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.
- MACARI, M. Aspectos fisiológicos do sistema digestivo das aves. In: VIII SACAVET - SEMANA ACADÊMICA VETERINÁRIA, FMVZ-USP, 1998, São Paulo. *Anais....* São Paulo:USP, 1998, p. 4-18.
- MACARI, M., MAIORKA, A. Função gastrointestinal e seu impacto no rendimento avícola. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 2000, Campinas, São Paulo. *Anais...* Campinas, São Paulo, 2000, v. 2, p.161-174.
- MAIORKA, A., SILVA, A.V.F., SANTIN, E., BORGES, S.A, BOLELI, I.C., MACARI, M. Influência da suplementação de glutamina sobre o desempenho e o desenvolvimento de vilos e criptas do intestino delgado de frangos. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.52, n.5, p.487-490, 2000.
- MARLISS, E.B., AOKI, T.T., POZEFSKY, T. et al. Muscle and splanchnic glutamine and glutamate metabolism in post absorptive and starved man. *Journal of Clinical Investigation*, v.50, p.814-817, 1971.
- NEWSHOLME, P. Why is L-Glutamine metabolism important to cells of the immune system in health, postinjury, surgery or infection? *Journal of Nutrition*, n.131, p.2515S-2522S, 2001.
- NIR, I. Mecanismos de digestão e absorção de nutrientes durante a primeira semana. In: CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, 1998, Campinas. *Anais...* Campinas: FACTA, 1998, p.81-91.
- NOY, Y., SKLAN, D. Digestion and absorption in the young chick. *Poultry Science*, v.74, p.366-373, 1995.
- NOY, Y., SKLAN, D. Metabolic responses to early nutrition. *Journal of Applied Poultry Research*, v.7, p.437-451, 1998.
- OLIVO, R., SOARES, A.L., IDA, E.I. SHIMOKOMAKI, M. Dietary vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry*, v.25, p.271-283, 2001.

- POTTEN, C.S., LOEFFLER, M. Stem Cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from crypts. *Development*, v.110, p.1001-1020, 1990.
- RAYBOULD, H.E. Visceral perception: sensory transduction in visceral afferents nutrients. *Gut*, v.51, p.i11-i14, 2002.
- REEDS, P.J., BURRIN, D.G., STOLL, B., JAHOR, F., HENRY, J., FRAZER, M.E. Enteral glutamate is the preferential precursor for mucosal glutathione synthesis in the piglet. *American Journal Physiology*, n. 273, p. E408-E415, 1997.
- REEDS, P.J., BURRIN, D.G. Glutamine and the bowel. *Journal of Nutrition*, n.131, p.2505S-2508S, 2001.
- RHOADS, J.M., ARGENZIO, R.A., CHEN, W. L-glutamine stimulates intestinal cell proliferation and activates mitogen-activated protein kinases. *American Journal Physiology*, n.272 (Gastrointest. Liver physiology 35), p.G943-953, 1997.
- ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais.** 1ª. edição. Ed. Imprensa Universitária, Viçosa, 2000, 141p.
- RUEMMELE, F.M., RUEMMELE, C., LEVY, E., SEIDMAN, E. Les mécanismes moléculaires de la régulation du renouvellement de cellules épithéliales intestinales par des nutriments. *Gastroenterol Clinical Biology*, v. 23, p.47-55, 1999.
- SANTIN, E., MAIORKA, A., MACARI, M. Performance and intestinal mucosa development of broiler chickens fed diets containing *Saccharomyces Cerevisiae* Cell Wall. *Journal Applied Poultry Research*, v.10, p.236-244, 2001.
- SAS INSTITUTE (2000). SAS® (Statistical Analysis System) User's guide, Statistics, versão 8.1, v.2, 4ª. ed. Cary. 2000.
- SELL, J. Physiological limitations and potential for improvement in gastrointestinal tract function of poultry. *Journal of Applied Poultry Research*, v.5, p.96-101, 1996.
- SILVA, J.M. *Efeito agudo e crônico da desnervação autonômica extrínseca na dinâmica celular do epitélio do intestino delgado de ratos Wistar.* Tese

- (Doutorado), 2004, 96p. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo - FMRP-USP.
- SMITH, R.J. Glutamine metabolism and its physiologic importance. *Journal Parenteral Enteral Nutrition*, v.14, p.40S-44S, 1990.
- UNI, Z., PLATIN, R., SKLAN, D. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. *Journal Comparative Physiology B*, v.168, p. 241-247, 1998.
- UNI, Z. Functional development of the small intestine in domestic birds: cellular and molecular aspects. *Poultry Avian Biology Reviews*, v.10, n.3, p.167-179, 1999.
- VAN DONGEN, J.M., VISSER, W.J., DAEMS, W., GALJAARD, H. The relation cell proliferation and ultrastructural development in rat intestinal epithelium. *Cell Tissue Research*, v.174, p.183-199, 1976.
- WU, G. An important role for pentose cycle in the synthesis of citrulline and proline from glutamine in porcine enterocytes. *Archives Biochemistry Biophysic*, n.336, p.224-230, 1996.
- WU, G. Intestinal mucosal amino acid catabolism. *Journal of Nutrition*, n. 128, p.1249-1252, 1998.
- YI, G.F., ALLEE, G.L., FRANK, J.W., SPENCER, J.D., TOUCHETTE, K.J. Impact of glutamine, menhaden fish meal and spray-dried plasma on the growth performance and intestinal morphology of broilers. *Poultry Science*, v.80, Supplement 1 (Abstract), 2001a.
- YI, F.G., ALLEE, G.L., KNIGHT, C.D., DIBNER, J.J. Impact of Glutamine and Oasis hatchling supplement on growth performance, small intestinal morphology, and immune response of broilers vaccinated and challenged with *Eimeria maxima*. *Poultry Science*, v.84, p.283-293, 2005.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

* Uma melhora imunológica via alimentação poderia reduzir a necessidade do uso de substâncias químicas como melhoradores do crescimento, tais como antimicrobianos;

* Efeito imunomodulador da vitamina E pode ser maximizado em situação de desafio ou estresse;

* A glutamina e vitamina E apresentaram efeito trófico sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal em frangos de corte, necessitando de futuras pesquisas para definir o percentual ótimo de inclusão da glutamina na primeira semana de idade.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)