

EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE DL-METIONINA E DL-METIONIL-METIONINA SOBRE A RELAÇÃO VILO:CRIPTA DO INTESTINO DELGADO DE FRANGOS DE CORTE SUBMETIDOS À ESTRESSE POR CALOR AOS 21 DIAS DE IDADE

Mariana Colhado do Nascimento (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Tatiana Carlesso dos Santos (Orientador), Isabelle Naemi Kaneko, Eliane Gasparino, e-mail: tcsantos@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Agrárias/Maringá, PR

Área e subárea do conhecimento: Ciências Agrárias, Zootecnia

Palavras-chave: jejuno, morfologia, vilo intestinal.

Resumo:

Objetivamos avaliar as características morfológicas do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte submetidos a dietas suplementadas com duas diferentes fontes de metionina e ao estresse crônico de temperatura aos 21 dias de idade. Foram utilizados 216 pintos de corte machos da linhagem Cobb®, submetidos a 3 dietas: dieta basal (sem adição de metionina), dieta suplementada com DL-Met 99% e dieta suplementada com DL Met-Met 97% e 3 períodos de avaliação: aos 21 d (antes do estresse térmico) e aos 22 e 23 d, respectivamente, com 24 e 48 hs de estresse térmico de 32°C. O duodeno, jejuno e íleo foram isolados e processados na rotina histológica (n=06). Os cortes histológicos foram analisados em microscópio de luz e determinada a altura das vilosidades intestinais e a profundidade das criptas. Esses valores foram utilizados para determinar a relação vilo:cripta. Para duodeno, houve interação entre o período de estresse e a dieta, em que as aves que consumiram DL-Met quando submetidas à 48 hs de estresse apresentaram maiores valores comparadas às aves que receberam Met-Met no período sem estresse e ração basal às 24 hs de estresse ($P=0,0091$). Para jejuno, observou-se aumento gradativo da relação vilo:cripta com o prolongamento do período de estresse ($P = 0,0001$) e para o íleo o período de 48 hs apresentou uma maior relação que o período sem estresse por temperatura ($P=0,020$). O período de estresse por calor aumentou a relação vilo:cripta. No entanto, as dietas não influenciaram nos resultados.

Introdução

Na ração de aves, a metionina é o primeiro aminoácido limitante em dietas baseadas em milho e soja, necessitando ser suplementada para atender as

exigências desses animais. São diversas as fontes de metionina utilizadas na suplementação deste aminoácido na dieta de frangos de corte, dentre elas estão a L-metionina, a DL-metionina e o análogo de metionina, ácido DL-2-hidroxi-4- (metiltio) butanóico (DL-HMTBA) (Zhang et al., 2016). Uma nova fonte de metionina, ainda não utilizada na dieta de frangos de corte é a DL-Metionil-Metionina, que é caracterizada como um dipeptídeo de DL-metionina, podendo ser absorvida por meio do transportador *PEPT1* (EFSA, 2015).

Esta nova fonte poderia promover uma absorção mais efetiva da molécula de metionina, bem como promover modificações intestinais perante situações de estresse. Sabe-se que em condições de estresse térmico, o esvaziamento do trato intestinal passa a ser mais lento, ocorrendo a diminuição da motilidade intestinal e depressão no fluxo sanguíneo intestinal (Gonzales-Esquerre e Leeson, 2006). Diante disso, objetivamos avaliar os efeitos da suplementação de DL-Metionina e DL-Metionil-Metionina na relação vilosidade:cripta do duodeno, jejuno e íleo de aves submetidas ao estresse por calor de 32 °C aos 21 dias de idade por 0, 24 e 48 horas.

Materiais e métodos

O experimento foi aprovado sob número de protocolo 4000170615 do Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais para Experimentação da Universidade Estadual de Maringá. Um total de 216 frangos de corte da linha comercial Cobb-Vantress® foram distribuídos em 3 dietas: basal (abaixo de metionina - 0,585), Met-Met e DL-Met (com metionina digestível de 0,856) e 3 períodos de avaliação: aos 21 dias (antes do estresse térmico) e aos 22 e 23 dias, respectivamente, com 24 e 48 horas de estresse térmico de 32 °C. As aves foram alojadas em uma sala climatizada em 18 gaiolas metálicas com área de 1 m², 12 aves por gaiola, 6 repetições por dieta utilizada. A temperatura climática da sala foi adequada à idade das aves, segundo o manual de linhagem até os 21 dias de idade, após esse período, foram submetidas ao estresse térmico (32°C), por 24 e 48 horas.

Com 21 dias (sem estresse térmico) e aos 22 e 23 dias (com 24 e 48 horas de estresse térmico) as aves foram avaliadas. Em cada período, 06 aves por tratamento foram anestesiadas com tiopental (10 mg/kg) e abatidas por deslocamento cervical. Amostras dos segmentos do intestino delgado (duodeno, jejuno e íleo) foram fixadas em paraformaldeído (4%) em tampão fosfato (pH 7,4 e 0,1M), processadas na rotina histológica, incluídas em parafina, seccionadas (5 µm) e coradas com hematoxilina e eosina. Foram colhidas imagens digitais para o estudo morfológico da mucosa através de uma câmera (Motican® 5MP) acoplada a um microscópio de luz. Nos segmentos do intestino foram obtidos dados de altura de vilosidades e profundidade de cripta, para a determinação da relação vilosidade: cripta dos segmentos do intestino delgado.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando-se o programa estatístico SAS Institute Inc. (2011), para se descrever os efeitos das 3

dietas e dos períodos de estresse por calor sobre a relação vilo:cripta dos segmentos do intestino delgado.

Resultados e Discussão

A relação vilo:cripta no duodeno apresentou interação significativa ($P = 0,0091$) entre os períodos de estresse e as dietas estudadas, em que as aves que consumiram DL-Met quando submetidas à 48 horas de estresse apresentaram maiores valores comparadas às aves que receberam Met-Met no período sem estresse e ração basal às 24 horas de estresse (Tabela 1).

Tabela 1. Efeitos de diferentes fontes de metionina na relação vilo:cripta do duodeno, jejuno e íleo de frangos de corte com 21 dias de idade submetidos a diferentes períodos de estresse por calor.

Períodos de estresse	Dietas	Intestino delgado		
		Duodeno	Jejuno	Íleo
0 hs	Basal	11,37 ^{ab} ±0,70	7,92±0,79	5,89±0,25
	Met-Met	8,58 ^b ±0,43	6,39±0,66	6,03±0,19
	DL-Met	9,35 ^{ab} ±1,32	7,55±0,98	6,97±0,77
24 hs	Basal	7,70 ^b ±0,36	8,64±0,44	7,95±0,49
	Met-Met	10,97 ^{ab} ±1,54	9,35±0,28	7,15±0,54
	DL-Met	11,07 ^{ab} ±0,40	8,94±0,58	6,93±0,81
48 hs	Basal	10,24 ^{ab} ±0,74	11,54±0,88	7,94±0,81
	Met-Met	12,35 ^{ab} ±0,66	9,92±0,92	7,99±0,58
	DL-Met	13,98 ^a ±1,75	11,00±0,61	7,11±0,50
Períodos de estresse	0 hs	9,69 ^b ±2,20	7,27 ^c ±1,91	6,28 ^b ±1,09
	24 hs	9,69 ^b ±2,69	8,98 ^b ±1,01	7,38 ^{ab} ±1,28
	48 hs	11,97 ^a ±2,60	11,52 ^a ±1,91	7,80 ^a ±1,54
Dietas	Basal	9,68±2,09	9,37±2,32	7,30±1,65
	Met-Met	10,62±2,62	9,22±2,80	7,05±1,34
	DL-Met	11,30±3,30	9,16±2,13	7,00±1,39
Probabilidades				
Períodos de estresse		0,0053	0,0001	0,0201
Dietas		0,1204	0,9378	0,8642
Interação		0,0091	0,4396	0,3855

^a Médias seguidas por letras diferentes na coluna diferem entre si pelo teste de Tukey.

Houve efeito isolado do período de estresse no jejuno e íleo. Para jejuno, observou-se o aumento gradativo da relação vilo:cripta com o

prolongamento do período de estresse e para o íleo o período de 48 horas apresentou uma maior relação que o período sem estresse por temperatura (Tabela 1).

De maneira geral, o aumento do período de estresse ocasionou um incremento na relação vilo:cripta em todos os segmentos analisados. Esse aumento indica uma maior área de absorção do vilo intestinal, que neste caso provavelmente ocorreu em resposta ao estresse por calor (Gonzales-Esquerre e Leeson, 2006). Sabe-se que a ave em estresse por calor diminui o consumo de alimento e o metabolismo intestinal, com o intuito de dissipar calor e manter a temperatura corporal adequada. Em resposta a essa situação, as aves deste experimento aumentaram a superfície de absorção intestinal a fim de captar maior quantidade de nutrientes para a manutenção.

Conclusões

Em 48 horas de estresse o intestino delgado desenvolveu uma resposta efetiva ao estresse por calor. Contudo, perante a essa situação, a suplementação de metionina e as fontes estudadas não apresentaram efeitos sobre a relação vilo:cripta.

Agradecimentos

À Fundação Araucária pela bolsa de iniciação científica concebida.

Referências

DANIEL, H. Molecular and integrative physiology of intestinal peptide transport. **The Annual Review of Physiology**, Palo Alto, CA, v. 66, p. 361-384, 2004.

FEI, Y. J.; KANAI, Y.; NUSSBERGER, S.; GANAPATHY, V.; LEIBACH, F.; ROMERO, M.; SINGH, S.; W. BORON; HEDIGER, M. Expression cloning of a mammalian proton-coupled oligopeptide transporter. **Nature**, London, UK, v. 368, p. 563-566, 1994.

GONZALES-ESQUERRA, R., LEESON, S. Physiological and metabolic responses of broilers to heat stress - implications for protein and amino acid nutrition. **Worlds Poultry Science Journal**, Cambridge, UK, v. 62, p. 282-295, 2006.

SAS Institute. **SAS Proprietary Software Release 9.2**. SAS Inst. Inc., Cary, NC, 2011.

ZHANG, S.; SAREMI, B.; GILBERT E. R., WONG, E.A. Physiological and biochemical aspects of methionine isomers and a methionine analogue in broilers. **Poultry Science**, Champaign, IL, v. 96, n. 2, p. 425-439, 2016.