UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

PROTOCOLOS NUTRICIONAIS PARA PRESERVAR AS JUNÇÕES COMPACTAS DO TRATO GASTROINTESTINAL E DIMINUIR MARCADORES INFLAMATÓRIOS NO SANGUE DE BOVINOS CONFINADOS

BRENO LEITE DEMARTINI

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Unesp, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Agosto/2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
CAMPUS DE BOTUCATU

PROTOCOLOS NUTRICIONAIS PARA PRESERVAR AS JUNÇÕES COMPACTAS DO TRATO GASTROINTESTINAL E DIMINUIR MARCADORES INFLAMATÓRIOS NO SANGUE DE BOVINOS CONFINADOS

BRENO LEITE DEMARTINI

Orientador: Prof. Dr. Danilo Domingues Millen

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Unesp, para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-graduação em Zootecnia

BOTUCATU – SP
Agosto/2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Demartini, Breno Leite.
Protocolos nutricionais para preservar as junções compactas do trato gastrointestinal e diminuir marcadores inflamatórios no sangue de bovinos confinados / Breno Leite Demartini. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Danilo Domingues Millen
Capes: 50403001

1. Bovinos. 2. Confinamento (Animais). 3. Sistema gastrointestinal. 4. Inflamação. 5. Milho. 6. Gordura.

Palavras-chave: Epitélio; Gordura; Inflamação; Intestino; Milho.

Nome do autor: Breno Leite Demartini

Título: PROTOCOLOS NUTRICIONAIS PARA PRESERVAR AS JUNÇÕES COMPACTAS DO TRATO GASTROINTESTINAL E DIMINUIR MARCADORES INFLAMATÓRIOS NO SANGUE DE BOVINOS CONFINADOS

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Danilo Domingues Millen
Orientador
Departamento de Produção Animal
FCAT – UNESP Campus de Dracena

Prof. Dr. Rodrigo da Silva Marques
Membro Titular
Departament of Animal and Range Sciences
Montana State University

Prof. Dr. Mário De Beni Arrigoni
Membro Titular
Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal
FMVZ – UNESP Campus de Botucatu

Data da Defesa: 15 de agosto de 2022.

BIOGRAFIA DO AUTOR

Breno Leite Demartini – nascido em 20 de fevereiro de 1997, na cidade de Tietê/SP, filho de Dirlei Alessandro Demartini e Frédia Silene Mazzucato Leite, ingressou no curso de Zootecnia na Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP – Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas, Campus de Dracena em agosto de 2015. Ao decorrer da graduação realizou duas atividades de iniciação científica com bolsa financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e um intercâmbio com bolsa BEPE concedida pela FAPESP na University of Saskatchewan na cidade de Saskatoon, Saskatchewan, CA com o Dr. Gregory B. Penner e obteve grau de Zootecnista em janeiro de 2020. Em março de 2020 ingressou o curso de Mestrado em Zootecnia da UNESP – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Campus de Botucatu, onde foi bolsista pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) com vigência de março/2020 a dezembro/2020, sendo que em janeiro/2020 foi contemplado como bolsista da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Atua na área de nutrição e produção de ruminantes, com foco em bovinos de corte em confinamento.

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Frédia e Alessandro, e a toda minha família por sempre apoiarem minhas decisões e sempre me fornecer todo o suporte necessário para que eu atingisse meus objetivos. À minha namorada, Eduarda Sayuri, pôr em todos os momentos me manter no caminho certo, ajudar na tomada de decisões, me ajudar sem medir esforços e por ser minha melhor companhia! A meu amigo, Daniel Watanabe, o qual sempre me ajudou por todo caminho desde a graduação até hoje, muito obrigado!

AGRADECIMENTOS

Agradeço de todo meu coração minha namorada, Eduarda Sayuri, por estar em todos os momentos ao meu lado, sendo eles bons ou ruins! Obrigado por ser a companheira que escolhi para caminhar junto a mim, por não medir esforços em me ajudar em todos os momentos que precisei, principalmente nos mais difíceis, amo você!

À minha mãe, Frédia, que sempre me fortaleceu e incentivou com sua positividade e amor. Ao meu pai, Alessandro, que nunca deixou que eu desistisse e sempre me deu forças para que eu me torne uma pessoa melhor. A minha irmã, Brenda, agradeço por sempre confiar em mim e me ajudar nas horas que necessitei, sem dúvida ajudou a me tornar uma pessoa melhor e mais responsável e a meu irmão, Pedro, por me ter como exemplo.

Aos meus familiares em geral, principalmente aos meus avós, Frédie e Bernadete, meus padrinhos, Sinésio, Luana e Cristiana por não medirem esforços, sempre me apoiando em todos os momentos possíveis. Agradeço demais ao "irmão", Evandro, que desde o primeiro dia de graduação até o hoje foi um grande companheiro para mim, ajudando em tomada de decisões, trabalhando juntos, e mesmo com a distância sempre estando presente! Agradeço demais por sua amizade.

Ao meu grande amigo Daniel "Dunha", uma pessoa de coração enorme, e que mesmo a grande distância se manteve presente e me ajudou a concluir não somente minha graduação como também assumiu papel de coorientador durante minha jornada na pós-graduação, além de somar para minha evolução pessoal, muito obrigado!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Danilo Millen, por toda a amizade, ensinamentos, confiança e pela oportunidade oferecida nessa trajetória.

À minha República Boi Gordo, por ter me acolhido durante toda minha graduação e pós-graduação. "Parceria forte, amizade eterna!"

Ao Grupo de Estudos NEEL/NERU pela troca de conhecimentos e toda equipe do confinamento. Aos meus veteranos e amigos que me ajudaram a crescer dentro da Zootecnia, Daniela "Trucker", Ana Carolina "Capada", Antônio "Tonho".

À UNESP de Botucatu pela oportunidade de tanto aprendizado e a toda a equipe de funcionários.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelas bolsas de estudos e pelo financiamento dos recursos utilizados na condução desta pesquisa, processo: 2022/11555-7.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo: 132109/2020-4.

À CAPES, PORTARIA Nº 206, DE 4 DE SETEMBRO DE 2018. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

A todos que não foram citados aqui e que de alguma forma, deram sua contribuição para que esse trabalho fosse concluído.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO: Esse projeto teve como objetivo avaliar o efeito do processamento do grão de milho em dietas com inclusão ou não de sais cálcicos de ácidos graxos protegidos da fermentação ruminal (SCAG), assim como de zinco e cromo sobre a morfometria e integridade do epitélio do trato gastrointestinal, marcadores de inflamação no sangue e teor de amido fecal de bovinos Nelore confinados. Foram utilizados 150 animais, machos, não castrados, com peso vivo médio inicial de 403,98 ± 23,82kg, blocados por peso. No dia 0 do período experimental, um animal por baia (n=30) foram abatidos como referência; e desta forma o estudo prosseguiu com 120 animais, divididos aleatoriamente em 30 baias (n=4 por baia). O período experimental foi de 112 dias, o qual incluiu 20 dias de adaptação e 92 dias de terminação com dietas de alto desempenho de acordo com os tratamentos: **1**) Grão de milho seco finamente moído; **2**) Silagem de grão úmido de milho (SGU); **3**) Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **4**) SGU + SCAG; **5**) SGU + SCAG + Zn e Cr. Monensina sódica foi adicionada à 25ppm em todos os tratamentos. Amostras de sangue e fezes foram coletadas durante o estudo para análises dos marcadores inflamatórios no sangue e teor de amido fecal, respectivamente, no início e ao final do estudo. Após os abates (referência e final), fragmentos do rúmen, jejuno e ceco foram coletados para análises da integridade do epitélio intestinal por meio de morfometria, histologia e imuno-histoquímica das junções compactas. Animais que consumiram SCAG apresentaram menores concentrações de alguns marcadores inflamatórios (haptoglobina, proteína ligante do LPS, proteína C-Reativa; $P<0,05$), assim como menores teores de amido fecal no dia 56 e menor consumo total de amido ($P<0,05$). Protocolos com uso da SGU + apresentaram menor ingestão de matéria seca (IMS), consumo total de amido, menor teor de amido fecal nas fezes dos dias 56 e 112 e ainda menores inflamações das zônulas ocludentes cecais ($P<0,05$). Diante dos resultados encontrados, os protocolos com inclusão da SGU não prejudicaram a permeabilidade/ barreira seletiva cecal, possivelmente por reduzirem a ingestão total de amido, porém, com a alteração do local de fermentação do amido para o rúmen, aumentou a incidência de rumenites. Os protocolos que utilizaram os SCAG reduziram as concentrações de haptoglobina, LBP e PCR no sangue, menores incidências de rumenites, provavelmente por menor ingestão de amido total, aliviando a fermentação ruminal. A introdução do Zn e Cromo orgânico não evidenciaram nenhuma melhora na saúde do TGI dos animais estudados. Com isso, neste estudo, protocolos com a introdução dos SCAG ou o processamento do milha em SGU se apresentaram vantajosos em promover saúde digestiva e animal.

Palavras-chave: epitélio; gordura; inflamação; intestino; milho.

ABSTRACT: This project aimed to evaluate the effect of different corn grain processing in diets with or without rumen-protected calcium salts of fatty acids, as well as organic zinc and chromium on the morphometry and integrity of the epithelium of the gastrointestinal tract, blood inflammatory markers, and fecal starch content in feedlot Nellore cattle. The experiment was conducted using 150 Nellore bulls, with initial body weight of 403.98 ± 23.82 kg, blocked by weight. On day 0 of the experimental period, one animal per pen (n=30) was slaughtered as a reference; thus, the study proceeded with 120 animals, randomly divided into 30 pens (n=4 per pen). The experimental period was 112 days, which included 20 days of adaptation and 92 days of finishing with different high-performance diets according to the treatments: 1) Finely-ground corn; 2) High-moisture corn; 3) Finely-ground corn + calcium salts of fatty acids; 4) High-moisture corn + calcium salts of fatty acids; 5) High-moisture corn + calcium salts of fatty acids + Zn and Cr. Sodium monensin was added at 25ppm in all treatments. Blood and feces samples were collected during the study for analysis of blood inflammatory markers and fecal starch content, respectively, at beginning and at the end of the study. After slaughter (reference and final) fragments of the rumen, jejunum and cecum were collected for analysis of the integrity of the intestinal epithelium, through morphometry, histology and immunohistochemistry of the tight cell junctions. Animals that consumed calcium salts of fatty acids had lower concentrations of some inflammatory markers (haptoglobin, LPS binding protein, C-Reactive protein; $P<0.05$), as well as lower fecal starch contents on day 56 and lower total starch consumption ($P<0.05$). Protocols using high-moisture corn showed lower dry matter intake (DMI), total starch consumption, lower fecal starch content on days 56 and 112 and even lower inflammation of the cecal zonula occludens ($P<0.05$). Given the results found, the protocol with high-moisture corn did not impair the cecal barrier function, possibly by reducing the total intake of starch, however, with the change of the starch fermentation site to the rumen, the incidence of rumenites increased. The protocol using calcium salts of fatty acids reduced the concentrations of haptoglobin, LPS binding protein and C-Reactive protein in the blood, lower incidences of rumenites, probably due to lower total starch intake, alleviating rumen fermentation. The introduction of organic Zn and CR did not show any improvement in the health of the TGI of the animals studied. Thus, in this study, protocols with the introduction of calcium salts of fatty acids or the processing of high-moisture corn proved to be advantageous in promoting digestive and animal health.

Keywords: corn; epithelium; fat; gut; inflammation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

CAPÍTULO 2

Figura 1. Interação entre DEP e tratamentos para escore de imunorreatividade das ocludinas no jejuno (*P* = 0,0329), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.....**Erro! Indicador não definido.**

Figura 2. Interação entre DEP e tratamentos para escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes no jejuno (*P* = 0,0086), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico...**Erro! Indicador não definido.**

Figura 3. Efeito do processamento de milho no escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes no ceco (P = 0,0303); **MSF:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG.....**Erro! Indicador não definido.**

Figura 4. Efeitos do processamento de milho (A; P = 0,0143); adição do SCAG (B; P = 0,0362) sobre o escore de rumenite. **MSF:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG. **SCAG-:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e SGU-: Silagem de grão úmido de milho. **SCAG+:** MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG.....**Erro! Indicador não definido.**

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Dietas experimentais que foram fornecidas na fase de terminação para bovinos Nelore confinados. 41
Tabela 2. Efeito dos protocolos nutricionais sobre o escore de imunorreatividade das Ocludinas e Zônulas ocludentes presentes no rúmen, jejuno, ceco e TGI total de bovinos Nelore terminados em confinamento. 45
Tabela 3. Diferença entre bovinos Nelore abatidos antes do período de confinamento comparados aos abatidos no final do período de confinamento sobre o escore de imunorreatividade das ocludinas e zônulas ocludentes das junções compactad do rúmen, jejuno, ceco e TGI total. 48
Tabela 4. Efeito dos protocolos nutricionais sobre o escore de rumenite, lesões cecais e morfometria das papilas ruminais de bovinos Nelore terminados em confinamento 51
Tabela 5. Efeito dos protocolos nutricionais sobre a concentração de diferentes marcadores inflamatórios no sangue de bovinos Nelore terminados em confinamento. 55
Tabela 6. Efeito dos protocolos nutricionais sobre a concentração de amido fecal dos dias 56 e112 do experimento de bovinos Nelore terminados em confinamento. 57
Tabela 7. Efeito dos protocolos nutricionais sobre a ingestão total de amido e ingestão de matéria seca de bovinos Nelore terminados em confinamento. 59

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

µg	Micrograma
µm	Micrômetro
AF	Abate final
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AMP	Área média de papilas
APSA	Representatividade das papilas na superfície absortiva
ASA	Superfície absortiva do epitélio
Ca	Cálcio
cm^2	Centímetro quadrado
IMS	Ingestão de matéria seca
DAB	Diaminobenzidina
DBC	Delineamento em blocos casualizados
DEP	Diferença esperada na progênie
dl	Decilitro
Elg	Energia liquida de ganho
EPM	Erro padrão médio
FCAT	Faculdade de Ciências Agrárias e Tecnológicas
FMVZ	Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
JAM	Moléculas de adesão juncional
Kg	Quilograma
L	Litros
LBP	Proteína ligante do LPS
LPS	Lipopolissacarídeo
CA	Conversão alimentar
LRNS	Large Ruminant Nutrition System
m^2	Metros quadrados

mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitros
MSF	Grão de milho seco finamente moído
ng	Nanogramas
NNP	Número médio de papilas
P	Fosforo
PCR	Proteína C-Reativa
peFDN	Fibra em detergente neutro fisicamente efetiva
pH	Potencial de hidrogênio
PV	Peso vivo
PVI	Peso vivo inicial
REF	Referência
RPM	Rotações por minuto
SCAG	Sais cálcicos de ácido graxo
SGU	Silagem de grão úmido de milho
TGI	Trato gastrointestinal
TNF-α	Necrose tumoral alfa
Zn	Zinco
ZO	Zônula ocludente
ZO-1	Zônula ocludente 1
ZO-2	Zônula ocludente 2
ZO-3	Zônula ocludente 3

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 15
Considerações iniciais..... 16
1. Revisão de Literatura..... 20
1.1. Permeabilidade Intestinal 20
1.2. Junções Compactas 21
1.3. Proteínas de Fase Aguda na Corrente Sanguínea 23
1.4. Suplementação com lipídeos 25
1.5. Suplementação com minerais 27
1.6. Objetivo Geral 29
Referências..... 29
CAPÍTULO 2. "Protocolos nutricionais para preservar as junções compactas do trato gastrointestinal e diminuir marcadores inflamatórios no sangue de bovinos confinados"
1. Introdução..... 37
2. Materiais e Métodos..... 38
2.1. Animais e local do experimento 38
2.2. Delineamento experimental 39
2.3. Manejo, arraçoamento e cuidado com os animais 39
2.4. Marcadores inflamatórios na corrente sanguínea..... 41
2.5. Integridade do epitélio do trato gastrointestinal 42
2.6. Amido fecal 43
2.7. Análise dos resultados 44
3. Resultados 45
3.1. Integridade do epitélio intestinal 45
3.1.1. Imuno-histoquímica das junções compactas 45
3.1.2. Incidência de lesões ruminais e cecais e morfometria das papilas ruminais 49
3.2. Marcadores inflamatórios na corrente sanguínea 55
3.3. Amido fecal e consumo de amido 57
4. Discussão 61

4.1. Efeito do processamento dos grãos 61
4.2. Efeito da adição de gordura protegida 63
4.3. Efeito da adição de Zn e Cr 64
5. Conclusão..... 64
6.Referências..... 65
IMPLICAÇÕES..... 69

CAPÍTULO 1

Considerações Iniciais

Segundo levantamento realizado por Silvestre e Millen (2021), os confinamentos brasileiros de bovinos de corte vêm aumentando o aporte energético das dietas, utilizando-se de maior inclusão de gorduras, assim como de concentrados, o que foi 12,1% maior em relação ao levantamento realizado em 2009. O aumento do nível energético das dietas só vem sendo possível devido a melhora no manejo alimentar e no aumento na adoção de tecnologias por parte dos confinadores. Porém, mesmo com estes avanços, o adensamento energético das dietas para promover maior produtividade e aproveitamento máximo do potencial genético dos animais pode desencadear distúrbios digestivos quando mal executado, ou mesmo passar despercebido em situações subclínicas. Uma das desordens que pode ocorrer em decorrência da inclusão de energia na dieta é a acidose ruminal, que atualmente é relatada como segundo problema de saúde que mais acomete os bovinos confinados no Brasil (SILVESTRE e MILLEN, 2021).

Com a alta inclusão de ingredientes concentrados e/ou amido nas dietas de bovinos confinados pode ocorrer desequilíbrio na simbiose entre a população microbiana ruminal e o hospedeiro, uma vez que os microrganismos que habitam o rúmen adaptam-se mais rapidamente a nova dieta do que o epitélio ruminal (SOUSA et al., 2020), fazendo com que a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) exceda a capacidade de absorção dos mesmos pelo epitélio ruminal, o que resulta no início de quadros de acidose ruminal (MILLEN et al., 2016; SOUSA et al., 2020). Como resultado, processos inflamatórios tanto no rúmen (rumenites), assim como em tecidos subjacentes (RADOSTITS et al., 2006; SMITH, 2015; MEMBRIVE, 2016; SOUSA et al., 2019), podem ser desencadeados. A inflamação nos tecidos subjacentes pode ocorrer uma vez que, em quadros acidóticos, parte dos substratos deixam o rúmen sem serem fermentados (OWENS et al., 1998), o que permite que esses substratos sejam digeridos no intestino delgado ou fermentados no intestino grosso (OWENS et al., 1997). Estes substratos fermentados no intestino grosso podem causar acidificação, assim como acidose cecal, ainda mais devido ao típico milho encontrado no Brasil, o milho tipo Flint, este pode influenciar na acidificação do trato digestivo inferior, pois esse apresenta uma menor degradabilidade ruminal (SILVESTRE e MILLEN, 2021). Portanto, dietas de alta energia formuladas para promover maior produtividade e qualidade de carne podem ser responsáveis pela inflamação do epitélio do trato gastrointestinal e pela liberação de endotoxinas ligadas a morte bacteriana (EMMANUEL et al., 2008). Tais processos, desencadeiam por sua vez respostas anti-inflamatórias no animal, e desta forma ocorre a liberação de citocinas pró-inflamatórias, as quais elevam os níveis de proteínas de fase aguda na corrente sanguínea (tais

como haptoglobina e ceruloplasmina; PLAIZIER et al., 2008), que pode levar ao aumento da permeabilidade do epitélio, que é regulado pelas junções compactas (do inglês, cell tight junctions; LIU et al., 2013).

Em ruminantes, a endotoxina lipopolissacarídea (LPS) foi apontada como a causadora de múltiplas doenças metabólicas (ECKEL e AMETAJ, 2016) e consequentemente a promotora da ativação do sistema de defesa imunológico. A endotoxina LPS é um componente da parede celular das bactérias Gram-negativas, liberada após a lise bacteriana, esta é uma endotoxina pois apresenta efeitos tóxicos. O acúmulo de LPS no conteúdo digestivo pode ocorrer devido ao rápido crescimento microbiano, bem como durante a morte bacteriana (BRIGGS et al., 2021). Por exemplo, quando os animais passam a ser alimentados com grãos ocorre um aumento de 18 a 20 vezes na concentração de LPS, quando comparados a animais alimentados com forragem, além do incremento da LPS, um número dez vezes maior de *Fusubacterium necrophorum*, bactéria mais associada a abscessos hepáticos, é apresentado (NAGARAJA e LECHTENBERG, 2007).

O incremento de grãos na dieta pode apresentar casos de acidose subaguda, o que leva ao aumento da presença de LPS no intestino posterior (LI et al., 2012). Ainda, a atuação sinérgica entre um pH baixo (5,0 e 5,5) com a presença de LPS prejudica a função de barreira do trato gastrointestinal, elevando a permeabilidade epitelial, como demonstrado em estudos ex vivo (GABEL e ASCHENBACH, 2002; EMMANUEL et al., 2007).

Sendo assim, a LPS é antagonista aos sistemas de produção de alto desempenho, pois além de aumentar a permeabilidade para patógenos o sistema fisiológico do animal passa a particionar parte da energia e dos nutrientes ingeridos para a produção de citocinas pró-inflamatórias e proteínas de fase aguda, o que reduz a energia disponível para processos anabólicos para a síntese de carne (JOHNSON, 1997; SPURLOCK, 1997; MANI et al., 2012; KHIAOSA-ARD e ZEBELI, 2014), ainda, animais inflamados tendem a se tornar resistentes a insulina, o que ocasiona maior deposição de gordura, consequentemente, a energia disponível para a síntese de carne é reduzida (BRIGGS et al., 2021). O sequestro de energia e nutrientes ainda é maior, uma vez que o processo inflamatório vem associado com o aumento de temperatura corporal, onde, segundo Kluger (1978) o metabolismo basal aumenta 13% para cada 1ºC de aumento de temperatura corporal do animal.

Sendo assim, é explícita a necessidade de se tentar evitar inflamações no trato gastrointestinal. Com isso, a otimização da digestão do amido no rúmen e a redução da sua passagem para os intestinos com a utilização de processamentos mais intensos do grão de milho, por exemplo, é estratégia válida de ser utilizada. Com a introdução da silagem de grãos úmidos

de milho espera-se aumento na digestibilidade ruminal do amido e de outros nutrientes, em relação ao milho moído fino, o que poderia propiciar melhores padrões em termos de redução de inflamação e aumento do desempenho produtivo e eficiência alimentar (MOURÃO et al., 2012). A substituição do milho moído fino pela silagem de grãos úmidos altera o local de digestão do amido, sendo que a digestão no rúmen deverá ser mais elevada, em detrimento da menor digestão no intestino. Owens et al. (1986) reportaram valores de degradabilidade do amido de 77,7% e 86,0% para milho moído fino e silagem de grão úmido, respectivamente, o que evidencia a alteração no local de digestão deste nutriente.

Com esta alteração do local de digestão do amido, o local com maior desafio será o rúmen, sobre o qual há extensa literatura com recomendações para se evitar distúrbios digestivos, e, onde a capacidade de degradar e fermentar o amido é maior, aliviando assim os intestinos. Por sua vez, a literatura é escassa em termos de recomendações nutricionais para se evitar ou amenizar potenciais lesões ao epitélio intestinal, que apresentam baixa capacidade de digestão do amido, o que pode desencadear reações inflamatórias.

Outra estratégia nutricional que possuí potencial para amenizar inflamações no trato gastrointestinal de bovinos é a inclusão de lipídeos na dieta, uma vez que lipídeos não são fermentados dentro do rúmen (GÓRKA et al., 2015). Além disso, a gordura substitui energeticamente parte do amido da dieta, e como resultado reduzimos a quantidade de substratos fermentescíveis dentro do rúmen, o que mantém ou até aumenta a quantidade de energia fornecida por quilograma de matéria seca (BCNRM, 2016). Esses lipídeos podem ser adicionados em forma de óleos vegetais ou como sais cálcicos de ácidos graxos ruminalmente protegidos (SCAG; COPPOCK & WILKS, 1991). A utilização de gorduras vegetais pode vir a causar problemas na fauna bacteriana do rúmen, uma vez que esta é tóxica quando na forma insaturada (BAUMAN et al., 2000), sendo assim, para evitar indesejáveis alterações na fermentação ruminal a recomendação é que inclusão de lipídeos nas dietas de bovinos confinados não ultrapasse 7% de extrato etéreo (EE) na matéria seca (MS) da dieta (SULLIVAN et al., 2004; KOZLOSKI, 2011). A toxicidade das gorduras instauradas é combatida pelos microrganismos ruminais através do processo de biohidrogenação, aumentando a proporção de lipídeos saturados, os quais apresentam menor grau de toxicidade aos microrganismos ruminais (BAUMAN et al., 2000). O uso de SCAG é algo a ser explorado, pois esta evita parte da biohidrogenação, e faz com que aumente o aporte de energia líquida nos intestinos, porém, a recomendação de não ultrapassar os 7% de lipídeos na dieta de bovinos confinados se mantêm, devido a proteção pelos sais cálcicos ser parcial, próximo de 77%

(KLUSMEYER e CLARK, 1991), sendo variável de acordo com a composição do ácido graxo (SUKHIJA e PALMQUIST, 1990).

Logo, dietas ricas em amido, podem ter parte deste carboidrato substituído por SCAG, o que amenizaria a fermentação ruminal e diminuiria o escape de amido para os intestinos, e supostamente reduziria o potencial inflamatório da dieta (ZINN et al., 2000). Assim, com a inclusão de SCAG nas dietas é possível aumentar a energia consumida diariamente pelos animais, assim como aliviar lesões e inflamações no trato gastrointestinal.

Aliado as estratégias de processamento de grãos e uso de SCAG em dietas de alto desempenho para aumentar o desempenho em confinamento e diminuir o potencial pró-inflamatório, a inclusão de Zinco (Zn) e Cromo (Cr) orgânicos podem trazer vantagens ao sistema, pois a inclusão destes exerce funções benéficas no sistema imune dos animais (CHIRASE et al., 1991; ANDERSON, 1998). O zinco desempenha importante papel imunológico, pois este é frequentemente acionado como agente antioxidante e anti-inflamatório (LEME, 2000), além de participar do metabolismo de carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos (NASEM, 2016). Chirase et al. (1991) relataram que bovinos confinados que passaram por algum estresse ou doença, quando suplementados com Zn, apresentam menor queda e uma recuperação mais rápida do consumo de matéria seca. O Cr por sua vez, de acordo com Mowat (1997), quando em situações de estresse em campo ou em confinamento, é capaz de prevenir perdas de desempenho e ainda melhorar o sistema imune elevando níveis de imunoglobulinas e anticorpos (MORAES, 2001; CARVALHO, BARBOSA e MCDOWELL, 2003).

Sendo assim, os protocolos nutricionais desenvolvidos neste estudo visam promover alto desempenho, sem causar impactos negativos sobre o epitélio gastrointestinal e o sistema imune do hospedeiro. Como já descrito anteriormente nesta seção, talvez o melhor cenário para aumentar o desempenho de bovinos confinados seja aumentar a degradação do amido no rúmen aliado com a parcial substituição do amido por SCAG, e ainda com a associação da suplementação de zinco e cromo orgânicos. Logo, este estudo testou protocolos nutricionais com diferentes tipos de processamentos dos grãos de milho, com inclusão ou não de SCAG, associado ao uso de zinco de cromo. O trato gastrointestinal apresenta uma permeabilidade seletiva a qual tem como função absorver os nutrientes e ao mesmo tempo impedir a passagem de substâncias desnecessárias, estranhas e prejudiciais ao organismo animal (MANI et al., 2012), por isso é válida a preocupação com a saúde intestinal, e a investigação da integridade do mesmo. Assim sendo, o presente estudo apresenta grande importância para o sistema de produção intensivo de carne bovina, pois os níveis de energia das dietas de bovinos confinados vêm aumentando e os efeitos negativos destas dietas cada vez mais energéticas sobre a

integridade dos epitélios do jejuno e do ceco ainda é pouco conhecida. Talvez por promover aumento de marcadores inflamatórios, dietas ditas de “alto desempenho” podem não promover o efeito desejado e podem necessitar de ajustes, os quais são propostos neste estudo. A hipótese deste estudo é de que protocolos nutricionais devidamente formulados para promover alto desempenho em bovinos confinados podem amenizar a incidência de lesões no trato digestivo como um todo e reduzir marcadores inflamatórios no sangue.

1. Revisão de Literatura

1.1 Permeabilidade Intestinal

Além de funções como digestão e absorção o trato gastrointestinal também apresenta importante papel imunológico, podendo ser classificado como maior órgão imunológico do corpo (COLLINS et al., 1998; FIOCCHI, 2003). Quando em condições normais, sem apresentar casos de distúrbios metabólicos, nutricionais ou lesões no epitélio, o intestino, além de absorver fluídos e nutrientes, impede que patógenos e toxinas ultrapassem sua barreira e cheguem à circulação sistêmica, causando danos ao organismo (DA FONSECA, 2010).

A barreira epitelial do intestino é responsável por evitar a entrada de patógenos, toxinas, bactérias ou produtos bacterianos presentes no lúmen intestinal para a lâmina própria, o que viria a atingir posteriormente os tecidos da mucosa e corrente sanguínea, levando a ativação de moléculas pró-inflamatórias (BISCHOFF et al., 2014). Porém o intestino ainda precisa absorver nutrientes, assim esta não pode ser totalmente impermeável, de acordo com Manresa e Taylor (2017), a presença de junções intercelulares é um dos fatores que fazem com que o epitélio intestinal apresente a função de permeabilidade epitelial, porém, sem prejudicar a função de barreira.

Portanto, a barreira epitelial presente no intestino possui a habilidade de realizar absorção seletiva sobre íons, moléculas e demais componentes, permitindo ou não a passagem de componentes da luz intestinal para a lâmina própria, sendo essa habilidade denominada permeabilidade seletiva epitelial (AYRES, 2018). Desta forma, fica explícita que a função de permeabilidade e barreira do epitélio intestinal são de suma importância para o organismo.

Essa barreira física é constituída por uma única camada de células epiteliais entre o lúmen e a mucosa (AYRES, 2018), sendo que o espaço paracelular é selado pelas junções compactas (GROSCHWITZ e HOGAN, 2009; BALDA e MATTER, 2016), cuja função é regular seletivamente a passagem de componentes nocivos, como, patógenos, toxinas, bactérias ou produtos bacterianos para a corrente sanguínea, levando a possível ativação excessiva de células imunes e inflamatórias (SUZUKI, 2013). Abaixo das junções compactas estão as junções

aderentes que são importantes para a sinalização celular e restauração epitelial, e ainda os desmossomos que apresentam a função de manter a estabilidade epitelial (BISCHOFF et al., 2014).

Em estudo realizado por Briggs et al. (2021) utilizando o Cr-EDTA como marcador, (molécula que não é digerida ou metabolizada, apresenta alta taxa de depuração renal (BJARNASON et al., 1986) e atravessa o epitélio do TGI por via paracelular e aparece na urina (GARCÍA-LAFUENTE et al., 2001; SCHWEIGEL et al., 2005; TEN BRUGGENCATE et al., 2006), observou-se um incremento desta na urina de 2,1% no tratamento controle (em ruminantes saudáveis, aproximadamente 2,5% do Cr-EDTA adicionado via ruminal é absorvido e excretado pela urina (SHINGFIELD et al., 2008)) contra 3% no tratamento utilizando aspirina (utilizado para induzir inflamação do epitélio do TGI (LAMBERT et al., 2012)). Portanto, quando o epitélio do TGI sai dos padrões da normalidade, em casos de inflamações, ou em casos de pH mais ácido, por exemplo, a permeabilidade paracelular é prejudicada, podendo elevar a taxa de passagem desta molécula através da barreira epitelial do trato gastrointestinal.

A permeabilidade de endotoxinas e bactérias pode diferir entre os sítios do trato gastrointestinal, onde o epitélio ruminal apresenta múltiplas camadas e é menos permeável comparado ao epitélio intestinal, que apresenta uma única camada (METZLER-ZEBELI et al., 2013). Assim, a barreira epitelial intestinal pode permitir a passagem de componentes nocivos como a endotoxina lipopolissacarídea (LPS), mais facilmente em comparação a barreira epitelial ruminal (EMMANUEL, 2007), que geralmente é impermeável a moléculas grandes, a menos que haja lesões e/ou inflamações (GÓMEZ et al., 2014; YÁÑEZ-RUIZ et al., 2015).

Com o comprometimento da barreira, a entrada de componentes nocivos, como os LPS, para a corrente sanguínea tende a aumentar. Essa endotoxina pode atravessar o epitélio gastrointestinal pelas junções compactas (quando danificadas) e por transporte trans celular através de endocitose específica mediada por receptor (ECKEL e AMETAJ, 2016). O LPS na corrente sanguínea pode provocar a produção de citocinas pró-inflamatórias, algumas proteínas de fase aguda (WALDRON et al., 2003; GOZHO et al., 2005) e pode desenvolver inflamações crônicas (CANI et al., 2008; TEIXEITA et al., 2012).

1.2 Junções Compactas

O epitélio intestinal apresenta duas funções de suma importância: a permeabilidade seletiva, que permite a troca de solutos e fluidos entre o lúmen e os tecidos; e a barreira, que tem capacidade de impedir que essa troca ocorra (LEE, 2015). Essas funções são reguladas

pelas junções compactas epiteliais, que tem a capacidade de manter a barreira intestinal e ao mesmo tempo regular a permeabilidade de íons, nutrientes e água (TURNER, 2006). Alguns estudos morfológicos com macromoléculas densas em elétrons mostram que os marcadores podem passar via paracelular livremente até que cheguem às junções compactas, onde são bloqueadas (CEREIJIDO, 1991).

As junções compactas são complexos multiprotéicos localizados nas extremidades apicais das membranas laterais das células epiteliais intestinais (TSUKITA et al., 2001; VAN ITALLIE e ANDERSON, 2006). Em nível molecular, as junções compactas são constituídas por proteínas transmembranares integrais, as quais domínios extracelulares formam uma barreira seletiva por interação com células adjacentes: claudinas, ocludinas, moléculas de adesão juncional (JAM) e a zônula ocludente (ZO; SUZUKI, 2013). As proteínas transmembranas intercedem as adesões e vedam o espaço paracelular, estas podem ser divididas conforme a quantidade de alças proteicas que cruzam a membrana plasmática (AYRES, 2018).

As ocludinas foram a primeira proteína de membrana integral das junções compactas identificadas em 1993 (FURUSE et al., 1993). A ocludina é uma proteína com 4 domínios transmembranares, 2 alças extracelulares e 1 alça intracelular: Um curto terminal N e um longo domínio C-terminal se projetam no citoplasma (SUZUKI, 2013). A interação hemofílica das alças extracelulares da ocludina com as células adjacentes aparentemente cria uma barreira capaz de reter macromoléculas, porém não retém pequenos íons (AL-SADI et al., 2011). Ainda não foi totalmente elucidada a função da ocludina, porém, estudos realizados em modelos animais e culturas celulares, indicam que a ocludina apresenta papel crucial na estrutura das junções compactas e permeabilidade no epitélio intestinal (WONG e GUMBINER, 1997; AL-SADI et al., 2011).

As ZO são proteínas citoplasmáticas acessórias que se subdividem em ZO-1, ZO-2 e ZO-3, tendo função de conectar as proteínas transmembranas, como a ocludina, ao citoesqueleto de actina (SUZUKI, 2013; BISCHOFF et al., 2014). A interação das proteínas das junções compactas com o citoesqueleto apresenta função na manutenção da integridade estrutural da barreira intestinal (TURNER, 2009; SUZUKI, 2013; BISCHOFF et al., 2014). Ainda há indícios de que as ZO têm papel importante na regulação da estruturação das demais proteínas presentes no complexo das junções compactas, como as ocludinas e claudinas (UMEDA et al., 2004; LEE, 2015).

Tanto as ocludinas como as zônulas ocludentes, quando reguladas negativamente, devido a um quadro de inflamação ou alguma doença, tendem a aumentar a permeabilidade do epitélio

intestinal, permitindo que mais bactérias e componentes tóxicos passem adiante (SUZUKI, 2013; LEE, 2015).

Ainda, há relatos de alteração da função das junções compactas quando ruminantes são introduzidos a dieta de alta energia. Liu et al. (2013) relataram que cabras introduzidas a dieta de alto grão apresentaram regulação negativa dos genes ocludina e claudina das junções compactas epiteliais ruminais. Ainda, quando desafiados com dietas de alta energia, o ambiente ruminal tende a ficar mais susceptível a acidose, o que é associado a elevados níveis de proteínas de fase aguda, como amiloide sérico A e haptoglobina (PLAIZIER et al., 2008).

Com isso, eventuais danos na barreira intestinal das junções compactas e aumento da permeabilidade são observados em várias doenças intestinais e sistêmicas (LEE, 2015). Com a função das junções compactas comprometida, seguido da permeação de bactérias patogênicas e moléculas pró-inflamatórias luminais podem induzir a ativação do sistema imunológico, resultando em inflamação e dano aos tecidos intestinais (LEE, 2015). Da mesma forma, já foi evidenciado que a inflamação de vários órgãos pode levar a uma redução da ingestão de alimentos (WEINGARTEN, 1996; ANDERSEN et al., 2000).

Por isso a função das junções compactas tem papel para a prevenção de doenças intestinais sistêmicas (FARHADI et al., 2003; TURNER, 2009), pois a disfunção e inflamação da barreira epitelial, como a permeabilidade excessiva são os principais contribuintes para desencadear inflamações intestinais (LEE, 2015).

1.3 Proteínas de Fase Aguda na Corrente Sanguínea

A avaliação da composição bioquímica do plasma sanguíneo pode ser usada como estratégia para indicar a situação metabólica do tecido animal e aferir desequilíbrios metabólicos específicos ou de origem nutricional. Pode indicar lesões teciduais, transtornos no funcionamento dos órgãos e adaptação do animal sob desafios nutricionais e fisiológicos (GONZÁLEZ & SCHEFFER, 2003; BARINI, 2007).

Essas análises bioquímicas realizadas no soro ou plasma sanguíneo merecem destaque, pois permitem avaliar o estado funcional dos órgãos, como o fígado, ainda sendo de extrema importância para o diagnóstico, prognóstico e tratamento de muitas doenças (SOUZA, 1997).

Na bovinocultura de corte, em sistemas de confinamento, doenças como a pneumonia e acidose ruminal são citadas como prejudiciais ao sistema (PINTO e MILLEN, 2018). Quando confinados, a dieta é composta por grandes frações de carboidratos, a qual requer adaptação correta. Quando mal manejada, a alta inclusão de carboidratos pode levar a quadros de acidose ruminal, desencadeando a liberação da endotoxina LPS. O LPS, a qual é liberada a princípio no

rúmen pode passar a corrente circulatória via epitélio ruminal ou intestinal, desencadeando respostas inflamatórias e alterações metabólicas a nível sistêmico (ANDERSEN, 2003; WALDRON et al., 2003), que ativarão a produção de mediadores inflamatórios e proteínas de fase aguda, as quais atuam sobre o metabolismo animal (GOZHO et al., 2005).

O LPS, liberado como reação a enfermidades de caráter infeccioso e nutricional, é um componente da membrana externa de bactérias gram-negativas, o LPS apresenta função importante na viabilidade bacteriana e interação com o hospedeiro (RIETSCHEL et al. 1982) e é considerado um dos mais potentes iniciadores do processo inflamatório (TAUKEUCHU et al., 1999).

A resposta de fase aguda faz parte de um sistema complexo pró-inflamatório, o qual pode ser desencadeado por traumas, infecções, estresse e inflamações. Embora inespecífico, serve como um núcleo da resposta imune inata, que envolve barreiras físicas e moleculares e respostas que servem para prevenir infecções, eliminar possíveis patógenos, iniciar processos inflamatórios, impedir o dano celular e contribuir para o processo de cura (CRAY et al., 2009).

Com a resposta de fase aguda são liberadas pelos macrófagos certas citocinas, como o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e interleucinas 1 e 6 (IL-1 e IL-6), que dão início às alterações sistêmicas ou localizadas, alterações na concentração de algumas proteínas plasmáticas (proteínas de fase aguda), diminuição séricas de cálcio, zinco, ferro e vitamina A (BOCHSLER e SLAUSON, 2002; GRUYS et al., 2005). Com a liberação das citocinas são desencadeadas algumas alterações clínicas características, como febre, anorexia e perda de peso (GABAY e KUSHNER, 1999).

O aumento nas concentrações de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-α e IL-1, aumentam a permeabilidade das junções compactas, diminuindo a expressão da ZO-1 (MA et al., 2004) e a diminuição da expressão das ocludinas (AL-SADI e MA, 2007), o que diminui o consumo (PLATA-SALAMÁN et al., 1996), taxas de ganho de peso e eficiência da utilização da dieta (EVOCK-CLOVER et al., 1997; STEIGER et al., 1999).

Diversas pesquisas reportaram que a quantificação de proteínas de fase aguda (que são proteínas do sangue principalmente sintetizado pelos hepatócitos como parte da resposta de fase aguda) no plasma ou soro sanguíneo pode ser benéfica no diagnóstico, prognóstico e monitoramento de doenças quanto no bem-estar de indivíduos ou de rebanhos (MURATA et al., 2004; GONZÁLEZ et al., 2007; JAIN et al., 2011; CRAY, 2012; SIMPLÍCIO et al., 2013).

Em ruminantes, as proteínas de fase aguda que apresentam maior importância são a haptoglobina e o amiloide sérica A (ECKERSALL e BELL, 2010). Nos ruminantes a haptoglobina pode ser utilizada como indicadora de transtornos metabólicos como lipidose

hepática, acidose, cetose, estresse, danos teciduais e casos de inflamação (PETERSEN et al., 2004). As concentrações plasmáticas da haptoglobina aumentam em quadros inflamatórios ou infecciosos; durante uma resposta de fase aguda incrementos de 10 vezes da concentração normal de haptoglobina pode ser identificada na corrente sanguínea destes animais (PETERSEN et al., 2004). Sendo assim, conclui-se que a haptoglobina mostra-se como um biomarcador precoce e confiável na espécie bovina, independente da enfermidade avaliada (SIMPLICIO et al., 2013).

1.4 Suplementação com lipídeos

O uso dos lipídeos dentro dos limites de inclusão pode alterar a digestibilidade (FIORENTINI et al., 2013) e promover resultados satisfatórios de desempenho (VALINOTE et al., 2005; BASSI et al., 2012). Portanto, a suplementação lipídica é uma estratégia a ser utilizada na engorda de bovinos para auxiliar o incremento calórico da dieta, porém é importante respeitar os limites de inclusão, para que esta estratégia não ocasione danos na fermentação ruminal (SULLIVAN et al., 2004; KOZLOZKI, 2011), prejudicando o desempenho animal.

Lipídeos podem ser adicionados em diferentes formas, como óleos vegetais ou de SCAG protegidos da fermentação no rúmen (COPPOCK & WILKS, 1991). A utilização dos óleos vegetais pode melhorar a eficiência alimentar, assim como alterar a composição lipídica da carne (ZINN e SHEIN, 1996; WOOD et al., 2008). Porém, os óleos vegetais podem também promover redução na digestibilidade da fibra (WANAPAT et al., 2011), pois o óleo recobre as partículas dos alimentos, dificultando e/ou impedindo que os microrganismos degradem a fração fibrosa (VALADARES FILHO e PINA, 2011), podendo acarretar uma menor taxa de passagem, consequente diminuição da ingestão de matéria seca e por fim, prejudicar o desempenho animal. A redução da digestibilidade da fibra não exclusivamente é relacionada somente com a quantidade de óleo introduzido na dieta, como também com o tipo de ácido graxo presente, por exemplo, lipídios ricos em ácidos graxos insaturados tendem a levar a uma maior redução na digestibilidade da fibra (BASSI et al., 2012).

A utilização de ácidos graxos ligados a sais de cálcio é uma estratégia a qual busca evitar a redução de desempenho pelos lipídeos, reduzindo sua biohidrogenação em meio ruminal. A proteção se dá uma vez que a dissociação dos sais de cálcio ocorrem somente em meio ácido, uma vez que a faixa de pH do ruminal é entorno de 5,5 a 7,0, dependendo do padrão de dieta utilizado (MEMBRIVE, 2016. No entanto, ao atingir o abomaso, onde o pH é e, torno de 3,0 e

2,0, o desdobramento dos saís cálcicos ocorre, com a consequente liberação dos ácidos graxos e íons de cálcio para o intestino (NASCIMENTO, 2017).

Mesmo que protegidos, parte deles é dissolvido no rúmen e isso pode variar de acordo com a fonte dos ácidos graxos (SUKHIJA e PALMQUIST, 1990), sais cálcicos com ácidos graxos proveniente de óleo de palma apresentam dissociação inferiores a 10%, enquanto à base de óleo de soja chega a se dissociar em até 45% em ambiente com pH de 5,5 (LEHNINGER, NELSON e COX, 2005; PALMIQUIST e MATTOS, 2011).

Portanto, a utilização de SCAG como estratégia para aumentar a densidade energética na dieta, evita problemas de toxicidade no meio ruminal e melhora o desempenho dos animais (NASCIMENTO, 2017). Essa melhora no desempenho ocorre devido ao maior teor de energia metabolizável fornecido pelos lipídeos em comparação aos alimentos ricos em carboidratos e proteínas (ZINN e SHEN, 1996). A adição dos SCAG na dieta de bovinos confinados pode promover aumentos no ganho médio diário (GMD) que podem variar de 10,46% até 21,55%, segundo relatos de Silva et al. (2007), Fiorentii et al. (2012), Rosa et al. (2013) e Barducci et al. (2015). Além dos maiores GMD encontrados, a inclusão dos SCAG pode melhorar a eficiência alimentar (EA) na ordem de 8,23% até 27,27%, como reportado por Putrino et al., 2006, Rosa et al., 2013, e Barducci et al., 2015.

Além do incremento calórico, influência do desempenho e digestibilidade de fibras, os ácidos graxos são importantes como fonte de energia e componentes estruturais das membranas celulares, influenciando as propriedades físicas e funcionais das membranas celulares (YAKOOB e CALDER, 2007). Portando, a introdução dos ácidos graxos na dieta pode levar a alteração na composição de ácidos graxos das células inflamatórias e imunes (CALDER, 2001).

No sistema imunológico, diferentes ácidos graxos agem influenciando diferencialmente a estrutura e função da membrana celular, sinalização celular e expressão gênica, devido a essa influência, os ácidos graxos podem modificar as atividades funcionais das células do sistema imunológico, e consequentemente a resposta imune como um todo (YAKOOB e CALDER, 2007).

Os ácidos graxos podem variar de saturados, monoinsaturados ou poli-insaturados. Ácidos graxos insaturados contêm ligações duplas entre pares de átomos de carbono, dentre estes, os monoinsaturados contêm uma ligação dupla, enquanto os ácidos graxos poli-insaturados contêm mais de uma dupla ligação (YAKOOB e CALDER, 2007).

Alguns estudos investigando os efeitos das gorduras provenientes da dieta na função imunológica geralmente mostram que dietas ricas em gorduras suprimem as funções dos

linfócitos, comparadas a dietas com baixo teor de gordura. Porém, o tipo e o nível de comprometimento dependem do nível e tipo de ácido graxo (CALDER et al., 2002).

Por exemplo, ácidos graxos saturados e poli-insaturados n-6 aparentam ter pouco efeito sobre a proliferação de linfócitos e produção de citocinas (YAQOOB et al., 1994; YAQOOB e CALDER, 1995). Já o ácido oleico e ácidos graxos poli-insaturados n-3 demonstram inibir a ativação de linfócitos, produção de citocinas inflamatórias e macrófagos (YAQOOB et al., 1994; JEFFERY et al., 1996; JOLLY et al., 1997; BILLIAR et al., 1998; ARRINGTON et al., 2001, WALLACE et al., 2001). Assim, com a introdução de ácidos graxos na dieta, pode ocorrer a redução na produção de citocinas inflamatórias e macrófagos, o que consequentemente pode influenciar na resposta inflamatória e no processo imune como um todo.

1.4 Suplementação com minerais

O período inicial de confinamento pode envolver situações estressantes, as quais podem elevar a incidência de doenças (DUFF e GALYEAN, 2007). Essas situações estressantes afetam negativamente o sistema imune e pode aumentar a exposição dos animais a agentes infecciosos (BERNHARD et al., 2012), ainda o estresse ocasiona em diminuição do consumo da ração (COLE, 1996) diminuindo a ingestão de nutrientes, o que eleva os efeitos negativos do estresse e ocasiona em diminuição na função imunológica e desempenho animal (BERNHARD et al., 2012). Além da diminuição da função imunológica a restrição alimentar demonstra efeitos deletérios na integridade da barreira intestinal (GABEL e ASCHENBACH, 2002; ZHANG et al., 2013; KVIDERA et al., 2017). Portanto, estratégias dietéticas, como a introdução de minerais, visando fortalecer a barreira epitelial, reduzir riscos de ativação do sistema imune, melhorar a saúde e desempenho do gado são de grande interesse.

Existem inter-relações complexas entre certos micronutrientes, função imunológica e resistência a doenças. Alguns micronutrientes demonstram afetar os aspectos da imunidade em bovinos (SPEARS, 2000). Portanto, concentrações de vitaminas e minerais a serem suplementados nas dietas de ruminantes devem levar em consideração não somente o necessário para maximizar a eficiência da produção, como também, as exigências pelo sistema imunológico para otimização das células imunes e prevenção do estresse oxidativo (SORDILLO, 2016). Um mecanismo comum pelo qual a maioria dos micronutrientes agem é a otimização da imunidade por meio de suas capacidades antioxidantes (SORDILLO, 2016). Os antioxidantes são substâncias que atrasam, previnem ou inibem o dano oxidativo às macromoléculas alvo (VALKO et al., 2007; SORDILLO e AITKEN, 2009).

O zinco, por exemplo, é frequentemente acionado como agente antioxidante e pode apoiar atividade anti-inflamatório, e seus efeitos imunomoduladores têm recebido atenção (LEME, 2000; OVERBECK et al., 2008; PRASAD, 2008; OSORIO et al., 2016; WES-SELS et al., 2017). Além de desempenhar papel em vários processos biológicos, como a regulação imunológica o zinco é um mineral essencial e auxilia na defesa da barreira epitelial (WESSELS et al., 2017; OHASHI e FUKADA, 2019), regula a regeneração do epitélio danificado (ALAM et al., 1994; CARIO et al., 2000), aumenta a proliferação celular (SHAO et al., 2017) e aumenta os complexos das junções compactas (FINAMORE et al., 2008; SARKAR et al., 2019).

Ainda, o zinco desempenha um papel fundamental como componente estrutural, catalítico e de sinalização (HORST et al., 2019). Por exemplo, após a ligação do LPS, uma série de modificações dependentes de zinco são necessárias para produção de citocinas pró-inflamatórias (WAN et al., 2014), as quais são componentes críticos da resposta imune para a resolução de uma infecção ou inflamação (MOGENSEN, 2009). Além disso, a formação, maturação e diferenciação de leucócitos, ativação, função celular e taxa apoptótica (entre outros) são dependentes de Zn e são amplamente influenciadas por mudanças na homeostase do zinco (HAASE e RINK, 2014; WESSELS e COUSINS, 2015). Assim, fornecer fontes dietéticas de zinco pode beneficiar a função e a comunicação dos leucócitos e, consequentemente, pode influenciar o custo energético geral da imunoativação, uma vez que a imunoativação apresenta custos energéticos substanciais (JOHNSON, 2012).

No entanto, além das funções imunomoduladoras o zinco foi reportado também influenciando crescimento e eficiência alimentar em ruminantes (SPEARS e SAMSELL, 1986).

Outro mineral que pode afetar a resposta imune dos animais é o cromo, vendo que este pode aliviar os efeitos do estresse de bovinos relacionados ao desmame, transporte e restrição alimentar no desempenho e saúde dos animais (SPEARS, 2000). Além disso, o cromo potencializa a ação de ligação da insulina aos sítios receptores de insulina (KEGLEY et al., 2000). Ainda, com a suplementação do cromo, aumenta-se a captação de glicose sensível à insulina pela ligação com a cromodulina (VINCENT, 2000; CEFALU et al., 2002), o que aumenta a translocação de transportadores de glicose para a membrana celular.

A função imune do cromo pode ser afetada em associação com a atividade da insulina e/ou cortisol, mas também pode ser mediada pela regulação de certas citocinas (BORGS e MALLARD, 1998). Portanto, o cromo demostrou aumentar a depuração da glicose e a sensibilidade a insulina (KEGLEY et al., 2000), melhorar o desempenho (MOONSIE-

SHAGEER e MOWAT, 1993) e alterar a resposta imune (CHANG e MOWAT, 1992) de bovinos.

Contudo, durante uma reação de estresse ou uma resposta inflamatória, devido ao uso elevado de ambos os minerais, zinco e cromo, é ocasionado uma deficiência destes, devido a isso, é de extrema importância da suplementação destes mineiras, buscando evitar a deficiência destes durante quadros de inflamação e aproveitando de suas funções imunomoduladoras e melhoradores de desempenho.

1.5 Objetivo Geral

O objetivo desse projeto é avaliar o efeito de diferentes formas de processamento dos grãos de milho em dietas com inclusão ou não de sais cálcicos de ácidos graxos protegidos da fermentação ruminal (SCAG), assim como de zinco e cromo, sobre a morfometria e integridade do epitélio do trato gastrointestinal, marcadores de inflamação no sangue, e teor de amido fecal de bovinos Nelore confinados.

Referências

Alam, A.N.; Sarker, S.A.; Wahed, M.A. ***Enteric protein loss and intestinal permeability changes in children during acute shigellosis and after recovery: Effects of zinc supplementation.*** *Gut.*, 35:1707-1711, 1994.

Al-Sadi, R.; Khatib, K.; Guo, S.; et al. ***Occludin regulates macromolecule flux across the intestinal epithelial tight junction barrier.*** *Am. J. Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 300:G1054-G1064, 2011.

Al-Sadi, R.M.; Ma, T.Y. ***IL-1 beta causes na increase in intestinal epithelial tight junction permeability.*** *J. Immunol*, 178:4641-4649, 2007.

Andersen, C. ***Channel-tunnels: outer membrane components of type I secretion systems and multidrug efflux pumps of Gram-negative bacteria.*** *In: Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology. Springer, Berlin, Heidelberg*. p. 122-165, 2003.

Andersen, P.H. ***Bovine endotoxicosis: aspects of relevance to ruminal acidosis.*** *Dr. Vet. Sci. Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen*, 2000.

Anderson, R.A. ***Recent advances in the clinical and biochemical manifestation of chromium deficiency in human and animal nutrition***. *Journal of Trace Elements Experimental Medicine*, v.11, n.2-3, p.241-250, 1998.

Arrington, J.L.; Chapkin, R.S.; Switzer, K.C.; et al. ***Dietary polyunsaturated fatty acids modulate purified murine T-cell subset activation.*** *Clinical and Experimental Immunology*, 125, 499-507, 2001.

Ayres, R. **Avaliação de citocinas inflamatórias intestinais, hepáticas e de constituintes da barreira intestinal em zebrafish.** Tese de doutorado, 2018.

Balda, M.S.; Matter, K. ***Tight junctions as regulators of tissue remodeling.*** *Curr Opin Cell Biol*, v.42, p94-101, 2016.

Barducci, R.S.; Sarti, L.M.N.; Millen, D.D.; et al. **Ácidos graxos no desempenho e nas respostas imunológicas de bovinos Nelore confinados.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, v.50, n.6, p.499-509, 2015.

Barini, A.C. **Bioquímica sérica de bovinos (Bos taurus) sadio da raça Curraleiro de diferentes idades.** 104f; Tese de Doutorado, Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2007.

Bassi, M.S.; Ladeira, M.M.; Chizzotti, M.L.; et al. **Grãos de oleaginosas na alimentação de novilhos zebuínos: consumo, digestibilidade e desempenho.** Revista Brasileia de Zootecnia, v.41, n.2, p.353-359, 2012.

Bauman, D.E.; Baumgard, L.H.; Corl, B.A.; et al. ***Biosynthesis of conjugated oleic acid in ruminants.*** *J. Animal Sci., Champaign*, v.77, p.1-15, 2000.

Bernhard, B.C.; Burdick, N.C.; Rounds, W.; et al. ***Chromium supplementation alters the performance and health of feedlot cattle during the receiving period and enhances their metabolic response to a lipopolysaccharide challenge.*** *J. Animal Sci.*, 90(11), 3879-3888, 2012.

Billiar, T.; Bankey, P.; Svingen, B.; et al. ***Fatty acid uptake and Kupffer cell function: fish oil alters eicosanoid and monokine production to endotoxin stimulation.*** *Surgery* 104, 349-349, 1988.

Bischoff, S.C.; et al. ***Intestinal permeability – a new target for disease prevention and therapy.*** *BMC Gastroenterol*, v.14, p189, ISNN 1474-230X, 2014.

Bochsler, P.N.; Slauson, D.O. ***Inflammation and repair of tissue.*** *In: Bochcler PN, Slauson DO (eds.): Mechanism of Disease. A Textbook of Comparative General Pathology. 3rd ed, Mosby, St Louis*, p.140-245, 2002.

Borgs, P.; Mallard, B.A. ***Immune-endocrine interactions in agricultural species: Chromium and its effects on health and performance.*** *Domestic Animal Endocrinology,* 15:431-438, 1998.

Briggs, N.G. Silva, B.C.; Godoi, L.A.; et al. ***Effect of aspirin to intentionally induce leaky gut on performance, inflammation, and carcass characteristics of feedlot cattle.*** *J. Animal Sci.*, 99(11), skab328, 2021.

Calder, P.C. ***Polyunsaturated fatty acids, inflammation, and immunity.*** *Lipids,* 36(9), 1007-1024, 2001.

Calder, P.C.; Yaqoob, P.; Thies, F.; et al. ***Fatty acids and lymphocyte functions.*** *British Journal of Nutrition*, 87, S32-S48, 2002.

Cani, P.D.; et al. ***Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes in mice.*** *Diabetes*, v.57, n.6, p.1470-81, 2008.

Cario, E.; Jung, S.; Harder d'Heureuse, J.; et al. ***Effects of exogenous zinc supplementation on intestinal epithelial repair in vitro.*** *Eur. J. Clin. Invest.,* 30:419-428, 2000.

Carvalho, F.A.N.; Barbosa, F.A.; McDowell, L.R. **Cromo.** Nutrição de Bovinos a Pasto, P.357-359, 2003.

Cefalu, W.T.; Wang, Z.Q.; Zhang, X.H.; et al. ***Oral chromium picolinate improves carbohydrate and lipid metabolism and enhances skeletal muscle GLUT-4 translocation in obese, hyperinsulinemic (JCR-LA corpulent) rats.*** *J. Nutr.*, 132:1107-1114, 2002.

Cereijido, M. ***Evolution of ideas on the tight junction.*** *In: Tight Junction (*ed. M. Cereijido), pp. 1-13, CRC *Press, Inc. Boca Raton, FL*, 1991.

Chirase, N.K.; et al. ***Feed intake, rectal temperature, and serum mineral concentrations of feedlot cattle fed zinc oxide or zinc methionine and challenged with infectious bovine rhinotracheitis virus.*** *J. Animal Sci.*, n.69, p.4137-4145, 1991.

Collins, J.K.; Thornton, G.; Sullivan, G.O. ***Selection of probiotic strains for human application****. Int. Dairy J.* 8:478-490, 1998.

Coppock, C.; Wilks, D.L. ***Supplemental fat in high-energy rations for lactating cows: effects on intake, digestion, milk yield, and composition.*** *J. Animal Sci.*, v.69, p.3826-3837, 1991.

Cray, C. ***Acute phase proteins in animals.*** *Prog. Mol. Bio. Transl. Sci.*, v.105, p.113-150, 2012.

Cray, C.; Zaias, J.; Altman, N.H. ***Acute phase response in animal: a review.*** *Comparative medicine*, 59(6), 517-526, 2009.

Da Fonseca, F.C.P. **Influência da nutrição sobre o sistema imune intestinal.** CERES: Nutrição & Saúde (Título não-corrente), v.5, n.3, p.163-174, 2010.

Di Fillipo, P.A.; Lannes, S.T.; Meireles, M.A.; et al. ***Acute phase proteins in serum and cerebrospinal fluid in healthy cattle: possible use for assessment of neurological diseases.*** Pesquisa Veterinária Brasileira, 38(4), 779-784, 2018.

Duff, G.C.; Galyean, M.L. ***Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle.*** *J. Animal Sci.,* 85:823-840. doi:10.2527/jas.2006-501, 2007.

Eckel, E.F.; Ametaj, B.N. ***Invited review: role of bacterial endotoxins in the etiopathogenesis of periparturient diseases of transition dairy cows.*** *J. Dairy Sci.,* 99, 5967-5990, 2016.

Eckersall, P.D.; Bell, R. ***Acute phase protein: Biomarkers of infection and inflammation in veterinary medicine.*** *Veterinary Journal,* 185, 23-27, 2010.

Emmanuel, D.G.; et al. ***Acidosis and lipopolysaccharide from Escherichia coli b:055 cause hyperpermeability of rumen and colon tissue.*** *J. Dairy Sci.,* 90, 5552-5557, 2007.

Emmanuel, D.G.V.; Dunn, S.M.; Ametaj, B.N. ***Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows***. *J. Dairy Sci.,* 91(2), p.606-614, 2008.

Evock-Clover, C.M.; Myres, M. J.; Steele, N.C. ***Effects of endotoxin challenge on growth performance, carcass accretion rate, and serum hormone and metabolite concentration in control pigs and those treated with recombinant porcine comatotropin.*** *J. Animal Sci.,* 75:1784-1790, 1997.

Farhadi, A.; Banan, A.; Fields, J.; et al. ***Intestinal barrier: an interface between health and disease.*** *J. Gastroenterol Hepatol,* 18:479-497, 2003.

Finamore, A.; Massimi, M.; Conti Devirgiliis, L.; et al. ***Zinc deficiency induced membrane barrier damage and increases neutrophil transmigration in Caco-2 cells.*** *J. Nutr.,* 138:166-1670, 2008.

Fiocchi, C. ***The normal intestinal mucosa: State of controlled inflammation.*** *Page 101 in Inflammatory Bowel Disease: From Bench to Bedside. S.R. Targan, F. Shanahan and L.C. Karp, ed. Springer Press, Dordrecht, the Netherlands,* 2003.

Fiorentini, G.; Messana, J.D.; Diana, P.H.M.; et al. ***Digestibility, fermentation and rumen microbiota of crossbred heifers fed diets with different soybean oil availabilities in the rumen.*** *Animal Feed Science and Technology,* v.181, n.1-4, p.26-64, 2013.

Fiorentini, G.; Santana, M.C.A.; Sampaio, A.A.; et al. ***Intake and performance of confined crossbred heifers fed different lipid sources.*** Revista Brasileira de Zootecnia, v.41, n.6, p.1490-1498, 2012.

Furuse, M.; Hirase, T.; Itoh, M.; et al. ***Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions.*** *J. Cell Biol.* 123:1777-1788, 1993.

Gabay, C.; Kushner, I. ***Acute-phase proteins and other systemic response to inflammation.*** *New England Journal of Medicine,* 340, 448-454, 1999.

Gabel, G.; Aschenbach, J.R. ***Influence of food deprivation on the transport of 3-O-methyl-alpha-d-glucose across the isolate ruminal epithelium of sheep.*** *J. Animal Sci.,* 80, 2740-2746, 2002.

Gómez, L.M.; Posada, S.L.; Oliveira, M. ***Sub-acute ruminal acidosis and non-structural carbohydrates: a study model in nutritional immunology.*** *Rev. CES. Med. Zootec.* 9, 295-306, 2014.

González, F.H.D.; Martínez-Subiela, S.; Cerón, J.J. ***Haptoglobina en ruminantes: generalidades y possibles aplicaciones clinicas.*** Anal. Vet. Mur., v.23, p.5-17, 2007.

González, F.H.D.; Scheffer, J.F.S. **Perfil sanguíneo: ferramentas de análise clínica, metabólica e nutricional.** In: Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, 1, 2003, Porto Alegre. Anais... Porto Alegre: UFRGS, p.73-89, 2003.

Górka, P.; Castillo-Lopez, E.; Joy, F.; et al. ***Effect of including high-lipid by-product pellets in substitution for barley grain and canola meal in finishing diets for beef cattle on ruminal fermentation and nutrient digestibility.*** *J. Animal Sci., Champaign,* v.93, p.4891-4902, 2015.

Gozho, G.N.; et al. ***Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response.*** *J. Dairy Sci.,* v.88, p.1399-1403, 2005.

Groschwitz, K.R.; Hogan, S.P. ***Intestinal barrier function: molecular regulation and disease pathogenesis.*** *J. Allergy Clin. Immunol.,* v.124, n.1, p.3-20; quiz 21-2, 2009.

Gruys, E.; Toussaint, M.J.M.; Niewold, T.A.; et al. ***Acute phase reaction and acute phase proteins.*** *Journal of Zheijang University Science,* 6B, 1045-1056, 2005.

Horst, E.A.; Mayorga, E.J.; Al-Qaisi, M.; et al. ***Effects of dietary zinc source on the metabolic and immunological response to lipopolysaccharide in lactating Holstein dairy cows.*** *J. Dairy Sci.,* 102(12), 11681-11700, 2019.

Jain, S.; Gautam, V.; Naseem, S. ***Acute phase proteins: As diagnostic tool.*** *J. Pharm. Bioal. Sci.,* v.3, p.118-127, 2011.

Jeffery N.M.; Yaqoob, P.; Newsholme, E.A.; Calder, P.C. ***The effects of olive oil upon rat serum lipid levels and lymphocyte functions are due to oleic acid.*** *Annals of Nutrition and Metabolism,* 40, 71-80, 1996.

Johnson, R.W. ***Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view.*** *J. Animal Sci.,* 75:1244-1255, 1997.

Jolly, C.A.; Jiang, Y-H.; Chapkin, R.S.; et al. ***Dietary n-3 polyunsaturated fatty acids suppress murine lymphoproliferation, interleukin-2 secretion and the formation of diacylglycerol and ceramide.*** *Journal of Nutrition*, 127, 37-43, 1997.

Kegley, E.B.; Spears, J.W. ***Immune response, glucose metabolism, and performance of stressed feeder calves fed inorganic and organic chromium.*** *J. Animal Sci.,* 73:2721-2726, 1995.

Khiaosa-Ard, R.; Zebeli, Q. ***Cattle's variation in rumen ecology and metabolism and its contributions to feed efficiency.*** *Livest. Sci.* 162, 66-75, 2014.

Kluger, M.J. ***The evolution and adaptive value of fever: Long regarded as harmful by-product of infection, fever may instead be an ancient ally against disease, enhancing resistance and increasing chances of survival.*** *Am. Sci.,* 66:38-43, 1978.

Klusmeyer, T.H.; Clark, J.H. ***Effects of dietary fat and protein on fatty acid flow to the duodenum and milk produced by dairy cows.*** *J. Dairy Sci.,* v.74, n.9, p.3055-3067, 1991.

Kozloski, V.G. **Bioquímica dos ruminantes**. 3ed. UFSM, Santa Maria, RS. 2011.

Latham, M.J.; Storry, J.E.; Sharpe, M.E. ***Effect of low roughage diets on the microflora and lipid metabolism in the rumen.*** *Applied Microbiology, Washington,* v.24, p.871-877, 1972.

Lee, S.H. ***Intestinal permeability regulation by tight junctions: implication on inflammatory bowel diseases.*** *Intest. Res.,* v.13, n.1, p.11-8, 2015.

Lehninger, A.L.; Nelson, D.L.; Cox, M.M. **Princípios de bioquímica.** 4ed. São Paulo, p.1119, 2005.

Leme, R.B.A. **Suplementação de hormônio do crescimento e zinco em pacientes com câncer no esôfago.** Tese em Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 139p, 2000.

Li, S.; Khalipour, E.; Krause, D.O. et al. ***Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows.*** *J. Dairy Sci.,* 95, 294-303, 2012.

Liu, J.H.; Xu, T.T.; Liu, Y.J.; et al. ***A high-grain die causes massive disruption of ruminal epithelial tight junctions in goats.*** *Am. J. Physiol. Regul. Intergr. Comp. Physiol.* 305:R232-R241, 2013.

Ma, T.Y.; Iwamoto, G.K.; Hoa, N.T. ***NTF-alpha-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF-kappa B activation.*** *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.,* 286:G367-G376, 2004.

Mani, V.; Webber, T.E.; Baumgard, L.H. et al. ***Endotoxin, inflammation, and intestinal function in livestock.*** *J. Animal Sci.,* 90, 1452-1465, 2012

Manresa, M.C.; Taylor, C.T. ***Hypoxia Inducible Factor (HIF) Hydroxylases as Regulators of Intestinal Epithelial Barrier Function.*** *Cell Mol. Gastroenterol Hepatol,* v.3, n.3, p.303-315, 2017.

Membrive, C.M. ***Anatomy and Physiology of the Rumen***. *In: D.D. Millen; M.B. Arrigoni; R.D. Pacheco, Rumenology* (pp.1-38), *Switzerland: Springer,* 2016.

Metzler-Zebeli, B.U.; et al. ***Grain-rich diets differently alter ruminal and colonic abundance of microbial populations and lipopolysaccharide in goats.*** *Anaerobe,* 20:65-73, 2013.

Millen, D.D.; Pacheco, R.D.; Cabral, L.; et al. ***Ruminal Acidosis.*** *In: D.D. Millen; M.B. Arrigoni; R.D. Pacheco, Rumenology* (pp.127-156), *Switzerland: Springer,* 2016.

Mogensen, T.H. ***Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses.*** *Clin. Microbial. Rev.,* 22:240-273, 2009.

Moonsie-Shageer, S.; Mowat, D.N. ***Effect of level of supplemental chromium on performance, serum constituents, and immune response off stressed feeder steer calves.*** *J. Animal Sci.*, 71:232-238, 1993.

Moraes, S.S.A. **Novos microelementos minerais e minerais quelatados na nutrição de bovinos**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 22p, 2001.

Mourão, R.C. et al. **Processamento do milho na alimentação de ruminantes.** PUBVET, Londrina, v.6, n.5, ed.192, art.1292, 2012.

Mowat, D.N. ***Supplemental organic chromium reviewed for cattle.*** *Feedstuffs*, v.6, n.43, p.12-19, 1997.

Murata, H.; Shimada, N.; Yoshioka, M. ***Current research on acute phase protein in veterinary diagnosis: an overview.*** *Vet. J.*, v.168, p.28-40, 2004.

Nagaraja, T.G.; Lechtenberg, K.F. ***Liver abscesses in feedlot cattle.*** *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 23, 351-369, IX, 2007.

Nascimento, F.D.A. **Gordura protegida com diferentes perfis de ácidos graxos na alimentação de bovinos Nelore confinados.** 2017.

National Research Council – NRC. ***Nutrient requirements of beef cattle.*** *8th ed, Washington, DC: National Academy Press*, 2016.

Overbeck, S.; Rink, L.; Haase, H. ***Modulating the immune response by oral zinc supplementation: a single approach for multiple diseases.*** *Arch. Immunol. Ther. Exp.*, 56:15-30, 2008.

Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J.; et al. ***Acidoses in cattle: a review.*** *J. Animal Aci.*, 76(1), 275-286, 1998.

Owens, F.N.; Secrist, D.S.; Hill, W.J.; et al. ***The effect of grain source and grain processing on performance of feedlot cattle: a review.*** *J. Animal Sci.*, 75(3), 868-879, 1997.

Owens, F.N.; Zinn, R.A.; Kim, Y.K. ***Limits to starch digestion in the ruminant small intestine.*** *J. Animal Sci.*, 63:1634, 1986.

Palmquist, D.L.; Mattos, W.R.S. **Metabolismo de lipídeos.** In: BERCHIELLI, T.T., PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G., 2eds. Nutrição de Ruminantes, Jaboticabal: FUNEp, p.299-322, 2011.

Pechova, A.; Pavlata, L. ***Chromium as an essential nutrient: a review.*** *Veterinární medicina*, 52(1), 1, 2007.

Penner, G.B.; Oba, M.; Gaebel, G.; Aschenbach, J.R. ***Single mld episode of subacute ruminal acidosis does not affect ruminal barrier function in the short term.*** *J. Dairy Sci.*, 93:4838-4845, 2010.

Petersen, H.H.; Nielsen, J.P.; Heegaard, P.M.H. ***Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry.*** *Veterinary research*, 35(2), 163-187, 2004.

Plaizier, J.C.; Krause, D.O. Gozho, G.N. et al. ***Subacute ruminal acidosis in dairy cows: The physiological causes, incidence and consequences.*** *Vet. J.* 176:21-31, 2008.

Prasad, A.S. ***Zinc in human health: Effect of zinc on immune cells.*** *Mol. Med.*, 14:353-357, 2008.

Putrino, S.M.; Leme, P.R.; Silva, S.L.; et al. **Exigência líquidas de proteína e energia para ganho de peso de novilhos Nelore alimentados com dietas contendo grão de milho úmido e gordura protegida.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.35, n.1, p.301-308, 2006.

Radostitis, O.; Gay, C.; Hinchcliff, K.W.; et al. ***Diseases of the alimentary tract-II.*** *In: O. Radistits, C. Gay, K.W. Hinchcliff, & D. Constable, Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of Cattle, horses, sheep, pigs and goats (10th* ed., pp.293-38), London: Saunders, 2006.

Rietshchel, E.T.; Schade, U.; Jensen, M. et al. ***Bacterial endotoxin: chemical structures, biological activity and role in septicaemia.*** *Scand j. Infect Dis Suppl*, 31:8-21, 1982.

Rosa, B.L.; Sampaio, A.A.M.; Henrique, W.; et al. ***Performance and carcass characteristics of Nellore young bulls fed different sources of oils, protected or not from rumen degradation.*** Revista Brasileira de Zootecnia, v.42, n.2, p.109-116, 2013.

Sakar, P.; Saha, T.; Sheikh, A.; et al. ***Zinc ameliorates intestinal barrier dysfunction in shigellosis by reinstating claudin-2 and -4 on the membranes.*** *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver. Physiol.*, 316:G229-G246, 2019.

Shao, Y.; Wolf, P.G.; Guo, S.; et al. ***Zinc enhances intestinal epithelial barrier function through the PI3K/ATK/mTOR signaling pathway in Caco-2 cells.*** *J. Nutr. Biochem.,* 43:18-26, 2017.

Silva, S.L.; Leme, P.P.; Putrino, S.N.; et al. **Milho grão seco ou úmido com sais de cálcio de ácidos graxos para novilhos Nelore em confinamento.** Revista Brasileira de Zootecnia, v.36, n.5, p.1426-1434, 2007.

Silvestre, A.M.; Millen, D.D. ***The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists.*** Revista Brasileira de Zootecnia, 50, 2021.

Simplício, K.M.M.G.; Sousa, F.C.; Fagliari, J.J.; et al. **Proteinograma sérico, com ênfase em proteínas de fase agude de bovinas sadios e bovinos portadores de enfermidade aguda de ocorrência natural.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 65(5), 1339-1347, 2013.

Smith, B.P ***Diseases of the Alimentary Tract: Ruminant Alimentary Disease.*** *In: B.P. Smith, Large Animal: Internal Medicine (5th ed.,* pp.739-842). *St. Louis Missouri: Elsevier Health Sciences,* 2015.

Sordillo, L.M. ***Nutritional strategies to optimize dairy cattle immunity.*** *J. Dairy Sci.,* 99(6), 4967-4982, 2016.

Sordillo, L.M.; Aitken, S.L. ***Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle.*** *Vet. Immunol. Immunopathol.,* 128:104-109, 2009.

Sousa, I.K.; et al. **Influência da suplementação com cromo no desempenho de bezerros de corte submetidos ao estresse da desmama.** Pesquisa Veterinária Brasileira, 40(2), 97-101, 2020.

Sousa, S.L.M.; et al. **Desempenho e saúde ruminal de bovinos da raça Nelore em *feedlot*, suplementados com leveduras vivas e fonte de lipídeos.** Dissertação de Mestrado, 2019.

Souza, P.M. **Perfil bioquímico sérico de bovinos das raças Gir, Holandesa e Girolanda, criados no Estado de São Paulo – Influência de fatores de variabilidade etários e sexuais.** 168f. Tese (Doutorado em Clínica Veterinária) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1997.

Spears, J.M.; Samsell, L.J. ***Relative availability of zinc in zinc methionine and zinc oxide for ruminants.*** *J. Animal Sci.,* 63(Suppl_1):402, 1986.

Spears, J.W. ***Micronutrients and immune function in cattle.*** *Proceedings of the nutrition society,* 59(4), 587-594, 2000.

Spurlock, M.E. ***Regulation of metabolism and growth during immune challenge: An overview of cytokine function.*** *J. Animal Sci.,* 75:1773-1783, 1997.

Steiger, M.; Senn, M.; Altreuther, G.; et al. ***Effect of a prolonged low-dose lipopolysaccharide infusion on feed intake and metabolism in heifers.*** *J. Animal Sci.* 77:2523-2532, 1999.

Sukhija, P.S.; Palmquist, D.L. ***Dissociation of calcium soaps of long-chain fatty acids in rumen fluid.*** *J. Dairy Sci.,* v.73, n.7, p.1784-1787, 1990.

Sullivan, H.M.; Bernard, J.K.; Amos, H.E.; Jenkins, T.C. ***Performance of lactating dairy cows fed whole cottonseed with elevated concentrations of free fatty acids in the oil.*** *J. Dairy Sci.,* v.87, n.3, p.665-671, 2004.

Suzuki, T. ***Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions.*** *Cell Mol. Life Sci.,* v.70, n.4, p.631-59, 2013.

Takeuchi, O.; Hoshino, K.; Kawai, T.; et al. ***Differential roles of TKR4 in recognition of gram-negative and gram-positive bacterial cell wall components.*** *Immunity,* (4):443-51, 1999.

Teixeira, S.; et al. ***Intestinal permeability parameters in obese patients are correlated with metabolic syndrome risk factors.*** *Clin. Nutr.* V.31, n.5, p.735-40, 2012.

Tsukita, S.; Furuse, M.; Itoh, M. ***Multifunctional strands in tight junctions.*** *Nat. Rev. Cell Biol.,* 2:285-293, 2001.

Turner, J.R. ***Intestinal mucosal barrier function in health and disease.*** *Nat Rev Immunol,* v.9, n.11, p.799-809, 2009.

Umeda, K.; et al. ***Establishment and characterization of cultured epithelial cells laking expression of ZO-1.*** *J Biol Chem,* v.279, n.43, p.44785-94, 2004.

Valadares Filho, S.C.; Pina, D.S. **Fermentação Ruminal.** In: BERCHIELLI, T.T.; PIRES, A.V.; OLIVEIRA, S.G. 2eds. Nutrição de Ruminantes, Jaboticabal: FUNEP, p.161-191, 2011.

Valinote, A.C.; Nogueira Filho, J.C.M.; Leme, P.R.; et al. **Fontes de lipídeos e monensina na alimentação novilhas Nelore e sua relação com a população de protozoários ciliados do rúmen.** Revista Brasileia de Zootecnia, v.34, n.4, p.1418-1423, 2005.

Valko, M.; Leibfritz, D.; Moncol, J. et al. ***Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.*** *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 39:44-84, 2007.

Van Itallie, C.M.; Anderson, J.M. ***Claudins and epithelial paracellular transport.*** *Annu Rev Physiol.*, 68:403-429, 2006.

Vincent, J.B. ***The biochemistry of chromium.*** *J. Nutr.*, 130:715-718, 2000.

Waldron, M.R.; Nishida, T.; Nonnecke, B.J.; et al. ***Effect of lipopolysaccharide on induce of peripheral and hepatic metabolism in lactating cows.*** *J. Dairy. Sci.*, v.86, p.3447-3459, 2003.

Wallace, F.A.; Miles, E.A.; Evans, C.; et al. ***Dietary fatty acids influence the production of Th1-but not Th2-type cytokines.*** *Journal of Leukocyte Biology, 69, 449-457, 2001.*

Wan, Y.; Petris, M.J.; Peck, S.C. ***Separation of zinc dependent and zinc-independent events during early LPS stimulated TLR4 signaling in macrophage cells.*** *FEBS Lett.*, 588:2928-2935, 2014.

Wanapat, M.; Mapato, C.; Pilajun, R.; Toburan, W. ***Effects of vegetable oil supplementation on feed intake, rumen fermentation, growth performance, and carcass characteristic of growing swamp buffaloes.*** *Livestock Science*, v.135, n.1, p.32-37, 2011.

Weingarten, H.P. ***Cytokines and food intake: the relevance of the immune system to the student of ingestive behavior.*** *Neuroscience Biobehavior reviw*, 20, 163-170, 1996.

Wessels, L.; Maywald, M.; Rink, L. ***Zinc as a gatekeeper of immune function.*** *Nutrients*, 9:1286, 2017.

Wilson, D.J.; Mutsvangwa, T.; Penner, G.B. ***Supplemental butyrate does not enhance the absorptive or barrier functions of the isolated ovine ruminal epithelia.*** *J. Animal Sci.* 90:3153-3161, 2012.

Wong, V.; Gumbiner, B.M. ***A synthetic peptide corresponding to the extracellular domain of occluding perturbs the tight junction permeability barrier.*** *J. Cell Biol.*, 136:399-409, 1997.

Wood, J.D.; Enser, M.; Fisher, A.V.; et al. ***Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review.*** *Meat Science*, v.78, n.4, p.343-358, 2008.

Yáñes-Ruiz, D.R.; Abecia, L.; Newbold, C.J. ***Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review.*** *Front. Microbiol.*, 6,1133, 2015.

Yaqoob, P.; Calder, P.C. ***Fatty acids and immune function: new insights into mechanisms.*** *British Journal of Nutrition*, 98(S1), S41-S45, 2007.

Yaqoob, P.; Newsholme, E.A.; Calder, P.C. ***The effect of dietary lipid manipulation on rat lymphocyte subsets and proliferation.*** *Immunology*, 82, 603-610, 1994.

Zhang, S.; Albornoz, R.I.; Aschenbach, J.R.; et al. ***Short-term feed restriction impairs the absorptive function of the reticulo-rumen and total tract barrier function in beef cattle.*** *J. Animal Sci.*, 91:1685-1695, 2013.

Zinn, R.A.; Gulati, S.K.; Plascencia, A.; et al. ***Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle.*** *J. Animal Sci., Champaign*, v.78, p.1738-1746, 2000.

Zinn, R.A.; Shen, Y. ***Interaction of dietary calcium and supplemental fat on digestive function and growth performance in feedlot steers.*** *J. Animal Sci.*, v.74, n.10, p.2303-2309, 1996.

CAPÍTULO 2

“Protocolos nutricionais para preservar as junções compactas do trato gastrointestinal e diminuir marcadores inflamatórios no sangue de bovinos confinados”

PROTOCOLOS NUTRICIONAIS PARA PRESERVAR AS JUNÇÕES COMPACTAS DO TRATO GASTROINTESTINAL E DIMINUIR MARCADORES INFLAMATÓRIOS NO SANGUE DE BOVINOS CONFINADOS

1. Introdução

Os atuais regimes alimentares utilizados nos animais terminados em confinamento têm desafiado os animais em decorrência dos elevados níveis energéticos trabalhado pelos nutricionistas, visando maximizar o desempenho dos animais. A crescente inclusão de grãos as dietas associadas à sua maior extensão em processamento parece ser uma estratégia pertinente para reduzir as perdas de amido nas fezes, principalmente pela otimização da sua fermentação ruminal, melhora esta, que se torna ainda mais acentuada quando se trabalha com milho de textura Flint.

Em consequência da maior disponibilidade do amido em decorrência do processamento seja ele mecânico ou químico, há uma tendência de elevar a produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC) no rúmen, aumentando o risco de um desequilíbrio ruminal, devido ao maior acúmulo destes ácidos no compartimento ruminal, e consequentemente, quadros de acidose ruminal, por exemplo, são mais propícios de acontecer (MILLEN et al., 2016; SOUSA et al., 2019), fato este que tem sido relacionada a alterações morfológicas e histológicas em papilas ruminais, ocasionando prejuízos a função de barreira protetora do epitélio (STEELE et al., 2009).

Vários estudos avaliando o desenvolvimento do epitélio ruminal de animais Nelore, durante o período de transição para dietas mais energéticas (BARDUCCI et al. 2019; PARRA et al. 2019; PERDIGÃO et al. 2017; ESTEVAM et al. 2020), sugerindo que o desenvolvimento do epitélio ruminal se faz de forma gradativa, possibilitando o crescimento papilar para remoção dos produtos da fermentação pela microbiota, uma vez que o acúmulo e a dissociação desses produtos junto ao fluido ruminal, reduz o pH podendo levar ao aparecimento de acidose ruminal (OWENS et al., 1998; PLAIZIER et al., 2008).

Situações de acidose ruminal evidenciam prejuízos tanto a função protetora do epitélio (STEELE ET AL., 2009) como a população microbiana (NAGARAJA E TITGEMEYER, 2007), levando a prejuízos no desempenho dos animais. Trabalhos tem evidenciado que o aparecimento de lesões no trato gastrointestinais dos ruminantes em decorrência de distúrbios digestivos, seja a nível ruminal (PENNER et al. 2010) ou intestinal (BRIGGS et al. 2021) tem desenvolvido processos inflamatórios nos animais, evidenciados pela elevação nos níveis de proteínas de fase aguda (MURATA et al., 2004; GONZÁLEZ et al., 2007; JAIN et al., 2011; CRAY, 2012; SIMPLÍCIO et al., 2013).

Pesquisas tem demonstrado que a suplementação com os minerais Zinco e Cromo orgânicos na manutenção do sistema imunológico dos animais (CHIRASE et al., 1991; ANDERSON, 1998). O zinco desempenha importante papel imunológico, pois este é frequentemente acionado como agente antioxidante e anti-inflamatório (LEME, 2000), além de participar do metabolismo de carboidratos, proteínas e ácidos nucleicos (NASEM, 2016). O Cromo por sua vez, de acordo com Mowat (1997), quando em situações de estresse em campo ou em confinamento, é capaz de prevenir perdas de desempenho e ainda melhorar o sistema imune elevando níveis de imunoglobulinas e anticorpos (MORAES, 2001; CARVALHO, BARBOSA e MCDOWELL, 2003). Além disso, a suplementação com ácidos graxos além de ser importantes fontes de energia, tem sua função como componentes estruturais das membranas celulares, influenciando as propriedades físicas e funcionais das membranas celulares (YAKOOB e CALDER, 2007). Portando, a introdução dos ácidos graxos na dieta pode levar a alteração na composição de ácidos graxos das células inflamatórias e imunológico (CALDER, 2001). O ácido oleico e ácidos graxos poli-insaturados n-3 demonstram inibir a ativação de linfócitos, produção de citocinas inflamatórias e macrófagos (YAQOOB et al., 1994; JEFFERY et al., 1996; JOLLY et al., 1997; BILLIAR et al., 1998; ARRINGTON et al., 2001, WALLACE et al., 2001).

Sendo assim, estratégias de suplementação com minerais que potencializem o sistema imunológico dos animais, associado a métodos de processamento que estrategicamente alterem o sítio de digestão do amido da dieta, e/ou redução do incremento calórico das dietas pela substituição de parte do amido por SCAG, parecem ser estratégias promissoras para minimizar, e auxiliar no manejo nutricional dos animais. Portanto, o objetivo desse projeto foi avaliar o efeito de diferentes formas de processamento dos grãos de milho em dietas com inclusão ou não de SCAG protegidos da fermentação ruminal, assim como de zinco e cromo, sobre a morfometria e integridade do epitélio do trato gastrointestinal, marcadores de inflamação no sangue, e teor de amido fecal de bovinos Nelore confinados.

2. Material e Métodos

2.1 Animais e local do experimento

O estudo foi conduzido na Faculdade de Ciência Agrárias e Tecnológicas (FCAT), Universidade Estadual Paulista (UNESP), campus de Dracena, no Confinamento Experimental de Bovinos de Corte. Foram utilizados 150 animais, machos, não castrados, da raça Nelore, com peso vivo (PV) médio inicial de 403,98 ± 23,82kg (PV ± desvio padrão), blocados por peso, provindos de sistema de recria em pastejo contínuo. No dia zero do estudo, um animal

por baia (totalizando 30 animais) foi abatido como referência para coletas relacionadas a integridade do epitélio gastrointestinal, e desta forma o estudo prosseguiu com 120 animais, os quais foram divididos em 30 baias (n = 4 por baia).

2.2. Delineamento experimental

O delineamento experimental utilizado foi em blocos inteiramente casualizados (DBC) em arranjo fatorial 2 x 2 + 1. Primeiramente os animais foram estratificados em grupos de alta e baixa diferença esperada na progênie (DEP) dos pais para marmoreio, e dentro dos grupos das DEPs os animais foram blocados pelo peso vivo inicial (PVI). A DEP foi utilizada como critério para estratificação dos animais, pois este foi um estudo paralelo ao estudo que testou diferentes protocolos nutricionais para melhoria do marmoreio de animais Nelore, com seleção de DEP para alto ou baixo nível de gordura intramuscular. Os protocolos nutricionais foram formulados com níveis energéticos elevados, deste modo, utilizou-se da oportunidade para verificar a saúde animal e do sistema digestivo. Antes do início do período experimental, os animais receberam uma dieta de pré-adaptação (feno de *Tifton* e mistura mineral), comum a todos os tratamentos no, no cocho por sete dias, assim os animais são pré-adaptados ao local e ocorre a uniformização da população ruminal. Posteriormente os animais foram realocados nas baias dividindo-os aleatoriamente, dentro de cada bloco, em cinco tratamentos de acordo com a associação do processamento do milho e a inclusão de SCAG (NutriGordura Terminação; Nutricorp Nutrição Animal; Araras, SP): 1) MSF-: Grão de milho seco finamente moído; 2) SGU-: Silagem de grão úmido de milho; 3) MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; 4) SGU+: Silagem de grão úmido de milho + SCAG; 5) SGU + ZnCr+:Silagem de grão úmido de milho + SCAG + Zinco e Cromo orgânico (Zinpro Animal Nutrition; Piracicaba, SP). Todos os tratamentos foram suplementados com monensina sódica (Rumensin 200; Elanco Saúde Animal, São Paulo, SP) na dosagem de 25 ppm. Cada tratamento foi composto por 6 repetições (baias), as quais respeitaram os critérios de blocagem e foram consideradas como unidade experimental.

2.3 Manejo, arraçoamento e cuidado com os animais

Todos os animais foram submetidos ao mesmo programa de arraçoamento, alojamento e manejo. O programa de recebimento dos animais consistiu-se na pesagem, tratamento contra anti-helmínticos, e vacinação contra doenças virais e bacterianas (rota e coronavírus, tétano, botulismo e sete tipos de Clostridium spp.; “Cattlemaster, Pfizer Animal Health, New York, NY”). A frequência de arraçoamento foi de duas vezes ao dia: às 9:00h (45% do total) e às

16:00h (55% do total). Os animais foram mantidos em baias de chão batido com 2,0 m de piso de concreto próximo à linha de cocho. A lotação foi de 4 animais por baia (18 m^2 e 1,5 m linear de cocho por animal), com água à vontade disponível em bebedouro automático.

O período experimental foi de 112 dias, incluso adaptação de 20 dias às dietas de alto desempenho. O protocolo de adaptação foi em escadas (*step-up*), onde foram fornecidas três dietas de adaptação. A transição das dietas de adaptação para a dieta de terminação foi feita da seguinte forma: 6 dias de adaptação 1 (69% de concentrado), 5 dias de adaptação 2 (74% de concentrado) e 9 dias de adaptação 3 (79% de concentrado), e a partir do 21º dia de experimento até o final do período experimental os animais receberam a dieta de terminação com 84% de ingredientes concentrados (Tabela 1). As dietas experimentais foram formuladas segundo o LRNS (Large Ruminant Nutrition System, FOX et al., 2004), nível 2. As dietas foram fornecidas para atingir consumo *ad libitum* e submetidas a ajustes de quantidade diariamente, com base na quantidade de sobra nos cochos, a qual foi mantida em 3% a 5% da quantidade oferecida.

A ingestão de matéria seca (IMS) foi medida para cada baia por meio da pesagem do alimento fornecido diariamente, e consequente pesagem da sobra antes do trato da manhã seguinte, aproximadamente 24 horas após o fornecimento. A determinação da matéria seca da ração total foi efetuada diariamente, enquanto da sobra, uma amostra composta por semana por baia foi utilizada para a determinação da matéria seca, para então se obter o IMS diário, o qual foi expresso em quilos e em porcentagem do peso vivo.

Tabela 1. Dietas experimentais que foram fornecidas na fase de terminação para bovinos Nelore confinados.

Tratamentos[1]	**T1**	**T2**	**T3**	**T4**	**T5**
	MSF-	**SGU-**	**MSF+**	**SGU+**	**SGU + ZnCr+**
Nível de Concentrado (%)	**84**	**84**	**84**	**84**	**84**
Ingredientes (%MS)					
Feno de *Tifton*	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Bagaço de cana	13,00	13,00	13,00	13,00	13,00
Farelo de soja	10,71	10,01	10,81	10,41	10,41
Silagem de grão úmido de milho	0,00	51,00	0,00	48,00	48,00
Grão de milho seco finamente moído	70,30	20,00	67,60	20,00	20,00
Ureia	0,70	0,70	0,70	0,70	0,70
Núcleo mineral	0,96	0,96	0,96	0,96	0,84
Sal	0,30	0,30	0,30	0,30	0,30
Gordura protegida	0,00	0,00	3,20	3,20	3,20
Calcário	1,00	1,00	0,40	0,40	0,40
Availa Zn120					0,075
Availa Cr1000					0,045
Conteúdo Nutricional					
Matéria Seca (MS)	84,00	76,00	85,00	77,00	77,00
Nutrientes Digestíveis Totais (%MS)	75,00	79,00	77,00	82,00	82,00
Amido (%MS)	48,83	48,12	46,97	46,12	46,12
Proteína Bruta (%MS)	14,30	14,20	14,10	14,10	14,10
Fibra em Detergente Neutro (%MS)	24,10	21,10	23,80	20,90	20,90
Carboidratos Não Fibrosos (%MS)	56,00	59,00	54,00	57,00	57,00
Extrato Etéreo (%MS)	3,00	3,60	5,50	6,10	6,10
peFDN[2]	13,00	14,00	13,00	14,00	14,00
Elg[3] (Mcal/ kg MS)	1,17	1,27	1,26	1,35	1,35
Ca (%MS)	0,56	0,54	0,56	0,55	0,57
P (%MS)	0,41	0,41	0,41	0,40	0,40
Cr (mg/kg)					0,45
Zn (mg/kg)					143,35

[1]**MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG (NutriGordura Terminação; Nutricorp Nutrição Animal; Araras – SP); **SGU+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG + Zn e Cr (Zinpro *Animal Nutrition;* Piracicaba – SP). [2]**peFDN:** Fibra em Detergente Neutro Fisicamente Efetiva; [3]**Elg:** Energia Liquida de Ganho.

2.4 Marcadores inflamatórios na corrente sanguínea

As amostras de sangue foram coletadas nos dias 0 e 112 do período experimental, as quais são referentes ao início do período de adaptação e ao final do experimento, respectivamente; sendo que, em cada ocasião, o sangue foi coletado de manhã, antes da alimentação. O sangue foi coletado de 2 animais por baia, escolhidos aleatoriamente, totalizando 60 animais (os mesmos escolhidos para avaliações histológicas do rúmen e do ceco). O sangue foi coletado em tubos de 10 mL sem heparina, através de punção venosa jugular, colocado imediatamente em gelo e posteriormente centrifugado a 2.500 rpm, por 30 min, para separação do soro, o qual foi

então removido e armazenado a -80ºC. Foram analisadas as concentrações de haptoglobina, ceruloplasmina, amiloide sérico A, imunoglobulina A, imunoglobulina G, proteína C-reativa e proteína ligante do LPS (LBP). As concentrações foram analisadas por meio de Kit ELISA. As metodologias tiveram como base estudos previamente realizados com bovinos como descrito por Demetriou et al. 1974; Emmanuel et al. 2008; Guzelbektes et al., 2010; Know et al., 2011 e Cooke e Arthington, 2013. Os kits utilizados foram: *Bovine Haptoglobin* (E2263Bo, *Bioassay Technology Laboratory* [BT LAB]), *Bovine Ceruloplasmin* (E0395Bo, BT LAB), *Bovine Serum Amyloid A* (E2264Bo, BT LAB), *Bovine Immunoglobulin A* (E2266Bo, BT LAB), *Bovine Immunoglobulin G*, (E0010Bo, BT LAB), *Bovine C-Reactive Protein* (E0233Bo, BT LAB) e *Bovine Lipopolysaccharide Binding Protein* (E2227Bo, BT LAB).

2.5 Integridade do epitélio do trato gastrointestinal

Imuno-histoquímica das junções compactas. No início do experimento, foram selecionados ao acaso um animal por baia, totalizando 30 animais, e destes animais selecionados, no dia do abate final, após 112 dias de estudo, foram coletadas porções do rúmen, jejuno e ceco. Estes fragmentos também foram coletados dos 30 animais selecionados para o abate referência (o qual ocorreu antes do período de adaptação). Após abate e limpeza do rúmen, jejuno e cólon, foram coletados fragmentos de aproximadamente 1cm^2 de cada um dos órgãos e armazenadas em formaldeído a 10% e armazenados a 4ºC até o processamento. As amostras foram então embebidas em parafina e cortadas em seções de 4 µm de espessura. As seções foram incubadas com anti-ocludina de coelho (1:100, A2601, ABclonal) ou anti-zonulin-1 de coelho (1:100, A0659, ABclonal) a 4ºC *overnight*. A cor foi desenvolvida na solução de diaminobenzidina (DAB) e contrastadas com hematoxilina. As amostras foram posteriormente desidratadas, limpas e montadas permanentemente para serem analisadas em microscópio, onde a variável que será medida foi o escore de imunorreatividade das ocludinas ou zônulas ocludentes. O escore apresentou uma escala de 0 a 3, onde: 0: ausência de imunorreatividade; 1: até 30% de imunorreatividade; 2: 30 a 60% de imunorreatividade e 3: acima de 60% de imunorreatividade. Quanto maior o escore de imunorreatividade, significa regulamento positivo das ocludinas e ZO, e quando menor o escore de imunorreatividade, significa regulamento negativo das ocludinas e ZO. A metodologia utilizada foi adaptada de Pereira et al. (2010); Assimakopoulos et al. (2012); Yang et al. (2011) e Ruan et al. (2014).

Incidência de lesões ruminais e cecais e morfometria das papilas ruminais. Foram realizados escores de lesão do rúmen e do ceco de todos os 150 animais abatidos no estudo

seguindo a metodologia descrita por Bigham e McManus (1975), com base em uma escala de 0 (sem lesões) e 10 (lesões ulcerativas por todo o rúmen/ceco). Além disso, foram realizadas análises morfométricas do rúmen de todos os animais seguindo a metodologia proposta por Daniel et al. (2006) e Resende Junior et al. (2006), onde as variáveis analisadas serão: número médio de papilas (NMP), área média de papilas (AMP) em cm^2, superfície absortiva do epitélio (ASA) em cm^2, e representatividade das papilas na superfície absortiva (APSA) em %.

2.6 Amido fecal

Os 60 animais selecionados ao acaso de cada baia (abate final) para as avaliações histológicas do rúmen e do ceco, passaram também por três períodos de coleta de fezes.

As amostras de fezes foram coletadas no início do período de adaptação (dia 0), no meio do período experimental (dia 56) e no final do estudo (dia 112). As amostras foram coletadas do chão das baias no período da manhã (08 h), sempre antes das refeições e logo após o animal defecar. Descartava-se a parte do material que entrava em contato com o solo, sendo coletada somente a parte superior, quando as fezes eram pisoteadas e/ ou contaminadas estas eram desprezadas e uma nova amostra era coletada. Todas as amostras foram imediatamente congeladas depois de coletadas. Posteriormente as amostras foram secas em estufa com ventilação forçada a 65ºC até atingir peso constante.

Para a determinação dos teores de amido fecal, as amostras foram submetidas à determinação laboratorial pelo método enzimático colorimétrico proposto por Pereira e Junior (1995), fazendo prévia extração dos carboidratos solúveis segundo Hendrix (1993), seguindo a metodologia foram realizados então os seguintes cálculos abaixo para a determinação da porcentagem de amido fecal.

$$Eficiência\ de\ recuperação = \frac{Concentração\ de\ glicose}{Concentração\ esperada}$$

$$Glicose\ total\ \left(\frac{mg}{dl}\right) = \frac{(absorbância\ amostra - absorbância\ 0\ glicose) * 100}{absorbância\ do\ padrão}$$

$$\%\ Amido = \frac{Glicose\ total\ \left(\frac{mg}{dl}\right) * 0{,}90 * 100}{Peso\ da\ amostra\ (mg)}$$

$$\%\ Amido\ corrigido = \frac{\%\ Amido}{Eficiência\ de\ recuperação}$$

2.7 Análise dos resultados

O delineamento experimental foi em blocos casualizados, em função das DEPs para marmoreio e do PVI, em que as baias foram consideradas as unidades experimentais para todas as variáveis deste estudo. Foram realizados testes de normalidade dos resíduos e de heterogeneidade de variâncias antes de se proceder a análise de variância, e quando necessário, os dados foram transformados. O efeito dos tratamentos, e da interação destes com as DEPs foram considerados como fixos no modelo. Por outro lado, o efeito do bloco e da DEP foram considerados aleatórios. Os dados deste estudo foram analisados utilizando o PROC MIXED do SAS (2003), considerando o nível de 5% de significância, de acordo com o modelo:

$$Yijkl = \mu + Ti + DEPj + T*DEPij + Bk + eijkl;$$

em que: Yijkl = observação relativa à l-ésima unidade experimental (baia) do i-ésimo tratamento da j-ésima DEP no k-ésimo bloco; μ = média geral; Ti = efeito do i-ésimo tratamento, sendo i = 1: Grão seco sem SCAG , 2: Grão úmido sem SCAG , 3: Grão seco com SCAG, 4: Grão úmido com SCAG e 5: Grão úmido com SCAG, zinco e cromo; DEPj = efeito da j-ésima DEP, sendo j: 1: Alta DEP, 2: Baixa DEP; T*DEPij = efeito de interação entre tratamentos e DEP; Bk = efeito do k-ésimo bloco (6 blocos); eijkl = erro experimental referente à l-ésima unidade experimental do i-ésimo tratamento na j-ésima DEP no k-ésimo bloco (0;σ2). Foram aplicados os seguintes contrastes, no caso do teste F ser significativo para os tratamentos: 1) silagem de grão úmido de milho vs. milho moído fino, 2) presença ou ausência de SCAG, 3) interação entre tipo de processamento e presença de SCAG, e 4) silagem de grão úmido de milho + SCAG vs. silagem de grão úmido de milho + SCAG + Zinco + Cromo.

3. Resultados

3.1 Integridade do epitélio intestinal

3.1.1 Imuno-histoquímica das junções compactas

Tabela 2. Efeito dos protocolos nutricionais sobre o escore de imunorreatividade das Ocludinas e Zônulas ocludentes presentes no rúmen, jejuno, ceco e TGI total de bovinos Nelore terminados em confinamento.

	Tratamentos[1]						Contrastes (Valor de *P*)				
Região	MSF-	SGU-	MSF+	SGU+	SGU + ZnCr+	EPM[2]	Milho	SCAG	Milho*SCAG	ZnCr	DEP*Trat[3]
Rúmen											
Ocludinas	1,85	1,66	1,66	1,66	1,51	0,22	0,6655	0,6467	0,6655	0,7114	0,1842
Zônulas Ocludentes	2,17	1,67	2,00	2,00	2,00	0,20	0,2251	0,6719	0,2251	1,0000	0,2891
Jejuno											
Ocludinas	1,52	1,68	1,51	1,35	1,93	0,32	0,9969	0,5887	0,5954	0,0874	0,0329[5]
Zônulas Ocludentes	2,42	2,28	1,47	2,28	2,72	0,23	0,1380	0,0467	0,0467	0,1935	0,0086[6]
Ceco											
Ocludinas	1,88	2,05	2,02	2,38	2,50	0,25	0,3441	0,3939	0,7267	0,7175	0,5941
Zônulas Ocludentes	1,83	2,17	1,83	2,54	2,46	0,20	0,0303	0,3994	0,3994	0,7296	0,2604
TGI[4] Total											
Ocludinas	4,94	5,28	5,73	5,36	5,86	0,40	0,9769	0,3513	0,4509	0,3699	0,2282
Zônulas Ocludentes	6,20	6,28	5,45	6,78	7,12	0,56	0,1146	0,7636	0,1589	0,5024	0,5100

[1]**MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG + zinco e cromo orgânico; [2]**EPM:** Erro padrão médio; [3]**DEP*Trat:** Interação entre DEP e tratamentos; [4]**TGI:** Trato gastrointestinal (soma das médias do rúmen, jejuno e ceco); [5]Interação apresentada na Figura 1; [6]Interação apresentada na Figura 2.

Entre os *contrastes* testados, não foi encontrado diferença significativa para os escores de imunorreatividade no rúmen, tanto para ocludinas como para zônulas ocludentes (P > 0,05; Tabela 2). Uma interação entre DEP para marmoreio e tratamento foi observada para as ocludinas no jejuno (P = 0,0329), onde animais de alta DEP para marmoreio que consumiram SGU + ZnCr+ apresentaram escores de imunorreatividade mais elevados quando comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio que receberam SGU+ (Figura 1). Uma interação entre DEP para marmoreio e tratamento para as zônulas ocludentes também foi observada no jejuno (P = 0,0086; Figura 2), onde animais de alta DEP para marmoreio que consumiram MSF- apresentaram escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes no jejuno mais elevadas em comparação aos animais de baixa DEP para marmoreio no mesmo tratamento. Também foi observado que animais de alta DEP para marmoreio alimentados com SGU- apresentaram queda no escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes no jejuno quando comparados aos animais de alta DEP para marmoreio alimentados com MSF-. Animais alimentados com o tratamento SGU+ de alta DEP para marmoreio apresentaram escores de imunorreatividade das zônulas ocludentes no jejuno elevados comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio no mesmo tratamento.

Observou-se também que animais de baixa DEP para marmoreio, quando consumiram SGU+ apresentaram queda no escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes no jejuno quando comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio que consumiram SGU-. Entre os *contrastes* testados, não foi encontrado diferença significativa para os escores de imunorreatividade das ocludinas no ceco (P > 0,05; Tabela 2), porém, observou-se que o tipo de processamento do milho alterou o escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes do ceco (P = 0,0303), onde animais alimentados com SGU apresentaram uma maior escore comparados aos *animais* alimentados com MSF (Figura 3). Entre os *contrastes* testados, não foi encontrado diferença significativa para os escores de imunorreatividade no TGI total, tanto para ocludinas como para zônulas ocludentes (P > 0,05; Tabela 2).

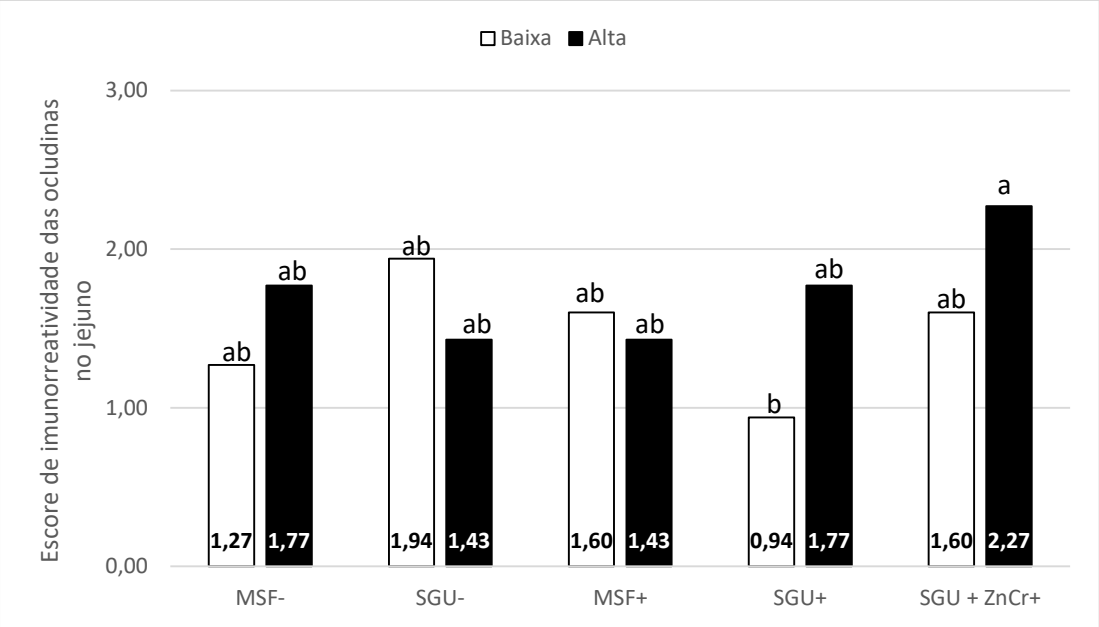

Figura 1. Interação entre DEP e tratamentos para escore de imunorreatividade das ocludinas no jejuno (*P* = 0,0329), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

Figura 2. Interação entre DEP e tratamentos para escore de imunorreatividade das ocludinas no jejuno (*P* = 0,0329), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

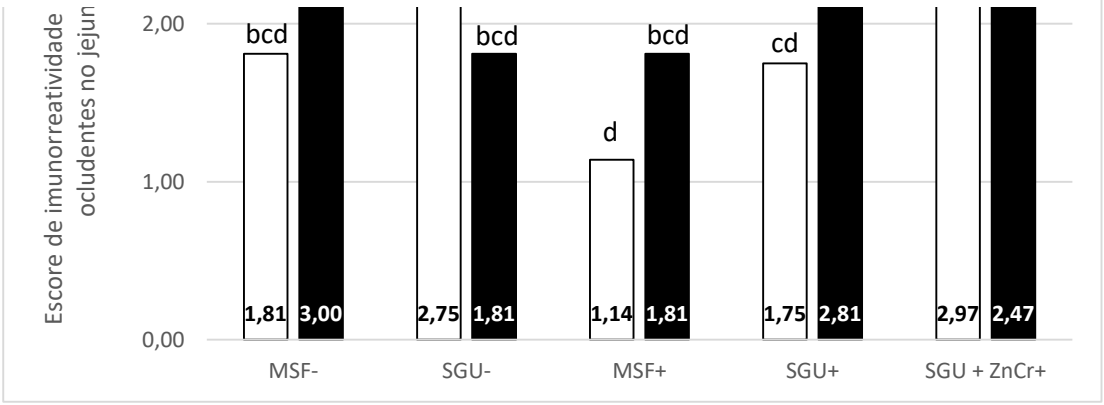

Figura 2. Interação entre DEP e tratamentos para escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes no jejuno (P = 0,0086), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+**: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

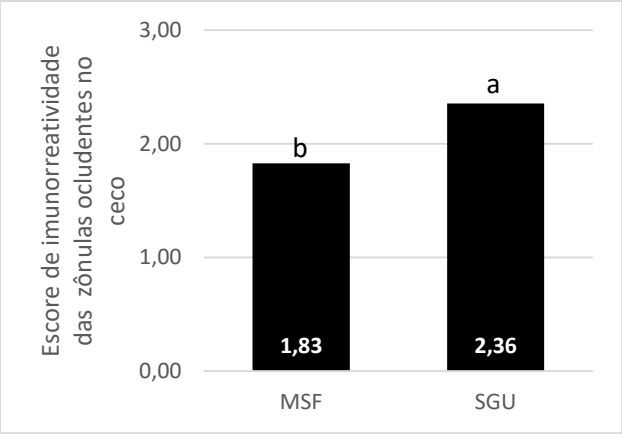

Figura 3. Efeito do processamento de milho no escore de imunorreatividade das zônulas ocludentes no ceco (P = 0,0303); **MSF:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG.

Tabela 3. Diferença entre bovinos Nelore abatidos antes do período de confinamento comparados aos abatidos no final do período de confinamento sobre o escore de imunorreatividade das ocludinas e zônulas ocludentes das junções *compactas* do rúmen, jejuno, ceco e TGI total.

Região	Ref[1]	AF[1]	EPM[2]	Valor de P
Rúmen				
Ocludinas	2,20 a	1,67 b	0,10	< 0,01
Zônulas Ocludentes	2,30 a	1,97 b	0,10	0,02
Jejuno				
Ocludinas	2,53 a	1,60 b	0,20	< 0,01
Zônulas Ocludentes	2,77 a	2,23 b	0,11	< 0,01
Ceco				
Ocludinas	2,67 a	2,17 b	0,11	< 0,01
Zônulas Ocludentes	2,50 a	2,17 b	0,10	0,03
TGI[3] Total				
Ocludinas	7,40 a	5,43 b	0,21	< 0,01
Zônulas Ocludentes	7,57 a	6,37 b	0,18	< 0,01

[1]**Ref:** Abate referência, animais abatidos antes do período de confinamento; **AF:** Abate final, animais abatidos ao final do período experimental; [2]**EPM:** Erro padrão médio; [3]**TGI:** trato gastrointestinal (soma das médias do rúmen, jejuno e ceco); médias na mesma linha com letras diferentes diferem entre si ($P < 0,05$).

Animais abatidos ao final do período experimental apresentaram menores escores de imunorreatividade no rúmen (ocludinas: $P < 0,01$; zônulas ocludentes: $P = 0,02$), jejuno (ocludinas: $P < 0,01$; zônulas ocludentes: $P < 0,01$), ceco (ocludinas: $P < 0,01$; zônulas ocludentes: $P = 0,03$) e TGI total (ocludinas: $P < 0,01$; zônulas ocludentes: $P < 0,01$; Tabela 3) tanto para ocludinas como para zônulas ocludentes comparados aos animais abatidos antes do período de confinamento.

3.1.2. Incidência de lesões ruminais e cecais e morfometria das papilas ruminais

Foi observada diferença significativa para processamento de milho (P = 0,01) e adição dos SCAG (P = 0,03) no escore de rumenite, apresentado na Figura 4. Os animais que foram alimentados com SGU apresentaram maior incidência de lesões ruminais comparados aos alimentados com MSF. Ainda, animais suplementados com SCAG na dieta apresentaram menores escores de rumenite comparados àqueles animais que não consumiram SCAG. Apresentado na Tabela 4, uma interação entre DEP para marmoreio e tratamentos foi observada para escore de lesões cecais (P = 0,04; Figura 5), onde animais de alta DEP para marmoreio do tratamento MSF- apresentaram maiores escores de lesões cecais quando comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio do mesmo tratamento. Ainda animais do tratamento MSF+ de baixa DEP para marmoreio apresentaram escore de lesões cecais maiores em comparação aos bovinos de alta DEP para marmoreio do mesmo tratamento. Animais que receberam o zinco e cromo orgânicos (SGU + ZnCr+) de alta DEP para marmoreio apresentaram mais lesões cecais quando comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio do mesmo tratamento.

Observou-se interação entre processamento de milho e introdução de SCAG na representatividade das papilas na superfície absortiva (APSA; P = 0,04), onde animais que consumiram o tratamento SGU+ apresentaram maior representatividade das papilas na superfície absortiva em relação aos animais do tratamento SGU- (Figura 6). Houve interação para DEP de marmoreio tratamento para AMP (P = 0,02), onde animais alimentados com SGU + ZnCr+ de alta DEP para marmoreio apresentaram maior área média de papilas quando comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio do mesmo tratamento. Ainda, animais de alta e baixa DEP para marmoreio do tratamento MSF-, alta DEP para marmoreio do tratamento MSF+, alta e baixa DEP para marmoreio do tratamento SGU+ e alta DEP para marmoreio do tratamento SGU + ZnCr+ apresentaram maiores áreas médias de papilas quando comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio do tratamento SGU- (Figura 7). Foi verificado interação entre DEP para marmoreio e tratamento na ASA (P < 0,01), sendo que animais de baixa DEP para marmoreio do tratamento MSF- apresentaram maior área de superfície absortiva em relação aos animais de alta DEP para marmoreio do mesmo tratamento. Situação semelhante ocorreu para o tratamento MSF+, onde animais de baixa DEP para marmoreio também apresentaram maior área de superfície absortiva em relação aos animais de alta DEP para marmoreio do mesmo tratamento (Figura 8). Houve uma interação para NMP (P < 0,01), onde animais do tratamento MSF- de baixa DEP para marmoreio apresentaram maiores

números médios de papila quando comparado com os bovinos selecionados para alta DEP do mesmo tratamento. Além destes, animais de baixa DEP para marmoreio do tratamento MSF+ obtiveram maiores médias de número de papilas comparados aos animais de alta DEP para marmoreio do mesmo tratamento. Ainda, animais também de baixa DEP para marmoreio alimentados com o tratamento SGU+ tiveram maiores médias de número de papilas em comparação aos animais de alta DEP para marmoreio do mesmo tratamento. Resultado semelhante foi observado quando foi adicionado zinco e cromo orgânico, onde animais de baixa DEP para marmoreio alimentados com SGU + ZnCr+ tiveram maiores números médios de papilas comparados aos animais de alta DEP para marmoreio do mesmo tratamento.

Tabela 4. Efeito dos protocolos nutricionais sobre o escore de rumenite, lesões cecais e morfometria das papilas ruminais de bovinos Nelore terminados em confinamento.

	Tratamentos[1]						Contraste (Valor de *P*)				
Item	MSF-	SGU-	MSF+	SGU+	SGU + ZnCr+	EPM[2]	Milho	SCAG	Milho*SCAG	ZnCr	DEP*Trat[3]
Escore de rumenite	0,96	1,12	0,73	0,99	0,98	0,08	0,01	0,03	0,54	0,95	0,14
Escore de lesões cecais	1,39	1,50	1,86	1,02	1,69	0,17	0,07	0,96	0,02	0,01	0,04[8]
AMP[4]	0,45	0,39	0,41	0,48	0,44	0,02	0,96	0,21	0,01	0,14	0,02[10]
ASA[5]	20,67	18,18	19,48	21,86	19,26	0,69	0,93	0,08	< 0,01	< 0,01	< 0,01[11]
NMP[6]	47,40	46,99	46,48	44,41	42,02	1,23	0,40	0,24	0,57	0,04	< 0,01[12]
APSA[7]	94,98	94,56	94,90	95,57	94,95	0,26	0,64	0,07	0,04[9]	0,07	0,52

[1]**MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG + zinco e cromo orgânico; [2]**EPM:** Erro padrão médio; [3]**DEP*Trat:** Interação entre DEP e tratamento; [4]**AMP:** Área média de papilas (cm^2); [5]**ASA:** Superfície absortiva de epitélio (cm^2); [6]**NMP:** Número médio de papilas; [7]**APSA:** Representatividade das papilas na superfície absortiva (%); [8]Interação apresentada na Figura 5; [9]Interação apresentada na Figura 6; [10]Interação apresentada na Figura 7; [11]Interação apresentada na Figura 8; [12]Interação apresentada na Figura 9.

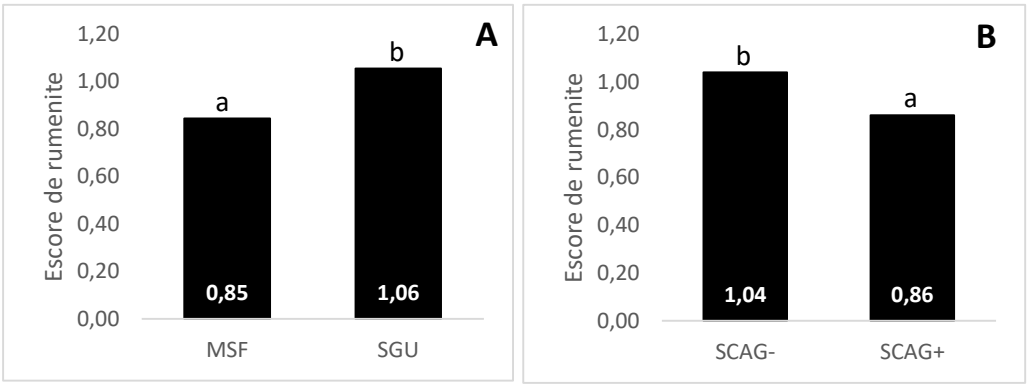

Figura 4. Efeitos do processamento de milho (A; P = 0,01); adição do SCAG (B; P = 0,03) sobre o escore de rumenite. **MSF:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG. **SCAG-:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e SGU-: Silagem de grão úmido de milho. **SCAG+:** MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG

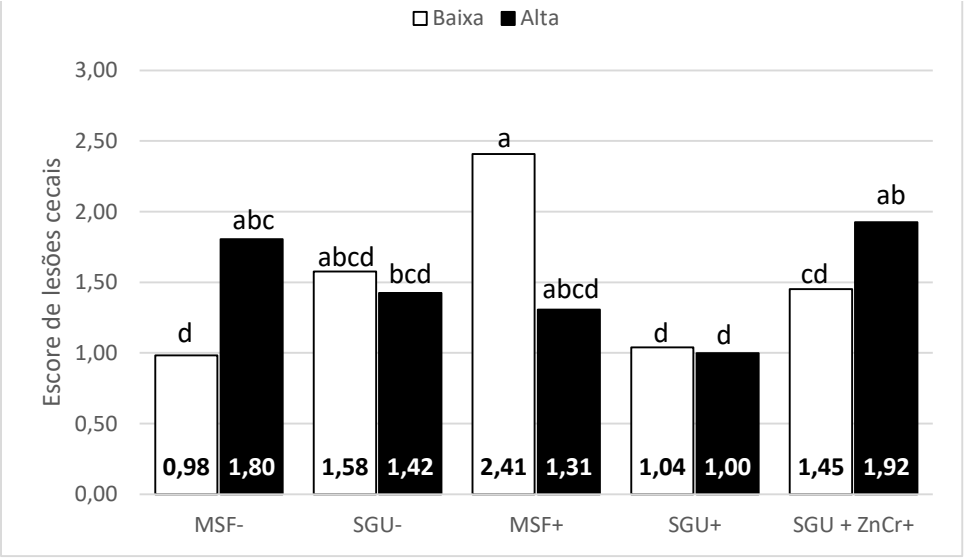

Figura 5. Interação entre DEP e tratamentos para escore de lesões cecais (P = 0,04), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

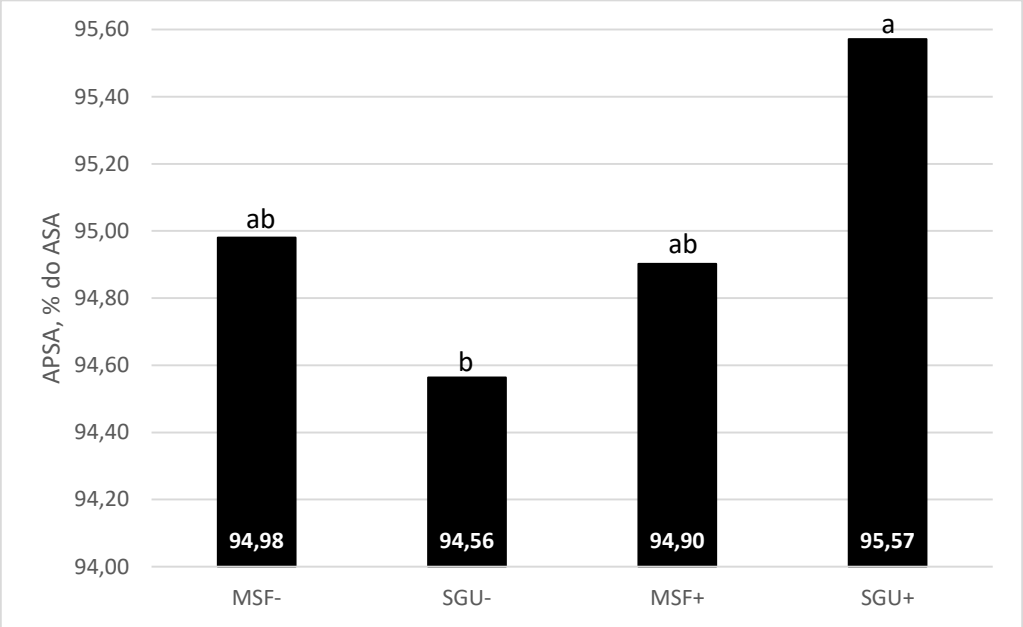

Figura 6. Interação entre processamento de milho e da inclusão de SCAG sobre a APSA final (*P* = 0,04), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG.

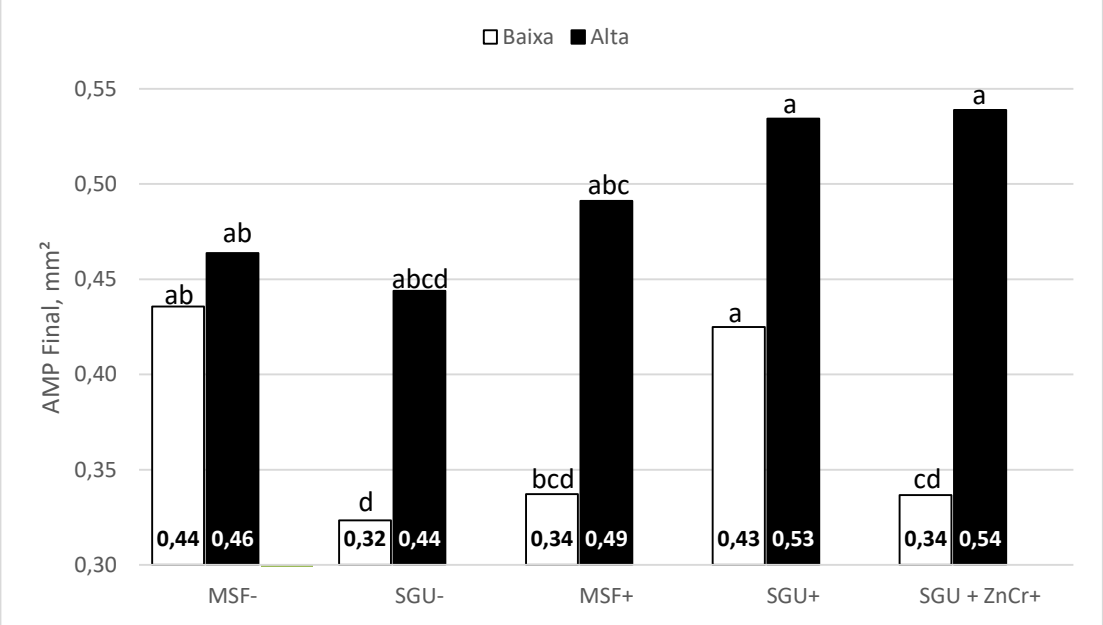

Figura 7. Interação entre DEP e tratamentos para área média de papilas final (AMP; *P* = 0,02), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU+ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

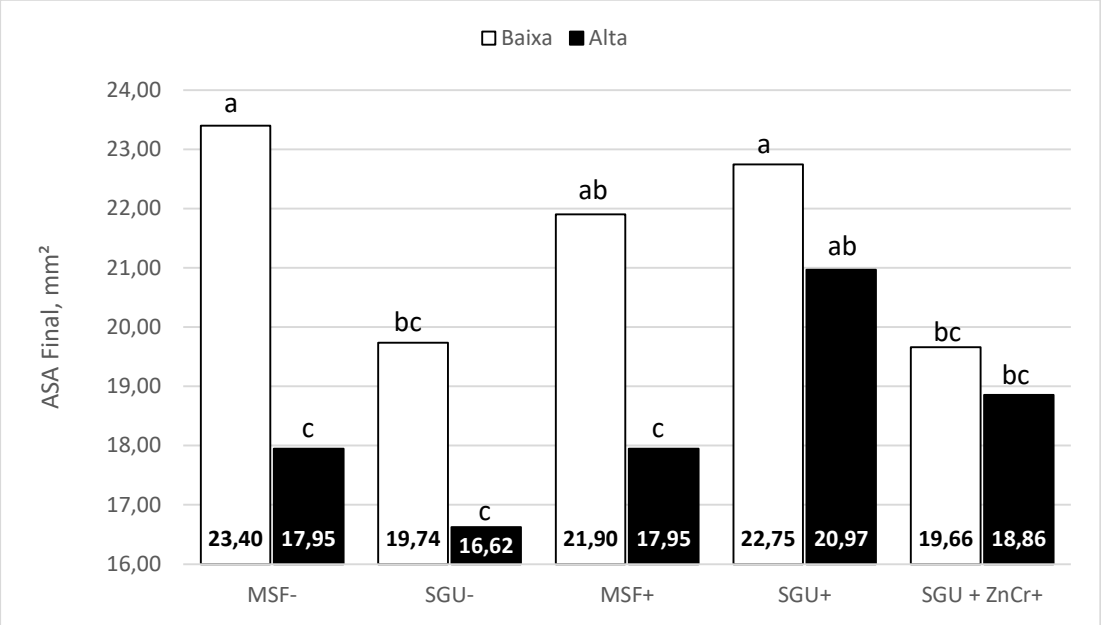

Figura 8. Interação entre DEP e tratamentos para área da superfície absortiva final (ASA; $P < 0,01$), **MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

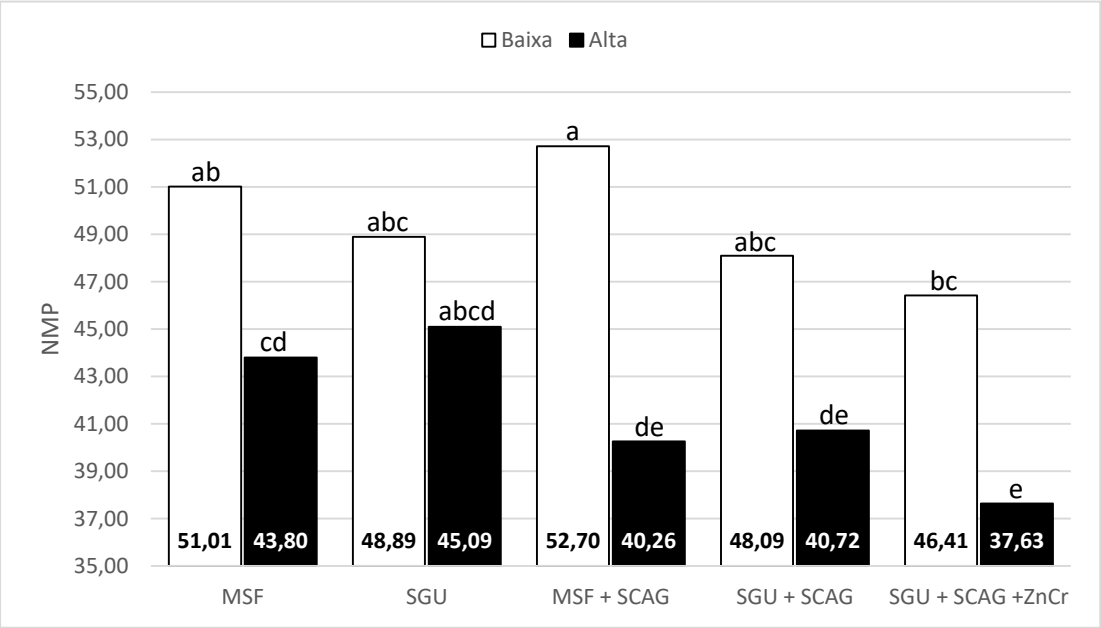

Figura 9. Interação entre DEP e tratamentos para número médio de papilas final (NMP; $P < 0,01$), **MSF:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF + SCAG:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU + SCAG:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + SCAG + ZnCr:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

3.2 Marcadores inflamatórios na corrente sanguínea

Tabela 5. Efeito dos protocolos nutricionais sobre a concentração de diferentes marcadores inflamatórios no sangue de bovinos Nelore terminados em confinamento.

	Tratamentos[1]						Contraste (Valor de *P*)				
Item	MSF-	SGU-	MSF+	SGU+	SGU + ZnCr+	EPM[2]	Milho	SCAG	Milho*SCAG	ZnCr	DEP*Trat[3]
Haptoglobina, µg/mL	119,48	130,78	103,22	78,62	113,08	15,54	0,67	0,04	0,26	0,06	0,55
Proteína ligante do LPS, ng/mL	410,71	366,94	197,47	220,13	257,46	66,62	0,90	0,04	0,70	0,41	0,72
Proteína C-Reativa, mg/L	18,62	20,14	11,20	11,77	10,02	3,53	0,76	0,03	0,89	0,39	0,25
Amilóide Sérico A, µg/mL	5,46	9,03	6,12	6,35	5,16	1,34	0,24	0,52	0,29	0,21	0,52
Ceruloplasmina, IU/L	35,33	35,21	29,69	32,49	32,63	7,46	0,85	0,55	0,83	0,98	0,41
Imunoglobulina A, mg/mL	7,88	10,51	8,65	8,95	7,85	2,57	0,49	0,85	0,58	0,68	< 0,01[4]
Imunoglobulina G, µg/mL	93,37	125,46	71,66	111,34	100,18	21,57	0,06	0,32	0,82	0,38	0,15

[1]**MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG + zinco e cromo orgânico; [2]**EPM:** Erro padrão médio; [3]**DEP*Trat:** Interação entre DEP e tratamentos; [4]Interação apresentada na Figura 11.

Apresentado na Tabela 5, com a adição de SCAG na dieta dos animais alterou-se a concentração de haptoglobina (*P* = 0,41), proteína ligante do LPS (LBP; *P* = 0,04) e proteína C-reativa (*P* = 0,03), sendo que nos três marcadores inflamatórios, a introdução dos SCAG diminuiu as concentrações destes (Figura 10), porém, não houve efeito sobre as variáveis avaliadas para amilóide sérico A, ceruloplasmina e imunoglobulina G. Foi observada interação entre DEP para marmoreio e tratamentos para a concentração sanguínea de imunoglobulina A (IgA; *P* < 0,01), em que animais alta DEP para marmoreio do tratamento SCAF+ apresentaram maiores concentrações de IgA quando comparados aos animais de baixa DEP para marmoreio do mesmo tratamento (Figura 11).

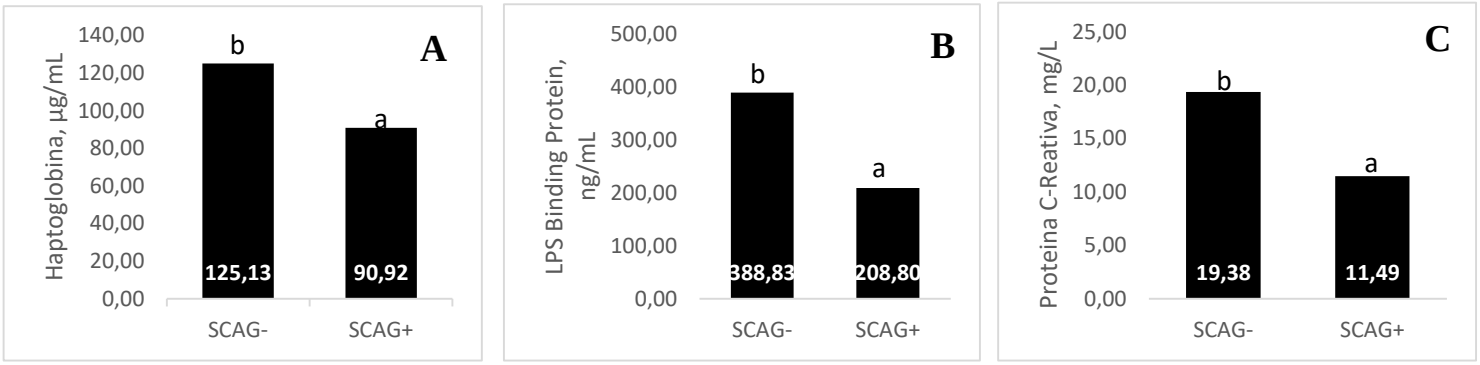

Figura 10. Efeito da adição de SCAG para: A) haptoglobina (P = 0,04); B) proteína ligante do LPS (P = 0,04) e C) proteína C-Reativa (P = 0,03). **SCAG-:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e SGU-: Silagem de grão úmido de milho; **SCAG+:** MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG.

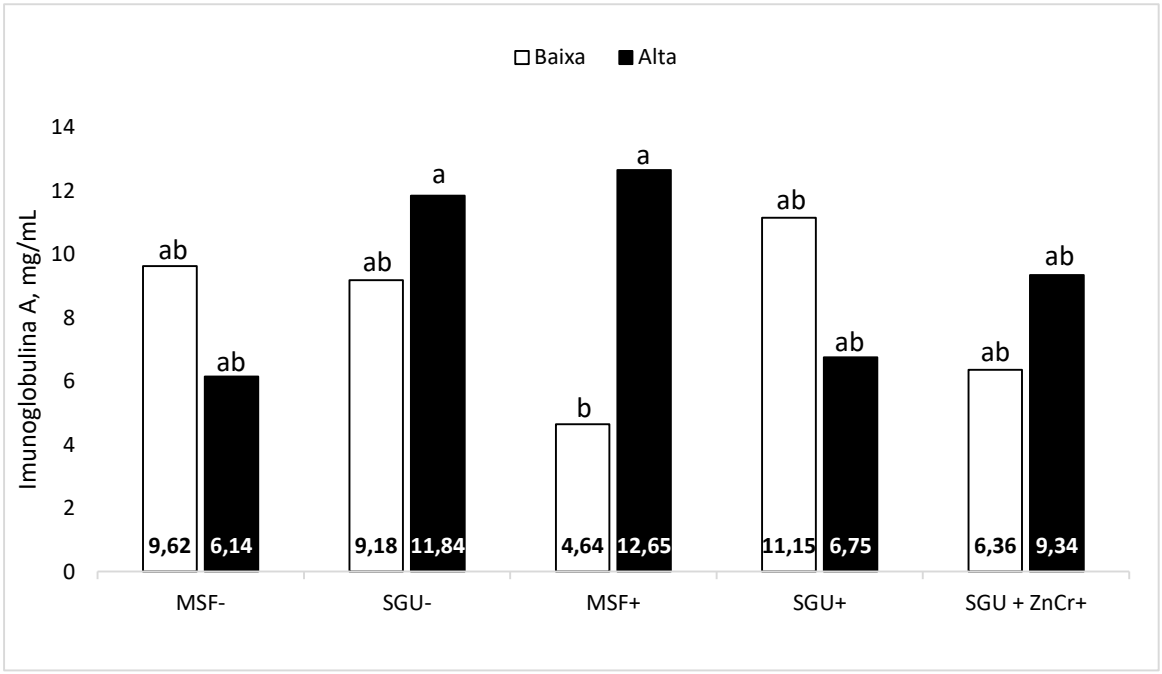

Figura 11. Interação entre DEP e tratamentos para imunoglobulina A (P < 0,01), **MSF-**: Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; SGU + ZnCr+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

3.3. Amido fecal e consumo de amido

Tabela 6. Efeito dos protocolos nutricionais sobre a concentração de amido fecal dos dias 56 e112 do experimento de bovinos Nelore terminados em confinamento.

	Tratamentos[1]						Contraste (Valor de *P*)				
Amido fecal, %	MSF-	SGU-	MS+	SGU+	SGU + ZnCr+	EPM[2]	Milho	SCAG	Milho*SCAG	ZnCr	DEP*Trat[3]
Dia 56	16,19	7,96	11,20	7,33	5,26	0,91	< 0,01	0,01	0,05	0,02	0,10
Dia 112	17,81	7,81	16,27	7,65	7,50	1,07	< 0,01	0,43	0,50	0,91	0,68

[1]**MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG + zinco e cromo orgânico; [2]**EPM:** Erro padrão médio; [3]**DEP*Trat:** Interação entre DEP e tratamentos.

Na Tabela 6, foi observado diferença significativa para efeito do processamento de milho (Figura 12A; $P < 0,01$) no dia 56 do estudo, onde bovinos alimentados com MSF apresentaram maiores concentrações de amido fecal comparados aos animais alimentados com SGU. Ainda no dia 56 do experimento, a introdução dos SCAG (Figura 12B; $P = 0,01$) apresentou diferença significativa, onde bovinos que receberam SCAG apresentam menores concentrações de amido fecal comparados àqueles animais que não receberam os SCAG na dieta. Houve também diferença significativa na introdução de zinco e cromo orgânico (Figura 12C; $P = 0,02$) no dia 56 do período experimental, onde animais Nelores confinados que não consumiram Zn e Cr (SGU+) na dieta tiveram maiores concentrações de amido fecal em comparação aqueles animais que receberam o Zn e Cr (SGU + ZnCr+). Foi constatado diferença significativa para efeito do processamento de milho ($P < 0,01$) no dia 112 do período experimental, sendo resultado semelhante ao dia 56, onde bovinos que receberam MSF apresentaram maiores concentrações de amido fecal em comparação aos animais alimentados com SGU (Figura 13).

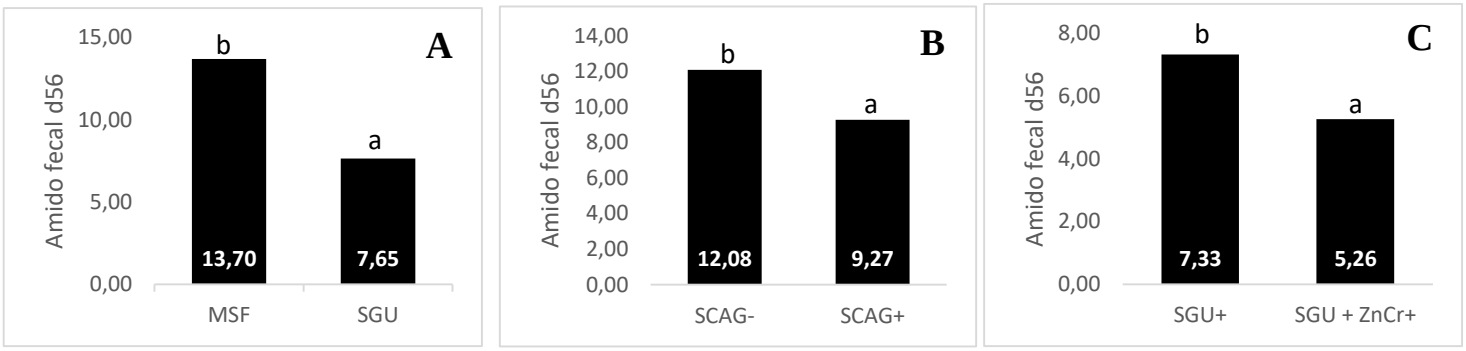

Figura 12. Efeitos do processamento de milho (A; P < 0,01); adição do SCAG (B; P = 0,01) e adição de Zn e Cr (C; P = 0,02) sobre a concentração de amido fecal no dia 56. **MSF:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG. **SCAG-:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e SGU-: Silagem de grão úmido de milho; **SCAG+:** MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG. **SGU+:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SGU + ZnCr +:** Silagem de grão de milho úmido + SCAG + zinco e cromo orgânico.

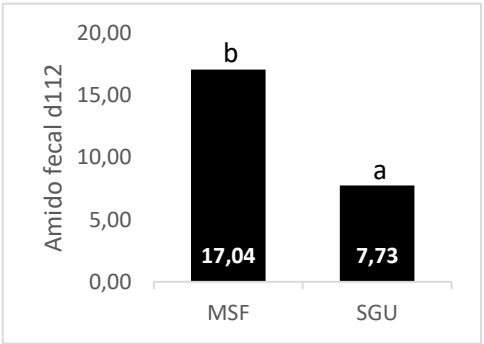

Figura 13. Efeitos do processamento de milho (P < 0,01) na concentração de amido fecal do dia 112. **MSF:** MS-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG.

Tabela 7. Efeito dos protocolos nutricionais sobre a ingestão total de amido e ingestão de matéria seca de bovinos Nelore terminados em confinamento.

	Tratamentos[1]						Contraste (Valor de *P*)				
Item	MSF-	SGU-	MSF+	SGU+	SGU + ZnCr+	EPM[2]	Milho	SCAG	Milho*SCAG	ZnCr	DEP*Trat[3]
Ingestão Total de Amido (kg)	498,23	469,20	469,30	438,46	437,24	10,34	< 0,01	< 0,01	0,92	0,91	0,10
Ingestão Matéria Seca (kg/dia)	10,11	9,80	10,17	9,63	9,54	0,13	< 0,01	0,67	0,41	0,63	0,11

[1]**MSF-:** Grão de milho seco finamente moído; **SGU-:** Silagem de grão úmido de milho; **MSF+:** Grão de finamente moído + SCAG; **SGU+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG; **SGU + ZnCr+:** Silagem de grão úmido de milho + SCAG + zinco e cromo orgânico; [2]**EPM:** Erro padrão médio; [3]**DEP*Trat:** Interação entre DEP e tratamentos.

Na Tabela 7 foi observado efeito significativo no processamento de milho ($P < 0,01$), onde bovinos que que foram alimentados com SGU tiveram ingestão total de amido reduzidas em comparação aqueles animais que receberam MSF (Figura 14A). Ainda, houve diferença significativa na introdução dos SCAG ($P < 0,01$), onde animais que receberam os SCAG tiveram a ingestão total de amido reduzidas em relação aos bovinos que não consumira SCAG (Figura 14B). Houve diferença significativa também no processamento de milho ($P < 0,01$) na ingestão de matéria seca (IMS), onde animais que consumiram MSF apresentaram maior IMS quando comparados aos bovinos alimentados com SGU.

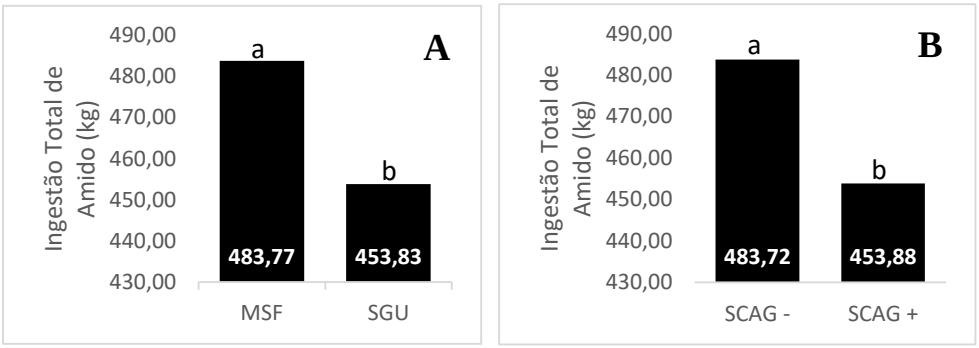

Figura 14. Efeito do processamento de milho (A; P < 0,01) e adição do SCAG (B; P < 0,01) na ingestão total de amido em kg. **MSF:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG; **SCAG-:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e SGU-: Silagem de grão úmido de milho; **SCAG+:** MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG.

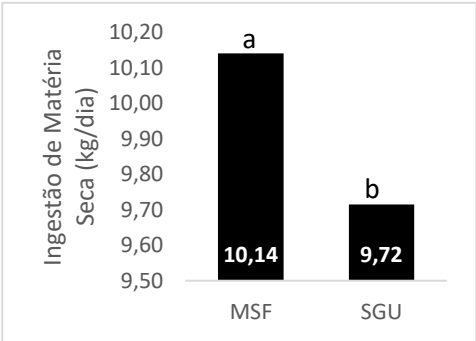

Figura 15. Efeito do processamento de milho (P < 0,01) na IMS. **MSF:** MSF-: Grão de milho seco finamente moído e MSF+: Grão de milho seco finamente moído + SCAG; **SGU:** SGU-: Silagem de grão úmido de milho e SGU+: Silagem de grão de milho úmido + SCAG.

4. Discussão

4.1 Efeitos do processamento dos grãos

Quando alterado o tipo de processamento do grão de milho, animais que consumiram SGU apresentaram menor IMS (Figura 15), possivelmente pela alteração no local de fermentação do amido, onde 86% deste passa a ser digerido no rúmen, contra 77,7% do milho grão seco finamente moído (OWENS et al., 1986), e com isso, devido a elevada fermentação ruminal, aumentou-se a incidência de rumenites (Figura 4A) a qual pode também levar a uma redução da IMS através do controle metabólico mediada pelo aumento na proporção de propionato (ALLEN et al., 2009), e levando consequentemente a uma menor ingestão total de amido (Figura 14A). Portanto, além da menor ingestão de amido neste tratamento, ocorre um incremento na digestibilidade do amido neste tipo de processamento, apresentando por consequência, menor concentração de amido nas fezes (Figura 12A e Figura 13). Isso evidencia que menores concentrações de amido chegaram ao ceco destes animais que consumiram SGU, quando comparados àqueles que consumira o MSF. Essa menor concentração de amido cecal leva a uma menor fermentação neste local, resultando em menores produções de AGCC, consequentemente, menores chances para lesões (HUNTINGTON et al., 2006) e consequentes inflamações no epitélio cecal, o que ocasionaria regulação negativa das junções compactas epiteliais (STEELE et al., 2009).

Assim, além de menores cargas de amido ingeridas, grande parte delas foram fermentadas em nível ruminal, devido ao tipo de processamento (SGU), fazendo assim com que o ceco destes animais apresentasse melhor função de permeabilidade/barreira seletiva cecal em comparação aos animais que consumiram somente o MSF, pois animais que consumiram a SGU apresentaram escores de imunorreatividade cecal mais elevados (Figura 3). Em relação a integridade cecal, a substituição do MSF pelo SGU apresentou certa vantagem, pois evitou a regulação negativa das zônulas ocludentes, o que aumentaria a permeabilidade destas, permitindo maior fluxo de passagem de bactérias, endotoxinas e componentes tóxicos para a corrente sanguínea (SUZUKI, 2013; LEE, 2015), o que poderia gerar uma resposta de fase aguda.

Na porção do jejuno, quando animais de alta DEP para marmoreio receberam SGU apresentaram regulação negativa das zônulas ocludentes quando comparados àqueles animais de alta DEP para marmoreio que consumiram MSF (Figura 2). Isto pode ter ocorrido, pois, com a maior fermentação ruminal devido à SGU, maiores quantidades de endotoxinas viriam a ser produzidas e consequentemente passariam ao restante do TGI, implicando assim em maiores

níveis de inflamações, como foi observado no jejuno. Porém não houve diferença significativa (P>0,005) na concentração dos marcadores inflamatórios avaliados nesse estudo em relação ao processamento dos grãos.

Analisando os resultados como um todo, vemos que com a substituição parcial de MSF por SGU, levou a menores concentrações de amido nas fezes, o que para o sistema é interessante, pois além de possivelmente ocasionar menor inflamação do TGI, como aconteceu nas zônulas ocludentes cecais, ocorre melhor aproveitamento da dieta, consequentemente pode levar a melhor desempenho da operação, pois este animal estaria absorvendo mais energia e tendo um menor grau de lesão das junções compactas. Quando avaliamos dados complementares apresentados por Silvestre et al. (2021), observa-se que de fato a substituição parcial do MSF por SGU aumentou ($P < 0,05$) o peso vivo final (585kg vs 573kg), ganho de peso diário e peso de carcaça quente (321kg vs 315kg).

Como já ressaltado, existe a troca do local de fermentação do amido quando os animais consomem SGU, sendo que a grande parte do milho passa a ser fermentada no rúmen, o que vale a pena ressaltar é que tanto para ocludinas como para zônulas ocludentes, os resultados não demonstraram diferença significativa nos escores de imunorreatividade ruminal, porém, apresentam maiores escores para rumenites. Possivelmente isso ocorre, pois, como citado em estudos de Penner et al. (2010), Emmanuel et al. (2008), o rúmen é a região com melhor capacidade de barreira seletiva, além da estrutura epitelial lhe conferir mais resistência, pois apresenta um epitélio escamoso estratificado, comparado ao epitélio colunar apresentado pelo intestino grosso (STEELE et al., 2016). Sendo assim, com maiores cargas de amido sendo fermentadas no rúmen, estes apresentam lesões/inflamações no epitélio ruminal, porém, não influenciando a permeabilidade seletiva. O mesmo pode ser confirmado pela falta de diferença significativa para aumento dos marcadores inflamatórios na corrente sanguínea com a introdução da SGU, levando a crer, que o rúmen apresentava ambiente saudável, sem produções exacerbadas da endotoxina LPS.

Os animais que não receberam nenhuma das dietas, e foram abatidos antes do período de confinamento experimental, apresentaram melhores escores de imunorreatividade comparados àqueles que passaram pelos 112 dias de cocho (Tabelas 4 e 5), as ocludinas e zônulas ocludente das frações do rúmen, jejuno, ceco e do TGI total desses animais apresentaram melhores permeabilidade/barreira seletiva. Isso pode ser explicado pois com a adição de concentrado na dieta, ocorrem maiores níveis de fermentação no TGI, o que leva a maiores riscos de

inflamações, como descrito por Liu et al. (2013), os quais relataram que ruminantes que foram introduzidos a dietas de alto grão apresentaram regulação negativa dos genes para ocludina ruminal. Assim, os dados experimento mostram que a introdução de concentrado na dieta de ruminantes induz a uma regulação negativa não só das ocludinas como das zônulas ocludentes do epitélio intestinal, o que conduz a uma menor função de barreira e permeabilidade seletiva, assim, elevando a permeabilidade do epitélio. Associado ao fato da regulação negativa das junções compactas, o aumento de concentrado na dieta e consequente diminuição do teor de FDN ocasionam aumento do LPS no rúmen (ZEBELI et al., 2012), possivelmente, fazendo com que o epitélio apresente maiores inflamações não somente devido a maior produção de AGCC, como a maior produção da endotoxina.

4.2 Efeito da adição de gordura protegida

A redução de alguns marcadores inflamatórios na corrente sanguínea (haptoglobina, LBP e PCR; Figura 10) pode ter ocorrido, pois, com a adição dos SCAG alteramos a fonte de energia na dieta. Tal substituição torna possível amenizar a fermentação ruminal, pois os SCAG não são fermentados no rúmen. Sendo assim uma fermentação ruminal amenizada e um consequente menor escape de amido do rúmen para o intestino, pode reduzir o potencial de inflamação da dieta (ZINN et al., 2000). O que por consequência também reduz a incidência de respostas de fase aguda, que consequentemente reduz a concentração de proteínas de fase aguda na corrente sanguínea.

Mesmo que tenha ocorrido diminuição dos níveis de algumas das proteínas de fase aguda, estas tanto para os animais que consumiram SCAG, tanto para os que não consumiram apresentam níveis consistentes com os encontrados em animais saudáveis (haptoglobina: < 100 µg/ml; LBP: < 1.700.000 ng/ml; CECILIANI et al., 2012), mas não mudando o fato de que as concentrações diminuíram com a introdução dos SCAG.

Isso pode ter ocorrido devido uma menor produção da endotoxina LPS, sendo que Zebeli et al. (2012) citam que com a maior introdução de concentrado na dieta, maior a produção de LPS no rúmen, o qual é um dos principais agentes que levam a um incremento na produção de proteínas de fase aguda. Ou seja, possivelmente, ao introduzir os SCAG, houve uma diminuição na produção do LPS, devido a um alívio na fermentação ruminal, o que pode ter levado aos resultados observados.

Quando introduzido a fonte energética provinda de gordura os animais apresentaram menor teor de amido nas fezes no dia 56 do experimento, possivelmente, pois parte da fonte de energética que provia amido da dieta foi retirada para a substituição pelos SCAG, ainda, observa-se que animais que receberam os SCAG tiveram um menor consumo de amido em kg durante o experimento (Figura 14B), assim, esses animais apresentaram menores concentrações de amido fecal no dia 56, comparados aqueles animais que não consumiram os SCAG. Com a introdução dos SCAG, consequentemente acarreta um alívio na fermentação ruminal, pois estes animais apresentaram menores escores de rumenites (Figura 4B), deixando o rúmen com uma melhor condição para realizar a fermentação do amido, assim, a uma menor ingestão de amido em kg, podendo ter levado a uma melhor digestibilidade e aproveitamento do amido, diminuindo a passagem nas fezes. Com a introdução dos SCAG, possivelmente, esses animais se tornaram mais eficientes, pois produzem menores quantidades de haptoglobina, LBP e PCR, o que por sua vez faz com que ocorra menor partição da energia e nutrientes ingeridos para a produção destas, disponibilizando mais energia para o ganho dos animais (JOHNSON, 1997; SPURLOCK, 1997, MANI et al., 2012; KHIAOSA-ARD e ZEBELI, 2014). Confirmado por dados complementares apresentados por Silvestre et al. (2021), onde a introdução dos SCAG elevou ($P < 0,05$) o peso vivo final, ganho de peso diário (1,62kg vs 1,52kg) e peso de carcaça quente (321kg vs 314kg).

4.3 Efeito da adição de Zn e Cr

A adição do zinco e cromo orgânicos na dieta que continha SGU e SCAG ocasionaram a redução da concentração de amido fecal no dia 56 do experimento, porém não apresentaram nenhum outro resultado em nenhuma das outras variáveis avaliadas (integridade do epitélio do TGI e marcadores inflamatórios na corrente sanguínea). Um dos pontos para a utilização de Zn e Cr na dieta é o de melhorar os níveis imunológicos dos animais.

5. Conclusão

Diante dos resultados encontrados, os protocolos para substituição parcial do MSF por SGU preservam a integridade da permeabilidade/barreira seletiva cecal, possivelmente por reduzirem a ingestão total de amido e por alterar o local de digestão, porém, com a alteração do local de fermentação do amido para o rúmen, aumentou a incidência de rumenites.

Os protocolos que utilizaram os SCAG reduziram as concentrações de haptoglobina, LBP e PCR no sangue, devido a menores incidências de rumenites, e provavelmente pela menor ingestão de amido total, aliviando a fermentação ruminal.

A introdução do Zn e Cr orgânico não evidenciaram nenhuma melhora na saúde do TGI dos animais estudados.

Dessa forma, protocolos nutricionais que trabalhem a intensificação do processamento do milho, associado ou não a substituição parcial do amido por SCAG podem contribuir na redução de perdas, assim como na manutenção da integridade das barreiras seletivas e saúde metabólica dos animais.

6. Referências

ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carne. ***Beef Report.*** Disponível em: http://abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2020/. Acesso em: 05/11/2021

Allen, M.S.; Bradford, B.J; Oba, M. ***Board-invited review: The hepatic oxidation theory of the control of feed intake and its application to ruminants.*** *J. Animal Sci.*, 87(10),3317-3334, 2009.

Assimakopouos, S.F.; Tsamandas, A.C.; Tsiaoussis, G.I.; et al. ***Altered intestinal tight junctions' expression in patients with liver cirrhosis: a pathogenetic mechanism of intestinal hyperpermeability.*** *European journal of clinical investigation*, 42(4), 439-446, 2012.

Bigham, M.L.; McManus, W.R. ***Who lew he at grain feeding of lambs. Effects of roughage and wheat grain mixture.*** *Australian Journal of Agricultural Research*, 26:1053-1062, 1975.

Bjarnason, I.; Williams, P.; Smethurst, P.; et al. ***Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs and prostaglandins on the permeability of the human small intestine.*** *Gut.*, 27:1292-1297, doi:10.1136/gut.27.11.1292, 1986.

Briggs, N.G.; Silva, B.C.; Godoi, L.A. et al. ***Effect of aspirin to intentionally induce leaky gut on performance, inflammation, and carcass characteristics of feedlot cattle.*** *J. Animal Sci.*, 99(11), skab328, 2021.

Ceciliani, F.; Ceron, J.J.; Eckersall, P.D.; et al. ***Acute phase proteins in ruminants.*** *Journal of proteomics*, 75(14), 4207-4231, 2012.

Chen, Y.; Oba, M.; Guan, L. **Variação de comunidades bacterianas e expressão de genes do receptor *Toll-like* no rúmen de novilhos que diferem em susceptibilidade à acidose ruminal subaguda.** *Brazilian Journal of Microbiology*, vol.159, p.451-459, 2012.

Cooke, R.F.; Arthington, J.D. ***Concentrations of haptoglobin in bovine plasma determined by ELISA or a colorimetric method based on peroxidase activity.*** *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 97(3), 531-536, 2013.

Daniel, J.L.P.; Resende Júnior, J.C.; Cruz, F.J. **Participação do rumino reticulo e omaso na superfície absortiva total do proventrículo de bovinos**. *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science*, 43:688-694, 2006.

Demetriou, J.A.; Drewes, P.A.; Gin, J.B. ***Ceruloplasmin.*** *Pages* 857-846 *in Clinical Chemistry: Principles and Technique. 2nd ed. Harper and Row, Hagerstown, MD,* 1974.

Emmanuel, D.G.V.; Dunn, S.M.; Ametaj, B.N. ***Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows.*** *J. Dairy Sci.*, 91(2), 606-614, 2008.

Fox, D.G.; Tedeschi, I.O.; Tylutki, T.P; et al. ***The Cornell Net Carbohydrate and Protein System model for evaluating herd nutrition and nutrient excretion.*** *Anim. Feed Sci. Tech.*, v.112, p.29-78, 2004.

Garcia, L.G.; Nicholson, K.L; Hoffman, T.W.; et al. ***National beef quality audit-2005: Survey of target cattle and carcass characteristics related to quality, quantity, and value of fed steers and heifers.*** *J. Animal Sci.* v.86, p.3533-3543, 2008.

García-Lafuente, A.; Antolín, M.; Gurner, F.; et al. ***Modulation of colonic barrier function by the composition of the commensal flora in the rat.*** *Gut.*, 48:503-507, doi:10.1136/gut.48.4.503, 2001.

Guzelbektes, H.; Sen, I.; Ok, M.; et al. ***Serum Amyloid A and haptoglobin concentrations and liver fat percentage in lactating dairy cows with abomasal displacement.*** *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24, 213-219, 2010.

Hendrix, D.L. ***Rapid extraction and analyses of non-structural carbohydrates in plant tissues.*** *Crop. Science*, 33 1306-1311, 1993.

Hollmann, M. **Regulação renativa dos fatores protetores celulares do epitélio ruminal em caprinos alimentados com dieta de alta energia.** Plos One, vol.8, n.12, 2013.

Huntington, G.B., Harmon, D.L.; Richards, C.J.; ***Sites, rates and limits of starch digestion and glucose metabolism in growing cattle.*** *J. Animal Sci.*, 84(suppl_13), E14-E24, 2006.

Johnson, R.W. ***Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view.*** *J. Animal Sci.*, 75:1244-1255, 1997.

Khiaosa-Ard, R. Zebeli, Q. ***Cattle's variation in rumen ecology and metabolism and its contributions to feed efficiency.*** *Livest. Sci.* 162, 66-75, 2014.

Know, I.H.; Kim, M.H.; Yun, C.H. ***Effects off fermented soybean meal on immune response of weaned calves with experimentally induced lipopolysaccharide challenge.*** *Asian-Australian J. Animal Sci.*, 24, 957-964, 2011.

Krehbiel, C.R.; Cranston, J.J.; McCurdy, M.P. ***An upper limit for caloric density of finishing diets.*** *J. Animal Sci*. 84(E. Suppl.): E34-E49, 2006.

Lambert, G.P.; Schmidt, A. Schwarzkopf, K. et al. ***Effect of aspirin dose on gastrointestinal permeability.*** *Int. J. Sports Med.*, 33:421-425, doi:10.1055/s-0032-1301892, 2012.

Lee, S.H. ***Intestinal permeability regulation by tight junction: implication on inflammatory bowel diseases.*** *Intest. Res.*, v.13, n.1, p.11-18, 2015.

Liu, J.H.; Xu, T.T.; Liu, Y.J.; et al. ***A high-grain diet causes massive disruption of ruminal epithelial tight junctions in goats.*** *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, 305:R232-R241, 2013.

Mani, V.; Weber, T.E.; Baumgard, L.H.; Gabler, N.K. ***Endotoxin, inflammation, and intestinal function in livestock.*** *J. Animal Sci.*, 90, 1452-1465, 2012.

McKenna, D.R.; Roebert, D.L.; Bates, P.K.; et al. ***National beef quality audit 2000: Survey of target cattle and carcass characteristics related to quality, quantity, and value of fed steers and heifers.*** *J. Animal Sci.* v.80, p.1212-1222, 2002.

Millen, D.D.; Pacheco, R.D.; Cabral, L.; et al. ***Ruminal Acidosis.*** *In: D.D. Millen, M.B. Arrigoni, R.D. Pacheco, Rumenology* (pp.127-156), *Switzerland: Springer*, 2016.

Moletta, J.L.; et al. **Características da carcaça e da carne de bovinos não-castrados ou castrados terminados em confinamento e alimentados com três níveis de concentrado.** Semina: Ciências Agrárias, v.35, n.2, p.1035-1049, 2014.

Nagaraja, T.G.; Chengappa, M.M. ***Liver abscesses in feedlot cattle: A review.*** *J. Animal Sci.*, v.76, n.1, p.287-298, 1998.

Nagaraja, T.G.; Titgemeyer, E.C. ***Ruminal acidosis in beef cattle: The current microbiological and nutritional out-look.*** *J. Dairy Sci., Champaign,* v.90, p.E17-E38, 2007.

Odongo, N.E.; Alzahal, O.; Lindinger, M.I; et al. ***Effects of midhe at stress and grain challenge on acid-base balance and rumen tissue histology in lambs.*** *J. Animal Sci.,* 84:447-455, 2006.

Owens, F.N.; Zinn, R.A.; Kim, Y.K. ***Limits to starch digestion in the ruminant small intestine.*** *J. Animal Sci.,* 63:1634, 1986.

Pereira, J.R.A.; Junior, P.R. **Manual Prático de Avaliação Nutricional de Alimentos.** Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz – FEALQ, Piracicaba, São Paulo, 34p., 1995.

Plaizier, J.C.; et al. ***Enhancing gastrointestinal health in dairy cows.*** *Animal,* v.12, n.s2, p.S399-S418, 2018.

Resende Júnior, J.C.; Alonso, L.S.; Pereira, M.N. ***Effects of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep.*** *Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science,* 43:526-536, 2006.

Ruan, Z.; Liu, S.; Zhou, Y.; et al. ***Chlorogenic Acid Decreases Intestinal Permeability and Increases Expression of Intestinal Tight Junction Proteins in Weaned Rats Challenged with LPS.*** *Plos One,* 9(6): e97815. Doi: 10.1371/journal.pone.0097815, 2014.

Santos, J.E.P. **Distúrbios metabólicos.** Em: Berchielli, T.T.; Pires, A.V.; Oliveira, S.G., ed. Nutrição de Ruminantes, Jaboticabal; FUNEP, p.439-520, 2011.

Sarti, L.M.N.; et al. ***Evaluation of feeding behavior of young cattle from different genetic groups fed with high concentrate diets with different NDF levels.*** *J. Animal Sci., Champaign,* v.85, p.552-553, 2007.

SAS Institute. "***SAS/STAT user's guide. Release 9.1"*** *SAS Institute: Cary, NC, 2003.*

Schweigel, M.; Freyer, M.; Leclercq, S. et al. ***Luminal hyperosmolarity decreases Na transport and impairs barrier function of sheep rumen epithelium.*** *J. Comp. Physiol. B.,* 175:575-591, doi:10.1007/s0360-005-0021-3, 2005.

Shingfield, K.J.; Arola, A.; Avenger, S. et al., ***Ruminal infusion of cobalt-EDTA reduce mammary Δ9-desaturase index and alter milk fatty acid composition in lactating cows.*** *J. Nutri.,* 138:710-717, doi:10.1093/jinn/138.4.710, 2008.

Silvestre, A.M.; Millen, D.D. ***The 2019 Brazilian survey on nutritional practices provided by feedlot cattle consulting nutritionists.*** Revista Brasileira de Zootecnia, 50, 2021.

Silvestre, A.M.; Squizatti, M.M.; Demartini, B.L.; et al. **PSXIII-14** ***Feedlot performance of Nellore cattle consuming diets containing high-moisture corn, calcium salts of fatty acids and organic mineral.*** *J. Animal Sci.;* 99(*Supplement*_3), 465-466, 2021.

Sousa, S.L.M.; et al. **Desempenho e saúde ruminal de bovinos da raça Nelore em *feedlot* suplementados com leveduras vivas e doente de lipídeos.** Dissertação de Mestrado, 2019.

Spurlock, M.E. ***Regulation of metabolism and growth during immune challenge: An overview of cytokine function.*** *J. Animal Sci.,* 75:1773-1783, 1997.

Steele, M.A.; AlZahal, O.; Hook, S.E; et al. ***Ruminal acidosis and the rapid onset of ruminal parakeratosis in a mature dairy cow: a case report.*** *Acta Veterinaria Scandinavica,* 51(1), 1-6, 2009.

Steele, M.A.; Penner, G.B.; Chaucheyras-Durand, F. ***Development and physiology of the rumen and the lower gut: Targets for improving gut health.*** *J. Dairy Sci.,* 99(6): 4955-4966, 2016.

Stevens, C.E. ***Fatty acid transport through the rumen epithelium.*** *In:* Phillipson, A.T.; (Ed.) *Physiology of digestion and metabolism in the ruminant. Newcastle Upon Tyne: Oriel Press,* p.101-112, 1970.

Suzuki, T. ***Regulation of intestinal epithelial permeability by tight junctions.*** *Cell Mol Life Sci.,* v.70. n.4, p.631-359, 2013.

Ten Bruggencate, S.J.; Bovee-Oudenhoven, I.M.; Lettink-Wissink, M.L.; et al. ***Dietary fructooligosaccharides affect intestinal barrier function in healthy men.*** *J. Nutr.,* 136:70-74, doi:10.1093/jn/136.1.70, 2006.

Yang, Y.; Yuan, Y.J.; Tao, Y.H.; et al. ***Effects of vitamin A deficiency on mucosal immunity and response to intestinal infection in rats.*** *Nutrition,* 27:227-232, 2011.

Zebeli, Q.; Metzler-Zebeli, B.U. ***Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle.*** *Research in Veterinary Science,* vol.93, p.1099-1108, 2012.

Zebeli, Q.; Metzler-Zebeli, B.U.; Ametaj, B.N. ***Meta-analysis reveals threshold level of rapidly fermentable dietary concentrate that triggers systemic inflammation in cattle.*** *J. Dairy Sci.,* v.95, n.5, p.2662-2672, 2013.

Zinn, R.A.; Gulati, S.K.; Plascencia, A.; et al. ***Influence of ruminal biohydrogenation on the feeding value of fat in finishing diets for feedlot cattle.*** *J. Animal Sci., Champaign,* v.78, p.1738-1746, 2000.

IMPLICAÇÕES

O presente estudo trará contribuições para a comunidade da bovinocultura, confinamentos e pesquisadores da área da nutrição de ruminantes, já que buscou avaliar qual a implicação das dietas formuladas para promover altos desempenhos em bovinos de corte confinados (o qual vem sendo cada vez mais utilizada para melhorar ganhos e qualidade da carne) na saúde do trato gastrointestinal como um todo destes animais. Isso pois os resultados apresentados neste estudo podem auxiliar na tomada de decisões dos nutricionistas a minimizar impactos que poderiam a ser ocasionados devido ao uso destas dietas.

O uso de dietas para promover altos desempenhos pode levar a uma queda na saúde intestinal do animal, assim antagonizando com sua função principal. Vimos que a utilização de processamentos de milho como a silagem de grão úmido, pode ocasionar menores consumos e excreção do amido, e ainda não trazer perdas em relação a permeabilidade/barreira seletiva do epitélio, como não aumenta marcadores inflamatórios. Além de que, a utilização dos SCAG, reduziram algumas concentrações de marcadores inflamatórios, menores teores de amido fecal, consumo total de amido e aliviaram a fermentação ruminal, reduzindo rumenites. Resultados como estes podem auxiliar nutricionistas se devem ou não mudar o processamento do milho que usam em suas plantas de confinamento, pois saberão quais as implicações essa mudança trará ao animal, ainda, se a introdução de SCAG trará alguma diferença em desempenho, saúde e/ou vantagens em relação ao consumo e excreção do amido, por exemplo.