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

TURNOVER DO CARBONO ($\delta^{13}C$) EM TECIDOS CORPORAIS E DESEMPENHO DE LEITÕES DESMAMADOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO NUCLEOTÍDEOS

GABRIELA DE MELLO MIASSI

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Doutor.

BOTUCATU – SP
Agosto 2016

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

TURNOVER DO CARBONO ($\delta^{13}C$) EM TECIDOS CORPORAIS E DESEMPENHO DE LEITÕES DESMAMADOS ALIMENTADOS COM DIETAS CONTENDO NUCLEOTÍDEOS

GABRIELA DE MELLO MIASSI
Zootecnista

Orientador: Prof. Ass. Dr. Dirlei Antonio Berto
Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Livio Panhoza Tse

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia como parte das exigências para obtenção do título de Doutor

BOTUCATU – SP
Agosto 2016

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

Miassi, Gabriela de Mello.
Turnover do carbono (δ13C) em tecidos corporais e desempenho de leitões desmamados alimentados com dietas contendo nucleotídeos / Gabriela de Mello Miassi. - Botucatu, 2016

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
Orientador: Dirlei Antonio Berto
Coorientador: Marcos Livio Panhoza Tse
Capes: 50403001

1. Suíno. 2. Isótopos estáveis. 3. Alimentos - Aditivos. 4. Nucleotídeos. 5. Carbono 13.

Palavras-chave: 5'guanilato dissódico; 5'inosinato dissódico ; Alimentos - Aditivos; Isótopos estáveis; Suínos.

Aos meus pais, Stefania e Toni, pela vida de luta e sacrifícios que tiveram para que eu chegasse até aqui, pelo amor incondicional e por nunca deixarem de acreditar e investir em mim.

A minha irmã Daniela pelo apoio incondicional e por acompanhar mais uma etapa essencial de minha vida.

Ao marido, João Miassi, pelo amor, carinho, companheirismo, compreensão, paciência, por sempre estar ao lado a me apoiar em todas as situações, e por nunca me deixar desanimar.

Ao pequeno Bernardo que chegou para completar a minha felicidade.

DEDICO!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Dirlei Antonio Berto, por ter me dado a oportunidade de ser sua orientada e que esteve presente com enorme dedicação, sabedoria, amizade e, sobretudo, paciência, contribuindo muito em minha formação, tanto profissional como pessoal.

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Marcos Livio Panhoza Tsé, pela competência, pelos ensinamentos durante a execução dos experimentos, pelo convívio no dia-a-dia e pelo exemplo de dedicação e profissionalismo dados.

OFEREÇO!

Para acumular conhecimento, acrescente uma coisa todos os dias.

Para acumular sabedoria, descarte algo todos os dias.

Lao Tsé

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS nosso grande arquiteto, pela possibilidade de vivenciar experiências tão intensas.

À toda minha família pelo carinho, incentivo e presença constantes na minha vida.

Ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, todos os seus funcionários e professores, pela oportunidade de realização do curso de Doutorado, e pelo esforço e dedicação à excelência na formação de seus alunos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pela concessão da bolsa de estudos (141843/2013-6).

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, pela concessão da bolsa de estudos (Processo Fapesp: 2013/17964-2) e do auxílio pesquisa (Processo Fapesp: 2013/25616-4).

Aos professores do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal e Departamento de Produção Animal por gentilmente compartilharem seu conhecimento, colaborando assim para a devida execução dessa pesquisa.

Ao professor Dr. Carlos Ducatti (*in memoriam*) do Centro de Isótopos Estáveis Ambientais pelos ensinamentos plenos e colaboração no enriquecimento deste trabalho, aos funcionários Cibele, Evandro e Mari, e aos pós-graduandos pela orientação e auxílio nas análises isotópicas.

Ao professor Dr. Roberto de Oliveira Roça e à pós-graduanda e amiga Carolina Toledo Santos pela colaboração e auxílio fundamentais à preparação de amostras.

Aos Professores da Pós-Graduação da FMVZ pela orientação, amizade e valiosos ensinamentos ao longo do curso.

À Prof[a.] Margarida M. Barros, por ter depositado e acreditado no meu potencial, me proporcionando bons momentos profissionais dentro da FMVZ, além da amizade.

Aos amigos e funcionários da Fábrica de Rações da FMVZ (Sérgio, Alexandre, Nico, Adriano) pela amizade e serviço fundamental à execução do projeto.

Aos amigos e funcionários da Suinocultura da FMVZ (Franco, Maurício, Marcelo, Marcão), pela amizade e ajuda na condução dos experimentos.

Às secretárias do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da FMVZ, Seila Cristina Cassinelli Vieira e Ellen Cassemiro Guilhen, pela atenção e colaboração.

À Dr[a]. Juliana Célia Denadai e Prof. Dr. Alessandro Borges Amorim, pela amizade e disposição durante todo o planejamento e condução deste trabalho.

À professora Dr[a]. Rosemeire de Silva Filardi e ao Prof. Dr. Antonio Carlos de Laurentiz por terem por ter depositado e acreditado no meu potencial desde a época da graduação, sem vocês nada disso seria possível.

À professora Dr[a]. Maria Márcia Pereira Sartori pela ajuda na análise estatística.

Ao prof. Dr. José Roberto Sartori, pela dedicação, sugestões, ensinamentos e pela amizade durante todos esses anos.

Aos meus amigos e "companheiros de batalha", Luan Sousa Santos, Lívea Maria Gomes, Patrícia Nardin Berto pela amizade inestimável, pela confiança no meu trabalho, pelo auxílio na execução deste projeto e por me ajudarem a superar momentos difíceis desta jornada.

Às minhas amigas Francine, Cecília, Fabiana, Milena, Juliana, Silvia, Amanda, Grace, Vivian, Fernanda, Mayara, Mayra que se tornaram parte da minha vida, pela amizade sincera, tenho eterna gratidão pela generosidade e companheirismo desde quando nos conhecemos, longe ou perto sempre levo vocês no meu coração.

À todos os colegas da pós-graduação em Zootecnia da FMVZ/UNESP que de alguma forma colaboraram para que as dificuldades fossem superadas com tantas risadas e momentos inesquecíveis.

À todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente a este trabalho e injustamente foram esquecidos neste momento.

MUITO OBRIGADA!!!!!!!!

SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO 1	**11**
CONSIDERAÇÕES INICIAIS	12
1. Introdução	12
2. Revisão de Literatura	14
2.1. Desafio nutricional na fase pós-desmame	14
2.2. Nucleotídeos	16
2.2.1. Estrutura química dos nucleotídeos	16
2.2.2. Biossíntese dos nucleotídeos	18
2.2.3. Digestão, absorção e catabolismo dos ácidos nucleicos e nucleotídeos	20
2.3. Nucleotídeos na dieta de leitões desmamados	22
2.4. Técnica dos isótopos estáveis como ferramenta para avaliar a taxa de *turnover* celular	25
2.4.1. Isótopos estáveis	25
2.4.2. *Turnover* celular	26
3. Referências	31
CAPÍTULO 2	**41**
EFEITO DOS NÍVEIS DE NUCLEOTÍDEOS SOBRE O DESEMPENHO, PESO RELATIVO DO INTESTINO DELGADO E *TURNOVER* DO ^{13}C NO INTESTINO DELGADO DE LEITÕES DESMAMADOS	42
Resumo	42
Abstract	43
Introdução	44
Material e Métodos	45
Resultados	51
Discussão	56
Conclusões	61
Referências	62

Página

CAPÍTULO 3 **80**

EFEITO DOS NÍVEIS DE NUCLEOTÍDEOS SOBRE O *TURNOVER* DO ^{13}C E PESO RELATIVO EM ÓRGÃOS DE LEITÕES DESMAMADOS…. 81

Resumo..... 81

Abstract..... 82

Introdução..... 83

Material e Métodos..... 84

Resultados..... 90

Discussão..... 92

Conclusões..... 97

Referências..... 98

CAPÍTULO 4 **114**

IMPLICAÇÕES..... 115

LISTA DE TABELAS

Página

CAPÍTULO 2 **41**

Tabela 1. Composição percentual das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial..... 67

Tabela 2. Composição nutricional calculada e valores determinados do $\delta^{13}C$ (‰) das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial..... 68

Tabela 3. Valores médios de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) de leitões na fase de creche alimentados com dietas contendo diferentes níveis de nucleotídeos..... 69

Tabela 4. Valores de meia-vida (T, dias) e troca total ($t_{95\%}$, dias) da mucosa e parede intestinal do duodeno e jejuno de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de nucleotídeos..... 70

Tabela 5. Valores médios de peso relativo do intestino delgado (PRI) de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis nucleotídeos..... 71

CAPÍTULO 3 **80**

Tabela 1. Composição percentual das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial..... 103

Tabela 2. Composição nutricional calculada e valores determinados do $\delta^{13}C$ (‰) das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial..... 104

Tabela 3. Valores de meia-vida (T, dias) e troca total ($t_{95\%}$, dias) e da quantidade de trocada (F, %) de átomos de carbono de órgãos de leitões dos 21 aos 70 dias de idade (0 a 49 dias de experimento) alimentados com dietas contendo diferentes níveis nucleotídeos..... 105

Tabela 4. Constantes de *turnover* tecidual (*k*), taxa de crescimento (*g*) e taxa metabólica (*m*) do ^{13}C no baço, fígado e pâncreas de leitões dos 21 aos 70 dias de idade (0 a 49 dias de experimento) 106

Tabela 5. Valores médios de peso relativo (%) do baço (PRB), fígado (PRF), e pâncreas (PRP) de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis nucleotídeos..... 107

LISTA DE FIGURAS

Página

CAPÍTULO 1 **11**

Figura 1. Estrutura dos nucleotídeos..... 17
Figura 2. Compostos ancestrais das bases pirimídicas e púricas dos nucleotídeos e dos ácidos nucleicos..... 17
Figura 3. Principais bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos. 18
Figura 4. Digestão dos ácidos nucleicos da dieta..... 21

CAPÍTULO 2 **41**

Figura 1. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre o consumo diário de ração (CDR) de leitões de 21 a 48 dias de idade..... 72
Figura 2. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre o ganho diário de peso (GDP) de leitões de 21 a 48 dias de idade..... 73
Figura 3. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre o ganho diário de peso (GDP) de leitões de 21 a 55 dias de idade..... 74
Figura 4. Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa do duodeno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 75
Figura 5. Curvas de diluição isotópica do carbono da parede do duodeno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 76
Figura 6. Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa do jejuno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 77
Figura 7. Curvas de diluição isotópica do carbono da parede do jejuno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 78
Figura 8. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre peso relativo do intestino (PRI) de leitões aos 12 dias de experimento..... 79

CAPÍTULO 3 **80**

Figura 1. Curvas de diluição isotópica do carbono do baço de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 108
Figura 2. Curvas de diluição isotópica do carbono do fígado de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 109
Figura 3. Curvas de diluição isotópica do carbono do pâncreas de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 110
Figura 4. Curva de crescimento exponencial do baço de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 111
Figura 5. Curva de crescimento exponencial do fígado de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 112
Figura 6. Curva de crescimento exponencial do pâncreas de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento..... 113

CAPÍTULO 1

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

1. INTRODUÇÃO

A suinocultura é uma atividade de relevância no contexto da produção animal, pois a carne suína corresponde a 43,6% da produção mundial de carnes, com a produção e o consumo global em 2016 estimados em 111.962 e 111.226 mil toneladas (Departamento de Agricultura dos Estados Unidos – USDA, 2015). A produção Brasileira segundo a Associação Brasileira de Proteína Animal - ABPA (2015) registrou crescimento de 4,95% em 2015 em comparação ao ano anterior, totalizando 3.643 mil toneladas correspondendo a 12% da produção nacional de carnes.

Para atender a demanda pela carne suína no Brasil e no mundo é necessário melhorar a eficiência de produção nas criações. O aumento da produção de carne suína, entretanto, não é o bastante, visto que a sociedade moderna exige, de forma cada vez mais intensa, que os alimentos apresentem qualidade, custo acessível e acima de tudo segurança alimentar (BARBOSA, 2007). Embora, diversos sejam os fatores que influenciam no custo de produção dos suínos, a nutrição é o de maior importância, já que o gasto com alimentação representa em torno de 75% do total (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, 2015).

Nas criações comerciais brasileiras é pratica comum o desmame precoce dos leitões com idade próxima a 21 dias, o que tem otimizado a utilização das instalações de maternidade e aumentado o número de partos por matizes/ano (MORES et al., 1998). Porém, o período de 7 a 14 dias pós-desmame é considerado crítico, caracterizando-se por baixo consumo de ração, atrofia das vilosidades intestinais e ineficiente capacidade de digestão, que resulta em estado geral de deficiência energética, comprometendo o ganho de peso e predispondo à ocorrência de diarreias, responsáveis por mortalidade e perdas significativas na produção suinícola (ZIEGERHOFER, 1988).

A imaturidade do sistema digestório (LINDEMANN et al., 1986; MAKKINK et al., 1994) aliada às drásticas alterações que ocorrem na fisiologia intestinal dos leitões jovens (BOUDRY et al., 2004), como a insuficiente produção de ácido clorídrico e de enzimas digestivas, prejudica os processos de digestão e de absorção dos nutrientes, especialmente, das dietas formuladas à base de ingredientes de origem vegetal (EASTER, 1993).

A retirada do leite materno, por ocasião do desmame, também representa a supressão de fatores de crescimento que auxiliam no desenvolvimento e na maturação

intestinais (KELLY; SMYTH; McCRACKEN, 1990; MELLOR, 2000a). Além disso, os leitões recém-desmamados são mais susceptíveis a enfermidades (VIOLA; VIEIRA, 2003) devido à reduzida imunidade passiva, quando ainda não apresentam o sistema imune totalmente desenvolvido (GASKINS; KELLEY, 1995; MELLOR, 2000b), predispondo-os a doenças entéricas e respiratórias (KELLY; COUTTS, 2000).

Na tentativa de assegurar o desempenho satisfatório e de minimizar os distúrbios digestivos dos leitões, pesquisas são conduzidas visando a utilização de aditivos, que possam estimular o crescimento e a diferenciação das células imunológicas e intestinais dos leitões na fase pós-desmame (YU et al., 2002). Os benefícios desses aditivos podem estar relacionados ao aumento das secreções digestivas (WITTE et al., 1991), à melhora na digestibilidade e absorção dos nutrientes (BUDIÑO et al., 2004), à modificação da microbiota intestinal, ao estímulo ao sistema imune e ao desenvolvimento, maturação e reparo do trato gastrintestinal (UAUY; QUAN; GIL, 1994).

Diante deste cenário, torna-se necessária a realização de estudos sobre aditivos alternativos aos antibióticos, incluindo os nucleotídeos. Os nucleotídeos são aditivos (COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2013) que exercem efeitos importantes sobre a manutenção da saúde em animais jovens (ANDRÉS-ELIAS et al., 2007), além de melhorar o desempenho e a morfologia intestinal dos leitões (ANDRADE et al., 2011).

Os nucleotídeos exercem várias funções metabólicas como a participação no metabolismo de energia (ATP), são precursores de ácidos nucleicos (DNA e RNA), e fazem parte de coenzimas, como NAD, FAD e CoA, que estão envolvidas em várias vias metabólicas. Além disso, servem como ativadores intermediários para muitas vias biossintéticas, como por exemplo, a uridina difosfato, que é um transportador específico dos resíduos de açúcar na biossíntese de polissacarídeos, a uridina-difosfato-glucose, que é um doador específico de resíduos de glucose na biossíntese enzimática do glicogênio (COSGROVE, 1998).

Pesquisas demonstram que, quando fornecidos na dieta, os nucleotídeos aumentaram a resistência imunológica (UAUY, 1989; QURESHI, 2002), melhoraram as características da mucosa e a flora microbiana do trato gastrintestinal (MATEO; DAVE; STEIN, 2004; BOHORQUEZ et al., 2007), resultando em melhor digestão e absorção de nutrientes e em redução da poluição ambiental (MAIA et al., 2002), pois possuem efeitos importantes sobre o crescimento e desenvolvimento de tecidos com rápido *turnover* celular*,* tais como do sistema imune e do trato gastrintestinal (WANG et al., 2008).

Com os avanços tecnológicos de extração e purificação dos nucleotídeos, nos últimos anos há grande interesse dos pesquisadores em aprofundar os estudos sobre a possibilidade de sua suplementação para animais jovens. Apesar de alguns destes estudos terem demonstrado benefícios de sua utilização nas dietas de suínos, (SPRING, 2001; YU et al., 2002; MARIBO, 2003; CARLSON; VEUM; TURK 2005; RUTZ et al., 2005; ROSSI; XAVIER; RUTZ, 2007; SAUER et al., 2012; WEAVER; KIM 2014; AMORIM et al., 2016), outras pesquisas não demonstraram nenhum benefício (VAN DER PEET-SCHWERING et al., 2007; LEE et al., 2007; ANDRADE et al., 2011; SANT'ANA, 2012; SANTOS et al., 2015). A inconsistência de resultados, portanto, sugere a necessidade de novos estudos para avaliar a necessidade e os efeitos de nucleotídeos dietéticos para leitões desmamados.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Desafio Nutricional na Fase Pós-Desmame

Os distúrbios gastrintestinais, imediatamente após o desmame dos leitões causam perdas econômicas na indústria suinícola. Do total de suínos nascidos no Brasil, as perdas podem chegar a 20%, e grande proporção dessas perdas estão associadas à infecções do trato gastrintestinal (DALLANORA; BIERHALS; MAGNABOSCO, 2014).

No Brasil é comum a prática comercial do desmame precoce, em torno dos 21 dias de idade, muito mais cedo do que o desmame natural, com objetivos de aumentar os índices produtivos da granja, como número de partos/porca/ano e número de desmamados/porca/ano, porém esta prática predispõe os leitões à infecções, especialmente, intestinais.

No desmame o leitão precisa lidar com a abrupta separação da mãe, mistura com outras leitegadas em um ambiente geralmente novo e com a mudança brusca da dieta. No sistema intensivo de produção o desmame realizado em uma idade precoce (21 a 35 dias) tem provavelmente exacerbado o nível de estresse dos leitões e, geralmente, está associado à baixa e variável ingestão de alimento e água, resultando em crescimento insatisfatório (LALLÈS et al., 2007).

A mudança da dieta líquida, altamente digestível, com baixo conteúdo de matéria seca, rica em gordura e lactose e disponível a cada 45 a 60 minutos, para uma dieta pós-desmame, geralmente seca, menos palatável, composta principalmente por carboidratos e proteínas de origem vegetal e fornecida à vontade, resulta em grande parte dos leitões em prolongado período de jejum, desencadeando mudanças

estruturais no trato gastrintestinal, prejudicando o aproveitamento de nutrientes da ração (LALLÈS, 2008). Estressores sociais e nutricionais associados com o processo de desmame são fatores importantes que afetam a fisiologia digestiva, neuroendócrina e o estado imunológico, aumentado o gasto energético dos leitões (SUPERCHI et al., 2012).

Durante o período em que os leitões estão se alimentando basicamente do leite materno, as vilosidades intestinais são bem estruturadas, pois utilizam os carboidratos do leite como fonte energética, principalmente a lactose, que auxilia na manutenção da integridade da mucosa ao longo do intestino delgado, assegurando, assim, eficiência na absorção dos nutrientes (PLUSKE; WILLIAMS; AHERNE, 1991).

A consequência mais marcante da anorexia verificada em leitões desmamados é o comprometimento da mucosa do intestino delgado, que perde de 20 a 30% do seu peso corporal dentro de dois dias pós-desmame (LALLÈS, et al., 2007; MONTAGNE et al., 2007). Portanto, o primeiro a sofrer pela escassez de nutrientes imediatamente após o desmame é o trato gastrintestinal, que apresenta alterações morfofuncionais, relacionadas à maior taxa de perda celular nas vilosidades e ao aumento do processo de mitose nas criptas, como a diminuição da altura das vilosidades e aumento na profundidade das criptas (TEIXEIRA et al., 2003), com menor produção de enzimas, menor capacidade de absorção de nutrientes e, quadro provável, de diarreia osmótica (NABUURS; ZIJDERVELD; DE LEEUW, 1993; PLUSKE; HAMPSON; WILLIANS, 1997).

Além dos efeitos negativos nos processos de digestão e absorção, as alterações morfofuncionais também determinam aumento na resposta imunológica, resultando na inflamação da mucosa intestinal (LI et al., 1990, 1991). Após o desmame, também podem ocorrer alterações na microbiota intestinal, resultando em diminuição das bactérias benéficas e aumento das patogênicas que geram metabólitos tóxicos ao hospedeiro, causando inflamações na mucosa intestinal, além de estabelecer condição mais propícias para o surgimento de enfermidades, resultando em queda imediata nos parâmetros de desempenho animal (SILVA; NÖRNBERG, 2003).

A evolução pós-desmame do trato gastrintestinal dos suínos, pode ser dividida em duas fases: uma fase aguda, onde ocorrem severas mudanças, e uma fase de adaptação, na qual o trato gastrintestinal recupera a sua morfologia e função. A duração e magnitude destas fases variam com diversos fatores, como a idade ao desmame, as condições ambientais, o genótipo e o estado hígido dos animais (PLUSKE, 2006).

No leitão lactente, a microbiota do trato gastrintestinal é composta, principalmente, por bactérias como os *Lactobacillus* spp, mas após o desmame, com a alteração do substrato disponível no lúmen gastrintestinal, há redução das populações destas

bactérias e proliferação de *Clostridium sp*, *E. coli* e outros coliformes, estabelecendo-se uma nova microbiota que deixa o leitão mais vulnerável ao rápido crescimento de agentes potencialmente patogênicos (HEO et al., 2012).

Diante da necessidade de minimizar os efeitos do desmame, alternativas com ênfase no manejo produtivo, nutricional e na área de biosseguridade são estudadas. A utilização de dietas complexas tornou-se realidade nos modernos sistemas de criação, com os objetivos de melhorar a palatabilidade e a digestibilidade para que favoreçam a ingestão da ração e o desenvolvimento do animal, sem predispor os leitões a problemas digestivos (ARANTES et al., 2007).

Os primeiros aditivos descritos na alimentação animal foram os antibióticos, amplamente utilizados na produção suína, com o propósito de melhorar a taxa de crescimento, a conversão alimentar e reduzir a mortalidade, especialmente de leitões. Normalmente, essas melhorias estão associadas ao controle de micro-organismos patogênicos que colonizam o trato gastrintestinal (NAGANAWA et al., 1996; AVATO et al., 2000). Entretanto, os indícios de desenvolvimento de resistência bacteriana aos antibióticos, usados como melhoradores de desempenho, e a possibilidade de resistência cruzada entre patógenos de animais e de humanos, reforçam a necessidade de busca por alternativas mais seguras e aceitáveis pela sociedade (OVERLAND et al., 2000).

A ação trófica na mucosa intestinal de vários ingredientes adicionados nas dietas pré-iniciais e iniciais de leitões tem sido estudada. O objetivo do uso destes ingredientes é o aumento da digestibilidade das dietas, adequando-as ao grau de amadurecimento do trato gastrintestinal, que varia com a idade e o peso dos leitões ao desmame (BERTOL; LUDKE; MORES, 2000; BOUDRY et al., 2004).

Assim, várias alternativas de ingredientes e estratégias nutricionais como o uso de aditivos nas dietas, dentre eles os nucleotídeos, que possam estimular o crescimento e a diferenciação das células imunológicas e intestinais, consequentemente melhorando o desempenho de leitões recém-desmamados, são sugeridas.

2.2 Nucleotídeos

2.2.1 Estrutura química dos nucleotídeos

Os nucleotídeos apresentam três componentes característicos: uma base nitrogenada, uma pentose (ribose ou desoxirribose) e um ou mais fosfatos (Figura 01). Por hidrólise parcial é possível retirar o radical fosfato dos nucleotídeos formando estruturas denominadas nucleosídeos. As bases nitrogenadas são derivadas de dois

compostos relacionados, a pirimidina e a purina (Figura 02). As bases e as pentoses dos nucleotídeos comuns são compostos heterocíclicos (NELSON; COX, 2014).

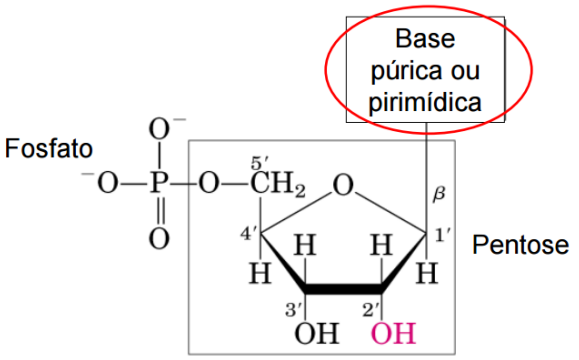


Figura 1. Estrutura dos nucleotídeos (Adaptado de LEHNINGER; NELSON; COX, 1995)

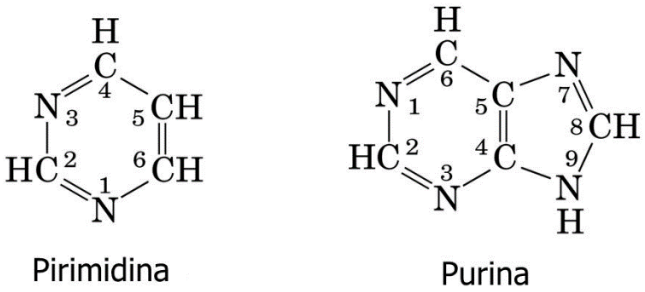


Figura 2. Compostos ancestrais das bases pirimídicas e púricas dos nucleotídeos e dos ácidos nucleicos (Adaptado de LEHNINGER; NELSON; COX, 1995)

A base de um nucleotídeo é ligada covalentemente (no N-1 das pirimidinas e no N-9 das purinas) por uma ligação N-β-glicosídica ao carbono 1’ da pentose, e o fosfato é esterificado no carbono 5’. A ligação N-β-glicosídica é formada pela remoção de um grupo hidroxila da pentose e o hidrogênio da base.

São bases púricas a adenina (6-aminopurina), a guanina (2-amino-6-oxipurina), e as bases pirimídicas são a citosina (2-oxi-4-aminopirimidina), a uracila (2,4-dioxipirimidina), e a timina (2,4-dioxi- 5-metilpirimidina) (Figura 03) (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

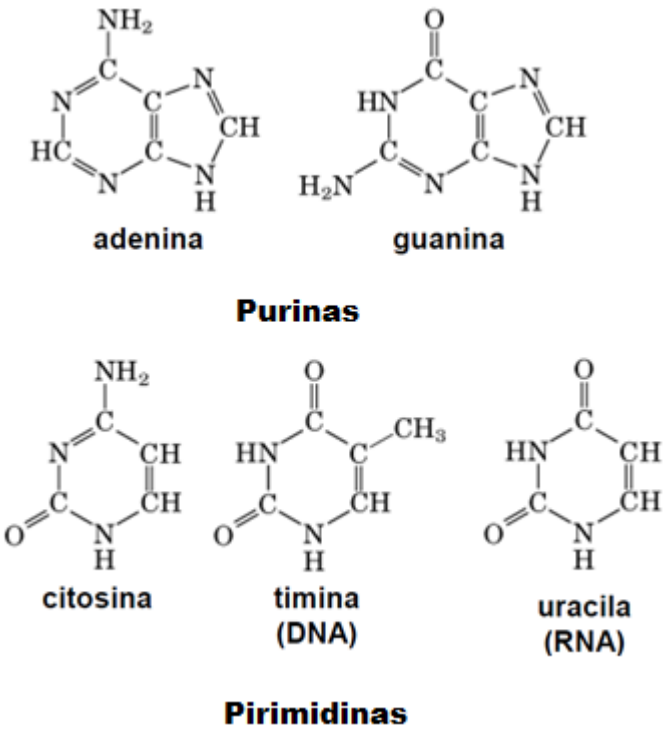


Figura 3. Principais bases púricas e pirimídicas dos ácidos nucleicos (Adaptado de LEHNINGER; NELSON; COX, 1995)

Butolo (2002) citou que os nucleotídeos são: monofosfato de citidina ou citidina 5´-monofosfato (CMP), monofosfato de uridina ou uridina 5´-monofosfato (UMP), monofosfato de adenosina ou adenosina 5´- monofosfato (AMP), monofosfato de guanosina ou guanosina 5´-monofosfato (GMP), monofosfato de inosina ou inosina 5´-monofosfato (IMP) e monofosfato de timidina ou timidina 5´-monofosfato (TMP), que estão presentes em todas as células vivas.

2.2.2 *Biossíntese dos Nucleotídeos*

Os nucleotídeos são compostos intracelulares de baixo peso molecular, essenciais para todas as células, pois sem eles o ácido desoxirribonucléico (DNA) e o ácido ribonucléico (RNA) não poderiam ser produzidos e, consequentemente, a síntese de proteínas e a proliferação celular não ocorreriam. Servem também como transportadores intermediários ativos na síntese de alguns carboidratos, lipídeos e proteínas e são componentes estruturais de coenzimas essenciais, como a coenzima A (CoA), flavina adenina dinucleotídeo (FAD), nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD+) (LERNER; SHAMIR, 2000). Além disso, possuindo efeitos importantes sobre o

crescimento e desenvolvimento de tecidos com rápido *turnover* celular*,* tais como do sistema imune e do trato gastrintestinal (WANG et al., 2008).

Os nucleotídeos podem ser classificados como imunomoduladores (McCOWEN; BISTRIAN, 2003), sendo sintetizados pela via "*de novo*" no organismo utilizando seus precursores metabólicos, como a glutamina, o aspartato, a glicina, a ribose 5-fosfato, o CO_2 e a NH_3, sendo a glutamina a mais importante (NELSON; COX, 2014). Entretanto, por essa via, altas quantidades de energia na forma de ATP são exigidas (CLIFFORD et al., 1976) e grandes quantidades dos precursores de aminoácidos são requeridas (MATEO; DAVE; STEIN, 2004).

Outro mecanismo de síntese dos nucleotídeos é a via de "salvamento ou recuperação", sendo essa via mais simples e com menor exigência energética, pois recicla as bases livres e os nucleosídeos liberados a partir da degradação de ácidos nucleicos (NELSON; COX, 2014). A via "*de salvamento*" é regulada em diversos pontos metabólicos, de forma a manter equilíbrio adequado de nucleotídeos (CARVER; WALKER, 1995).

Uauy (1989) sugeriu que a via "*de salvamento*" é dependente da disponibilidade de bases púricas ou pirimídicas livres. Esta via é caracterizada por ser mais simples, sendo resumida a uma única reação, a síntese a partir da reciclagem de bases livres e nucleosídeos liberados na quebra (degradação hidrolítica) dos nucleotídeos e ácidos nucléicos (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995). Quando fornecidos nucleotídeos na alimentação, a via "*de salvamento*" recicla 90% ou mais das bases púricas (UAUY, 1989). É importante ressaltar que a biossíntese das purinas e pirimidinas é controlada e coordenada por mecanismos de retroalimentação, para assegurar a produção nas quantidades e ocasiões necessárias (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009).

Em condições normais, os nucleotídeos dietéticos são provavelmente nutrientes não essenciais (DANCEY; ATTREE; BROWN, 2006), no entanto, podem tornar-se essenciais em alguns tecidos como o da mucosa intestinal, que contém células de rápido crescimento, como os enterócitos, que apresentam limitada capacidade na síntese de purinas e pirimidinas pela via "*de novo*", sendo necessária a suplementação exógena para manter o *pool* de nucleotídeos (UAUY; QUAN; GIL, 1994), pois depende principalmente da via *de salvamento* (YAMAMOTO et al., 1997).

Os nucleotídeos podem ser considerados semi ou mesmo essenciais em situações que o organismo necessita de uma quantidade maior do que a sintetizada ou obtida pela via *de salvamento*, como nos casos de crescimento rápido, doença, limitado consumo de alimento, distúrbios endógenos e durante períodos de estresse, como o

desmame de leitões (LERNER; SHAMIR, 2000). Além disso, a síntese pela via "*de novo*" tem alto custo metabólico, necessitando de grande quantidade de energia na forma de ATP (ROSSI; XAVIER; RUTZ, 2007), enquanto a via *de salvamento*, promove a reciclagem de bases livres e nucleosídeos liberados na hidrólise dos nucleotídeos e ácidos nucléicos, com menor gasto de energia (SAUER; MOSENTHIN; BAUER, 2011).

2.2.3 Digestão, Absorção e Catabolismo dos Ácidos Nucleicos e Nucleotídeos

Os nucleotídeos são continuamente degradados e recuperados por todas as células e estão naturalmente presentes em alimentos, tanto de origem animal quanto de origem vegetal, contudo têm capacidade limitada de passarem através das membranas celulares, pois o organismo tem sistema de transporte ineficiente. Além disso, os nucleotídeos possuem um grupo fosfato com carga negativa elevada, dificultando sua absorção, pelo fato da membrana plasmática possuir carga positiva (SANDERSON; HE, 1994).

Apenas pequena fração de nucleotídeos dietéticos totais são ingeridos como nucleotídeos livres. A maioria são ingeridos na forma de nucleoproteínas, que precisam ser degradadas por enzimas no trato gastrintestinal para uma mistura de ácidos nucleicos e seus compostos (COSGROVE, 1998).

As nucleoproteínas, ácidos nucléicos e nucleotídeos precisam ser hidrolisados para serem absorvidos, visto que somente os nucleosídeos, bases aminadas e pequenos nucleotídeos são absorvidos (SAUER; MOSENTHIN; BAUER, 2011). Após a ingestão dos nucleotídeos da dieta, a digestão das nucleoproteínas se inicia pela ação das proteases (MATEO; STEIN, 2004), o baixo pH estomacal desnatura os ácidos nucleicos e pela ação das nucleases (ribonuclease e desoxirribonuclease), secretadas pela porção exócrina do pâncreas, formam-se os oligonucleotídeos. No intestino delgado, fosfodiesterases pancreáticas formam os mononucleotídeos e, com a retirada do grupo fosfato pela ação das nucleotidases, originam os nucleosídeos, que podem ser absorvidos pelas células da mucosa intestinal (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009). Pela ação de nucleosidases, antes da absorção os nucleosídeos podem ser degradados em bases livres (purinas e pirimidinas) (CARVER; WALKER, 1995).

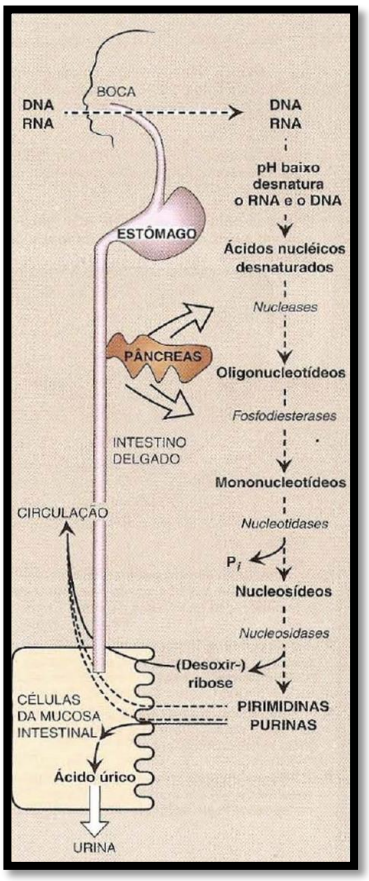


Figura 4. Digestão dos ácidos nucleicos da dieta (CHAMPE; HARVEY; FERRIER, 2009).

A mistura de nucleotídeos (em menor quantidade), nucleosídeos (na grande maioria) e bases nitrogenadas são absorvidas pelos enterócitos (UAUY; QUAN; GIL, 1994). O duodeno é a porção intestinal que tem maior capacidade de absorção dos nucleotídeos e nucleosídeos (BRONK; HASTEWELL, 1987; UAUY, 1989). O intestino não somente recupera quantidades significativas de bases nitrogenadas e nucleosídeos, mas também oxida o excesso de purinas a ácido úrico e o excesso de pirimidinas a ureia (LEHNINGER; NELSON; COX, 1995).

Os nucleotídeos são os maiores veículos para a entrada das purinas e pirimidinas nas células do tecido epitelial (SALATI et al., 1984; UAUY, 1989), e após a digestão dos nucleotídeos, 90% dos nucleosídeos e bases livres são absorvidos nos enterócitos e o restante utilizado para a síntese de ácidos nucleicos teciduais (CARVER; WALKER, 1995). O transporte para os enterócitos ocorre por difusão facilitada (HOLEN; JONSSON, 2004), transporte ativo (HARMS; STIRLING, 1977 *apud* SAUER; MOSENTHIN; BAUER, 2011), mecanismos mediados por carreador dependente de

sódio (HOLEN; JONSSON, 2004) ou incorporação nos tecidos (NORTON et al., 2001). A partir dos enterócitos, os nucleosídeos e nucleotídeos entram na veia porta hepática, sendo carreados aos hepatócitos, para que ocorra seu metabolismo (CHU, 1991).

Aproximadamente 2-5% dos nucleotídeos e seus derivados são utilizados pelos tecidos para a síntese de ácidos nucleicos e pools de nucleotídeos intracelulares. Do total retido e utilizado, 25-50% são encontrados no trato gastrintestinal (SONODA; TATIBANA, 1978). Adenina é a principal base púrica utilizada, e é melhor retida por animais em jejum do que os alimentados, sugerindo efeito no balanço entre as vias *de salvamento* e *de novo* (HO; WONG; LAWTON, 1979).

As bases púricas ou pirimídicas são liberadas a partir do fígado para a circulação sistêmica e entram no tecido muscular. Se esses produtos não são reutilizados para a produção de nucleotídeos permanecem não absorvidos. As bases purinas são catabolizadas em ácido úrico, e as bases pirimidinas são catabolizadas em β-alanina e β-aminoisobutirato (CHU, 1991).

Nos mamíferos, exceto os primatas, o ácido úrico é posteriormente catabolizado na via alantoína e enzima uricase e os produtos derivados do catabolismo das bases pirimidina, são metabolizados na amônia, dióxido de carbono e acetil CoA (ROSSI; XAVIER; RUTZ, 2007).

2.3 Nucleotídeos na dieta de leitões desmamados

Segundo Bueno et al. (1994), a suplementação com nucleotídeos na dieta é importante no desenvolvimento de tecidos de rápido *turnover* celular, quando a capacidade de síntese endógena não é suficiente para responder às maiores exigências, como em períodos de rápido crescimento e recuperação intestinal. No desmame vários são os fatores estressantes que agem simultaneamente e comprometem o desempenho dos leitões, de modo que na fase pós-desmame ocorrem alterações na estrutura do intestino delgado, portanto, é possível que, neste período, os leitões apresentem maiores necessidades de nucleotídeos.

Nucleotídeos são encontrados, principalmente, em ingredientes ricos em proteínas (CLIFFORD et al., 1976), como as carnes e os frutos do mar (BARNESS, 1994). Fontes de levedura, como a levedura de cerveja, são ingredientes que também concentram nucleotídeos (TIBBETS, 2002). No entanto, os ingredientes comumente utilizados na alimentação animal não são rotineiramente analisados para quantificação de nucleotídeos, limitando, assim, as informações sobre a presença e quantidade de nucleotídeos nos alimentos (SAUER; MOSENTHIN; BAUER, 2011)

Nucleotídeos dietéticos estimulam a diferenciação celular (SANDERSON; HE, 1994) e favorecem o crescimento e a maturação das células epiteliais intestinais, conforme evidenciado pelos aumentos da formação de proteína na mucosa, DNA, vilosidades no intestino delgado e das atividades das enzimas maltase e lactase (UAUY et al., 1990; CARVER, 1994). Assim a suplementação de ácido nucleico e nucleotídeos nas dietas estimula a proliferação das células da mucosa (KISHIBUCHI et al., 1997; TSUJINAKA et al., 1999), podendo auxiliar no crescimento e na recuperação de tecidos, principalmente em condições de estresse fisiológico (CARVER; WALKER, 1995), prevenindo os efeitos negativos sobre a estrutura do intestino (ADJEI et al., 1996; YU et al., 2002) e melhorando o desempenho dos leitões desmamados.

Os nucleotídeos também são importantes para manutenção da saúde intestinal e modulação do sistema imunológico, favorecendo o crescimento dos hepatócitos (OHYANAGI et al., 1989; YAMAGUCHI; KODAMA; UEDA, 1985), influenciando na expressão de genes no epitélio intestinal (SANDERSON; HE, 1994) e podem atuar como imunonutriente e promotor de crescimento (ROSSI; XAVIER; RUTZ, 2007).

Os nucleotídeos adicionados às dietas podem modificar a integridade da mucosa intestinal em diferentes graus. Martinez-Puig et al. (2007) constataram menor atrofia das vilosidades de leitões no período pós-desmame quando receberam nucleotídeos na dieta, enquanto Sauer; Bauer; Mosenthin (2012) concluíram que a adição de nucleotídeos purificados na dieta de leitões tem efeitos benéficos sobre a recuperação intestinal após desafio imunológico e na resposta imune em situações patológicas diversas. Esses mesmos autores relataram que os leitões que receberam suplementação de nucleotídeos tiveram aumento no consumo diário de ração, contudo os demais parâmetros de desempenho não foram alterados.

Andrade et al. (2011) verificaram que a adição de nucleotídeos em dietas de leitões recém-desmamados resultou em efeitos benéficos na morfometria do epitélio intestinal, quando adicionado ao nível de até 600 ppm. Esses mesmo autores relataram que a adição de nucleotídeos em dietas complexas não melhora o desempenho de leitões recém-desmamados. e acordo com Menten; Miyada (1995), a inclusão de aditivos em dietas complexas, aliada ao baixo desafio sanitário imposto aos leitões, manejo e ambiente adequados, dificilmente proporcionará melhoria no desempenho dos leitões recém-desmamados.

Van Der Peet-Schwering et al. (2007) não verificaram aumento do comprimento das vilosidades e da profundidade das criptas, com a adição de produto comercial à base de levedura para leitões. Sant'Ana (2012) não observou efeitos da inclusão das

leveduras como fonte de nucleotídeos nas rações de leitões desmamados sobre os parâmetros de desempenho. Os produtos comerciais de cultura de leveduras possuem fontes e quantidades variáveis de nucleotídeos o que dificulta atribuir os efeitos biológicos observados exclusivamente aos nucleotídeos presentes nestes produtos (SAUER; MOSENTHIN; BAUER, 2011).

Andrade (2013) conclui que a inclusão de até 200 ppm de nucleotídeos em dietas complexas para leitões recém-desmamados melhora o desempenho dos animais, sem afetar a frequência de diarreia, a morfometria de órgãos, a histologia do epitélio intestinal e a microbiota intestinal de leitões em fase de creche. Portanto, o nucleotídeo pode ser considerado aditivo eficaz em substituição aos antimicrobianos melhoradores de desempenho.

Weaver; Kim (2014) verificaram que a inclusão de 1,0 g/kg de nucleotídeos nas rações promoveu melhora nos resultados de desempenho dos leitões recém-desmamados, contudo a inclusão de 0,5 g/kg determinou melhor resposta imune e na redução do estresse oxidativo. Os autores desse estudo sugerem que esses resultados demonstram a importância de se trabalhar com níveis mais altos e fontes purificadas de nucleotídeos para se obter melhores resultados no desempenho e minimizar efeitos do estresse pós-desmame.

Amorim (2012) demonstrou que a suplementação de 1% de nucleotídeos nas dietas de leitões acelera o *turnover* do carbono das mucosas do duodeno e do jejuno, e também do pâncreas e fígado (AMORIM et al., 2016), sugerindo a recuperação mais rápida no período pós-desmame. Santos (2015), utilizando fontes purificadas de nucleotídeos nas dietas, não determinou alterações no ganho de peso e conversão alimentar de leitões desmamados, porém determinou piora na conversão alimentar nos primeiros 27 dias do período experimental, resultados semelhantes foram encontrados por Lee et al. (2007), que avaliando mistura de nucleotídeos nas dietas em dosagens de até 0,01% para leitões recém-desmamados, demonstraram que mesmo a maior dose não foi suficiente para alterar positivamente as respostas de desempenho.

As pesquisas apresentam resultados contraditórios com relação aos possíveis efeitos de nucleotídeos na dieta de leitões desmamados. Estas diferenças podem ser atribuídas a diferenças na fonte utilizada e nível presente nos ingredientes, bem como sua inclusão nas dietas e as exigências dos animais determinada, principalmente, pelo potencial de crescimento nas diferentes fases de desenvolvimento fisiológico. Entretanto os nucleotídeos podem ser utilizados na alimentação de leitões conferindo

maturidade intestinal, melhora no desenvolvimento do sistema imunitário e no desempenho dos leitões no desmame.

2.4 Técnica dos isótopos estáveis como ferramenta para avaliar a taxa de *turnover* celular

2.4.1 Isótopos estáveis ambientais

Isótopos são espécies atômicas de um mesmo elemento químico que possuem massas diferentes, pelo fato do número de nêutrons em seus núcleos serem distintos, ou seja, possuem o mesmo número de prótons, mas diferente número de nêutrons (MARTINELLI, et al., 2009). Pode-se dizer que os isótopos são elementos que apresentam as mesmas propriedades químicas (elétrons) e diferentes propriedades físicas (núcleo), o que permite que eles sejam utilizados como traçadores naturais em pesquisas. A expressão *estável* significa que não emitem radiação (DUCATTI, 2007).

Os diferentes números de massas dos isótopos possibilitam sua identificação através da espectrometria de massa, ou seja, é possível quantificar os diferentes isótopos de um mesmo elemento químico (GROOT, 2004).

Os elementos carbono (C), nitrogênio (N), oxigênio (O), enxofre (S) e hidrogênio (H) possuem isótopos estáveis que ocorrem naturalmente na atmosfera, hidrosfera, litosfera e biosfera. Cada elemento químico apresenta um isótopo leve dominante: ^{12}C, ^{14}N, ^{16}O, ^{32}S e ^{1}H, e um ou dois isótopos pesados: ^{13}C, ^{15}N, ^{17}O, ^{18}O, ^{32}S, ^{34}S e ^{2}H, com abundância ou concentração natural expressos em átomos % (DUCATTI, 2007).

A abundância natural para os isótopos estáveis de ^{12}C e ^{13}C é de, aproximadamente, 98,89 e 1,11 átomos %, respectivamente (KENNEDY; KROUSE, 1990). Esta diferenciação na abundância possibilita a utilização destes como traçadores.

Valores isotópicos tem sua própria notação, a notação δ (delta), que significa diferença. Os valores de δ denotam uma medição da diferença feita entre razões isotópicas da amostra em relação aos padrões (FRY, 2006).

Os valores do delta do carbono-13 são expressos em termos do padrão internacional definido, *Peedee Belemnite* (PDB). Segundo Friedman; O´Neil (1977), o padrão PDB é aceito universalmente na comparação das composições isotópicas do carbono. Trata-se de um carbonato sólido de Belemnitela americana, da formação *Peedee* da Carolina do Sul, Estados Unidos, empregado inicialmente como padrão por Craig (1957). No Centro de Isótopos Estáveis Ambientais da UNESP/Botucatu é utilizado como padrão de trabalho (sub-padrão), uma rocha carbonatada (mármore) com

alta pureza em calcita. A notação utilizada é em delta per mil ($\delta^{13}C$) da razão isotópica do carbono-13 do produto em relação ao padrão internacional definido (DUCATTI; SALATI; MATSUI, 1979).

As plantas, na sua maioria, podem ser classificadas em dois grupos principais, de acordo com a via fotossintética de fixação do CO_2: ciclo fotossintético C_3 e ciclo fotossintético C_4. Nas plantas o primeiro composto orgânico a ser formado é um 7- ácido carboxílico, que nas C_3 possui três átomos de carbono e nas C_4 possui quatro átomos de carbono (SMITH; EPSTEIN, 1971; KENNEDY; KROUSE, 1990).

A via fotossintética C_3 é realizada pela soja, arroz, trigo, cevada, algodão, entre outras, e a via fotossintética C_4 é realizada pelo milho, cana de açúcar, sorgo, e outras forrageiras de origem tropical ou subtropical. O CO_2 atmosférico que possui valor de $\delta^{13}C$ de aproximadamente -7,7‰ (KENNEDY; KROUSE, 1990), é a fonte primária de carbono para as plantas terrestres. Este carbono sofre discriminação isotópica ao longo do processo de fotossíntese, ocorrendo diminuição da concentração de ^{13}C e aumento da concentração de ^{12}C.

Durante a assimilação fotossintética, as plantas do ciclo fotossintético C_3 fixam o CO_2 atmosférico por meio do ciclo Calvin-Benson e apresentam valores de ^{13}C entre -22 e -34‰ (valor modal = -26,7‰), enquanto as plantas do ciclo fotossintético C_4 fixam o CO_2 atmosférico por meio do ciclo Hatch-Slack e apresentam valores de $\delta^{13}C$ entre -9 e -16‰ (valor modal = -12,6‰). O sinal negativo indica que a planta ou seu subproduto apresenta menor concentração de ^{13}C que o padrão internacional. Portanto, as plantas C_3 e C_4 possuem assinaturas isotópicas diferentes, devido ao fracionamento que ocorre durante a fixação fotossintética do carbono (SMITH; EPSTEIN, 1971; O'LEARY, 1981; KENNEDY; KROUSE, 1990; VOGEL, 1993). Considerando-se a existência da diferença isotópica da ordem de 14‰ mais rico em ^{13}C nas plantas do ciclo fotossintético C_4, em relação às do ciclo fotossintético C_3, torna-se possível à utilização destas plantas e seus subprodutos como marcadores em animais, sem a necessidade de sintetizar compostos especificamente marcados (DUCATTI, 2007), além de evitar problemas de saúde humana e segurança ambiental associado ao uso de isótopos radioativos (TIESZEN et al., 1983).

2.4.2 Turnover isotópico

Ducatti et al. (2002), fundamentados em resultados da literatura, propuseram um modelo teórico capaz de exprimir os resultados do enriquecimento relativo de carbono ($\delta^{13}C$) em função do tempo de alimentação, fornecendo dietas contrastantes em $\delta^{13}C$

(formuladas com grãos de plantas dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4) a animais. O modelo (Eq. 1) é adequado para determinar o tempo de substituição total ou parcial (meia-vida) de carbono nos tecidos em estudos com aves, suínos e animais de pequeno porte.

$$\delta^{13}C_{(t)} = \delta^{13}C_{(f)} + [\delta^{13}C_{(i)} - \delta^{13}C_{(f)}]\, e^{-(k)t} \quad (1)$$

Em que:

$\delta^{13}C_{(t)}$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}C_{(f)}$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}C_{(i)}$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial;

k = constante de troca isotópica *(turnover),* em unidades de tempo $^{-1}$;

t = tempo (em dias) desde a substituição da ração.

A constante de troca isotópica *(k)* do modelo proposto por Ducatti et al. (2002) é adequado para tecidos de animais adultos, uma vez que *turnover* nos tecidos resulta do catabolismo (quebra) e reposição dos componentes teciduais (proteínas, lipídeos e carboidratos) por rotas anabólicas. Em condições estáveis as taxas de quebra e reposição são semelhantes, contudo para animais em crescimento, a formação de novos tecidos excede o catabolismo metabólico e a massa de tecido é aumentada devido à replicação e aumento de tamanho das células.

Portanto, a taxa de *turnover* tecidual (*k*) depende da taxa de crescimento (*g*), que reflete deposição de massa tecidual em relação à degradação, e a taxa de *turnover* metabólico (*m*), que expressa o balanço entre quebra e ressíntese dos componentes teciduais (MILLWARD, 1989; WOLFE; CHINKES, 2005). Utilizando-se a equação proposta por Abimorad et al. (2014) podemos calcular as constantes de crescimento (*g*) e metabólica (*m*), a partir da equação 1.

$$\delta^{13}C_{(t)} = \delta^{13}C_{(f)} + [\delta^{13}C_{(i)} - \delta^{13}C_{(f)}]\, e^{-(g+m)t} \quad (2)$$

Em que:

$\delta^{13}C_{(t)}$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}C_{(f)}$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}C_{(i)}$ = enriquecimento isotópico do tecido na condição inicial;

g = constante de crescimento, em unidades de tempo^{-1};

m = constante de *turnover* metabólico, em unidades de tempo^{-1};

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

Para mensurar a constante de crescimento (*g*) que consta na equação acima, calcula-se uma derivação da equação de crescimento exponencial (Eq. 3):

$$W = Wo \times e^{gt} \quad (3)$$

Em que:

W = peso do tecido no dia da coleta;

W_o = peso médio inicial dos tecidos;

g = constante de crescimento, em unidades de tempo^{-1};

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

A partir da análise isotópica, obtém-se a constante de *turnover* (k), e através da curva exponencial de crescimento obtém-se a constante de crescimento (*g*), sendo então, a constante metabólica (*m*) calculada por subtração simples (adaptado de ABIMORAD et al., 2014) (Eq. 4).

$$k = g + m \quad (4)$$

Para mensurar o tempo de substituição do carbono das dietas nos tecidos dos animais no período experimental é empregada a função exponencial do tempo expressa pela equação 5 (DUCATTI et al., 2002), possibilitando dessa forma o cálculo da meia vida ($T_{50\%}$) e troca total de carbono ($T_{99\%}$):

$$T_{(f)} = [-1/(k)]\, ln\, (1 - f) \quad (5)$$

Em que:

$T_{(f)}$ = o tempo necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais, ou seja, o tempo de troca do carbono;

k = constante de crescimento, em unidades de tempo^{-1};

ln = logaritmo niperiano;

f = fração de átomos trocados, que pode variar de 0,50 a 0,99.

O cálculo de troca total fornece uma confiabilidade no cálculo da meia-vida, ou seja, permite atestar se o período experimental foi suficiente para que ocorresse a troca dos carbonos da fração avaliada pelos da nova dieta.

Hobson; Clark (1992) confirmaram que as composições isotópicas dos tecidos de animais geralmente assemelham-se às suas dietas, e esses traçadores são utilizados com eficácia em vários estudos, como em peixes (ZUANON et al., 2006), frangos de corte (CARRIJO et al., 2006), galinhas de postura (DENADAI et al., 2006), codornas de corte (MÓRI et al., 2008), suínos (CALDARA et al., 2007, 2008, 2010) e outras espécies animais.

Os constituintes corporais encontram-se em estado dinâmico, sendo continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos. Esse processo é geralmente chamado de *turnover*. Todas as substâncias do corpo sejam elas orgânicas ou inorgânicas, estão sujeitas ao *turnover* (HETENYI Jr; PEREZ; VRANIC, 1983). As

taxas de *turnover* podem variar entre as diferentes espécies, tecidos, frações bioquímicas e são influenciadas pelo estado fisiológico do animal (KENNEDY; KROUSE, 1990).

Segundo Gannes; Del-Rio; Koch (1998), dietas com assinaturas isotópicas distintas podem ser utilizadas para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais. Após a mudança da dieta, a alteração da composição isotópica no tecido depende da velocidade com que os constituintes da nova dieta serão incorporados. A escolha do tecido é importante, pois tecidos que são ativos metabolicamente no organismo apresentarão *turnover* mais rápido, como o fígado, músculo e sangue, e tecidos menos ativos apresentarão taxas menores, como o colágeno e o osso (HOBSON; CLARK, 1992).

A técnica dos isótopos estáveis pode ser útil em estudos de fisiologia e nutrição animal, uma vez que as taxas de substituição do carbono tecidual podem ser influenciadas por fatores ambientais, nutricionais e sanitários (CARRIJO; PEZZATO; DUCATTI, 2000). Nos últimos anos os isótopos estáveis têm sido aplicados de forma crescente em pesquisas com leitões para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos desses animais.

Caldara et al. (2007, 2008, 2010) avaliaram a influência da glutamina no *turnover* do carbono ($\delta^{13}C$) do tecido adiposo, nos músculos, vísceras e mucosa intestinal de leitões desmamados. Outros autores têm utilizado essa técnica em pesquisas com nucleotídeos também para mensurar o *turnover* nos tecidos corporais de leitões, Amorim (2012) avaliou o efeito da glutamina, glutamato e nucleotídeos no *turnover* do carbono ($\delta^{13}C$) na mucosa intestinal e Amorim et al. (2016) em órgãos de leitões desmamados. Santos et al. (2015) avaliaram os efeitos da adição de nucleotídeos púricos (inosinato e guanilato) e de ácido glutâmico nas dietas sobre o *turnover* do ^{13}C na mucosa intestinal em leitões na fase de creche.

Esses estudos, que usam os isótopos estáveis como marcadores em suas dietas dão estimativas de quão rapidamente os isótopos estáveis dos tecidos são substituídos por isótopos derivados da dieta, as quais são indicativos da taxa de *turnover* dos tecidos dos animais. Dessa forma, em situações de estresse, como no desmame, em que é rápida a proliferação celular na mucosa intestinal, os animais podem ser beneficiados pela suplementação com nucleotídeos (DOMENEGHINI et al., 2004; HOLEN; JONSSON, 2004), sendo a técnica de isótopos torna-se importante ferramenta para avaliar a taxa de *turnover* celular.

Assim, espera-se que os nucleotídeos adicionados às dietas possam influenciar o *turnover* do carbono da mucosa e parede intestinal, do baço, do fígado e do pâncreas de leitões recém-desmamados, auxiliando o processo de renovação celular e, consequentemente, melhorando a capacidade de adaptação dos leitões ao desmame.

O Capítulo 2, denominado "**Efeito dos níveis de nucleotídeos sobre o desempenho, peso relativo e *turnover* do ^{13}C no intestino delgado de leitões desmamados**", apresenta-se de acordo com as normas para publicação no **Journal of Animal Science**. O presente estudo objetivou avaliar a influência dos nucleotídeos (inosinato e guanilato dissódico) na capacidade de adaptação dos leitões ao desmame pelo estudo do desempenho, peso relativo do intestino delgado e *turnover* ^{13}C da mucosa e da parede intestinal do duodeno e jejuno.

O Capítulo 3, denominado "**Efeito dos níveis de nucleotídeos sobre o *turnover* do ^{13}C e peso relativo de órgãos de leitões desmamados**", apresenta-se de acordo com as normas para publicação no **Journal of Animal Science**. O trabalho objetiva avaliar a influência dos nucleotídeos (inosinato e guanilato dissódico) na capacidade de adaptação dos leitões ao desmame pelo estudo do *turnover* do ^{13}C e o peso relativo do baço, do fígado e do pâncreas.

3. REFERÊNCIAS

ABIMORAD, E. G. et al. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein turnover and amino acid utilization in pacu, *Piaractus mesopotamicus*, juveniles. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 433, p. 119-124, 2014.

ADJEI, A. A. et al. Comparative effects of dietary nucleoside- nucleotide mixture and its components on endotoxin induced bacterial translocation and small intestinal injury in protein deficient mice. **Gut**, Londres, v. 34, n. 4, p. 531-537, 1996.

AMORIM, A. B. **Efeito da glutamina, do glutamato e de nucleotídeos sobre o *turnover* do carbono ($\delta^{13}C$) em tecidos de leitões desmamados**. 2012. 112 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

AMORIM, A. B. et al. Effect of glutamine, glutamic acid and nucleotides on the turnover of carbon ($\delta^{13}C$) in organs of weaned piglets. **Asian-Australasian Journal of Animal Science**, Seoul, v. 29, n. 8, p.1152-1158, 2016.

ANDRADE, C. **Nucleotídeos na alimentação de leitões recém-desmamados.** 2013, 80 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2013.

ANDRADE, C. et al. Levedura hidrolisada como fonte de nucleotídeos para leitões recém- desmamados. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, p. 788-796, 2011.

ANDRÉS-ELIAS, N. et al. Effect of nucleotides and carob pulp on gut health and performance of weanling piglets. **Livestock Science,** Amsterdam, v. 108, p. 280-283, 2007.

ARANTES, V. M. et al. Níveis de zinco na dieta de leitões recém-desmamados sobre o perfil de parâmetros sanguíneos **Ciência Animal Brasileira**, Goiânia, v. 8, n. 2, p. 193-205, 2007.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL – ABPA. **Cenário Carnes 2014/2015**. São Paulo, 2015. Disponível em: http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/file/camaras_setoriais/Aves_e_suinos/25RO/Cen%C3%A1rio%20Carnes%202014%202015.pdf>. Acesso em: 14 dez. 2015.

AVATO, P. et al. Allylsulfide constituents of garlic volatile oil as antimicrobial agents. **Phytomedicine**, Jena, v. 7, p. 239-243, 2000.

BARBOSA, L. C. G. S. **Utilização de antibiótico, probiótico, prebiótico, simbiótico e gluconato de sódio sobre o desempenho e características de carcaça de suínos**. 2007, 66 f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2007.

BARNESS, L. A. Dietary sources of nucleotides – from breast milk to weaning. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 124, p. 128–130, 1994.

BERTOL, T. M.; LUDKE, J. V.; MORES, N. Efeito de Diferentes Fontes Protéicas sobre Desempenho, Composição Corporal e Morfologia Intestinal em Leitões. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 29, p. 1735-1742, 2000.

BOHORQUEZ, D. V. et al. Nutritional assessment of yeast extract NuPro® in male turkey poults. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 23, 2007, Lexington. **Proceedings…** Lexington: Alltech, 2007. p. 20.

BOUDRY, G. et al. Weaning induces both transient and long-lasting modifications of absorptive, secretory, and barrier properties of piglets' intestine. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 9, p. 2256-2262, 2004.

BRONK, J.; HASTEWELL, J. G. The transport of pyrimidines into tissue rings cut from rat small intestine. **Journal of Physiology**, Paris, v. 382, n. 1, p. 475-488, 1987.

BUDIÑO, F. E. L. et al. Influência da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre as atividades das enzimas digestivas e parâmetros sanguíneos. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v. 26, n. 4, p. 529-536, 2004.

BUENO, J. et al. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhea. Histological and ultra structural changes. **Gut**, Londres, v. 35, p. 926-933, 1994.

BUTOLO, J. E. **Qualidade de ingredientes na alimentação animal**. Campinas: CBNA, 2002. 430 p.

CALDARA, F. R. et al. Glutamina e *turnover* do carbono no tecido adiposo de leitões. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 11, p. 1601-1607, 2007.

CALDARA, F. R. et al. Efeito da glutamina sobre o *turnover* do carbono ($\delta^{13}C$) de músculos e vísceras de leitões desmamados: glutamina e *turnover* de carbono tecidual. **Acta Scientiarum Animal Science**, Maringá, v. 30, n. 3, p. 291-297, 2008.

CALDARA, F. R. et al. Glutamina e *turnover* do carbono da mucosa intestinal de leitões desmamados**. Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 39, n. 12, p. 2664-2669, 2010.

CARLSON, M. S.; VEUM, T. L.; TURK, J. R. Effects of yeast extract versus animal plasma in weanling pig diets on growth performance and intestinal morphology. **Journal of Swine Health and Production**, Perry, v. 3, p. 204–209, 2005.

CARRIJO, A. S. et al. Traceability of bovine meat and bone meal and bone meal in poultry by stable isotope analyses. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 8. p. 37-42, 2006.

CARRIJO, A. S.; PEZZATO, A. C.; DUCATTI, C. Nutritional metabolism evaluation of laying hens using stable-carbon isotopes ($^{13}C/^{12}C$). **Revista Brasileira de Ciência Avícola,** Campinas, v. 2, n. 3, p. 209-218, 2000.

CARVER, J. D. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal, and hepatic system effects. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, p. 144S-148S, 1994.

CARVER, J. D.; WALKER, W. A. The role of nucleotides in human nutrition. **Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 6, p. 58-72, 1995.

CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. Metabolismo dos nucleotídeos. In:_____. **Bioquímica ilustrada**. Porto Alegre: Artmed, 2009. cap. 22, p. 291-306.

CHU, S. W. Nucleotides: biochemistry and metabolism. **Seminars in Paediatric Gastroenterology and Nutrition**, Hamilton, v. 2, p. 6-11, 1991.

CLIFFORD, A. J. et al. Effect of oral purines on serum and urinary uric acid of normal, hyperuricemic and gouty humans. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, n. 106, p. 428–50, 1976.

COMPÊNDIO BRASILEIRO DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL. **Microingredientes:** microingredientes na alimentação animal. São Paulo: Sindirações; Anfal, 4 ed. 2013

COSGROVE, M. Perinatal and infant nutrition - nucleotides. **Perinatal and Infant Nutrition**, Fordham, v. 14, n. 10, p. 748–751, 1998.

CRAIG, H. Isotopic standards for carbon and oxygen and correction factors for massspectrometricanalysis of carbon dioxide. **Geochimica et Cosmochimica Acta**, Oxford, v. 12, p. 133-149, 1957.

DALLANORA, D.; BIERHALS, T.; MAGNABOSCO, D. Manejos de maternidade na produção de suínos: gestão da maternidade em granjas hiperprolificas. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE SUÍNO – ABCS (Org.). **Produção de suínos**: teoria e prática. Brasília, DF: ABCS, 2014.

DANCEY, C. P.; ATTREE, E. A.; BROWN, K. F. Nucleotide supplementation: a randomised double-blind placebo controlled trial of IntestAidIB in people with Irritable Bowel Syndrome. **Nutrition Journal**, Glandale, v. 5, p. 16–24, 2006.

DENADAI, J. C. et al*.* Studies on carbon-13 turnover in eggs and blood of commercial layers. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 8, p. 251-256, 2006.

DOMENEGHINI, C. et al. Structural patterns of swine ileal mucosa following L- glutamine and nucleotide administration during the weaning period. An histochemical and histometrical study. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 19, p. 49–58, 2004.

DUCATTI, C. et al*.* Theorical and experimental model for carbon-13 turnover in mammalian and avian tissues. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 59, n. 1, p. 29-33, 2002.

DUCATTI, C. **Isótopos estáveis ambientais**. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2007. 204 p. Apostila.

DUCATTI, C.; SALATI, E.; MATSUI, E. Método de análise da ração $^{13}C/^{12}C$ em matéria orgânica e das razões $^{13}C/^{12}C$ e $^{18}O/^{16}O$ em carbonatos. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 51, n. 2, p. 275-286, 1979.

EASTER, R. A. Acidification of diets for pigs. In: COLE, D. J. A.; HARESIGN, W.; GARNSWORTHY, P. C. **Recent development in pig nutrition 2**. Nottingham: University Press, 1993. chap. 17, p. 256-266.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA – EMBRAPA. **ICP/Suíno/Embrapa,** Concórdia, 2015. Disponível em:

<http://www.cnpsa.embrapa.br/cias/index.php?option=com_content&view=article&id=279>. Acesso em: 11 jan. 2015.

FRIEDMAN, I.; O´NEIL, J. R. Compilation of stable isotope fractionation factors of geochemical interest. In Fleischer M. (Ed.). **Data of Geochemistry** 6ª ed. Washington: United States government printing office, 1977, p. 1-12.

FRY, B. **Stable Isotope Ecology**. Nova York: Springer Science, 2006. 390 p.

GANNES, L. Z.; DEL-RIO, C. M.; KOCH, P. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v. 119A, n. 3, p. 725-737, 1998.

GASKINS, H. R.; KELLEY, K. W. Immunology and neonatal mortality. In: VARLEY, M. A. (Ed.). **The neonatal pig**: development and survival. Wallingford: CAB International, 1995. p. 39-55.

GROOT, P. A. **Handbook of stable isotope analytical techniques**. Amsterdam: Elsevier, 2004. 1234 p.

HEO, J. M. et al. Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhea without using in-feed antimicrobial compounds. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 97, p. 207–237, 2012.

HETENYI Jr. G.; PEREZ, G.; VRANIC, M. Turnover and precursor-product relationships of nonlipid metabolites. **Physiological Reviews**, Washington, v. 63, p. 606-667, 1983.

HO, F. C. S., WONG, R. L. C.; LAWTON, F. W. M. Human colostral and breast milk cells: a light and electron microscopic study. **Acta Paediatrica Scandinavica**, Stockholm, v. 68, p. 389-396, 1979.

HOBSON, K. A.; CLARK, R. G. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of ^{13}C in tissues, **The Condor**, Berkeley, v. 94, p. 181-188, 1992.

HOLEN, E.; JONSSON, R. Dietary nucleotides and intestinal cell lines: 1. Modulation of growth. **Nutrition Research**, Tarrytown, v. 24, p. 197-207, 2004.

KELLY, D.; COUTTS, A. G. P. Development of digestive and immunological function in neonates: role of early nutrition. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 66, n. 2, p. 161- 167, 2000.

KELLY, D.; SMYTH, J. A., McCRACKEN, K. J. Effect of creep feeding on structural and functional changes of the gut of early weaned pigs. **Research in Veterinary Science**, London, v. 48, n. 3, p. 350-356, 1990.

KENNEDY, B. V.; KROUSE, H. R. Isotope fractionation by plants and animals: implications for nutrition research. **Canadian Journal Physiology and Pharmacology**, Otawa, v. 68, p. 960-972, 1990.

KISHIBUCHI, M. et al. Effects of nucleoside and nucleotide mixture on gut mucosal barrier function on parenteral nutrition in rats. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v. 21, n. 2, p. 104-111, 1997.

LALLÈS, J. P. et al. Weaning - a challenge to gut physiologists. **Livestock Production Sciences**, Amsterdam, v. 108, p. 82-93, 2007.

LALLÈS, J.P. Nutrition and gut health of the young pig around weaning: what news. **Archiva Zootechnica**, Balotesti, v. 11, p. 5-15, 2008.

LEE, D. N. et al. Effects of diets supplemented with organic acids and nucleotides on growth, immune responses and digestive tract development in weaned pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 91, n. 11-1, p. 508-518, 2007.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica**. 2. ed. São Paulo: Sarvier,1995, 839 p.

LERNER, A. M. D. M; SHAMIR, R. M. D. Nucleotides in infant nutrition: A must or an option. **Israel Medical Association Journal**, Ramatgan, v. 2, p. 772–774, 2000.

LI, F. D et al. Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 6, p. 1790-1799, 1990.

LI, F. D. et al. Measuring suitability of soybean products for early-weaned pigs with immunological criteria. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, n. 8, p. 3299-3307, 1991.

LINDEMANN, M. D. et al. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 62, n. 5, p. 1298-1307, 1986.

MAIA, G. A. R. et al. Qualidade dos ovos de poedeiras comerciais alimentadas com levedura seca de cana-de- açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 9, p. 1295-1300, 2002.

MAKKINK, C. A. et al. Effect of dietary protein source on feed intake, growth, pancreatic enzyme activities and jejunal morphology in newly-weaned piglets. **British Journal of Nutrition**, London, v. 72, n. 3, p. 353-368, 1994.

MARIBO, H. Weaning pigs without antibiotic growth promoters: strategies to improve health and performance. In: NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 19., 2003, Lexington. **Proceedings**… Lexington: Nottingham University Press, 2003. v. 1. p. 179-184.

MARTINELLI, L. A. et al. **Desvendando questões ambientais com isótopos estáveis.** São Paulo: Oficina dos Textos. 2009, 144p.

MARTINEZ-PUIG, D. et al. Dietary nucleotide supplementation reduces occurrence of diarrhoea in early weaned pigs. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 108, p. 276–279, 2007.

MATEO, C. D.; DAVE, R. I.; STEIN, H. H. Effect of supplemental nucleosides for newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaing, v. 2, p. 21, 2004.

MATEO, C.D.; STEIN, H.H. Nucleotides and young animal health: can we enhance intestinal tract development and immune function. In: ANNUAL SYMPOSIUM ON NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES, 2004,

Lexington; ANNUAL SYMPOSIUM ON NUTRITIONAL BIOTECHNOLOGY IN THE FEED AND FOOD INDUSTRIES. 20., 2004, **Proceedings…** Lexington: Alltech, 2004. p. 159-168. Suppl. 1.

McCOWEN, K. C.; BISTRIAN, B. R. Immunonutrition: problematic or problem solving. **The American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 77, p. 764-770, 2003.

MELLOR, S. Alternatives to antibiotics. **Pig Progress**, Doetinchem, v. 16, n. 1, p. 18-21, 2000a.

MELLOR, S. The way to piglet health is through the gut. **Pig Progress**, Doetinchem, v. 16, n. 8, p. 28-29, 2000b.

MENTEN, J. F. M.; MIYADA, V. S. Effects of antimicrobial feed additives, alone or in combination on weanling pigs. In: ANNUAL MEETING – AMERICAN SOCIETY OF ANIMAL SCIENCE, 1995, Orlando. **Proceedings…** Illinois: American Society of Animal Science, 1995. p. 174.

MILLWARD, D. J. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 79, p. 1–28, 1989.

MONTAGNE, L. et al. Proposition of markers of the changes in gut architecture and function in piglets after weaning. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 97, p. 45-57, 2007.

MORES, N. et. al. Manejo do leitão desde o nascimento até o abate. In: SOBESTIANSKY, J. (Ed.). **Suinocultura Intensiva**. Brasília, DF: Embrapa, 1998. p. 135-162.

MÓRI, C. et al. Poultry offal meal traceability in meat quail tissues using the technique of stable carbon ($^{13}C/^{12}C$) and nitrogen ($^{15}N/^{14}N$) isotopes. **Revista Brasileira de Ciência**, Campinas, v. 10, p. 45-52, 2008.

NABUURS, M. J. A.; ZIJDERVELD, F. G.; DE LEEUW, P. W. Villus height and crypt depth in weaned and unweaned pigs, reared under various circunstances in the Netherlands. **Research Veterinary Science**, London, v. 55: 78-84, 1993.

NAGANAWA, R. et al. Inhibition of microbial growth by ajoene, a sulfur-containing compound derived from garlic. **Applied Environmental Microbiology**, Washington, v. 62, p. 4238-4242, 1996.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**, 6ª edition, W. H. Freeman and Company, New York e Basingstoke. 2014.

NORTON, R. et al. Use of nucleotides in weanling rats with diarrhea induced by a lactose overload: effect on the evolution of diarrhea and weight and on the histopathology of intestine, liver and spleen. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 34, p. 195-202, 2001.

O'LEARY, M. H. Carbon isotope fractionation in plants. **Phytochemistry,** London**,** v. 20, n. 4, p. 553-567, 1981.

OHYANAGI, H. et al. Effects of nucleosides and a nucleotide on DNA and RNA syntheses by the salvage and de novo pathway in primary monolayer cultures of hepatocytes and hepatoma cells. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Thousand Oaks, v. 13, p. 51-58, 1989.

OVERLAND, M. et al. Effect of dietary formates on growth performance, carcass traits, sensory quality, intestinal microflora, and stomach alterations in growing-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 78, p. 1875-1884, 2000.

PLUSKE, J. R. New thoughts on nutrition of newly weaned pigs. In: London Swine Conference – Thinking Globally, 6., 2006, Ontario. **Proceedings…** London, London Swine Conference London, 2006, p. 63-73.

PLUSKE, J. R.; HAMPSON, D. J.; WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Sciences**, Amsterdam, v. 51, n. 3, p. 215-236, 1997.

PLUSKE, J. R.; WILLIAMS, I. H.; AHERNE, F. X. Maintenance of villous height and crypt depth in the small intestine of weaned pigs. In: *Manipulating pig production III*. Australian Pig Science Association: Ed. Baterham.. 1991. p. 143.

QURESHI, M. A. Differential expression of inducible nitric oxide synthase is associated with differential Toll-like receptor – 4 expression in chickens' macrophages from different genetic backgrounds. **Veterinary Immunology Immunopathology**, Amsterdam, v. 84, n. 3, p. 191- 207, 2002.

ROSSI, P.; XAVIER, E. G.; RUTZ, F. Nucleotídeos na alimentação animal. **Revista Brasileira Agrociência**, Pelotas, v.13, n.1, p. 5-12, 2007.

RUTZ, F.et al. Cuidados críticos na nutrição inicial de aves: Alternativas para melhorar o desempenho e o papel essencial dos nucleotídeos. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DA INDÚSTRIA DE ALIMENTAÇÃO ANIMAL, 2., 2005, Curitiba. **Anais...** Curitiba: Alltech Biotechnology, 2005, p.19-39.

SALATI, L. M. et al. Absorption and metabolism of adenine, adenosine-5'-monophosphate, adenosine and hypoxanthine by the isolated vascularly perfused rat small intestine. **Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 114, p. 753-760, 1984.

SANDERSON, I. R.; HE, Y. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. **Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 2, p. 124- 137, 1994.

SANT'ANA, D. S. **Adição De Leveduras (*Saccharomyces Cerevisae*) Na Dieta De Leitões Desmamados**. 2012, 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Faculdade De Medicina Veterinária, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

SANTOS, L. S. **Nucleotídeos e ácido glutâmico em dietas de leitões desmamados.** 2015, 44 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

SANTOS, L. S. et al. ***Turnover* do ^{13}C na mucosa intestinal de leitões alimentados com nucleotídeos e ácido glutâmico**. In: Congresso Associação Brasileira de

Veterinários Especialistas em Suínos, 17., 2015, Campinas. *Anais...* Campinas, Embrapa Suínos e Aves, 2015, p.50-52.

SAUER, N. et al. Short-term effect of dietary yeast nucleotide supplementation on small intestinal enzyme activities, bacterial populations and metabolites and ileal nutrient digestibilities in newly weaned pigs. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 96, p. 700-708, 2012.

SAUER, N.; BAUER, E.; MOSENTHIN, R. The effects of pure nucleotides on performance, humoral immunity, gut structure and numbers of intestinal bacteria of newly weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 90, p. 3126–3134, 2012.
SAUER, N.; MOSENTHIN, R.; BAUER, E. The role of dietary nucleotides in singlestomached animals. **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 24, p. 46-59, 2011.

SILVA, L. P.; NÖRNBERG, J. L. Prebióticos na nutrição de não ruminantes**. Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, p. 55-65, 2003.

SMITH, B.N.; EPSTEIN, S. Two categories of $^{13}C/^{12}C$ rations of higher plants. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 47, p. 380-384, 1971.

SONODA, T.; TATIBANA, M. Metabolic fate of pyrimidines and purines in dietary nucleic acids ingested by mice. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 521, p. 55-66, 1978.

SPRING, P. **Effect of Nupro® on commercial pig performance in Switzerland**. Zurich: [s.n.], 2001.

SUPERCHI, P. et al. Effects of dietary nucleotide supplementation on growth performance and hormonal and immune responses of piglets. **Animal**, Munich, v. 1, p. 1-7, 2012.

TEIXEIRA, M. P. et al. Avaliação de ácidos orgânicos e inorgânicos em dietas para leitões desmamados aos 21 dias de idade. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 40., 2003, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 2003. 1 CD-ROM.

TIBBETS, G. W. Nucleotides from yeast extract: potential to replace animal protein sources in food animal diets. In: BIOTECHNOLOGY IN THE FEED INDUSTRY, 18, 2002, Lexington, **Anais…** Lexington: Nottingham University Press, 2002. v. 1. p. 435-443.

TIESZEN, L. L et al. Fractionation and turnover of stable carbon isotopes in animal tissues: implications for δ ^{13}C analysis of diet. **Oecologia,** Heidelberg, v. 57, p. 32-37, 1983.

TSUJINAKA, T. et al. Nucleotides and intestine. **Journal of Parenteral and Enteral Nutrition**, Silver Spring, v. 23, p. 74-77, 1999.

UAUY, R. Dietary nucleotides and requirements in early life. In: LEBENTHAL, E. (Ed.) **Textbook of Gastroenterology and Nutrition in Infancy**. 2º Ed. New York: Raven Press Ltd., 1989. p. 265–280.

UAUY, R.; QUAN, R.; GIL, A. Role of nucleotides in intestinal development and repair: implications for infant nutrition. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 124, p. 1436-1441, 1994.

UAUY, R. et al. Effect of dietary nucleotides of growth and maturation of the developing gut in rat. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition,** New York, v. 10, p. 497-503, 1990.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, FOREIGN AGRICULTURAL – USDA. **Livestock and Poultry: World Markets and Trade.** Washington, 2015. Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf> Acesso em: 16 dez. 2015.

Van DER PEET-SCHWERING, C. M. C. et al. Effects of yeast culture on performance, gut integrity, and blood cell composition of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 85, p. 3099–3109, 2007.

VIOLA, E. S.; VIEIRA, S. L. Ácidos orgânicos e suas combinações em dietas de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO E NUTRIÇÃO DE AVES E SUÍNOS, 2., 2003, Cascavel. **Anais...** Cascavel: Colégio Brasileiro de Nutrição Animal, 2003. p. 153-182.

VOGEL, J. C. Variability of carbon isotope fractionation during photosynthesis. In: EHLERINGER, J.R.; HALL, A.E.; FARQUHAR, G.D. **Stable isotopes and plant carbon-water relations**, p.29-46, 1993.

WANG, L. F. et al. Dietary nucleotides protect thymocyte DNA from damage induced by cyclophosphamide in mice. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 92, p. 211–218, 2008.

WEAVER, A. C.; KIM, S. W. Supplemental nucleotides high in inosine 5'-monophosphate to improve the growth and health of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 95, p. 645- 651, 2014.

WITTE, D. P. et al. Coordinate developmental regulation of purine catabolic enzyme expression in gastrointestinal and post implantation reproductive tracts. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 115, n. 1, p. 179-190, 1991.

WOLFE, R. R.; CHINKES, D. L. Measurement of the synthesis of specific proteins. In: _____(Ed.). ***Isotope Tracers in Metabolic Research***: Principles and Practice of Kinetic Analysis. New Jersey: John Wiley & Sons, 2005. pp. 325–360.

YAMAGUCHI, N.; KODAMA, M.; UEDA, K. Diadenosine tetraphosphate as a signal molecule linked with the functional state of rat liver. **Gastroenterology,** Bethesda, v. 89, p. 723-731, 1985.

YAMAMOTO, S. et al. Role of nucleosides and nucleotides in the immune system, gut reparation after injury, and brain function. **Nutrition**, New York, v. 13, p. 372-374, 1997.

YU, I. T. et al. Roles of glutamine and nucleotides in combination in growth, immune responses and FMD antibody titers of weaned pigs. **Animal Science**, Cambridge, v. 75, p. 379-385, 2002.

ZIEGERHOFER, J. Einfluss von Zinkoxid auf die enteropathogen *E. coli* von Absetzferkeln im Feldversuch. **Wiener tierärztliche Monatsschrift,** Vienna,v. 52, p. 503-508, 1988.

ZUANON, J. A. S. et al. Muscle ^{13}C change in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects of growth and carbon turnover. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Philadelphia, v. 145, p. 101-107, 2006.

CAPÍTULO 2

Efeito dos níveis de nucleotídeos sobre o desempenho, peso relativo e *turnover* do ^{13}C no intestino delgado de leitões desmamados

RESUMO: O presente estudo objetivou avaliar a influência dos nucleotídeos (inosinato e guanilato dissódico) sobre o desempenho, peso relativo e *turnover* do ^{13}C no intestino delgado de leitões desmamados com idade média de 21 dias. Foram avaliados os seguintes tratamentos: dieta controle sem suplementação de nucleotídeos (Nu); dietas contendo 0,2% de Nu; 0,4% de Nu e 0,6% de Nu. No primeiro experimento 84 leitões desmamados (6,04 ± 0,25 kg), foram distribuídos em um delineamento experimental em blocos ao acaso com quatro tratamentos (níveis de Nu), sete repetições e três animais por unidade experimental, para avaliação do desempenho. No segundo experimento foram utilizados 87 leitões desmamados (6,03 ± 0,23 kg) em delineamento experimental em blocos ao acaso, com os mesmos tratamentos, sendo abatidos três leitões no dia do desmame (dia zero) e três leitões por tratamento nos dias 3, 5, 8, 12, 23, 35 e 49 após o desmame, para avaliar o *turnover* do ^{13}C na mucosa e na parede intestinal (duodeno e jejuno) e o peso relativo do intestino delgado. No primeiro experimento não foi verificado efeito dos tratamentos ($P > 0,05$) nas variáveis de desempenho dos leitões no período de 21 a 36 dias de idade. No período de 21 a 48 dias de idade dos leitões houve efeito quadrático ($P < 0,01$) dos níveis de Nu no consumo diário de ração e ganho diário de peso. No período experimental total (21 a 55 dias de idade dos leitões) verificou-se efeito quadrático dos níveis de Nu no ganho diário de peso. No segundo experimento foram observadas diminuições da meia-vida do ^{13}C para a mucosa e parede do duodeno no tratamento 0,4% de Nu e para a mucosa e parede do jejuno no tratamento 0,2% de Nu e no 12º dia de abate houve efeito linear ($P < 0,01$) dos níveis de Nu no peso relativo do intestino delgado. A suplementação de Nu na dieta de leitões melhora o desempenho e acelera o *turnover* do carbono da parede e mucosa intestinal, sugerindo sua recuperação mais rápida no período pós-desmame.

Palavras-chave: Aditivos, Guanilato Dissódico, Inosinato Dissódico, Isótopos Estáveis, Leitões, *Turnover*

Effect of nucleotide levels on performance, relative weight and carbon *turnover* ^{13}C in the small intestine of weaned piglets

ABSTRACT: This study was conducted to evaluate effects of dietary supplementation of nucleotide (disodium 5 guanylate and disodium 5 inosinate) on the growth performance, relative weight and carbon turnover ^{13}C of the small intestine of weaned piglets of 21 days of age. The treatments were dietary supplementation with 0% (control); 0.2%; 0.4% or 0.6% nucleotide of diet. In the first trial eighty-four weaned piglets (6.04 ± 0.25 kg average initial BW) were allotted to four dietary treatments (Nu levels) with seven pens per treatment and three pigs per pen, in a randomized complete block design to evaluate the performance. In the second trial eighty-seven weaned piglets (6.03 ± 0.23 kg average initial BW) were used in a randomized complete block design. with the same treatments, and on the day of weaning (day zero) were slaughtered three piglets and days 3, 5, 8, 12, 23, 35 and 49 after weaning, three pigs per treatment were slaughtered, to evaluate the effect of nucleotide on the turnover ^{13}C in the mucosa and intestinal wall (duodenum and jejunum) and relative weight of the small intestine. During the first period (21 to 36 days of age), no differences were detected on the performance. During the second period (21 to 48 days of age), a quadratic effect ($P < 0.01$) of the levels of nucleotide was verified on average daily feed intake and average daily weight gain. During the whole experimental period (21 to 55 days of age), there was a quadratic effect of the levels of nucleotide ($P < 0.01$) on average daily weight gain. In the second experiment were observed decrease half-life to the duodenum mucosal and wall in treatment 0.4% Nu and jejunum mucosa and wall in treatment 0.2% Nu and 12th day of slaughter there was a linear effect ($P < 0.01$) of Nu levels relative weight of the small intestine. The nucleotide supplementation in the diets of pigs improves performance and accelerates the carbon turnover of mucosa and intestinal wall, suggesting a faster recovery post-weaned.

Key Words: Additives, Disodium 5 guanylate, Disodium 5 inosinate, Pigs, Stable Isotopes, Turnover

INTRODUÇÃO

O desmame é uma etapa complexa, envolvendo diversos fatores estressantes, como mudança de dieta e ambiente, abrupta separação da mãe, estressores sociais e psicológicos, os quais interferem profundamente no consumo de ração, e consequentemente no desenvolvimento e adaptação do trato gastrintestinal dos leitões às dietas de desmame (Lallès, 2008).

Na tentativa de assegurar o desempenho satisfatório e de minimizar os distúrbios digestivos dos leitões na fase pós-desmame, pesquisas são conduzidas com o uso de nucleotídeos na ração visando estimular o crescimento e a diferenciação das células intestinais dos leitões recém-desmamados (Rutz et al., 2005; Rossi et al., 2007; Sauer et al., 2012; Weaver e Kim, 2014).

Nucleotídeos são compostos intracelulares de baixo peso molecular, essenciais para inúmeros processos bioquímicos (Superchi et al., 2012), com efeitos importantes sobre o crescimento e desenvolvimento de tecidos de rápido *turnover* celular, tais como do trato gastrintestinal (Wang et al., 2008). Os nucleotídeos da dieta podem ser considerados essenciais quando a produção endógena é insuficiente para garantir a função normal do organismo, embora sua ausência da dieta não caracterize um sintoma clássico de deficiência clínica (Mateo et al., 2004).

Em situações de estresse, como no desmame, em que é rápida a proliferação celular na mucosa intestinal, os animais podem ser beneficiados pela suplementação com nucleotídeos (Domeneghini et al., 2004; Holen e Jonsson, 2006), proporcionando menor atrofia das vilosidades intestinais (Martinez-Puig et al., 2007) ou até a recuperação intestinal em situações patológicas diversas (Sauer et al., 2012).

A técnica de isótopos estáveis tem sido utilizada como ferramenta nos estudos em nutrição animal, sendo aplicada de forma crescente em pesquisas com leitões para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos desses animais. O *turnover* dos componentes corporais pode ser mensurado a partir de dietas com assinaturas isotópicas distintas (Zuanon et al., 2006). Caldara et al. (2007, 2008, 2010) avaliaram a influência da glutamina no *turnover* do carbono ($\delta^{13}C$) do tecido adiposo, nos músculos, vísceras e mucosa intestinal de leitões desmamados.

O uso da técnica de isótopos para mensurar os efeitos dos nucleotídeos na dieta de leitões, demonstrou que a suplementação de 1% de nucleotídeos acelera o *turnover* do ^{13}C das mucosas do duodeno e do jejuno, sugerindo a recuperação mais rápida no período pós-desmame (Amorim, 2012). Entretanto, Santos et al. (2015), verificaram que a adição de 0,1% de nucleotídeos púricos (inosinato e guanilato) nas dietas de leitões recém-desmamados não influenciou o *turnover* do ^{13}C na mucosa intestinal.

Assim, objetivou com essa pesquisa avaliar a influência dos nucleotídeos na capacidade de adaptação dos leitões ao desmame pelo estudo do desempenho, peso relativo do intestino delgado e *turnover* do ^{13}C da mucosa e da parede intestinal.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram conduzidos dois experimentos na UNESP, nas instalações experimentais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ/UNESP, Câmpus de Botucatu, e todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) dessa instituição, sob o protocolo nº 155/2013 – CEUA.

Instalações e dietas experimentais

Um total de 171 leitões desmamados divididos em dois estudos, com idade média de 21 dias, foram alojados em baias suspensas de 1,70 m^2 com piso ripado (três animais por baia), equipadas com comedouro, bebedouro tipo chupeta e campânula com resistência elétrica. Cortinas instaladas nas laterais mantinham a ventilação interna do galpão e um termômetro de máxima e mínima foi instalado a 0,80 m do piso das baias para auxiliar no controle diário de funcionamento das campânulas de aquecimento.

Em cada parcela, em ambos os experimentos, os animais receberam uma dieta basal, com a suplementação de níveis crescentes de nucleotídeos, a fim de se obter quatro níveis de nucleotídeos (0,0; 0,2%; 0,4%; 0,6%). A fonte de nucleotídeos utilizada era composta de guanilato e inosinato dissódico com 98% de pureza.

Durante o período de creche os leitões receberam três tipos de dietas, de acordo com o sistema de alimentação por fases, sendo para os experimentos 01 e 02: Fase 1 - dieta pré-inicial 1 (21 aos 36 dias de idade); Fase 2 - dieta pré-inicial 2 (37 aos 48 dias de idade), Fase 3 para o experimento 01 - dieta inicial (49 aos 55 dias de idade), e sendo estendida para o experimento 02: Fase 3 - dieta inicial (49 aos 70 dias de idade). Todas as dietas foram isoenergéticas, isoprotéicas e formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, de acordo com Rostagno et al. (2011).

A principal fonte energética das dietas experimentais foi a quirera de arroz, matéria-prima oriunda de planta do ciclo fotossintético C_3, para que, assim, as dietas apresentassem assinaturas isotópicas de ^{13}C, distintos das dietas fornecidas às matrizes, cuja ração de lactação apresentava valor de $\delta^{13}C$ -16,1‰, pois receberam dietas nas quais a fonte energética principal foi o milho, planta de ciclo fotossintético C_4. O procedimento de alterar a razão isotópica das dietas fornecidas aos leitões após o desmame em relação

àquelas fornecidas às matrizes em lactação, foi necessária para possibilitar a alteração na assinatura isotópica do tecido animal para captar a taxa de *turnover* no duodeno e jejuno dos leitões depois do desmame e, com isso, determinar a influência do uso dos nucleotídeos nas taxas de renovação tecidual destes animais.

As composições percentuais das dietas basais são apresentadas na Tabela 1 e os valores nutricionais calculados, bem como os valores determinados da assinatura isotópica ($\delta^{13}C$) das dietas são apresentados na Tabela 2.

Experimento 01

Neste experimento foram utilizados 84 leitões híbridos comerciais (machos castrados e fêmeas) desmamados com 21 dias de idade e peso médio de 6,04 ± 0,25 kg. O delineamento experimental utilizado foi em blocos ao acaso, com quatro tratamentos (Tabela 1), sete repetições e três animais por unidade experimental. O critério adotado para formação dos blocos foi o peso e o sexo dos leitões. O período experimental foi de 34 dias (21 a 55 dias de idade dos leitões).

Para avaliação dos dados de consumo médio diário de ração, ganho médio diário de peso e conversão alimentar nos períodos de 21 a 36, 21 a 48 e 21 a 55 dias de idade dos leitões, foram registradas as quantidades de ração consumidas e realizadas pesagens dos leitões no início, no 36°, 48° e 55° dias de idade.

Os dados de desempenho foram submetidos à análise de regressão utilizando-se o PROC GLM do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA), atribuindo-se significância de 5%.

Experimento 02

Neste experimento foram utilizados 87 leitões híbridos comerciais (machos castrados e fêmeas) desmamados com 21 dias de idade e peso médio de 6,03 ± 0,23 kg.

No dia do desmame (dia zero) foram abatidos três leitões, com o objetivo expressar a composição isotópica da mucosa e parede do duodeno e jejuno, que até então correspondem à ração fornecida às matrizes nas fases de gestação e lactação e a ração fornecida para os leitões na maternidade.

Os 84 leitões restantes foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso com quatro tratamentos (Tabela 1), sendo abatidos, após eletronarcose, três leitões por tratamento nos dias 3, 5, 8, 12, 23, 35 e 49 após o desmame, sendo cada animal a unidade experimental. O critério adotado para formação dos blocos foi o peso e o sexo dos leitões.

Para avaliação do peso relativo do intestino delgado os leitões foram pesados antes do abate e, após o abate, o ventre dos animais foi aberto e o conteúdo do trato digestório foi retirado. Os intestinos foram lavados e colocados sobre peneiras para drenagem do excesso de umidade e em seguidas pesados para determinação do peso absoluto e, com base no peso do animal vazio (peso vivo menos conteúdo de digesta), foram calculados os pesos relativos.

Para avaliação da composição isotópica dos tecidos, foram retirados segmentos de aproximadamente 15 cm de comprimento das porções proximais do duodeno e do jejuno, as quais foram lavadas com água destilada e abertas pela borda mesentérica, sendo lavados novamente e em seguida, coletadas amostras da parede intestinal, que foram acondicionadas em sacos plásticos, e da mucosa, por meio de raspagem com lâmina de vidro, e acondicionadas em micro tubos plásticos (eppendorfs de 1,5 mL). Após as coletas

as amostras foram identificadas e imediatamente congeladas (-18ºC) até a sua preparação para as análises isotópicas.

Para a realização das análises isotópicas, para avaliar o *turnover* do ^{13}C da parede intestinal dos leitões, as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada a 56ºC por um período de 48 horas. As amostras da mucosa intestinal foram secas por liofilização, os microtubos plásticos foram congelados em nitrogênio líquido e posteriormente acomodados nas prateleiras da câmara de vácuo à -55ºC com pressão em torno de 50 mmHg por 48 horas em liofilizador L108 (LioTop).

Após a secagem, todas as amostras, incluindo as dietas, foram moídas em moinho criogênico à -196ºC (Spex-modelo 6750 freezer/mil), por três minutos, em alta frequência (9700 rpm) para obtenção de material homogêneo com aspecto microscópico (menor 60μm).

As análises isotópicas das amostras foram realizadas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, Câmpus de Botucatu. Foram pesadas em balança analítica de alta sensibilidade alíquotas de 50 a 70μg em cápsulas de estanho.

Para determinar a composição isotópica das amostras foi utilizado o espectrômetro de massas de razões isotópicas (*Delta V Advantage Isotope Ratio MS, Thermo Scientific*, Alemanha) acoplado ao Analisador Elementar (*Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA for IRMS*), no qual em presença de oxigênio e óxido de cobre foram queimadas quantitativamente para dióxido de carbono (CO_2). Os gases então formados foram separados em colunas cromatográficas gasosa e analisado em espectrômetro de massa.

Os resultados foram expressos em notação δ (delta) ^{13}C, em relação ao carvão (padrão de trabalho), o qual está em relação ao padrão internacional *PeeDee Belemnite* (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela Eq. 1:

$$\delta\ ^{13}C_{(amostra,\ padrão)} = [(R_{amostra}/R_{padrão}) - 1] \times 10^3 \qquad (1)$$

Em que:

$\delta^{13}C$ é o enriquecimento relativo da razão $^{13}C/^{12}C$ da amostra em relação ao padrão PDB, em partes per mil ‰ (Adimensional);

R = razão isotópica $^{13}C/^{12}C$ da amostra e do padrão (Adimensional).

Para mensurar quantitativamente a velocidade de substituição do carbono da mucosa e da parede do duodeno e do jejuno, nos 49 dias de experimento, foi empregada a função exponencial do tempo, expressa pela Eq. 2 (Ducatti et al., 2002):

$$\delta^{13}C_{(t)} = \delta^{13}C_{(f)} + [\delta^{13}C_{(i)} - \delta^{13}C_{(f)}]\ e^{-(k)t} \qquad (2)$$

Em que:

$\delta^{13}C_{(t)}$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}C_{(f)}$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}C_{(i)}$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial;

k = constante de crescimento em unidades de tempo $^{-1}$;

t = tempo (em dias) desde a substituição da ração.

O tempo (T) necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais foi determinada pela Eq. 3, na qual o valor de f (átomos trocados) pode variar de zero (0) a 0,9999. Para o cálculo de meia vida, f assume o valor de 0,5 e para o cálculo do tempo total, f assume o valor de 0,95:

$$T = [-1/(k)]\ ln\ (1-f) \qquad (3)$$

Em que:

T = meia-vida, unidade: tempo (dias);

k = constante de crescimento em unidades de tempo^{-1};

ln = logaritmo neperiano;

A meia-vida fornece a estimativa de velocidade no processo de troca dos isótopos estáveis nos tecidos (Zanden et al., 2015). O cálculo de troca total (equilíbrio isotópico) fornece confiabilidade no cálculo da meia vida, ou seja, se o período experimental foi suficiente para que ocorresse a troca dos carbonos da fração avaliada pelos da nova dieta, só assim o parâmetro meia vida serve para a comparação dos tratamentos.

Os dados obtidos pela análise isotópica foram analisados pelo ajuste da regressão não linear exponencial de primeira ordem no software OriginPro® 8 Professional (Microcal Software, 2007). Os dados do peso relativo do intestino delgado foram submetidos à análise de regressão utilizando-se o PROC GLM do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA), atribuindo-se significância de 5%.

RESULTADOS

Não foi verificado efeito dos tratamentos ($P > 0,05$) nas variáveis de desempenho (Tabela 3) dos leitões no período de 21 a 36 dias de idade. No período de 21 a 48 dias de idade dos leitões houve efeito quadrático ($P < 0,01$) dos níveis de nucleotídeos no consumo diário de ração ($CDR = 0,5708 + 0,4757X – 0,7589X^2$, $R^2 = 0,725516$, Fig. 01) e ganho diário de peso ($GDP = 0,3994 + 0,3523X – 0,5438X^2$, $R^2 = 0,738449$, Fig. 02). No período experimental total (21 a 55 dias de idade dos leitões) verificou-se efeito quadrático ($P < 0,01$) dos níveis de nucleotídeos somente no ganho diário de peso ($GDP = 0,4717 + 0,2563X – 0,4196X^2$, $R^2 = 0,762134$, Fig. 03).

Pelas equações de regressão o consumo diário de ração no período de 21 a 48 dias de idade foi maximizado com adição de 0,313% de nucleotídeos, o ganho diário de peso nos períodos de 21 a 48 foi maximizado com a adição de 0,324% de nucleotídeos e no período de 21 a 55 dias de idade dos leitões o ganho diário de peso foi maximizado com adição de 0,305% de nucleotídeos nas dietas. Baseado nesses resultados, podemos inferir que os resultados foram maximizados com a adição de 0,3% de nucleotídeos nas dietas de leitões desmamados.

Os resultados da meia vida (dias), e o tempo para 95% de troca total de átomos de carbono-13 da mucosa e parede intestinal durante o período estudado (0 a 49 dias de experimento) estão apresentados na Tabela 4. Observa-se que todos os tratamentos chegaram próximos do patamar de equilíbrio isotópico, uma vez que o valor isotópico do carbono-13 médio das dietas fornecidas aos leitões durante o período experimental foi de -27,5‰ (Tabela 2).

Na parede do duodeno a incorporação do ^{13}C (valor de meia-vida – T) da dieta contendo 0,4% de nucleotídeos foi de 8,7 dias, enquanto que com a dieta controle, e nos níveis de inclusão de 0,2% e 0,6% de nucleotídeos os valores de meia-vida do carbono foram 10,1; 9,4 e 12,8, respectivamente. Comparativamente, os valores da meia-vida do carbono-13 na parede do duodeno do tratamento contendo 0,4% de nucleotídeos foi 4,1 dias mais rápido que o tratamento que continha 0,6% de nucleotídeos e 1,4 dias mais rápido que o tratamento sem suplementação.

Para a troca de 95% dos átomos de carbono-13 o tratamento que apresentou menor tempo ($t_{95\%}$ = 37 dias) foi o 0,4% de inclusão de nucleotídeos, e o maior valor constatado ($t_{95\%}$ = 55 dias), foi nos animais submetidos ao tratamento de 0,6% de suplementação de

nucleotídeos. Os demais tratamentos 0% e 0,2% de suplementação de nucleotídeos apresentaram valores de troca de 95% dos átomos de 44 e 41 dias, respectivamente.

Para a mucosa do duodeno os animais que receberam a dieta contendo 0,4% de nucleotídeos apresentaram valores de meia-vida de carbono de 7,3 dias, enquanto que para as demais dietas, as meias-vidas foram 8,9; 7,8 e 8,4 dias respectivamente, para os leitões que receberam dieta controle, dieta contendo 0,2% e 0,6% de nucleotídeos. Assim, os valores de meia-vida para a mucosa do duodeno dos leitões alimentados com dieta contendo 0,4% de nucleotídeos foi 1,6 dias mais rápido que aqueles que receberam dieta sem suplementação, evidenciando aceleração do processo de incorporação do carbono na mucosa intestinal após o desmame.

Os animais que receberam a dieta controle tiveram maior tempo de troca de 95% dos átomos do que aqueles alimentados com as demais dietas, onde os valores de $t_{95\%}$ do carbono-13 foram: 38; 34; 32; 36 dias, respectivamente, para os leitões que receberam dieta controle, dieta contendo 0,2; 0,4 e 0,6% de adição de nucleotídeos.

Com relação à parede do jejuno, a incorporação do ^{13}C da dieta contendo 0,2% de nucleotídeos foi de 7,8 dias, enquanto que com a dieta controle, e nos níveis de 0,4% e 0,6% os valores de meia-vida do carbono foram 10,5; 10,2 e 10,7 dias, respectivamente, mostrando que a incorporação do ^{13}C do tratamento com 0,2% de nucleotídeos foi, em média, 2,7 dias mais rápido em relação ao tratamento que continha 0,6% de nucleotídeos e o tratamento sem suplementação.

O tratamento com a inclusão de 0,2% de nucleotídeos obteve o menor tempo de troca de 95% dos átomos (34 dias) em relação aos demais tratamentos, sendo 12 dias mais rápido que o tratamento sem suplementação (controle). Os valores de $t_{95\%}$ do carbono-13

dos demais tratamentos foram: 46; 44; 46 dias, respectivamente, para os leitões que receberam dieta controle, dieta contendo 0; 0,4 e 0,6% de adição de nucleotídeos

Para a mucosa do jejuno os animais que receberam a dieta contendo 0,2% de nucleotídeos obtiveram valores de meia-vida do carbono-13 de 5,9 dias, enquanto que para as demais dietas, os valores de meia-vida foram 8,0; 7,0 e 8,3 dias respectivamente, para os leitões que receberam dieta controle, dieta contendo 0,4% e 0,6% de nucleotídeos. O tratamento contendo 0,2% de nucleotídeos proporcionou um valor de meia-vida de 2,1 dias mais rápido que o tratamento sem suplementação, mostrando que a suplementação com nucleotídeos conseguiu influenciar na velocidade de *turnover* do carbono, acelerando o processo de troca.

Os animais que receberam a dieta com 0,2% de suplementação de nucleotídeos tiveram menor tempo de troca de 95% dos átomos do que aqueles alimentados com as demais dietas, onde os valores de $t_{95\%}$ do carbono-13 foram: 35; 25; 30; 36 dias, respectivamente, para os leitões que receberam dieta controle, dieta contendo 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de adição de nucleotídeos.

Na Fig. 4 estão representadas as curvas de diluição isotópica do $\delta^{13}C$ na mucosa do duodeno no momento do desmame (dia 0) até os 49 dias de experimento. O valor isotópico analisado do ^{13}C na mucosa intestinal no momento do desmame foi, em média, de -18,3‰, característico do milho, planta do ciclo C_4 e proveniente da dieta das matrizes. Entretanto, ao final do experimento (49 dias), e após consumir dieta constituída predominantemente de arroz, planta do ciclo C_3, as médias dos valores analisados no último dia de abate foram -27,1‰, -27,3‰, -26,8‰, -27,3‰, para 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, respectivamente, refletindo a assinatura isotópica característica das plantas C_3.

A Fig. 5 mostra as curvas de diluição isotópica do $\delta^{13}C$ da parede do duodeno de 0 a 49 dias de experimento. As médias dos valores analisados no último dia de abate foram -25,3‰, -25,9‰, -25,9‰, -26,2‰, para 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, respectivamente. O comportamento das curvas evidencia novamente a troca total dos átomos de carbono, refletindo a mudança da assinatura isotópica para aquela característica das plantas do ciclo C_3.

Na Fig. 6 estão representadas as curvas de distribuição de valores do $\delta^{13}C$ na mucosa do jejuno no momento do desmame (dia 0) até os 49 dias de experimento. O valor isotópico analisado do ^{13}C na mucosa intestinal no momento do desmame foi, em média, de -18,6‰, característico do milho, planta do ciclo C_4 e proveniente da dieta das matrizes. Entretanto, ao final do experimento, aos 70 dias de idade, e após consumir dieta constituída predominantemente de arroz, planta do ciclo C_3, o valor encontrado foi em média de -27,4‰, -27,2‰, -26,6‰, -27,3‰, para 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, respectivamente, refletindo a assinatura isotópica característica das plantas C_3.

A Fig. 7 mostra os modelos exponenciais do *turnover* do jejuno de 0 a 49 dias de experimento. O comportamento das curvas evidencia novamente a troca total dos átomos de carbono, refletindo na mudança da assinatura isotópica para aquela característica das plantas do ciclo C_3. Os valores encontrados foram em média de -26,0‰, -25,9‰, -25,7‰, -26,1‰ para 0,0%, 0,2%, 0,4%, 0,6%, respectivamente.

Para as variáveis de peso relativo do intestino delgado (Tabela 5) não foi verificado efeito dos tratamentos ($P > 0,05$) no peso relativo do intestino delgado dos leitões nos abates realizados nos dias 3, 5, 8, 23, 35 e 49 pós-desmame. Entretanto, no abate realizado no 12º dia de experimento houve efeito linear crescente ($P < 0,01$) dos níveis de

nucleotídeos no peso relativo do intestino delgado (PRI = 3,6110 + 2,1426X, R^2 = 0,458217, Fig. 8).

DISCUSSÃO

As primeiras semanas pós-desmame, a adaptação à nova dieta resulta em grande parte dos leitões em prolongado período de jejum, desencadeando mudanças estruturais no trato gastrintestinal, prejudicando o aproveitamento de nutrientes da ração (Lallès, 2008) e, desta forma, a suplementação de nucleotídeos não foi suficiente para alterar positivamente as respostas de desempenho.

As rações comumente fornecidas à leitões desmamados não apresentam concentrações de nucleotídeos suficientes para atender as exigências (Stein e Kil, 2006), normalmente são deficientes em quatro dos cinco nucleotídeos que os leitões recebiam antes do desmame (5´IMP, 5´AMP, 5´GMO, 5´CMP, 5´UMP), pois a composição do leite da porca apresenta os nutrientes necessários para o adequado crescimento e manutenção da saúde desses leitões (Rossi et al., 2007; Weaver e Kim, 2014), exigindo do organismo a necessidade de maior produção de nucleotídeos via síntese *de novo*.

Além disso, a demanda de nucleotídeo é aumentada durante períodos de estresse ou rápido crescimento, tal como no desmame (Mateo e Stein, 2004). Desta forma, leitões recém-desmamados podem não ser capazes de sintetizar ou consumir nucleotídeos suficientes para atender a demanda de crescimento e saúde desses animais.

A suplementação de nucleotídeos melhorou o desempenho dos animais, proporcionando melhoras no consumo e ganho de peso dos leitões. Quando se fornece nucleotídeos rico em 5´IMP nas dietas de leitões não só diminuímos o gasto energético que o leitão tem com a síntese *de novo* (Rossi et al., 2007), mas ocorre um aumento do

consumo de ração pela estimulação dos receptores de sabor (Yamaguchi, 1967; Kubitza et al., 1997; Miyasaki e Harada, 2003), e melhora na integridade intestinal, favorecendo a digestão e absorção dos nutrientes (Martinez-Puig et al., 2007; Rossi et al., 2007; Sauer et al., 2012), explicando portanto, no presente trabalho, o desempenho superior dos leitões tratados com nucleotídeos em relação aos animais que receberam dieta controle.

Diversas pesquisas demostraram, ao contrário, que a suplementação de nucleotídeos nas dietas de leitões na fase pós-desmame não altera o desempenho (Lee et al., 2007; Moore et al., 2011; Andrade et al., 2011). Há indícios de que as principais diferenças encontradas nos resultados de pesquisas com nucleotídeos estão relacionadas com a composição da dieta, nível de inclusão de nucleotídeos e seu processo de obtenção, além da fase de criação, estado nutricional e saúde do animal

Uma vez que 5'IMP é formado no fígado, durante a síntese *de novo* (Mateo, 2005), ele serve como precursor para a formação de outros nucleotídeos, tais como 5'AMP e 5'GMP (Stein e Kil, 2006). Juntos, estes nucleotídeos são usados pelo animal para muitas funções metabólicas e celulares, como a participação no metabolismo de energia (ATP), são precursores de ácidos nucleicos (DNA e RNA), e fazem parte de coenzimas, como NAD, FAD e CoA (Carver e Walker, 1995; Cosgrove, 1998; Mateo, 2005). Portanto, a adição de um aditivo rico em 5'IMP à ração dos leitões, como utilizado no presente estudo, aumenta as concentrações de nucleotídeos totais por causa das conversões metabólicas de 5'IMP, melhorando a imunidade e diminuindo o estresse oxidativo, e dessa forma contribuindo para melhoria no desempenho desses animais.

Estudos anteriores mostraram efeitos variados no desempenho de leitões quando suplementados com nucleotídeos (Andrade et al., 2011; Weaver e Kim, 2014; Santos, 2015). Essas variações podem estar relacionadas com o tipo de nucleotídeo utilizado e os

níveis suplementados nas dietas. Abreu et al. (2010) encontraram melhora no ganho de peso dos animais quando incluíram 0,4% de nucleotídeos nas dietas de leitões desmamados. Entretanto, inclusões menores de até 0,1% de nucleotídeos na dieta de leitões nos primeiros sete dias pós-desmama foram suficientes para melhorar o ganho de peso e o consumo de ração (Weaver e Kim, 2014).

Células de rápido crescimento, como enterócitos, apresentam capacidade limitada para síntese de purinas e pirimidinas pela síntese *de novo*, portanto é necessária a suplementação exógena de nucleotídeos para manter o *pool* de nucleotídeos (Uauy, 1994).

Os nucleotídeos são compostos por base nitrogenada, que compõem as moléculas de DNA e RNA (Piva et al., 2001), e quando suplementados nas dietas de animais aumentam a quantidade de bases púricas e pirimídicas, que são essenciais para as células de rápido *turnover* (Sanderson e He, 1994; Uauy et al. 1994), favorecendo o crescimento e a recuperação de tecidos. As dietas contendo nucleotídeos proporcionaram menores valores de meia-vida do carbono, tanto na parede quanto na mucosa intestinal. Portanto, os nucleotídeos podem ter favorecido o fornecimento de bases nitrogenadas para síntese de DNA nas células, aumentando o *turnover* do carbono do jejuno (parede e mucosa) dos leitões, suportando a teoria de que os nucleotídeos afetam positivamente o crescimento e maturação do epitélio do intestino.

Resultados semelhantes foram encontrados por Amorim (2012), que trabalhando com a suplementação de 1% de nucleotídeos purificados na dieta de leitões desmamados, concluiu que os nucleotídeos aceleram o *turnover* do carbono na mucosa intestinal, sugerindo sua recuperação mais rápida no período pós-desmame, indicando que a técnica

do *turnover* do carbono ($\delta^{13}C$) pode ser uma ferramenta importante nos estudos sobre a ação trófica de aditivos na mucosa intestinal de leitões.

Os menores valores de meia-vida do carbono foram obtidos com níveis iguais ou superiores a 0,2%, sugerindo que a mucosa intestinal dos leitões se encontrava em alta atividade metabólica (anabólica e catabólica) e que a suplementação com nucleotídeos propicia aceleração na velocidade de troca do carbono na mucosa intestinal de leitões desmamados e, portanto, maior aceleração e recuperação do crescimento intestinal. O comportamento dos dados de incorporação de ^{13}C no duodeno e no jejuno (parede e mucosa) são semelhantes ao obtido no desempenho, em que no período total de experimento indicou efeito benéfico do uso de nucleotídeos em níveis iguais ou superiores a 0,3%,

Quando diferentes níveis de nucleotídeos são adicionados às dietas, eles podem modificar a integridade da mucosa intestinal em diferentes graus, auxiliando no crescimento e na recuperação de tecidos, principalmente em condições de estresse fisiológico (Carver e Walker, 1995). Além disso, previni os efeitos negativos sobre a estrutura do intestino (Adjei et al., 1996; Yu et al., 2002), sendo que no presente estudo foi determinante para aumentar o *turnover* dos enterócitos, o que pode possibilitar uma maior recuperação, estimulando maior secreção de enzimas, e aumento na a eficiência de absorção de nutrientes.

O aumento linear do peso relativo do intestino delgado no abate realizado no 12º dia de abate pode ser consequência de recuperação mais rápida do trato gastrintestinal, o qual pode afetar diretamente o grau de absorção de nutrientes e consequentemente, o crescimento animal. Os nucleotídeos fornecidos na ração são essencialmente importantes para os enterócitos em desenvolvimento, maturação e reparo intestinal (Mccauley et al.,

1998), aumentando a formação de proteína da mucosa, favorecendo o crescimento e a maturação das células epiteliais do intestino delgado (Uauy et al., 1990; Carver, 1994; Sanderson e He, 1994).

O 12º dia de experimento no qual foi realizado abate, compreendendo o período de 7 a 14 dias pós-desmame, é considerado crítico, caracterizando-se por baixo consumo de ração, atrofia das vilosidades intestinais e ineficiente capacidade de digestão, o que resulta em estado geral de deficiência energética, comprometendo o ganho de peso e predispondo à ocorrência de diarreias (Ziegerhofer, 1988). Em função do papel que os nucleotídeos apresentam na manutenção e maturação da morfologia intestinal, sua presença na dieta demonstra ser necessária principalmente após o desmame para a manutenção da estrutura e o crescimento e a proliferação de células do intestino delgado (Tsujunaka et al., 1993; Rossi et al., 2007), indicando seu efeito trófico.

No presente estudo, a inclusão de nucleotídeos proporcionou maior peso relativo no intestino delgado de leitões recém-desmamados, porém em outros estudos este efeito não ocorreu, seja com o uso de dietas complexas (Andrade et al., 2011), dietas com leveduras (Sant'Ana, 2012), ou com diferentes níveis de suplementação de nucleotídeos (Andrade, 2013).

O aumento no peso do trato gastrintestinal é causado especialmente pela quantidade de alimento consumida durante os dias após o desmame, independentemente da idade ao desmame (Kelly et al., 1991; Pluske et al., 1997), o que foi constatado no presente estudo, uma que vez que os nucleotídeos aumentaram a ingestão de ração no período de 21 a 48 dias de idade.

Considerando-se o período total de creche, os resultados sugerem que a suplementação de 0,3% de nucleotídeos dietéticos melhora o desempenho. A inclusão de

nucleotídeos nas dietas de leitões acelera o *turnover* do carbono da parede e mucosa intestinal, observando uma recuperação mais rápida e, desse modo, melhorando a capacidade de adaptação dos leitões no período pós-desmame.

CONCLUSÕES

Os nucleotídeos dietéticos na dieta de leitões desmamados melhora o desempenho e acelera o *turnover* do carbono na parede e mucosa intestinal, com recomendação de suplementação de 0,3% de nucleotídeos.

REFERÊNCIAS

Abreu, M. L. T., J. L. Donzele, A. Saraiva, R. F. M. Oliveira, E. I. Fortes and G. L. Graña. 2010. Glutamina, nucleotídeos e plasma suíno em rações para leitões recém-desmamados. R. Bras. Zootec. 39:520-525. doi:10.1590/S1516-35982010000300010

Adjei, A. A., K. Yamauchi, Y. C. Chan, M. Konishi, S. Yamamoto. 1996. Comparative effects of dietary nucleoside- nucleotide mixture and its components on endotoxin induced bacterial translocation and small intestinal injury in protein deficient mice. Gut. 34:531-537. doi:10.1136/gut.38.4.531

Amorim, A. B. 2012. Efeito da glutamina, do glutamato e de nucleotídeos sobre o *turnover* do carbono ($\delta^{13}C$) em tecidos de leitões desmamados. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de São Paulo, Botucatu.

Andrade, C. 2013. Nucleotídeos na alimentação de leitões recém-desmamados. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Andrade, C., V. V. Almeida, L. B. Costa, B. Berenchtein,, G. B. Mourão and V. S. Miyada. 2011. Levedura hidrolisada como fonte de nucleotídeos para leitões recém- desmamados. R. Bras. Zootec. 40:788-796. doi:10.1590/S1516-35982011000400012

Caldara, F. R., C. Ducatti, D. A. Berto, J. C. Denadai, E. T. Silva, R. G. Garcia. 2008. Effect of glutamine on carbon ($\delta^{13}C$) turnover in the muscles and viscera of weaned piglets. Acta Sci. 30(3):291-297. doi: 10.4025/actascianimsci.v30i3.5712

Caldara, F. R., C. Ducatti, D. A. Berto, J. C. Denadai, G. A. Andrade and M. M. Gioso. 2007. Glutamine and carbon turnover in adipose tissue of piglets. Pesqui. Agropecu. Bras. 42(11):1601-1607. doi: 10.1590/S0100-204X2007001100012

Caldara, F. R., C. Ducatti, D. A. Berto, J. C. Denadai, R. G. Garcia and V. M. O. S. Ferreira. 2010. Glutamina e *turnover* do carbono da mucosa intestinal de leitões desmamados. R. Bras Zootec. 39:2664-2669. doi: 10.1590/S1516-35982010001200015

Carver, J. D. 1994. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. J. Nutr. 124:144-148.

Carver, J. D. and W. A. Walker. 1995. The role of nucleotides in human nutrition. Nutr. Biochem. 6:58-72. doi: 10.1016/0955-2863(94)00019-I

Cosgrove, M. 1998. Perinatal and infant nutrition. Nucleotides. Nutr. 14(10):748-51. doi: 10.1016/S0899-9007(98)00075-6

Domeneghini C., A. Di Giancamillo, G. Savoini, R. Paratte, V. Bontempo and V. Dell'orto. 2004. Structural patterns of swine ileal mucosa following L- glutamine and nucleotide administration during the weaning period. An histochemical and histometrical study. Histol Histopathol. 19:49-58.

Ducatti, C., A. S. Carrijo, A. C. Pezzato, P. F. A. Mancera. 2002. Theorical and experimental model for carbon-13 turnover in mammalian and avian tissues. Sci. Agric. 59(1):29-33. doi:10.1590/S0103-90162002000100003

Holen, E. and R. Jonsson. 2004. Dietary nucleotides and intestinal cell lines: 1. Modulation of growth. Nutr Res, Tarrytown, 24:197-207. doi: 10.1016/j.nutres.2003.11.004

Kelly, D., J. A. Smyth and K. J. Mccracken. 1991. Digestive development of the early-weaned pig. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. Br. J Nut. 65(2):169- 180. doi: 10.1079/BJN19910078.

Kubitza, F., L. L. Lovshin, and R. T. Lovell. 1997. Identification of feed enhancers for juvenile largemouth bass *Micropterus salmoides*. Aquaculture 148:191–200. doi: 10.1016/S0044-8486(96)01417-2

Lallès, J. P. 2008. Nutrition and gut health of the young pig around weaning: what news. Archiva Zootechnica. 11(1):5-15.

Lee, D. N., S. R. Liu, Y. T. Chen, R. C. Wang, S. Y. Lin, and C. F. Weng. 2007. Effects of diets supplemented with organic acids and nucleotides on growth, immune responses and digestive tract development in weaned pigs. J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. 91(11-12):508–518. doi: 10.1111/j.1439-0396.2007.00684.x

Martinez-Puig, D., E. G. Manzanilla, J. Morales, E. Borda, J. F. Pérez, C. Piñeiro and C. Chetrit. 2007. Dietary nucleotide supplementation reduces occurrence of diarrhoea in early-weaned pigs. Livestock Science, 108:276–279. doi: 10.1016/j.livsci.2007.01.099

Mateo, C. D. 2005. Aspects of nucleotide nutrition in pigs. PhD Diss. South Dakota State Univ., Brookings, SD

Mateo, C. D. and H. H. Stein. 2004. Nucleotides and young animal health: can we enhance intestinal tract development and immune function? In: Nutritional biotechnology in the feed and food industries. Proceedings of Alltech's 20th Annual Symposium (ed. TP Lyons and KA Jacques), pp. 159–168. Nottingham University Press, Nottingham, UK

Mateo, C. D., D. N. Peters and H. H. Stein. 2004. Nucleotides in sow colostrum and milk at different stages of lactation. J Anim Sci, 82:1339–1342.

McCauley, R., S. Kong and J. Hall. 1998. Review: glutamine and nucleotide metabolism within enterocytes. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 22:105-111. doi: 10.1177/0148607198022002105

Miyasaki, T., and K. Harada. 2003. Effects of specific purine and pyrimidine compounds on the ingestion of test diets by the aba- lone *Haliotis* discus and the oriental weatherfish *Misgurnus anguillicaudatus*. Mar. Freshwater Res. 54:235–241. doi: 10.1071/MF02066

Moore, K. L., B. P. Mullan, J. R. Pluske, J. C. Kim and D. N. D'Souza. 2011. The use of nucleotides, vitamins and functional amino acids to enhance the structure of the small intestine and circulating measures of immune function in the post-weaned piglet. J Ani Feed Sci Tech. 165:184-190. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2010.09.013

Piva, A., K. E. Bach Knudsen and J. E. Lindberg. 2001. Glutamine in gut metabolism. In: Gut environment of pigs, p.260

Pluske, J. R, Hampson, D. J, Williams, I. H. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pigs: a review. Livest. Prod. Sci. 51:215- 236. doi: 10.1016/S0301-6226(97)00057-2.

Rossi, P., E. G. Xavier and F. Rutz. 2007. Nucleotídeos na nutrição animal. Rev. Bra. Agroc. 13:05-12.

Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira and S. L. T. Barreto. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais (3rd ed.). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Rutz, F., J. L. Rech, E. G. Xavier, M. A. Anciuti and P. Rossi, P. 2005. Cuidados críticos na nutrição inicial de aves: alternativas para melhorar o desempenho e o papel essencial dos nucleotídeos. In: Simpósio Brasileiro da Indústria de Alimentação

Animal, 2. Ronda Latino Americana da Alltech, 15, 2005, Curitiba. Anais... Curitiba: Alltech Biotechnology. 19-39.

Sanderson, I. R. and Y. He. 1994. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. J. Nutr. 124:131S-137S

Sant'Ana, D. S. 2012. Adição de leveduras (*Saccharomyces cerevisae*) na dieta de leitões desmamados. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

Santos, L. S. 2015. Nucleotídeos e ácido glutâmico em dietas de leitões desmamados. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP.

Santos, L. S., G. M. Miassi, M. L. P. Tse, L. M. Gomes, P. N. Berto and D. A. Berto. 2015. *Turnover* do ^{13}C na mucosa intestinal de leitões alimentados com nucleotídeos e ácido glutâmico. In: XVII Congresso ABRAVES, Campinas, SP, p.50-52

Sauer, N., M. Eklund, E. Bauer, M. G. Gänzle, C. J. Field, R. T. Zijlstra and R. Mosenthin. 2012. The effects of pure nucleotides on performance, humoral immunity, gut structure and numbers of intestinal bacteria of newly weaned pigs. J. Anim. Sci, 90(9):3126–3134. doi:10.2527/jas.2011-4417

Stein H. H. and D. Y. Kil. 2006. Reduced use of antibiotic growth promoters in diets fed to weanling pigs: dietary tools, part 2. Anim Biotechnol 17:217-31. doi: 10.1080/10495390600957191

Superchi, P., R. Saleri, P. Borghetti, E. De Angelis, L. Ferrari, V. Cavalli, P. Amicucci, M. C. Ossiprandi and A. Sabbioni. 2012. Effects of dietary nucleotide supplementation on growth performance and hormonal and immune responses of piglets. Animal, Munich, 1:1-7. doi: 10.1017/S1751731111002473.

Tsujunaka, T., S. Iijima, Y. Kido, T. Homma, C. Ebisui, K. Kan, I. Imamura, H. Fukui, and T. Mori. 1993. Role of nucleoside and nucleotide mixture in intestinal mucosal growth under total parenteral nutrition. Nutr. 9:532-535.

Uauy, R. 1994. Nonimmune system responses to dietary nucleotides. J. Nutr. 124(S):157-159.

Uauy, R., G. Stringel, R. Thomas, and R. Quan. 1990. Effect of dietary nucleosides of growth and maturation of the developing gut in rat. J. Pediatr. Gastroenterology Nutr. 10:497-503. doi: 10.1097/00005176-199005000-00014

Uauy, R., R. Quan, and A. Gil. 1994. Role of nucleotides in intestinal development and repair: Implications for infant nutrition. J. Nutr. 124:1436S-1441S

Wang, L. F., X. Gong X, G. W. Le and Y. H. Shi. 2008. Dietary nucleotides protect thymocyte DNA from damage induced by cyclophosphamide in mice. J Anim Physiol Anim Nutr, Berlin, 92(2):211–218.doi:10.1111/j.1439-0396.2007.00728.x

Weaver, A. C. and Kim, S. W. 2014. Supplemental nucleotides high in inosine 5'-monophosphate to improve the growth and health of nursery pigs. J. Anim. Sci. 95:645- 651. doi: 10.2527/jas.2013-6564

Yamaguchi, S. 1967. The synergistic effect of monosodium glutamate and disodium 5′-inosinate. J. Food Sci. 32: 473–478.

Yu, I. T., J. F. Wu, P. C. Yang, C. Y. Liu, D. N. Lee and H. T. Yen. 2002. Roles of glutamine and nucleotides in combination in growth, immune responses and FMD antibody titres of weaned pigs. Anim Sci. 75: 379-385.

Zanden M. J. V., M. K. Clayton, E. K. Moody, C. T. Solomon and B. C. Weidel. 2015. Stable isotope turnover and half-life in animal tissues: a literature synthesis. PLoSONE 10(1):e0116182. doi: 10.1371/ journal.pone.0116182

Ziegerhofer, J. 1988. Einfluss von Zinkoxid auf die enteropathogen *E. coli* von Absetzferkein im Feldversuch. Wiener tierärztliche Monatsschrift. Mschr. Jahrgang, p.508.

Zuanon, J. A. S., A. C. Pezzato, L. E. Pezzato, J. R. Passos, M. M. Barros and C. Ducatti. 2006. Muscle ^{13}C change in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects of growth and carbon turnover. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 145:101-107. doi: 10.1016/j.cbpb.2006.06.009

Tabela 1. Composição percentual das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial[1]

Ingredientes, %	Dietas		
	Pré-inicial I	Pré-inicial II	Inicial
Arroz, Quirera	53,50	57,99	65,21
Soja, Farelo 45%	20,00	24,00	28,00
Soro de leite seco	6,50	3,00	-
Açúcar	4,00	3,00	-
Maltodextrina 20%	4,00	2,00	-
Concentrado Proteico Soja	2,51	2,00	0,50
Farelo de glúten 60%	2,60	2,00	1,00
Óleo de soja	1,30	1,30	1,30
Fosfato Bicálcico	1,85	1,75	1,65
Calcário	0,73	0,77	0,73
Cloreto de sódio	0,53	0,50	0,50
L-Lisina HCl (78,4%)	0,81	0,58	0,34
DL-Metionina (99%)	0,28	0,19	0,08
L-Treonina (98%)	0,34	0,24	0,13
L-Triptofano (99%)	0,05	0,03	-
L-Isoleucina (99%)	0,08	-	-
L-Valina (96,5%)	0,22	0,09	-
Óxido de Zinco (77%)	0,34	0,20	0,20
Cloreto de colina (60%)	0,09	0,09	0,09
Antioxidante BHT	0,02	0,02	0,02
Premix mineral [2]	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico [3]	0,15	0,15	0,15
Nucleotídeos [4]	0,00	0,00	0,00

[1]Dietas basais sem suplementação de nucleotídeos (Nu), nas demais dietas experimentais os nucleotídeos foram adicionados em níveis de 0,2%; 0,4% e 0,6% em substituição a igual quantidade de quirera de arroz;

[2] Premix mineral - Níveis de garantia por kg de ração: Ferro - 40 mg, Cobre - 35 mg, Manganês - 20 mg, Zinco - 40 mg, Cobalto – 0,36 mg, Iodo – 0,84 mg, Selênio – 0,12 mg;

[3] Premix vitamínico - Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A - 25000 UI, Vit. D3 - 5000 UI, Biotina - 5 mg, Niacina - 10 mg, Pantotenato de cálcio - 30 mg, Vit. B12 – 70 µg, Vit. B2 – 18 mg, Vit. E – 75 mg, Vit. K3 - 1 mg;

[4] Composição dos nucleotídeos: 98% de 5'inosinato dissódico e 5'guanilato dissódico

Tabela 2. Composição nutricional calculada e valores determinados do $\delta^{13}C$ (‰)[2] das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial[1]

	Pré-inicial I	Pré-inicial II	Inicial
EM, kcal/kg	3404	3383	3350
PB, %	18,95	19,50	19,57
Lisina dig, %	1,45	1,33	1,17
Metionina dig, %	0,56	0,48	0,38
Treonina dig, %	0,91	0,84	0,74
Triptofano dig, %	0,25	0,24	0,22
Met+Cist dig, %	0,81	0,75	0,65
Isoleucina dig, %	0,80	0,76	0,78
Leucina dig, %	1,41	1,45	1,42
Valina dig, %	1,00	0,92	0,85
Lactose, %	10,15	5,67	0,00
Cálcio, %	0,85	0,83	0,77
Fósforo disp, %	0,45	0,41	0,38
		$\delta^{13}C$, ‰	
Dieta Basal (DB)	-26,45	-27,59	-28,88
DB + 0,2% Nu	-26,24	-27,71	-28,85
DB + 0,4% Nu	-26,41	-27,71	-28,60
DB + 0,6% Nu	-26,61	-27,41	-27,88

[1]Dietas basais sem suplementação de nucleotídeos (Nu), nas demais dietas experimentais os nucleotídeos foram adicionados em níveis de 0,2%; 0,4% e 0,6% em substituição a igual quantidade de quirera de arroz. Valores calculados com base nos níveis nutricionais apresentados por Rostagno et al. (2011) ou pelos fabricantes das matérias primas.

[2] Valor isotópico expresso em δ^{13} C das dietas em relação ao carvão (padrão de trabalho) relativo ao padrão *PeeDee Belemnite* (PDB).

Tabela 3. Valores médios de consumo diário de ração (CDR), ganho diário de peso (GDP) e conversão alimentar (CA) de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de nucleotídeos

Idade		Tratamentos[1]					Valores de *P*		
(dias)	Variável	0	0,2	0,4	0,6	CV, %	Linear	Quadrático	Cubico
	CDR, g	322	341	368	302	16,88	0,7370	0,0617	0,2942
21 a 36	GDP, g	239	256	286	240	18,62	0,6848	0,1030	0,2803
	CA	1,35	1,34	1,30	1,26	8,88	0,1187	0,7738	0,7861
	CDR, g	578	615	661	563	8,11	0,6296	< 0,0100	0,1141
21 a 48	GDP, g	407	440	461	418	6,48	0,2819	< 0,0100	0,2693
	CA	1,42	1,40	1,43	1,34	4,87	0,5004	0,9568	0,2264
	CDR, g	722	749	787	714	6,72	0,9468	0,0631	0,1679
21 a 55	GDP, g	475	497	516	471	5,18	0,8336	< 0,0100	0,1869
	CA	1,52	1,51	1,52	1,52	6,72	0,9096	0,8435	0,6778

[1]Dietas suplementadas com 0,0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos (98% de inosinato dissódico e guanilato dissódico)

Tabela 4. Valores de meia-vida (T, dias) e troca total ($t_{95\%}$, dias) da mucosa e parede intestinal do duodeno e jejuno de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de nucleotídeos

Segmento		Tratamentos[1]							
		0		0,2		0,4		0,6	
		T	$t_{95\%}$	T	$t_{95\%}$	T	$t_{95\%}$	T	$t_{95\%}$
Duodeno	Parede	10,1	44	9,4	41	8,7	37	12,8	55
	Mucosa	8,9	38	7,8	34	7,3	32	8,4	36
Jejuno	Parede	10,5	46	7,8	34	10,2	44	10,7	46
	Mucosa	8,0	35	5,9	25	7,0	30	8,3	36

[1]Dietas suplementadas com 0,0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos (98% de inosinato dissódico e guanilato dissódico)

Tabela 5. Valores médios de peso relativo do intestino delgado (PRI)[1] de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis de nucleotídeos

Dias de abate	Tratamentos[2]				CV, %	Valores de *P*		
	0	0,2	0,4	0,6		Linear	Quadrático	Cúbico
3	3,369	3,307	3,116	3,153	14,2	0,507	0,858	0,774
5	4,014	3,479	3,464	3,444	10,5	0,129	0,284	0,612
8	4,272	4,012	4,352	4,123	10,5	0,129	0,284	0,612
12	3,519	3,983	4,856	4,657	9,4	< 0,010	0,201	0,201
23	4,130	4,482	4,437	4,466	17,4	0,641	0,726	0,819
35	4,170	4,176	3,875	3,866	12,7	0,392	0,979	0,665
49	2,837	2,773	2,742	2,510	10,4	0,214	0,625	0,759

[1] Peso relativo do intestino delgado (%) = (peso do intestino delgado, g/peso vazio, g) x 100;

[2] Dietas suplementadas com 0,0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos (98% de inosinato dissódico e guanilato dissódico)

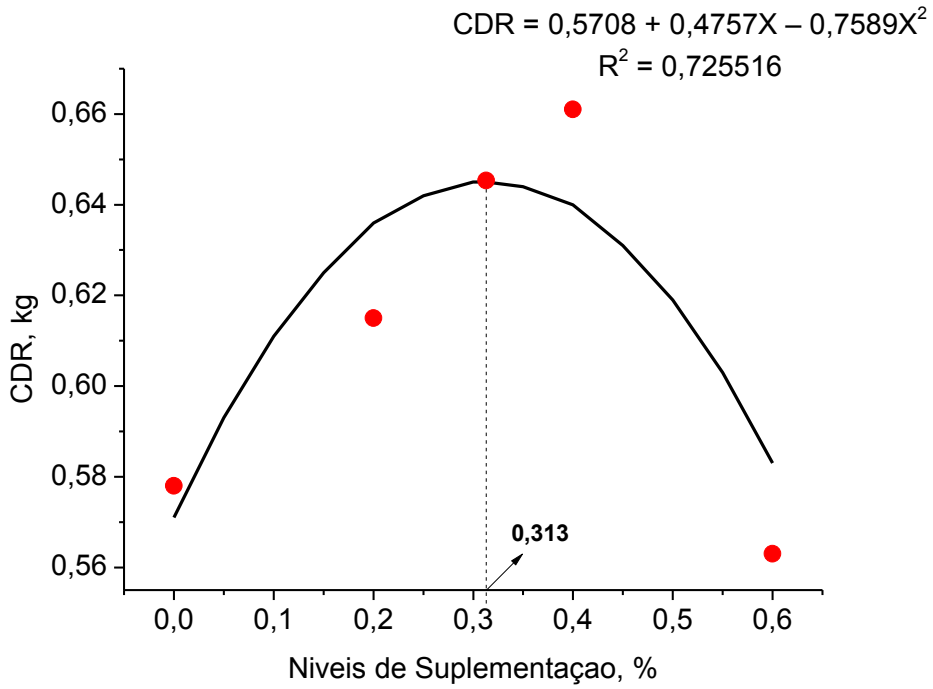


Figura 1. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre o consumo diário de ração (CDR) de leitões de 21 a 48 dias de idade.

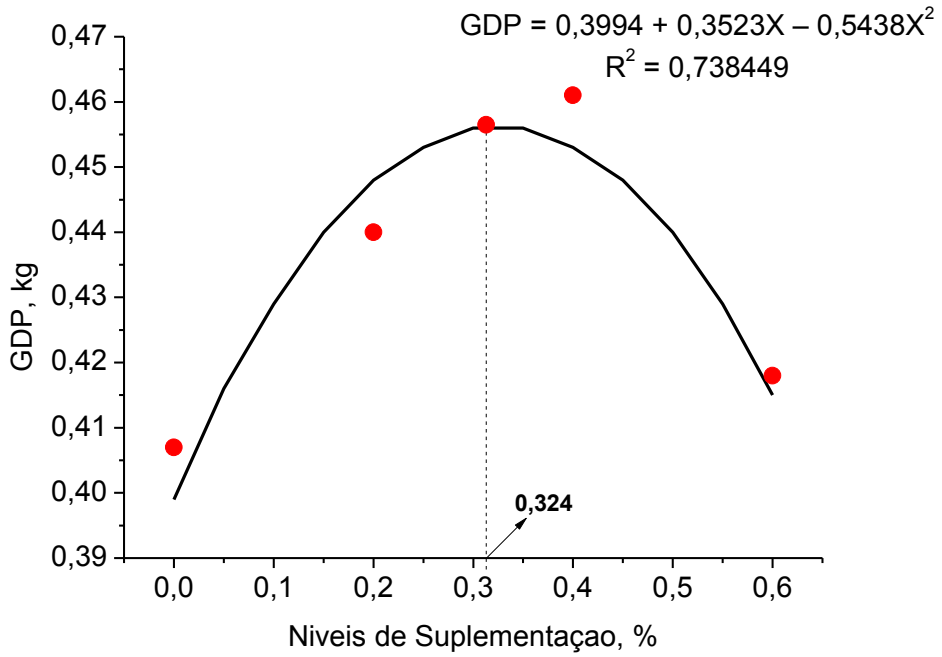


Figura 2. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre o ganho diário de peso (GDP) de leitões de 21 a 48 dias de idade.

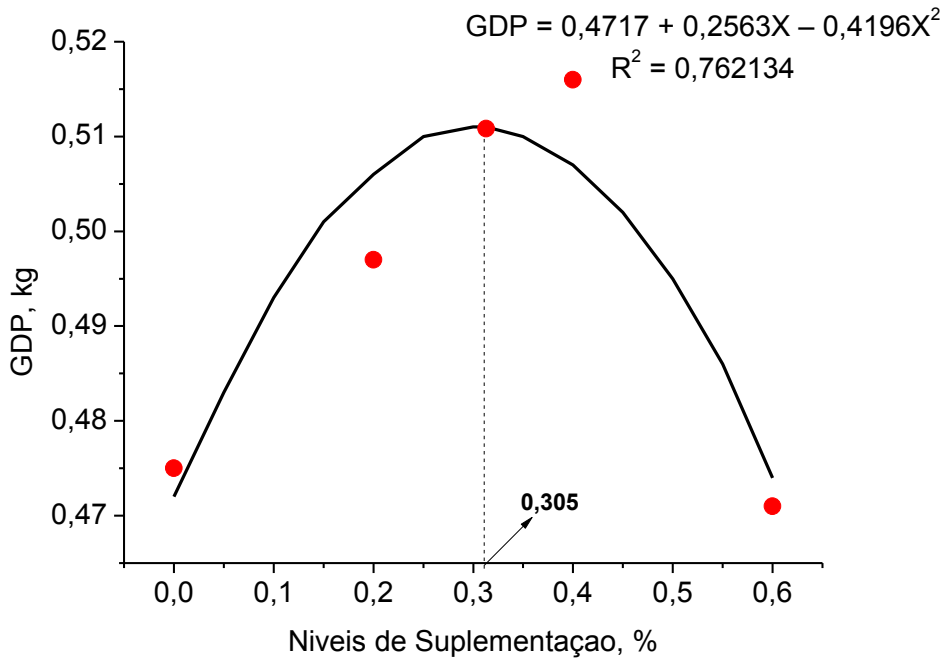


Figura 3. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre o ganho diário de peso (GDP) de leitões de 21 a 55 dias de idade.

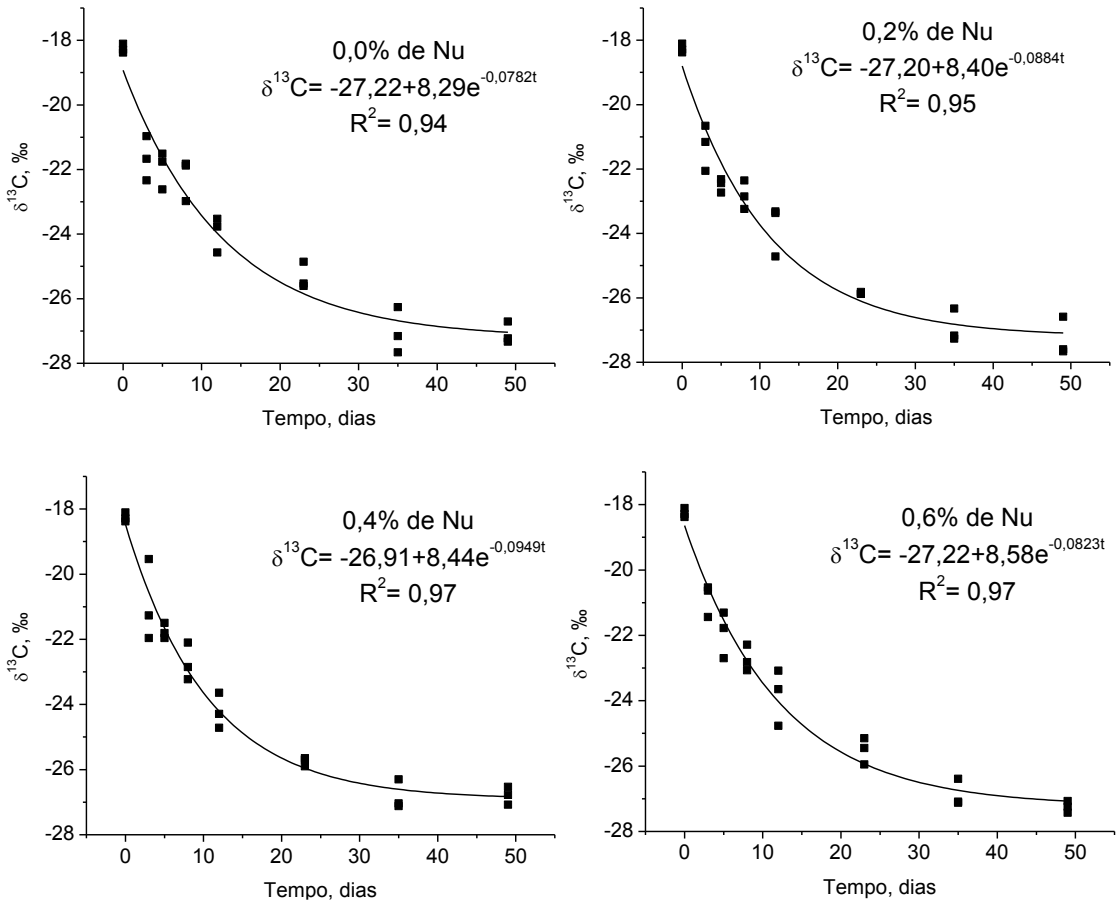


Figura 4. Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa do duodeno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento.

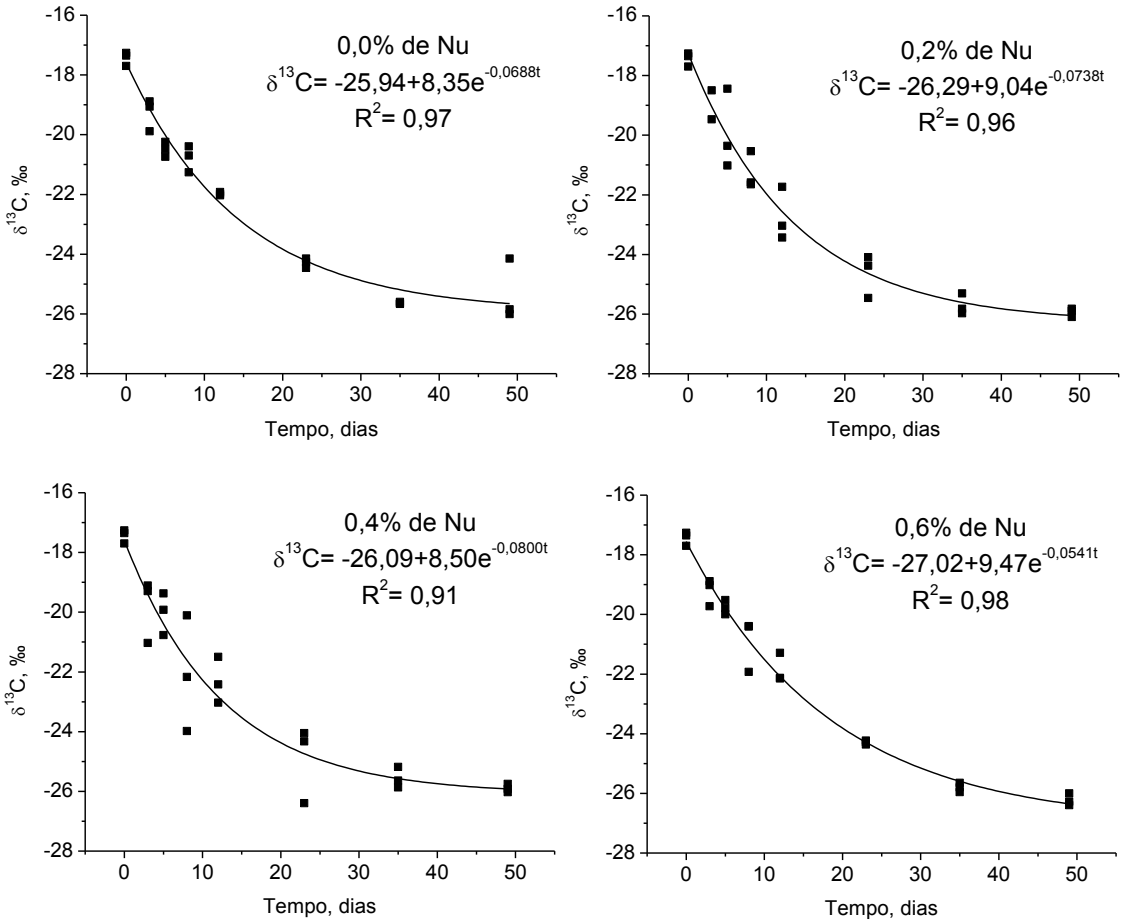


Figura 5. Curvas de diluição isotópica do carbono da parede do duodeno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento.

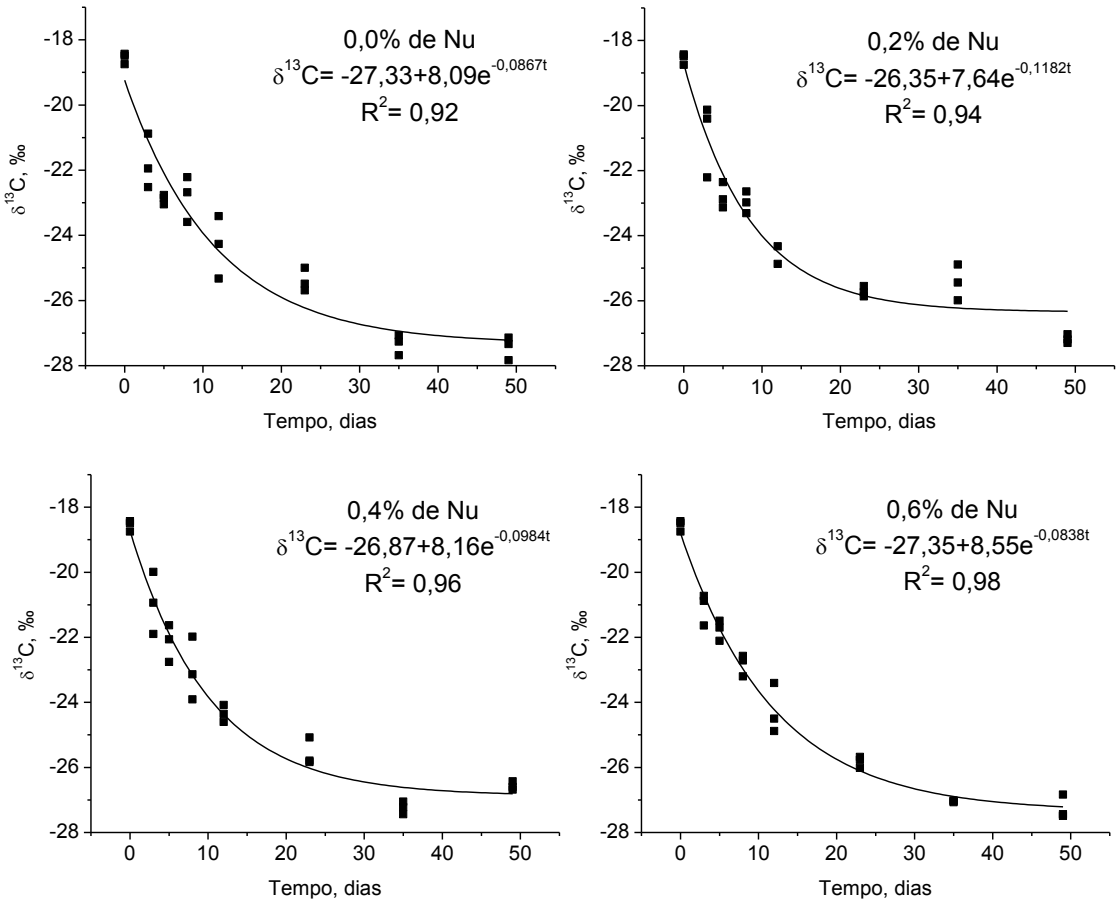


Figura 6. Curvas de diluição isotópica do carbono da mucosa do jejuno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento.

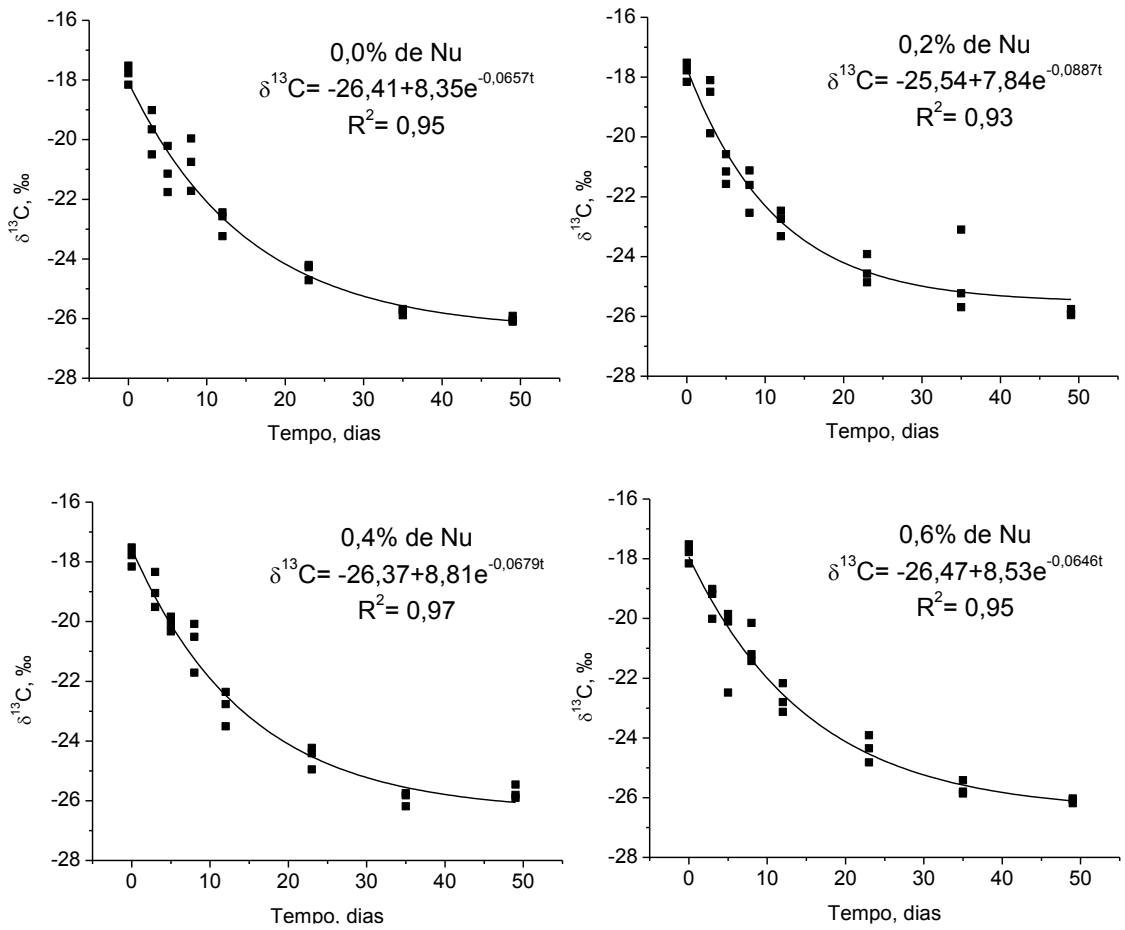


Figura 7. Curvas de diluição isotópica do carbono da parede do jejuno de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento.

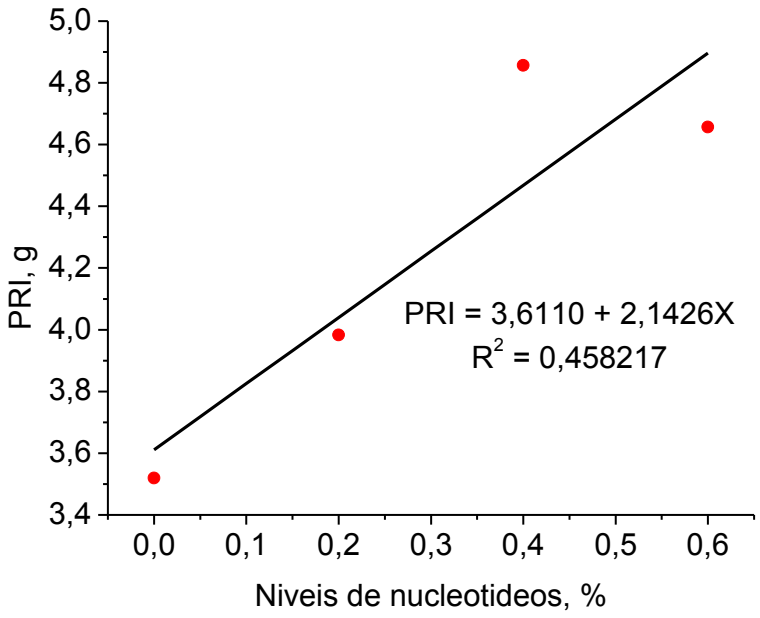


Figura 8. Efeito dos níveis crescentes de nucleotídeos nas dietas, sobre peso relativo do intestino (PRI) de leitões aos 12 dias de experimento.

CAPÍTULO 3

Efeito dos níveis de nucleotídeos sobre o *turnover* do ^{13}C e peso relativo de órgãos de leitões desmamados

RESUMO: Objetivou com esse trabalho avaliar a influência dos nucleotídeos (inosinato e guanilato dissódico) no *turnover* do ^{13}C e peso relativo do baço, fígado e pâncreas. Foram avaliados os seguintes tratamentos: dieta controle sem suplementação 0,0% de nucleotídeos (Nu); dieta contendo 0,2% de Nu; dieta contendo 0,4% de Nu e dieta contendo 0,6% de Nu. Foram utilizados 87 leitões desmamados (6,03 ± 0,23 kg) em delineamento experimental em blocos ao acaso. No dia do desmame (dia zero) e nos dias 3, 5, 8, 12, 23, 35 e 49 após o desmame foram abatidos três leitões por tratamento. Não foi observado efeito significativo ($P > 0,05$) dos níveis de nucleotídeos no peso relativo dos órgãos em nenhum dos dias de abate. Os valores da meia-vida do carbono para o baço foram de 19,5; 18,1; 18,4 e 17,1 dias, para o fígado foram de 10,4; 10,1; 10,1 e 11,3 dias, e para o pâncreas de 17,2; 14,6; 13,8 e 15,4 dias, para os leitões que receberam dietas com adição com 0%; 0,2%; 0,4% e 0,6% de Nu, respectivamente. Observou-se menores valores de meia-vida do baço, fígado e pâncreas dos animais que receberam dietas com adição de 0,6%; 0,2% e 0,4% de Nu, respectivamente. A adição de nucleotídeos nas dietas acelera o *turnover* do ^{13}C no baço, fígado e pâncreas de leitões recém-desmamados no período de creche, possibilitando demonstrar a ação trófica dos nucleotídeos nesses órgãos.

Palavras chave: Baço, Fígado, Guanilato Dissódico, Inosinato Dissódico, Leitões, Pâncreas

Effect of nucleotide levels on relative weight and carbon *turnover* ^{13}C in organs of weaned piglets

ABSTRACT: This study was conducted to evaluate effects of dietary supplementation of nucleotide (disodium 5 guanylate and disodium 5 inosinate) on the carbon turnover ^{13}C and relative weight of the spleen, liver and pancreas of weaned piglets. The treatments were dietary supplementation with 0% (control); 0.2%; 0.4% or 0.6% nucleotide (Nu) of diet. Eighty-seven weaned piglets of 21 days of age (6.03 ± 0.23 kg average initial BW) were used in a randomized complete block design. On the day of weaning (day zero) were slaughtered three piglets and days 3, 5, 8, 12, 23, 35 and 49 after weaning, pigs were slaughtered three per treatment. There were no significant effect ($P > 0.05$) of levels nucleotides on relative weight in organs at the 3, 5, 8, 12, 23, 35 and 49 days of slaughter. The values of carbon half-life to the spleen were 19.5; 18.1; 18.4 and 17.1, to the liver were 10.4; 10.1; 10.1 and 11.3 day, to the pancreas were 17.2; 14.6; 13.8 and 15.4 day, respectively, for the piglets fed 0,0%; 0.2%; 0.4% and 0,6% de Nu, respectively. Lower values of half-life was observed to the spleen, liver and pancreas of animal were dietary supplementation with 0.6%, 0.2% and 0.4% Nu, respectively. The nucleotides inclusion in the diet accelerated the ^{13}C turnover in the spleen, kidney and pancreas of weaned piglets, allows demonstrating the trophic actions of nucleotides in these organs.

Key words: Spleen, Liver, Disodium Guanylate, Disodium Inosinate, Piglets, Pancreas

INTRODUÇÃO

Os distúrbios gastrintestinais, imediatamente após o desmame dos leitões, causam perdas econômicas na indústria suinícola. Do total de suínos nascidos no Brasil, as perdas podem chegar à 20% e grande parte dessas perdas estão associadas a distúrbios do trato gastrintestinal (Dallanora et al., 2014).

Diante da necessidade de minimizar os efeitos do desmame sobre os leitões, alternativas com ênfase no manejo produtivo, na nutrição e na biossegurança têm sido estudadas. Desse modo, há grande interesse na realização de estudos sobre aditivos alternativos aos antibióticos melhoradores de desempenho, incluindo os nucleotídeos.

A suplementação com nucleotídeos na dieta é importante no desenvolvimento de tecidos de rápido *turnover* celular, quando a capacidade de síntese endógena não é suficiente para responder às maiores exigências, como em períodos de rápido crescimento e de recuperação intestinal (Bueno et al., 1994; Cosgrove, 1998). No desmame vários são os fatores estressantes que agem simultaneamente e comprometem o desempenho dos leitões, isso devido a alterações na estrutura e função do intestino delgado. Portanto, é possível que neste período os leitões apresentem maiores necessidades de nucleotídeos.

Com os avanços tecnológicos de extração e purificação dos nucleotídeos, nos últimos anos, tem havido interesse em aprofundar os estudos sobre a necessidade de suplementação para animais jovens. Vários estudos avaliaram a utilização dos nucleotídeos nas dietas de leitões recém-desmamados (Carlson et al., 2005; Sauer et al. 2012; Weaver e Kim, 2014; Miassi et al., 2015; Amorim et al., 2016) visando melhorias nas respostas fisiológicas para minimizar os distúrbios causados pelo desmame (Rossi et al., 2007; Sauer et al., 2010; 2011).

A técnica de isótopos estáveis do carbono, por meio do fornecimento de dietas com razões isotópicas contrastantes, têm sido utilizada de forma eficaz para determinar o *turnover* dos tecidos animais, como em peixes (Zuanon et al., 2006), frangos de corte (Carrijo et al., 2006; Pelícia et al., 2011), galinhas de postura (Denadai et al., 2006; 2009), codornas de corte (Móri et al., 2008), e nos últimos anos, também em leitões (Caldara et al., 2010; Santos et al., 2015; Amorim et al., 2016).

Assim, espera-se que os nucleotídeos adicionados às dietas possam influenciar o *turnover* do carbono e o peso relativo de órgãos de leitões recém-desmamados, auxiliando os processos de renovação celular e de crescimento desses órgãos. Objetivou com essa pesquisa foi avaliar a influência dos nucleotídeos na capacidade de adaptação dos leitões ao desmame pelo estudo do *turnover* do ^{13}C e do peso relativo do baço, fígado e pâncreas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na UNESP, nas instalações experimentais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - FMVZ/UNESP, Câmpus de Botucatu, e todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA), dessa instituição sob o protocolo nº 155/2013 – CEUA.

Utilizaram-se 87 leitões híbridos comerciais (machos castrados e fêmeas) desmamados com 21 dias de idade e peso médio de 6,03 ± 0,23 kg. Os leitões foram alojados em baias suspensas de 1,70 m^2 com piso ripado (três animais por baia), equipadas com comedouro, bebedouro tipo chupeta e campânula com resistência elétrica. Cortinas instaladas nas laterais mantinham a ventilação interna do galpão e um termômetro de máxima e mínima foi instalado a 0,80 m do piso das baias para auxiliar no controle diário de funcionamento das campânulas de aquecimento.

Os animais foram distribuídos em delineamento experimental de blocos ao acaso, com quatro tratamentos, três repetições, sete dias de abate e um animal por unidade experimental. O critério para formação dos blocos foi o peso e o sexo dos leitões.

A principal fonte energética das dietas experimentais foi a quirera de arroz, matéria-prima oriunda de planta do ciclo fotossintético C_3, para que apresentassem razão isotópica de ^{13}C distintas das dietas fornecidas às matrizes, cuja ração de lactação apresentava valor de $\delta^{13}C$ de -16,14‰, pois receberam dietas cuja fonte energética principal foi o milho, que é uma planta de ciclo fotossintético C_4. O procedimento de alterar a razão isotópica das dietas fornecidas aos leitões após o desmame em relação àquelas fornecidas as matrizes em lactação, foi necessário para possibilitar a avaliação da velocidade de alteração na razão isotópica ($\delta^{13}C$) do baço, fígado e pâncreas.

Os tratamentos constituíram-se de uma dieta basal sem adição de nucleotídeos e dietas com adição de 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos. A fonte de nucleotídeos utilizada era composta de guanilato e inosinato dissódico com 98% de pureza.

Durante o experimento os leitões foram alimentados à vontade e submetidos ao programa de alimentação por fases: dieta pré-inicial I dos 21 aos 35 dias, dieta pré-inicial II dos 36 aos 49 dias e dieta inicial dos 50 aos 70 dias de idade. Todas as dietas foram isoenergéticas, isoproteicas e formuladas de modo a atender as exigências nutricionais mínimas dos animais, de acordo com Rostagno et al. (2011).

As composições percentuais das dietas basais são apresentadas na Tabela 1 e os valores nutricionais calculados, bem como os valores determinados das razões isotópica ($\delta^{13}C$) das dietas são apresentados na Tabela 2.

Nos dias 3, 5, 8, 12, 23, 35 e 49 após o desmame, foram sacrificados, após eletronarcose, três leitões por tratamento. No dia do desmame (dia zero) também foram

abatidos três leitões, com o objetivo expressar a composição isotópica do baço, fígado e pâncreas, que até então correspondiam à ração fornecida às matrizes nas fases de gestação e lactação e a ração fornecida para os leitões na maternidade.

Os leitões foram pesados antes do abate e, após o abate, o conteúdo do trato digestório foi retirado, os órgãos (baço, fígado e pâncreas) foram lavados e colocados sobre peneiras para drenagem do excesso de umidade e em seguidas pesados para determinação do peso absoluto e, com base no peso do animal vazio (peso vivo menos peso da digesta), foram calculados os pesos relativos destes órgãos.

Com o auxílio de pinças e tesouras, foram colhidas amostras da parte mediana do baço, do lobo esquerdo do fígado, e da parte inicial do pâncreas (cabeça), as quais foram lavadas com água destilada, acondicionadas em sacos plásticos identificados e imediatamente congeladas (-18ºC) até a sua preparação para as análises isotópicas.

Para a realização das análises isotópicas, as amostras foram descongeladas e secas em estufa de ventilação forçada a 56ºC por um período de 48 horas. Após a secagem, as amostras do baço, fígado e pâncreas, bem como das dietas, foram moídas em moinho criogênico à -196ºC (Spex-modelo 6750 freezer/mil), por três minutos, e em alta frequência (9700 rpm) para obtenção de material homogêneo com aspecto microscópico (menor 60μm).

Alíquotas de 50 a 70 μg dos órgãos e das dietas moídas foram acondicionadas em cápsulas de estanho e pesadas em balança analítica de alta sensibilidade para realização das análises isotópicas no Centro de Isótopos Estáveis Ambientais do Instituto de Biociências (CIEA/IBB) da UNESP, Câmpus de Botucatu.

Para determinar a composição isotópica das amostras foi utilizado o espectrômetro de massas de razões isotópicas (*Delta V Advantage Isotope Ratio MS, Thermo Scientific*,

Alemanha) acoplado ao Analisador Elementar (*Flash 2000 Organic Elemental Analyzer EA for IRMS*), no qual em presença de oxigênio e óxido de cobre foram queimadas quantitativamente para dióxido de carbono (CO_2). Os gases então formados foram separados em colunas cromatográficas gasosa e analisado em espectrômetro de massa.

Os resultados obtidos foram expressos em notação δ (delta) ^{13}C, em relação ao carvão (padrão de trabalho), o qual está em relação ao padrão internacional *PeeDee Belemnite* (PDB), com erro de análise da ordem de 0,2‰ e calculado pela seguinte equação (1):

$$\delta\ ^{13}C_{(amostra,\ padrão)} = [(R_{amostra}/R_{padrão}) - 1] \times 10^3 \qquad (1)$$

Em que:

$\delta^{13}C$ é o enriquecimento relativo da razão $^{13}C/^{12}C$ da amostra em relação ao padrão PDB, em partes per mil ‰ (Adimensional);

R = razão isotópica $^{13}C/^{12}C$ da amostra e do padrão (Adimensional).

Para mensurar o tempo da substituição do carbono das dietas nos órgãos, nos 49 dias de análise, foi empregada a função exponencial do tempo, expressa pela seguinte equação (2) (Ducatti et al., 2002):

$$\delta^{13}C_{(t)} = \delta^{13}C_{(f)} + [\delta^{13}C_{(i)} - \delta^{13}C_{(f)}]\ e^{-(k)t} \qquad (2)$$

Em que:

$\delta^{13}C_{(t)}$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}C_{(f)}$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}C_{(i)}$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial;

k = constante de troca isotópica (*turnover*), em unidades de tempo^{-1};

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

A fim de mensurar as trocas isotópicas do carbono nos órgãos estudados, as constantes de *turnover* tecidual foram desmembradas em: constante de crescimento (*g*) e constante metabólica (*m*). Utilizou-se a equação proposta por Abimorad et al. (2014) (equação 3), para cálculo das constantes de crescimento (*c*) e metabólica (*m*), a partir da equação 2.

$$\delta^{13}C_{(t)} = \delta^{13}C_{(f)} + [\delta^{13}C_{(i)} - \delta^{13}C_{(f)}]\ e^{-(g+m)t} \qquad (3)$$

Em que:

$\delta^{13}C_{(t)}$ = enriquecimento isotópico do tecido em qualquer tempo (t);

$\delta^{13}C_{(f)}$ = enriquecimento isotópico do tecido no patamar de equilíbrio, ou condição final;

$\delta^{13}C_{(i)}$ = enriquecimento isotópico do tecido, na condição inicial;

g = constante de crescimento, em unidades de tempo^{-1};

m = constante de *turnover* metabólico, em unidades de tempo^{-1};

t = tempo (em dias) desde a substituição da dieta.

Para obter-se o valor da constante de *turnover* tecidual, foi realizada a pesagem individual de cada amostra no momento do abate. Para mensurar a constante de crescimento (*g*), a partir dos pesos das partes analisadas, calculou-se uma derivação da equação de crescimento exponencial (4):

$$W = W_0 \times e^{gt} \qquad (4)$$

Em que:

W: peso do órgão no dia da coleta;

W_0: peso médio inicial dos órgãos;

g: constante de crescimento em unidades de tempo-1;

t: tempo (em dias) desde a substituição da ração.

A partir da análise isotópica, obtém-se a constante de *turnover* (*k*), e através da curva exponencial de crescimento obtém-se a constante de crescimento (*g*), sendo então, a constante metabólica (*m*) calculada por subtração simples (adaptado de Abimorad *et al.* 2014) (5).

$$k = g + m \qquad (5)$$

O tempo (T) necessário para que ocorra a substituição dos átomos iniciais pelos átomos finais foi determinada pela Eq. 6, na qual o valor de f (átomos trocados) pode variar de zero (0) a 0,9999, para o cálculo de meia vida, f assume o valor de 0,5 e para o cálculo do tempo total, f assume o valor de 0,95:

$$T = [-1/(k)]\ ln\ (1-f) \qquad (6)$$

Em que:

T = meia-vida, unidade: tempo (dias);

k = constante de crescimento em unidades de tempo^{-1};

ln = logaritmo neperiano;

A meia-vida fornece a estimativa de velocidade no processo de troca dos isótopos estáveis nos tecidos (Zanden et al., 2015). O cálculo de troca total (equilíbrio isotópico) fornece confiabilidade no cálculo da meia vida, pois permite verificar se o período experimental foi suficiente para que ocorresse a troca dos carbonos da fração avaliada pelos da nova dieta, dando maior confiabilidade para a determinação dos valores de meia vida.

Os resultados isotópicos foram estimados considerando as curvas de diluição isotópica obtidas pelo ajuste da regressão não linear exponencial de primeira ordem no *software OriginPro®8 Professional* (Microcal Software, 2016). Os resultados do peso

relativo dos órgãos foram submetidos à análise de regressão utilizando-se o PROC GLM do SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA), atribuindo-se significância quando $P \leq 5\%$.

RESULTADOS

O valor isotópico médio do carbono das dietas fornecidas aos leitões durante o período experimental foi de -27,5‰ (Tabela 2) e aos 49 dias de experimento todos os órgãos possuíam assinatura isotópica próxima ao da dieta, com valores médios de: -27,1‰, -27,3‰, -26,8‰, -27,2‰ para o baço, -27,0‰; -27,1‰; -26,8‰; -27,1‰ para o fígado e -27,1‰, -27,3‰, -26,8‰, -27,2‰ para o pâncreas dos animais que receberam dietas com adição de 0,0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos, respectivamente (Fig. 1, 2 e 3).

Os resultados dos valores de meia-vida (T), da substituição de 95% ($t_{95\%}$) dos átomos e da fração de átomos de ^{13}C trocados no período (F) no baço, fígado e pâncreas de leitões em função das dietas fornecidas após o desmame, encontram-se na Tabela 3. Os valores de F igual ou superior a 80% foram considerados como sistema estabilizado.

Os animais que consumiram dieta contendo 0,2% e 0,4% de nucleotídeos tiveram menores valores de T (18,1; 18,4 e 17,1 dias) e $t_{95\%}$ do ^{13}C (78, 80 e 74 dias) do baço, em relação aos que receberam dieta controle (19,5 e 84 dias, respectivamente), indicando que a adição de nucleotídeos na dieta dos leitões acelerou a velocidade de troca do carbono no órgão, entretanto, a inclusão de 0,6% de nucleotídeos foi a que proporcionou *turnover* mais rápido do ^{13}C, sendo, respectivamente, 2,4 dias e 10 dias menores, em relação à dieta controle (Tabela 3).

A meia-vida do fígado dos leitões que receberam dietas com adição de 0,2% e 0,4% de nucleotídeos foram menores (10,1 dias), comparado com aqueles alimentados com as dietas controle ou com adição de 0,6% de nucleotídeos (10,4 e 11,3 dias,

respectivamente). Para $t_{95\%}$ os valores foram de 45, 44, 43 e 49 dias para os leitões que receberam as dietas controle ou com adição de 0,2%; 0,4% e 0,6% de Nu, respectivamente (Tabela 3). Os valores de meia vida e substituição de 95% do carbono mostraram que a incorporação do ^{13}C no fígado foi mais rápida que nos outros órgãos estudados.

Ocorreu rápida incorporação do ^{13}C no pâncreas de leitões alimentados com dietas com adição de 0,4% nucleotídeos, sendo que com 13,7 dias foi alcançado o valor de meia-vida e $t_{95\%}$ com 59 dias. Os valores de meia-vida do pâncreas para os leitões nas dietas controle, 0,2%; e 0,6% de nucleotídeos foram de 17,2; 14,6 e 15,4 dias e de $t_{95\%}$ foram de 74, 63 e 66 dias, respectivamente (Tabela 3), evidenciando a influência dos nucleotídeos na velocidade de troca do carbono neste órgão.

Os valores de F para o baço foram 82; 85; 84 e 86 dias, para o fígado foram 96; 97; 97 e 95 e para o pâncreas foram 86; 90; 92 e 89 para os leitões que receberam as dietas controle ou com adição de 0,2%; 0,4% e 0,6% de Nu, respectivamente. O período experimental não foi suficiente para que se trocasse todos os átomos de carbono-13 no baço e pâncreas, independente do tratamento, porém os valores alcançados acima de 80% pode-se considerar como sistema estabilizado. Já para o fígado, os valores de F encontrados estavam acima de 90%, sendo o período experimental suficiente para que ocorresse a troca de todos os átomos de ^{13}C (Tabela 3).

Estão apresentadas na Tabela 4 as constantes de *turnover* tecidual (*k*), a taxa de crescimento (*g*) e a taxa metabólica (*m*) do carbono-13 do baço, fígado e pâncreas de leitões dos 21 aos 70 dias de idade (0 a 49 dias de experimento). As curvas de crescimento exponencial do baço, fígado e pâncreas, em função das dietas dos 0 aos 49 dias de experimento, são representadas nas figuras 4, 5 e 6.

Os valores de *k* e de *g* de todos os órgãos estudados, independente da dieta oferecida aos leitões, foram próximos. Os valores das constantes *m* tenderam a zero tanto no baço quanto no pâncreas (Tabela 4), indicando que as maiores contribuições para a constantes de *turnover* tecidual foram devido aos valores das constantes *g*, sugerindo que esses órgãos estavam em constate processo de crescimento e menor degradação e ressíntese.

A dissociação dos valores da constante de *turnover* (*k*) do fígado, resultou em valores da constante de crescimento (*g*) e da constante metabólica (*m*) semelhantes (Tabela 4).

Os pesos relativos do baço, fígado e pâncreas de leitões desmamados, obtidos no 3, 5, 8, 12, 23, 35 e 49 dias de abate, não foram influenciados ($P > 0,05$) pelos níveis de nucleotídeos (Tabela 5).

DISCUSSÃO

O valor isotópico analisado do carbono-13 nos órgãos estudados no momento do desmame foi, em média, de -18,3‰, próximo do valor isotópico do carbono-13 do milho (planta do ciclo C_4), que foi o principal componente presente na dieta das matrizes durante o período de lactação, e ao final do experimento, aos 70 dias de idade, após os leitões consumirem dietas constituídas predominantemente de arroz (planta do ciclo C_3), os valores isotópicos encontrados foram em média de -27,1‰, refletindo a assinatura isotópica das plantas C_3, indicando que as composições isotópicas dos tecidos de animais geralmente assemelham-se às de suas dietas (Hobson e Clark, 1992; Caldara et al., 2007).

Essas constantes, comprova o modelo teórico proposto por Ducatti et al. (2002) de que animais são capazes de exprimir os resultados do enriquecimento relativo de carbono

($\delta^{13}C$) em função do tempo de fornecimento de dietas contrastantes em $\delta^{13}C$ (formuladas com grãos de plantas dos ciclos fotossintéticos C_3 e C_4).

O estado dinâmico dos constituintes corporais, que são continuamente formados e utilizados para diferentes propósitos, é denominado de *turnover*, de modo que todas as substâncias do corpo, sejam elas orgânicas ou inorgânicas, estão sujeitas ao *turnover* (Hetenyi Jr et al., 1983). Para mensurar o *turnover* de componentes corporais e órgãos de animais podem ser utilizadas dietas com assinaturas isotópicas distintas (Gannes et al., 1998), como demostrado no presente estudo.

A incorporação do ^{13}C no fígado foi mais rápida que no baço e no pâncreas, pelo fato dos valores de meia vida e substituição de 95% do ^{13}C neste órgão serem inferiores aos valores observados nos demais órgãos estudados, além disso, os valores de F mostraram que o período experimental foi suficiente para trocar todos os átomos de caborno-13, independente da inclusão, esses valores se encontram acima dos 95% de troca, indicando que o fígado é metabolicamente mais ativo que o baço e o pâncreas.

A adição de nucleotídeos nas dietas reduziu os valores de meia-vida (T) e de substituição de 95% ($t_{95\%}$) dos átomos de ^{13}C no baço e no pâncreas dos leitões, indicando aumento da taxa metabólica desses órgãos, o que poderia exercer influência na capacidade de resposta imune; pois o baço é um órgão importante do sistema imunológico (Carver, 1994; Andrade et al., 2011); e na capacidade de digestão dos leitões, tendo em vista a importância do pâncreas para o processo digestivo (Sauer et al., 2011)

Como em suínos p desenvolvimento adequado da capacidade de produção e ativação das enzimas digestivas ocorre entre seis e oito semanas de idade (Mahan e Newton, 1993; Bertol et al., 2000), no presente estudo os nucleotídeos podem ter propiciado, condições que favoreceram o metabolismo do pâncreas e, consequentemente,

a produção das enzimas pancreáticas necessárias para digestão das dietas pós-desmame. Os nucleotídeos da dieta são especialmente utilizados por tecidos animais de rápido *turnover* (Rhoads e Wu, 2009), e para animais em estado catabólico, como ocorre com leitões recém-desmamados, os nucleotídeos podem se tornar importantes componentes dietéticos para a manutenção e regeneração de órgãos (Fox et al., 1988; Carver, 1999).

O *turnover* nos tecidos resulta do crescimento, do catabolismo e da reposição dos componentes teciduais (proteínas, lipídeos e carboidratos) por rotas anabólicas. Em condições de manutenção a taxa de crescimento é nula e as taxas de quebra e reposição são semelhantes. No período de crescimento a formação de novos tecidos excede o catabolismo e a massa de tecido é aumentada devido à replicação e aumento de tamanho das células. Portanto, a taxa de *turnover* tecidual (*k*) depende da taxa de crescimento (*g*), que reflete a deposição de massa tecidual em relação à degradação, e da taxa de *turnover* metabólico (*m*), que expressa o balanço entre quebra e ressíntese dos componentes teciduais (Millward, 1989; Wolfe e Chinkes, 2005).

Os valores das constantes de crescimento (*g*) verificadas para o baço e para o pâncreas foram semelhantes aos valores das constantes de *turnover* (*k*), pois as constantes metabólicas (*m*) foram praticamente nulas, indicando que estes órgãos estavam em processo de crescimento acelerado e com mínimo de degradação e ressíntese, tendo em vista que o leitão desmamado durante a fase fisiológica estudada (21 aos 70 dias de idade) prioriza o crescimento de órgãos vitais, tais como pâncreas e baço (Pluske et al., 1997).

O fígado é o órgão responsável pelo armazenamento e transporte dos nucleotídeos de acordo com as necessidades do animal (Li e Gatlin III, 2006) e, em condições fisiológicas normais, nucleotídeos dietéticos são requeridos pelo fígado. O fornecimento insuficiente de nucleotídeos pode ter efeitos negativos na estrutura e função do fígado

(Mateo, 2005) e sua inclusão na dieta pode promover o crescimento e a regeneração dos hepatócitos (Carver e Walker, 1995). O *turnover* do ^{13}C no fígado, avaliado pela meia vida e substituição de 95% do ^{13}C, foi mais lento em leitões que receberam dietas contendo 0,6% de nucleotídeos em relação aos demais tratamentos, contudo o valor de *m* também foi menor numericamente que nos demais tratamentos. Assim sugere-se que pode ter ocorrido menor taxa de degradação e maior preservação dos hepatócitos quando os animais foram alimentados com dietas contendo maior teor de nucleotídeos.

Os resultados do presente estudo concordam com aqueles obtidos por Amorim et al. (2016), que estudaram a influência da glutamina, glutamato e dos nucleotídeos no *turnover* do ^{13}C do baço, fígado e pâncreas de leitões recém-desmamados. Os autores observaram aumento na velocidade de substituição do carbono em todos os órgãos em função da suplementação com 1% de nucleotídeos, concluindo que houve estímulo anabólico dos nucleotídeos.

O peso dos órgãos varia com o consumo de energia e/ou proteína, mas, sendo similar o consumo e os níveis nutricionais das rações, o peso dos órgãos dos animais possivelmente não serão influenciados (Kelly et al., 1991; Rao e McCracken, 1992; Pluske et al., 1997). O fato das dietas utilizadas neste experimento terem sido isoprotéicas e com teores semelhantes de energia metabolizável, poderia justificar o fato de não terem sido encontradas diferenças nos pesos relativos dos órgãos dos animais que receberam as diferentes rações.

A ausência de efeito dos níveis de nucleotídeos no peso relativo do baço corrobora o resultado obtido por Garcia (2007), que verificou que o peso relativo do baço não foi afetado pelo fornecimento de nucleotídeos em níveis de até 0,8% na dieta de leitões, contudo, Andrade et al., (2011) observaram que o peso relativo do baço aumentou de

forma linear com o aumento da inclusão de nucleotídeos nas dietas de leitões em níveis de até 600 ppm.

A idade, o início de fornecimento de ração para os leitões lactentes e o tipo da dieta (simples ou complexas) são os principais fatores que influenciam o desenvolvimento do pâncreas e da atividade das enzimas pancreáticas (Cranwell, 1995). O peso do pâncreas pode representar mudanças na capacidade digestiva do animal pela alta correlação entre o seu peso e a atividade das enzimas pancreáticas (Corless e Sell, 1999). Entretanto, no presente estudo não foi verificado efeito da adição de nucleotídeos na dieta sobre o peso relativo do pâncreas.

Resultados semelhantes foram encontrados por Oliveira Júnior (2008), trabalhando com a inclusão de 3% de extrato de levedura (5% de nucleotídeos em sua composição) nas dietas, não encontrou diferença no peso relativo do pâncreas de leitões desmamados. Andrade (2013), também não constatou diferença no peso relativo do pâncreas de leitões desmamados aos 34 dias de experimentação em função dos níveis de adição de nucleotídeos nas dietas (0, 100, 150 e 200 ppm).

O baixo nível de desafio microbiano nas instalações em que a pesquisa foi realizada também pode ser a razão de não serem observadas diferenças no peso relativo dos órgãos dos leitões que receberam dietas com adição de nucleotídeos. A fonte e o teor de nucleotídeos contidos nas fontes estudadas, o nível de inclusão nas dietas, o estado de saúde dos animais, bem como o ambiente em que são alojados são fatores que influenciam nas respostas e, consequentemente, podem gerar resultados contraditórios nas pesquisas (Jung e Batal, 2012).

A manutenção da integridade e o adequado desenvolvimento dos órgãos, principalmente aqueles relacionados com os sistemas digestório, são importantes,

principalmente para os leitões recém-desmamados, e a suplementação de nucleotídeos na dieta auxiliou no processo de renovação celular sugerindo ação trófica dos nucleotídeos nos órgãos estudados.

CONCLUSÕES

A adição de nucleotídeos nas dietas não altera o peso relativo do baço, fígado e pâncreas, porém, acelera o *turnover* do ^{13}C no baço, fígado e pâncreas de leitões recém-desmamados.

REFERÊNCIAS

Abimorad, E. G., C. Ducatti, D. Castellani, R. K. Jomori, M. C. Portella and D. J. Carneiro. 2014. The use of stable isotopes to investigate the effects of supplemental lysine and methionine on protein turnover and amino acid utilization in pacu, *Piaractus mesopotamicus*, juveniles. Aquac. 433:119-124. doi: 10.1016/j.aquaculture.2014.06.006

Amorim, A. B., D. A. Berto, M. A. D. Saleh, F. G. Telles, J. C. Denadai, M. M. P. Sartori, F. G. Luiggil, L. S. Santos and C. Ducatti. 2016. Effect of glutamine, glutamic acid and nucleotides on the turnover of carbon ($\delta^{13}C$) in organs of weaned piglets. Asian-Australas J Anim Sci. 29(8):1152-1158. doi: 10.5713/ajas.15.0132

Andrade, C. 2013. Nucleotídeos na alimentação de leitões recém-desmamados. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Andrade, C., V. V. Almeida, L. B. Costa, B. Berenchtein,, G. B. Mourão and V. S. Miyada. 2011. Hydrolyzed yeast as source of nucleotides for weanling pigs. R. Bras. Zootec. 40:788-796. doi:10.1590/S1516-35982011000400012

Bertol, T. M., J. V. Ludke and N. Mores. 2000. Efeito de diferentes fontes proteicas sobre desempenho, composição corporal e morfologia intestinal em leitões. R. Bras Zootec. 29:1735-1742. doi:10.1590/S1516-35982000000600020

Bueno, J., M. Torres, A. Almendros, R. Carmona, M. C. Nuñez, A. Rios and A. Gil. 1994. Effect of dietary nucleotides on small intestinal repair after diarrhea. Histological and ultrastructural changes. Gut, v.35, p.926-933, 1994. doi:10.1136/ gut.35.7.926

Caldara, F. R., C. Ducatti, D. A. Berto, J. C. Denadai, G. A. Andrade and M. M. Gioso. 2007. Glutamine and carbon turnover in adipose tissue of piglets. Pesqui. Agropecu. Bras. 42(11):1601-1607. doi: 10.1590/S0100-204X2007001100012

Caldara, F. R., C. Ducatti, D. A. Berto, J. C. Denadai, R. G. Garcia and V. M. O. S. Ferreira. 2010. Glutamine and carbon turnover of the intestinal mucosa of weaned piglets. R. Bras Zootec. 39:2664-2669. doi:10.1590/S1516-35982010001200015

Carlson, M. S., T. L. Veum and J. R. Turk. 2005. Effects of yeast extract versus animal plasma in weanling pig diets on growth performance and intestinal morphology. J Swine Health Prod. 13(4):204–209.

Carrijo, A. S., A. C. Pezzato, C. Ducatti, J. R. Sartori, L. Trinca and E. T. Silva. 2006. Traceability of Bovine Meat and Bone Meal in Poultry by Stable Isotope Analysis. Rev. Bras. Cienc. Avic. 8:37-42. doi:10.1590/S1516-635X2006000100010

Carver, J. D. 1994. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system effects. J. Nutr. 124:144-148.

Carver, J. D. 1999. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. Acta Paediatr. Suppl. 88:83-88. doi:10.1111/j.1651-2227.1999.tb01306.x

Carver, J. D. and W. A. Walker. 1995. The role of nucleotides in human nutrition. Nutr. Biochem. 6:58-72. doi:10.1016/0955-2863(94)00019-I

Corless, A. B. and J. L. Sell. 1999. The effects of delayed access to feed and water on the physical and functional development of the digestive system of young turkeys. Poult Sci. 78:1158-1169. doi: 10.1093/ps/78.8.1158

Cosgrove, M. 1998. Perinatal and infant nutrition. Nucleotides. Nutr. 14(10):748-51. doi: 10.1016/S0899-9007(98)00075-6

Cranwell, P. D. 1995. Development of the neonatal gut and enzyme systems. In: Varley, M. A. The neonatal pig: development and survival. Wallingford: Cab International. p. 99-154.

Dallanora, D., T. Bierhals and D. Magnabosco. 2014. Manejos de maternidade na produção de suínos: gestão da maternidade em granjas hiperprolificas. In: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DOS CRIADORES DE SUÍNO – ABCS (Org.). Brasília, DF.

Denadai, J. C., C. Ducatti, A. C. Pezzato, A. S. Carrijo, F. R. Caldara and R. P. Oliveira R. P. 2006. Studies on carbon-13 turnover in eggs and blood of commercial layers. Rer. Bras. de Cien. Avic. 8:251-256. doi:10.1590/S1516-635X2006000400008

Denadai, J. C., C. Ducatti, J. R. Sartori, A. C. Pezzato, C. Móri, R. Gottmann and M. A. O. Mituo. 2009. Traceability of bovine meat and bone meal in eggs from laying hens fed with alternative ingredients. Pesqui. Agropecu. Bras. 44:1-7. doi: 10.1590/S0100-204X2009000100001

Ducatti, C., A. S. Carrijo, A. C. Pezzato, P. F. A. Mancera. 2002. Theorical and experimental model for carbon-13 turnover in mammalian and avian tissues. Sci. Agric. 59(1):29-33. doi:10.1590/S0103-90162002000100003

Fox, A. D., S. A. Kripke, J. M. Berman, R. M. McGintey, R. G. Settle and J. L. Rombeau. 1988. Dexamethasone administration induces increased glutamine specific activity in the jejunum and colon. J Surg Res. 44:391-396. doi:10.1016/0022-4804(88)90181-3

Gannes, L. Z., C. Martinez Del Rio and P. Koch. 1998. Natural abundance variations in stable isotopes and their potential uses in animal physiological ecology. Rapid Commun. Mass Spectrom. 119:725-737. doi:10.1016/S1095-6433(98)01016-2

Garcia, A. N. 2007. Nucleotídeos como potenciais promotores do crescimento de leitões recém- desmamados. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, Piracicaba.

Hetenyi Jr. G., G. Perez and M. Vranic. 1983. Turnover and precursor-product relationships of nonlipid metabolites. Physiol Rev. 63:606-667.

Hobson, K. A. and R. G. Clark. 1992. Assessing avian diets using stable isotopes I: Turnover of ^{13}C in tissues. The Condor. 94:181-188. doi10.2307/1368807

Jung, B. and A. B. Batal. 2012. Effect of dietary nucleotide supplementation on performance and development of the gastrointestinal tract of broilers. Br. Poult. Sci. 53(1):98-105. doi:10.1080/00071668.2012.659654.

Kelly, D., J. A. Smyth and K. J. Mccracken. 1991. Digestive development of the early-weaned pig. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. Br. J Nut. 65(2):169- 180. doi:10.1079/BJN19910078

Li, P. and D. M. Gatlin III. 2006. Nucleotide nutrition in fish: Current knowledge and future applications. Aquac. 251:141-152. doi:10.1016/j.aquaculture.2005.01.009

Mahan, D. C. and E. A. Newton. 1993. Evaluation of feed grains with dried skim milk and added carbohydrate sources on weanling pig performance. J Anim Sci. 71:3376-3382. doi:1993.71123376x

Mateo, C. D. 2005. Aspects of nucleotide nutrition in pigs. PhD Diss. South Dakota State Univ., Brookings, SD

Miassi, G. M., L.S. Santos, L. M. Gomes, P. N. Berto, M. D. A. Saleh, A. B. Amorim, M. L. P. Tse and D. A. Berto. 2015. Nucleotide supplementation improves growth performance of weaned piglets. J. Anim. Sci. 93S(3):417s

Millward, D. J. 1989. The nutritional regulation of muscle growth and protein turnover. Aquac. 79:1–28. doi: 10.1016/0044-8486(89)90441-9

Móri, C., E. A. Garcia, C. Ducatti, J. C. Denadai, R. Gottmann and M. A. O. Mituo. 2008. Poultry offal meal traceability in meat quail tissues using the techniques of stable carbon ($^{13}C/^{12}C$) and nitrogen ($^{15}N/^{14}N$) isotopes. Rev. Bras. Cienc. Avic. 10:45-52. doi: 10.1590/S1516-635X2008000100007

Oliveira Junior, A. R. 2008. Glutamina, ácido glutâmico e ou extrato de levedura na dieta de leitões desmamados. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

Pelícia, V. C. 2008. Nucleotídeos na dieta de frangos de corte criados no sistema alternativo. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista, Botucatu.

Pelícia, V. C., K. C. Zavarize, C. Ducatti, A. C. Stradiotti, A. C. Pezzato, P. C. Araújo, M. A. O. Mituo, L A. Madeira and J. R. Sartori. 2011. Nucleotides in broilers challenged diet and its effects on intestinal mucosa turnover rate before and after injuries caused by coccidiose. Cienc Rural. 41(9): 1652-1659. doi: 10.1590/S0103-84782011000900027

Pluske, J. R, Hampson, D. J, Williams, I. H., 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pigs: a review. Livest. Prod. Sci. 51:215- 236. doi:10.1016/S0301-6226(97)00057-2

Rao, D. S. and K. J. Mccracken. 1992. Energy: protein interactions in growing boars on hegh genetic potencial for lean growth: I Effects on growth, carcass characteristics and organ weights. Anim. Prod. 54:75-82. doi:10.1017/S0003356100020596

Rhoads, J. M. and G. Wu. 2009. Glutamine, arginine, and leucine signaling in the intestine. Amino Acids. 37:111–122. doi: 0.1007/s00726-008-0225-4

Rossi, P., E. G. Xavier and F. Rutz. 2007. Nucleotídeos na nutrição animal. Rev. Bra. Agroc. 13:05-12.

Rostagno, H. S., L. F. T. Albino, J. L. Donzele, P. C. Gomes, R. F. Oliveira, D. C. Lopes, A. S. Ferreira and S. L. T. Barreto. 2011. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais (3rd ed.). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

Santos, L. S., G. M. Miassi, M. L. P. Tse, L. M. Gomes, P. N. Berto and D. A. Berto. 2015. *Turnover* do ^{13}C na mucosa intestinal de leitões alimentados com

nucleotídeos e ácido glutâmico. In: XVII Congresso ABRAVES, Campinas, SP, p.50-52

Sauer, N., E. Bauer, W. Vahjen, J. Zentek, R. Mosenthin. 2010. Nucleotides modify growth of selected intestinal bacteria *in vitro*. Livest Sci. 133:161-163. doi:10.1016/j.livsci.2010.06.053

Sauer, N., M. Eklund, E. Bauer, M. G. Gänzle, C. J. Field, R. T. Zijlstra and R. Mosenthin. 2012. The effects of pure nucleotides on performance, humoral immunity, gut structure and numbers of intestinal bacteria of newly weaned pigs. J. Anim. Sci. 90(9):3126–3134. doi:10.2527/jas.2011-4417

Sauer, N., R. Mosenthin and B. Bauer. 2011. The role of dietary nucleotides in singlestomached animals. Nutrition Research Reviews, 24:46-59. doi: 10.1017/S0954422410000326

Weaver, A. C. and Kim, S. W. 2014. Supplemental nucleotides high in inosine 5'-monophosphate to improve the growth and health of nursery pigs. J. Anim. Sci. 95:645- 651. doi:10.2527/jas.2013-6564

Wolfe, R. R and D. L. Chinkes. 2005. Measurement of the synthesis of specific proteins. In: Isotope Tracers in Metabolic Research: Principles and Practice of Kinetic Analysis. John Wiley & Sons, Inc. pp. 325–360.

Zanden M. J. V., M. K. Clayton, E. K. Moody, C. T. Solomon and B. C. Weidel. 2015. Stable isotope turnover and half-life in animal tissues: a literature synthesis. PLoSONE 10(1):e0116182. doi: 10.1371/ journal.pone.0116182

Zuanon, J. A. S., A. C. Pezzato, L. E. Pezzato, J. R. Passos, M. M. Barros and C. Ducatti. 2006. Muscle ^{13}C change in Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*): effects of growth and carbon turnover. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol. 145:101-107. doi: 10.1016/j.cbpb.2006.06.009

Tabela 1. Composição percentual das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial[1]

Ingredientes, %	Dietas		
	Pré-inicial I	Pré-inicial II	Inicial
Arroz, Quirera	53,50	57,99	65,21
Soja, Farelo 45%	20,00	24,00	28,00
Soro de leite seco	6,50	3,00	-
Açúcar	4,00	3,00	-
Maltodextrina 20%	4,00	2,00	-
Concentrado Proteico Soja	2,51	2,00	0,50
Farelo de glúten 60%	2,60	2,00	1,00
Óleo de soja	1,30	1,30	1,30
Fosfato Bicálcico	1,85	1,75	1,65
Calcário	0,73	0,77	0,73
Cloreto de sódio	0,53	0,50	0,50
L-Lisina HCl (78,4%)	0,81	0,58	0,34
DL-Metionina (99%)	0,28	0,19	0,08
L-Treonina (98%)	0,34	0,24	0,13
L-Triptofano (99%)	0,05	0,03	-
L-Isoleucina (99%)	0,08	-	-
L-Valina (96,5%)	0,22	0,09	-
Óxido de Zinco (77%)	0,34	0,20	0,20
Cloreto de colina (60%)	0,09	0,09	0,09
Antioxidante BHT	0,02	0,02	0,02
Premix mineral [2]	0,10	0,10	0,10
Premix vitamínico [3]	0,15	0,15	0,15
Nucleotídeos [4]	0,00	0,00	0,00

[1]Dietas basais sem suplementação de nucleotídeos (Nu), nas demais dietas experimentais os nucleotídeos foram adicionados em níveis de 0,2%; 0,4% e 0,6% em substituição a igual quantidade de quirera de arroz;

[2] Premix mineral - Níveis de garantia por kg de ração: Ferro - 40 mg, Cobre - 35 mg, Manganês - 20 mg, Zinco - 40 mg, Cobalto – 0,36 mg, Iodo – 0,84 mg, Selênio – 0,12 mg;

[3] Premix vitamínico - Níveis de garantia por kg de ração: Vit. A - 25000 UI, Vit. D3 - 5000 UI, Biotina - 5 mg, Niacina - 10 mg, Pantotenato de cálcio - 30 mg, Vit. B12 – 70 µg, Vit. B2 – 18 mg, Vit. E – 75 mg, Vit. K3 - 1 mg;

[4] Composição dos nucleotídeos: 98% de 5'inosinato dissódico e 5'guanilato dissódico

Tabela 2. Composição nutricional calculada e valores determinados do $\delta^{13}C$ (‰)[2] das dietas basais pré-inicial I, pré-inicial II e inicial[1]

	Pré-inicial I	Pré-inicial II	Inicial
EM, kcal/kg	3404	3383	3350
PB, %	18,95	19,50	19,57
Lisina dig, %	1,45	1,33	1,17
Metionina dig, %	0,56	0,48	0,38
Treonina dig, %	0,91	0,84	0,74
Triptofano dig, %	0,25	0,24	0,22
Met+Cist dig, %	0,81	0,75	0,65
Isoleucina dig, %	0,80	0,76	0,78
Leucina dig, %	1,41	1,45	1,42
Valina dig, %	1,00	0,92	0,85
Lactose, %	10,15	5,67	0,00
Cálcio, %	0,85	0,83	0,77
Fósforo disp, %	0,45	0,41	0,38
		$\delta^{13}C$, ‰	
Dieta Basal (DB)	-26,45	-27,59	-28,88
DB + 0,2% Nu	-26,24	-27,71	-28,85
DB + 0,4% Nu	-26,41	-27,71	-28,60
DB + 0,6% Nu	-26,61	-27,41	-27,88

[1]Dietas basais sem suplementação de nucleotídeos (Nu), nas demais dietas experimentais os nucleotídeos foram adicionados em níveis de 0,2%; 0,4% e 0,6% em substituição a igual quantidade de quirera de arroz. Valores calculados com base nos níveis nutricionais apresentados por Rostagno et al. (2011) ou pelos fabricantes das matérias primas;

[2] Valor isotópico expresso em δ^{13} C das dietas em relação ao carvão (padrão de trabalho) relativo ao padrão *PeeDee Belemnite* (PDB).

Tabela 3. Valores de meia-vida (T, dias), troca total ($t_{95\%}$, dias) e fração de átomos de ^{13}C trocados no período experimental (F, %) de órgãos de leitões dos 21 aos 70 dias de idade (0 a 49 dias de experimento) alimentados com dietas contendo diferentes níveis nucleotídeos

Órgãos	Tratamentos[1]											
	0			0,2			0,4			0,6		
	T	$t_{95\%}$	F	T	$t_{95\%}$	F	T	$t_{95\%}$	F	T	$t_{95\%}$	F
Baço	19,5	84	82	18,0	78	85	18,4	80	84	17,1	74	86
Fígado	10,4	45	96	10,1	44	97	10,1	43	97	11,3	49	95
Pâncreas	17,2	74	86	14,6	63	90	13,7	59	92	15,4	66	89

[1]Dietas suplementadas com 0,0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos (98% de inosinato dissódico e guanilato dissódico)

Tabela 4. Constantes de *turnover* tecidual (*k*), taxa de crescimento (*g*) e taxa metabólica (*m*) do ^{13}C no baço, fígado e pâncreas de leitões dos 21 aos 70 dias de idade (0 a 49 dias de experimento)

Órgão	Tratamentos[1]	*k*, d^{-1}	*g*, d^{-1}	*m*, d^{-1}
Baço	0	0,0356	0,0378	-0,0023
	0,2	0,0384	0,0486	-0,0102
	0,4	0,0376	0,0416	-0,0039
	0,6	0,0405	0,0425	-0,0020
Fígado	0	0,0668	0,0352	0,0317
	0,2	0,0688	0,0386	0,0302
	0,4	0,0689	0,0388	0,0300
	0,6	0,0615	0,0357	0,0258
Pâncreas	0	0,0402	0,0430	-0,0028
	0,2	0,0476	0,0440	0,0036
	0,4	0,0504	0,0442	0,0061
	0,6	0,0450	0,0430	0,0020

[1]Dietas suplementadas com 0,0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos (98% de inosinato dissódico e guanilato dissódico)

Tabela 5. Valores médios de peso relativo[1] (%) do baço (PRB), fígado (PRF), e pâncreas (PRP) de leitões alimentados com dietas contendo diferentes níveis nucleotídeos

Dia de Abate		Tratamentos[2]				CV, %	Valores de *P*		
		0	0,2	0,4	0,6		Linear	Quadrático	Cúbico
3º	PRB	0,19	0,21	0,21	0,15	16,90	0,167	0,092	0,542
	PRF	2,37	2,31	2,37	2,49	6,20	0,312	0,355	0,897
	PRP	0,12	0,12	0,12	0,11	22,80	0,613	0,892	0,989
5º	PRB	0,17	0,17	0,19	0,20	17,90	0,218	0,872	0,743
	PRF	2,18	2,40	2,26	2,05	8,30	0,323	0,095	0,575
	PRP	0,14	0,16	0,14	0,14	18,60	0,996	0,536	0,546
8º	PRB	0,19	0,17	0,20	0,18	17,90	0,218	0,872	0,743
	PRF	2,37	2,29	2,26	2,40	8,30	0,323	0,095	0,575
	PRP	0,16	0,17	0,16	0,17	18,60	0,996	0,536	0,546
12º	PRB	0,17	0,18	0,16	0,22	32,40	0,454	0,530	0,532
	PRF	2,66	3,11	2,77	2,91	6,90	0,473	0,229	0,052
	PRP	0,14	0,17	0,18	0,18	13,00	0,065	0,464	0,941
23º	PRB	0,19	0,15	0,17	0,19	16,30	0,826	0,165	0,632
	PRF	3,05	3,17	2,89	2,86	8,30	0,251	0,624	0,359
	PRP	0,18	0,18	0,17	0,20	8,20	0,177	0,330	0,469
35º	PRB	0,18	0,17	0,16	0,19	5,80	0,420	0,310	0,175
	PRF	3,14	2,87	2,86	2,82	11,00	0,286	0,565	0,749
	PRP	0,20	0,18	0,18	0,20	12,70	0,927	0,179	0,863
49º	PRB	0,19	0,24	0,20	0,22	38,80	0,763	0,722	0,491
	PRF	2,47	2,89	2,72	2,47	10,80	0,809	0,085	0,498
	PRP	0,19	0,20	0,20	0,20	15,00	0,777	0,970	0,847

[1] Peso relativo de órgãos (%) = (peso do órgão, g/peso vivo, g) x 100;

[2] Dietas suplementadas com 0,0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos (98% de inosinato dissódico e guanilato dissódico)

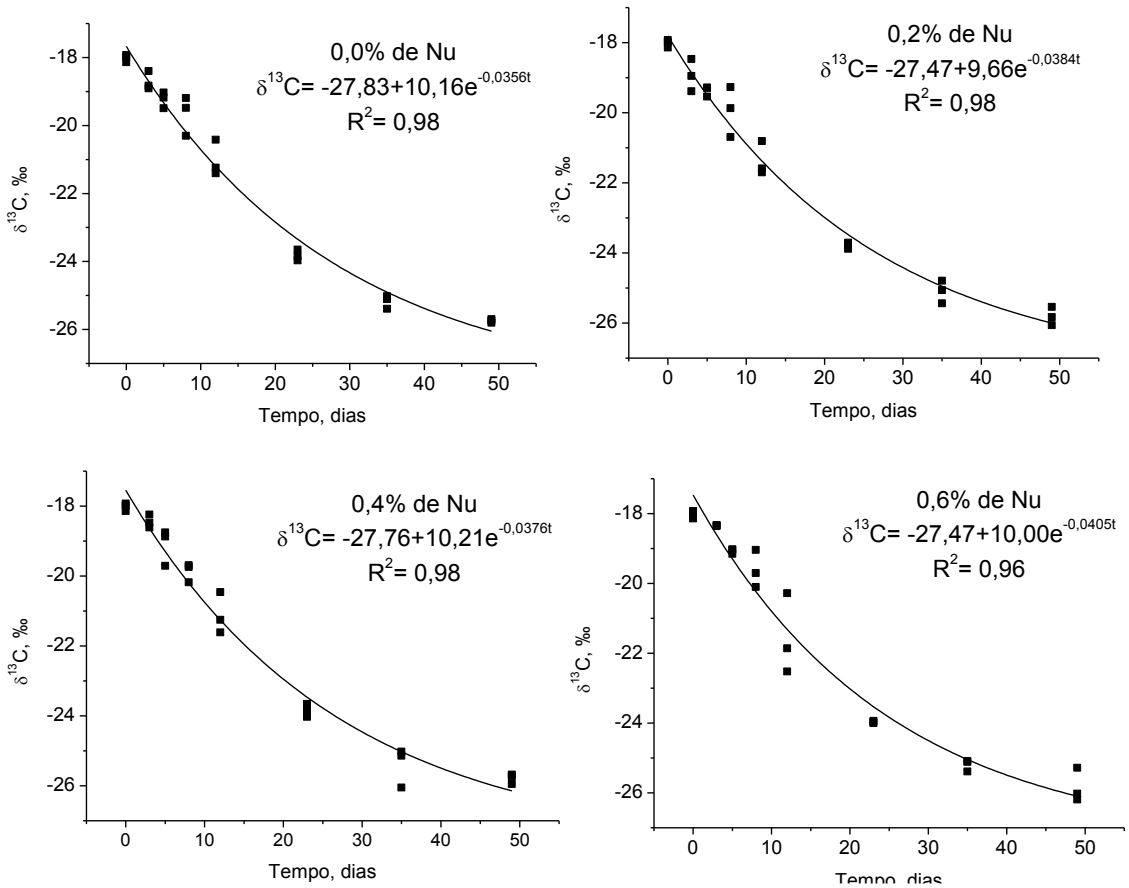


Figura 1. Curvas de diluição isotópica do carbono do baço de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento

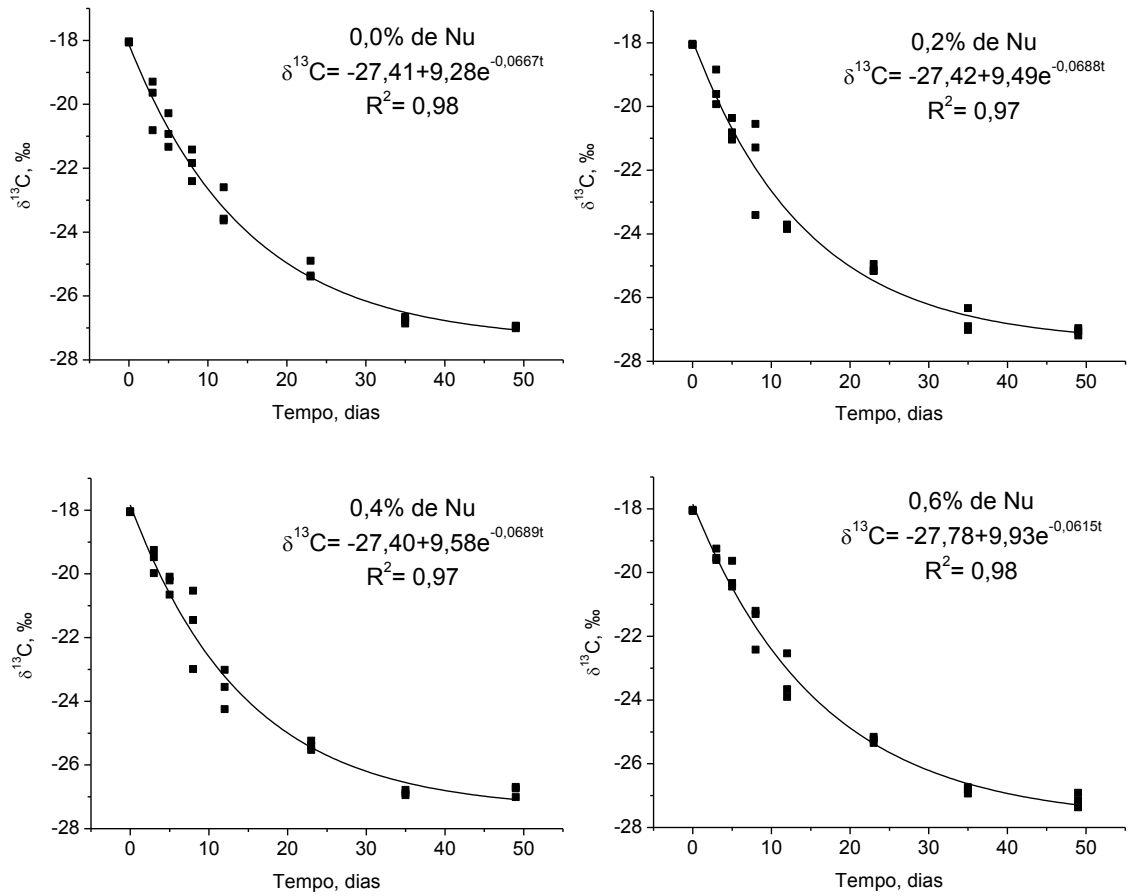


Figura 2. Curvas de diluição isotópica do carbono do fígado de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento

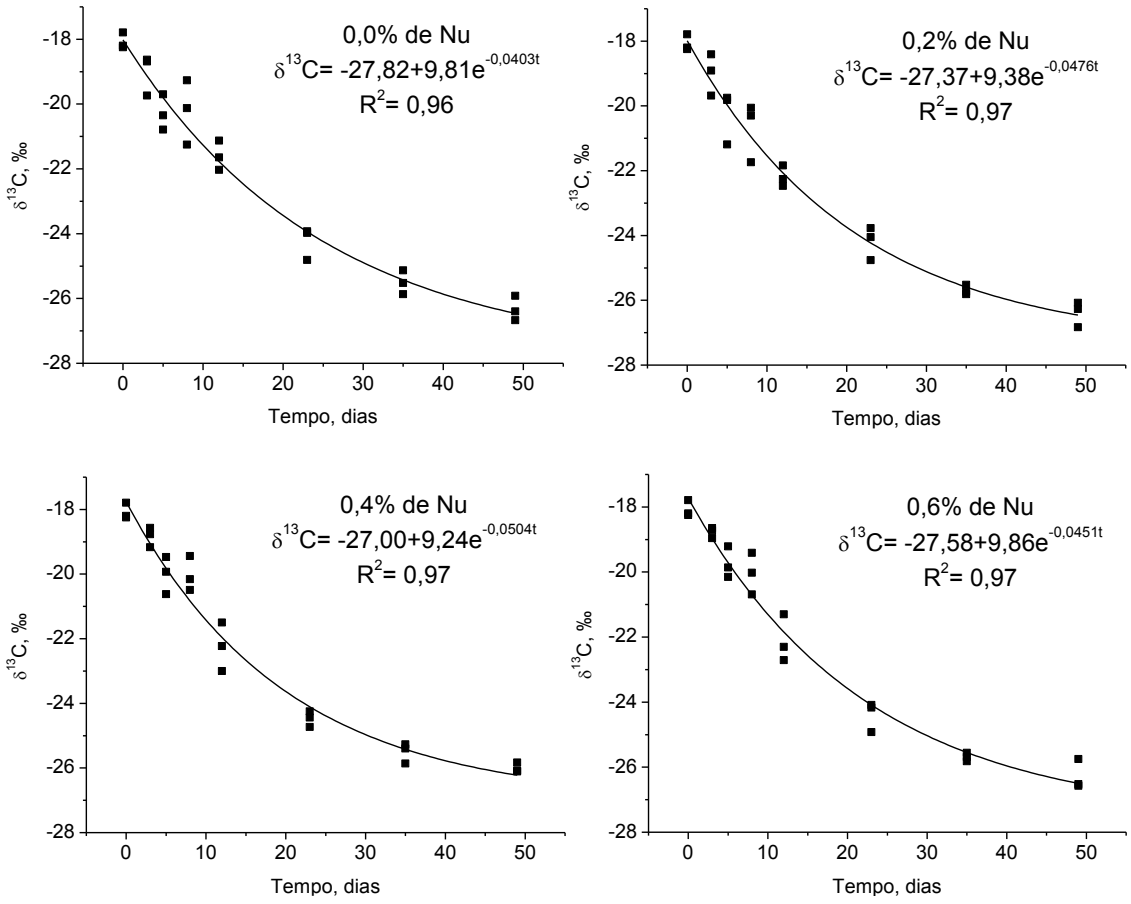


Figura 3. Curvas de diluição isotópica do carbono do pâncreas de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento

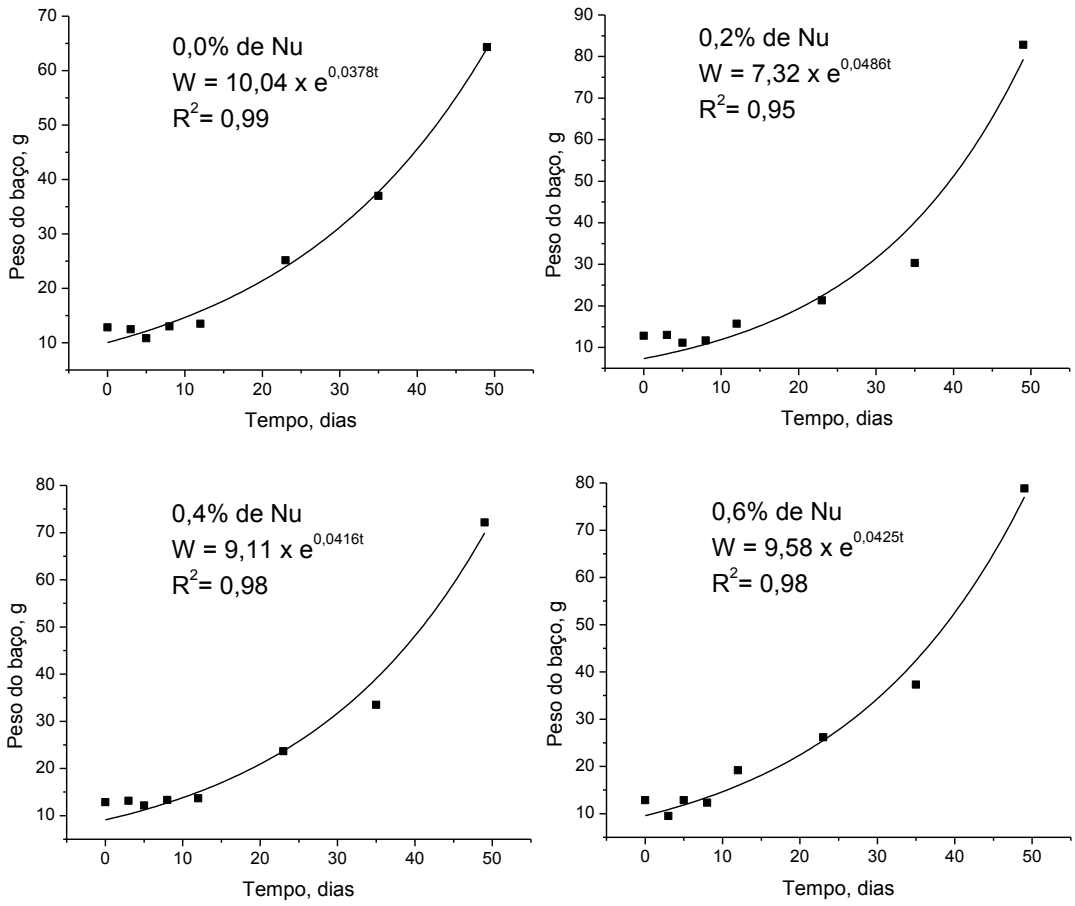


Figura 4. Curva de crescimento exponencial do baço de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento

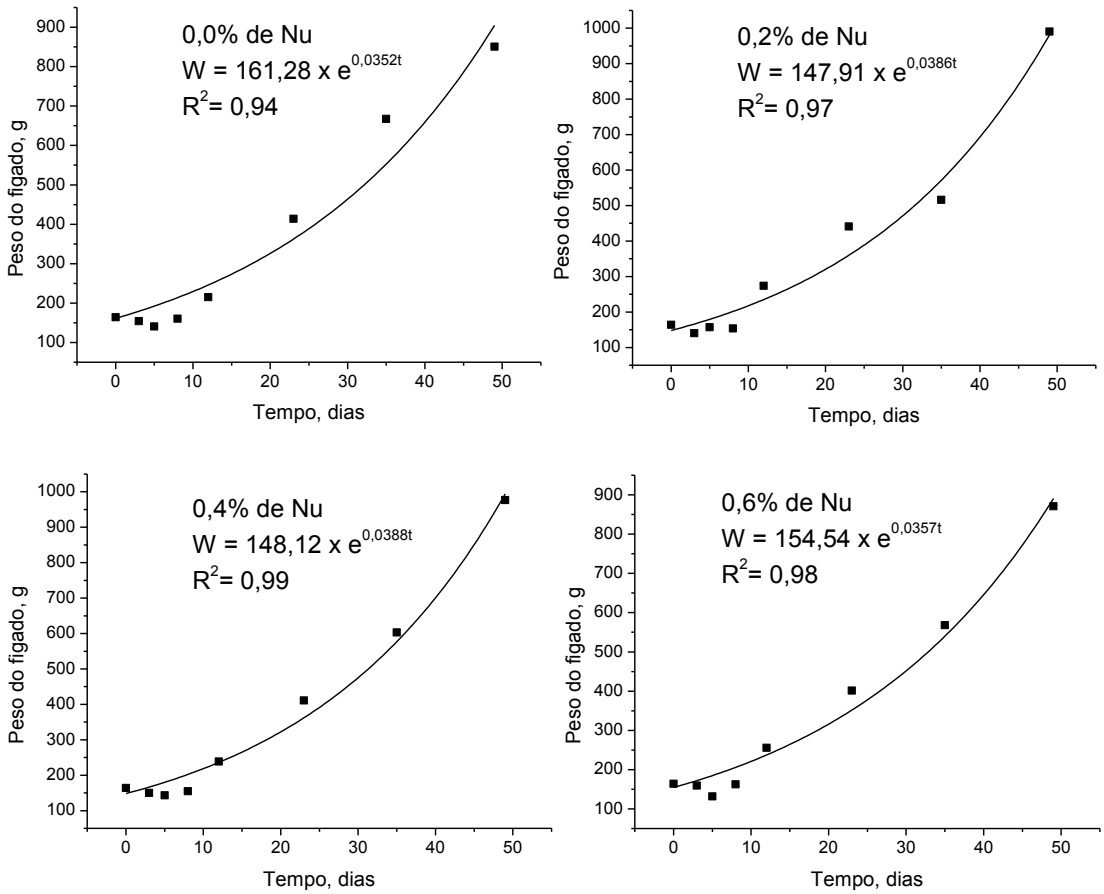


Figura 5. Curva de crescimento exponencial do fígado de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento

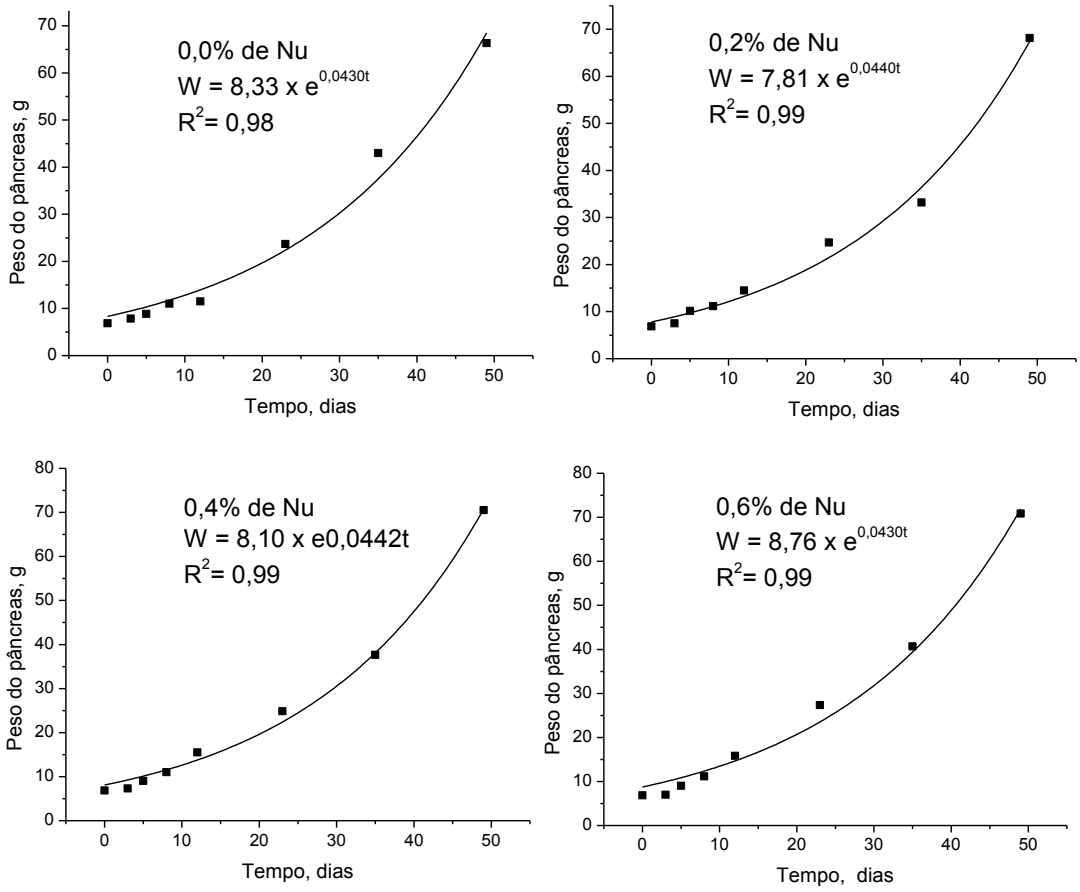


Figura 6. Curva de crescimento exponencial do pâncreas de leitões recebendo dietas suplementadas com 0; 0,2; 0,4 e 0,6% de nucleotídeos dos 0 aos 49 dias de experimento

CAPÍTULO 4

IMPLICAÇÕES

Os resultados desse estudo demonstraram a importância da suplementação de nucleotídeos nas dietas de leitões recém-desmamados, pois proporcionaram melhores condições para a incorporação de carbono na mucosa intestinal, auxiliando o *turnover* celular, o que é benéfico para o reparo da mucosa intestinal comprometida pelos efeitos do estresse pós-desmame e, consequentemente, favorecendo a capacidade de digestão e de absorção intestinal dos leitões.

O exato metabolismo dos ácidos nucleicos ingeridos por animais jovens ainda é desconhecido. As pesquisas utilizando nucleotídeos não informam a composição da sua fonte, dificultando a melhor definição de sua especificidade para leitões desmamados.

Sintetizar nucleotídeos pela via *de novo* é metabolicamente custosa quando comparado à síntese pela via *de salvamento*, e requer glutamina. Os nucleotídeos são importantes para a manutenção do estado de saúde dos animais, sendo que durante períodos de crescimento rápido, desafio sanitário, lesão e estresse, as exigências de nucleotídeos são maiores. As dietas fornecidas aos leitões recém-desmamados são deficientes em nucleotídeos, e por desempenharem papel importante na função intestinal e no sistema imunológico, os nucleotídeos devem ser suplementados nas dietas desses animais.

Este estudo demonstrou que a técnica dos isótopos estáveis do carbono tem potencialidade de uso com objetivo de avaliar a taxas de *turnover* do intestino delgado e dos órgãos de leitões desmamados quando se utilizam dietas com valores isotópicos distintos. Sugere-se outras pesquisas com nucleotídeos para se avaliar o funcionamento do sistema imune e a resistência à infecção de patógenos em leitões desmamados.