

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
ESCOLA DE VETERINÁRIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**AVALIAÇÃO METABÓLICA E HISTOLÓGICA DE SUÍNOS EM
TERMINAÇÃO SUBMETIDOS À RETIRADA DOS
SUPLEMENTOS MICROMINERAIS-VITAMÍNICOS, REDUÇÃO
DO NÍVEL DE FÓSFORO INORGÂNICO E ADIÇÃO DE FITASE
NA RAÇÃO**

Moema Pacheco Chediak Matos
Orientador: Luiz Augusto Batista Brito

GOIÂNIA
2006

MOEMA PACHECO CHEDIAK MATOS

**AVALIAÇÃO METABÓLICA E HISTOLÓGICA DE SUÍNOS EM
TERMINAÇÃO SUBMETIDOS À RETIRADA DOS
SUPLEMENTOS MICROMINERAIS-VITAMÍNICOS, REDUÇÃO
DO NÍVEL DE FÓSFORO INORGÂNICO E ADIÇÃO DE FITASE
NA RAÇÃO**

Tese apresentada para
obtenção do grau de Doutor em
Ciência Animal junto à Escola
de Veterinária da Universidade
Federal de Goiás

Área de concentração:

Patologia, Clínica e Cirurgia Animal

Orientador:

Prof. Dr. Luiz Augusto Batista Brito

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. José Henrique Stringhini

Prof. Dr. Dirson Vieira

GOIÂNIA

2006

OFEREÇO

A Deus pela vida e a meus pais,
MARIA WILMA (*"in memorian"*) e LAERTE,
pelo amor, dedicação e por terem me mostrado
o melhor caminho.

DEDICO

Ao meu marido JOSÉ ANTÔNIO e aos meus filhos,
JOSÉ ANTÔNIO FILHO e ANA WILMA, pelo amor, carinho, apoio e
compreensão pelos momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

A autora expressa os seus sinceros agradecimentos

aos integrantes da banca examinadora;

ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo auxílio financeiro concedido, que viabilizou a execução deste trabalho;

à Universidade Federal de Goiás, pela oportunidade proporcionada à realização deste curso;

às colegas de pós-graduação Ana Paula Ázara de Oliveira e Luciana Moura Rufino, pela harmoniosa convivência, profissionalismo e responsabilidade na execução da parte experimental deste trabalho;

ao Professor Dr. Luiz Augusto Batista Brito pela orientação segura, amizade, apoio e tolerância durante este período;

ao Professor Dr. Jurij Sobestiansky, pela amizade, exemplo, confiança, apoio e grande incentivo ao crescimento profissional;

aos Professores Doutores Eurípedes Laurindo Lopes e Romão da Cunha Nunes pela amizade, auxílio e companheirismo;

aos Professores Doutores José Henrique Stringhini e Dirson Vieira, pela orientação e apoio recebidos;

aos amigos Marcos Almeida de Souza e Marina Pacheco Miguel, pela amizade, incentivo e auxílio na realização deste trabalho;

às Professoras Doutoras Maria Clorinda Soares Fioravanti, Maria Lúcia Gambarini Meirinhos e Naida Cristina Borges, pela amizade e auxílio na realização deste trabalho;

ao colega de pós-graduação Marco Antônio Viu, pela presteza e auxílio nas análises estatísticas;

.

aos amigos e colegas do Setor de Patologia Animal, Eugênio Gonçalves de Araújo, Ana Paula Iglesias Santin, Regiani Nascimento Gagno Pôrto, Veridiana Maria Brianezi Dignani de Moura, pela amizade, confiança, convivência harmoniosa e auxílio neste trabalho;

aos amigos e colegas técnicos administrativos, Antônio Souza e Silva e João Vilela Teixeira, pela amizade, agradável convivência e auxílio na realização do experimento;

aos alunos de graduação Giorgia Tomitão Mário, Andréia Cintra Bastos Torres e Rodrigo Rodrigues da Silva, pelo auxílio e comprometimento na realização das colheitas de material e provas sorológicas;

à grande amiga e irmã, Marilma Pacheco Chediak Corrêa, pela amizade, companheirismo, carinho e compreensão durante nossa jornada;

aos meus irmãos e demais familiares, pelo apoio e incentivo;

à amiga Raquel Soares Juliano, pela amizade, troca de experiências e agradável convivência durante todo o período do curso;

aos docentes e funcionários da Escola de Veterinária – UFG, que direta ou indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

" Sonhe com aquilo que você quiser.
Vá para onde você queira ir.
Seja o que você quer ser, porque você possui apenas uma vida e nela só
temos uma chance de fazer aquilo que queremos.
Tenha felicidade bastante para fazê-la doce.
Dificuldades para fazê-la forte.
Tristeza para fazê-la humana.
E esperança suficiente para fazê-la feliz.
As pessoas mais felizes não têm as melhores coisas.
Elas sabem fazer o melhor das oportunidades que aparecem em seus
caminhos. A felicidade aparece para aqueles que choram.
Para aqueles que se machucam.
Para aqueles que buscam e tentam sempre.
E para aqueles que reconhecem a importância das pessoas que passam por
suas vidas.
O futuro mais brilhante é baseado num passado intensamente vivido.
Você só terá sucesso na vida quando perdoar os erros e as decepções do
passado.
A vida é curta, mas as emoções que podemos deixar duram uma eternidade.
A vida não é de se brincar porque um belo dia se morre."

Clarice Lispector

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| CAPÍTULO 1 – Considerações gerais..... | 1 |
| REFERÊNCIAS..... | 11 |
| CAPÍTULO 2 – Avaliação metabólica de suínos em terminação submetidos à retirada dos suplementos microminerais-vitamínicos, redução do nível de fósforo inorgânico e adição de fitase na ração..... | 19 |
| RESUMO..... | 19 |
| ABSTRACT..... | 20 |
| INTRODUÇÃO..... | 21 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 22 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 26 |
| CONCLUSÕES..... | 35 |
| REFERÊNCIAS..... | 36 |
| CAPÍTULO 3 – Avaliação histológica de fígado, rim, tireóide, paratireóide e osso de suínos em terminação submetidos à restrição de fósforo inorgânico, microminerais e vitaminas e suplementados com fitase..... | 41 |
| RESUMO..... | 41 |
| ABSTRACT..... | 42 |
| INTRODUÇÃO..... | 43 |
| MATERIAL E MÉTODOS..... | 44 |
| RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 47 |
| CONCLUSÕES..... | 56 |
| REFERÊNCIAS..... | 56 |
| CAPÍTULO 4 – Considerações finais..... | 62 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

| | |
|---|---|
| FIGURA 1 – Estrutura do ácido fítico..... | 3 |
| FIGURA 2 – Ácido fítico ligado a cátions..... | 4 |

CAPÍTULO 3

| | |
|--|----|
| FIGURA 1 – Fotomicrografias de rim suíno. A) Infiltrado inflamatório mononuclear perivascular (T1). HE, 12,5x. B) Infiltrado inflamatório mononuclear intersticial e periglomerular (T6). HE, 12,5x..... | 47 |
| FIGURA 2 – Distribuição dos animais com nefrite de acordo com o tratamento e classificação histológica..... | 48 |
| FIGURA 3 – Fotomicrografias de fígado suíno. A) Discreto infiltrado inflamatório mononuclear focal (T1). HE, 25x. B) Infiltrado inflamatório mononuclear periportal (T6). HE, 12,5x..... | 49 |
| FIGURA 4 – Distribuição dos animais com infiltrado inflamatório hepático de acordo com o tratamento e classificação histológica..... | 49 |
| FIGURA 5 – Fotomicrografias da placa epifisária do osso metacarpo suíno. A e B) Histologia normal. C e D) Osteocondrose discreta. Observar estrias eosinofílicas (seta) e desorganização das colunas de condrócitos (campo pontilhado). E e F) Osteocondrose moderada. Notar fraturas verticais na cartilagem (seta pontilhada). HE 12,5x - Colunas à esquerda; Tricrômico de Mallory 12,5x – Colunas à direita..... | 52 |
| FIGURA 6 – Fotomicrografias da glândula paratireóide de suíno. A e B) Aspecto histológico normal em T1 e T6, respectivamente. HE, 12,5x..... | 55 |
| FIGURA 7– Fotomicrografias da glândula tireóide de suíno. A e B) Aspecto histológico normal em T1 e T6, respectivamente. HE, 12,5x..... | 56 |

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 2

| | |
|---|----|
| TABELA 1 - Cálcio (Ca) total (mmol/L), cálcio livre (mmol/L), fósforo (P)(mmol/L), relação cálcio / fósforo (mmol/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios padrões por idade. Goiânia 2006..... | 26 |
| TABELA 2 - Proteínas totais (g/L), albumina (g/L), AST(UI/L), GGT(UI/L), ALP(UI/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios padrões por idade. Goiânia 2006..... | 32 |
| TABELA 3 – Uréia (mmol/L) e creatinina (mmol/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios padrões por idade. Goiânia 2006..... | 35 |

CAPÍTULO 3

| | |
|--|----|
| TABELA 1 – Tabela 1 - Distribuição dos animais com osteocondrose na placa epifisária do osso metacarpo de acordo com o tratamento, idade e intensidade da lesão. Goiânia 2006..... | 51 |
|--|----|

LISTA DE QUADROS

CAPÍTULO 2

| | |
|--|----|
| QUADRO 1 – Intervalo de variação dos valores bioquímicos séricos compilados na literatura e utilizados como parâmetros de normalidade para avaliação dos animais deste estudo..... | 25 |
|--|----|

CAPÍTULO 3

| | |
|--|----|
| QUADRO 1 – Classificação microscópica de nefrites intersticiais..... | 46 |
|--|----|

LISTA DE ABREVIATURAS

ALB - Albumina

ALP - Fosfatase alcalina

AST - Aspartato aminotransferase

Ca - Cálcio

Ca:P - Relação cálcio: fósforo

GGT - Gama glutamiltransferase

g/L - Gramas por litro

kcal/kg - Quilocalorias por quilo

mg - Miligramas

ml - Mililitros

mmol/L - Milimol por litro

P - Fósforo

PT - Proteínas totais

UF - Unidades de fitase

UI/L - Unidades internacionais por litro

PTH - Paratormônio

RESUMO

A alimentação em suinocultura tem custos elevados, chegando a representar cerca de 70% dos gastos nesta atividade, razão pela qual vários estudos têm sido conduzidos visando reduzir o custo final de produção. Desta maneira, a retirada dos suplementos minerais e vitamínicos pode representar uma prática vantajosa na produção de suínos. Existem vários fatores que interferem na absorção do fósforo e a quantidade absorvida pelo animal depende do nível de fósforo na dieta, da fonte desse mineral, da relação Ca:P na dieta, do pH intestinal e outros elementos minerais que são antagonistas à absorção e utilização de fósforo. A adição da enzima fitase à ração, permite um melhor aproveitamento de nutrientes, incrementando a utilização do fósforo, dos aminoácidos e da energia, e representa uma economia significativa no custo final da formulação das rações. O objetivo geral deste trabalho foi avaliar os efeitos da restrição micromineral-vitamínica com redução gradativa do fósforo inorgânico em rações contendo fitase sobre o metabolismo ósseo, função hepática e renal e aspectos histopatológicos do fígado, rim, tireóide, paratireóide e osso metacarpiano de suínos em terminação. Foram alojadas 48 fêmeas suínas com idade inicial de 105 dias ($66,15 \pm 0,14$ kg), recebendo dietas experimentais a base de milho, farelo de soja e farelo de trigo. Os animais foram divididos aleatoriamente em seis tratamentos: dieta completa (T1), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T4), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase (T6). O experimento foi dividido em duas etapas; a primeira composta por 24 animais que foram abatidos aos 150 dias (106,65 kg) e a segunda composta por 24 animais que foram abatidos aos 175 dias (123,87 kg). No primeiro experimento foram avaliados o cálcio total, cálcio livre, fósforo, relação cálcio / fósforo, proteínas totais, albumina, AST, GGT, ALP, uréia e creatinina no soro. Foram empregados um analisador bioquímico automático e reagentes comerciais. Os resultados obtidos das análises do cálcio total, cálcio livre, fósforo, relação Ca:P proteínas totais, albumina, AST, GGT, ALP, uréia e

creatinina mostraram-se dentro do intervalo de normalidade. A redução do fósforo inorgânico em dietas suplementadas com fitase, não interferiu no metabolismo ósseo. A retirada do suplemento micromineral-vitamínico e a redução progressiva do fósforo inorgânico em dietas suplementadas com fitase não provocaram alterações nas provas de função hepática e renal. A restrição de microminerais e vitaminas por 60 dias na fase de terminação não provocou alterações clínicas nos animais. No segundo experimento foram avaliadas as possíveis alterações histológicas do fígado, rim, tireóide, paratireóide e osso metacarpo, sendo que ao exame histopatológico observaram-se 37 (77%) de 48 animais com nefrite intersticial e 15 (31,25%) com discreto infiltrado inflamatório hepático predominantemente mononuclear e com distribuição multifocal. Os tratamentos preconizados não provocaram alterações histológicas nas glândulas paratireóide e tireóide. À microscopia dos ossos metacarpos constataram-se lesões compatíveis com discreta osteocondrose em animais dos diferentes tratamentos nas duas fases. Entretanto durante o período experimental não foram observadas quaisquer alterações clínicas relacionadas a doenças metabólicas ósseas ou a osteocondrose nos animais dos diferentes tratamentos. Ainda frente aos resultados, conclui-se que a fitase foi eficiente em disponibilizar fósforo fítico na dieta, uma vez que não foram observadas lesões macroscópicas e microscópicas características de deficiência de fósforo.

Palavras-Chave: função hepática, função renal, histopatologia e metabolismo ósseo.

CAPÍTULO 1 - CONSIDERAÇÕES GERAIS

O Brasil destaca-se como um dos maiores produtores de carne suína do mundo, com o terceiro maior plantel e a quinta maior produção de carne suína do planeta. A suinocultura brasileira encontra bases consistentes para continuar crescendo qualitativa e quantitativamente, graças à grande área agriculturável, que permite a ampliação da produção de milho e de soja. Este fato, aliado a uma estrutura competente em qualidade sanitária e fiel aos mais exigentes mercados consumidores, tem permitido que a carta de exportações seja ampliada progressivamente (SILVA, 2005).

Existe hoje necessidade de grande atenção quanto as recentes mudanças na legislação europeia ligadas à proibição do uso de antimicrobianos promotores de crescimento nas rações dos animais de produção.

Os aditivos alimentares têm sido estudados como alternativa para minimizar o impacto causado pela retirada dos promotores de crescimento, por favorecem a utilização dos nutrientes pelos animais, melhorando sua eficiência, proporcionando melhor desempenho e ainda reduzindo a poluição ambiental (LIMA, 1999; BEDFORD, 2000). Dentre os aditivos mais pesquisados nos últimos anos, destacam-se as enzimas, como a fitase, que disponibiliza o fósforo da molécula de fitato, principal forma de estocagem do fósforo nos vegetais (OLIVEIRA, 2006).

As indústrias de rações têm procurado utilizar fitases exógenas, geneticamente modificadas, industrialmente produzidas por fungos, bactérias e leveduras; a estabilidade e a atividade da fitase sobre o fitato permitem sua utilização nos diversos programas de alimentação (SILVA, 2003).

Fósforo fítico é a designação dada ao fósforo que faz parte da molécula do ácido fítico, encontrado nos vegetais (LEHNINGER et al., 1995). Esta molécula possui seis grupos fosfato unidos por ligações éster (Figura 1). Quimicamente, a molécula do fitato é definida como mio-inositol 1, 2, 3, 4, 5, 6 hexafosfato (REBOLLAR & MATEOS, 1999).

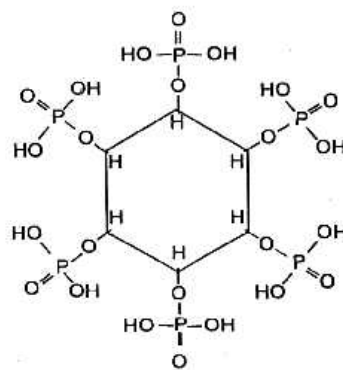


FIGURA 1 - Estrutura do ácido fítico (PETERSEN, 2001)

Para um desenvolvimento normal, as plantas retiram nutrientes minerais do solo. Na fase de maturação o fósforo (P) é translocado, na forma de hexafosfato de inositol ou ácido fítico, para as sementes. Sua função fisiológica na semente do vegetal é servir de estoque de fósforo e outros minerais, além de energia, que são liberados pela ação da fitase endógena à medida que ocorre a germinação (BORGES, 1997). A concentração do fitato nos vegetais varia em função da espécie, da idade, do estágio de maturação, do cultivar, das condições climáticas, da disponibilidade de água, do grau de processamento e da quantidade de fósforo no solo que a planta absorve e armazena (ROBERSON, 1999).

Assim, nas rações compostas de grãos de cereais, a maior parte do fósforo encontra-se na forma de fósforo fítico e corresponde a aproximadamente 2/3 do fósforo total presente nas plantas, que é indisponível aos monogástricos (NRC, 1998; MCKNIGHT, 1996; ROSTAGNO et al., 2000). Esse aproveitamento deficiente do fósforo dos vegetais gera dois problemas: a necessidade de suplementação a partir de fontes inorgânicas, que em geral encarece a ração; e a excreção de grande quantidade de fósforo para o meio ambiente (VATS & BANERJEE, 2004; OLIVEIRA, 2006).

De acordo com PETERSEN (2001) o fitato praticamente não é hidrolisado pelos animais monogástricos,² devido ao fato dessas espécies possuírem a enzima fitase em quantidades muito pequenas no trato intestinal, não aproveitando todo o fósforo contido nos ingredientes vegetais. Além do fósforo, o fitato dificulta a utilização de cátions como cálcio, ferro, manganês, magnésio e zinco, interferindo na disponibilidade de proteína e energia (Figura

2), tornando-os insolúveis à degradação intestinal (KIES, 1996; KONIETZNY & GREINER, 2002). Considerado fator anti-nutricional importante, o ácido fítico corresponde de 1% a 5% do peso dos cereais, legumes e sementes oleaginosas, representando cerca de 2/3 do fósforo presente nos vegetais (NRC, 1998 e VATS & BANERJEE, 2004).

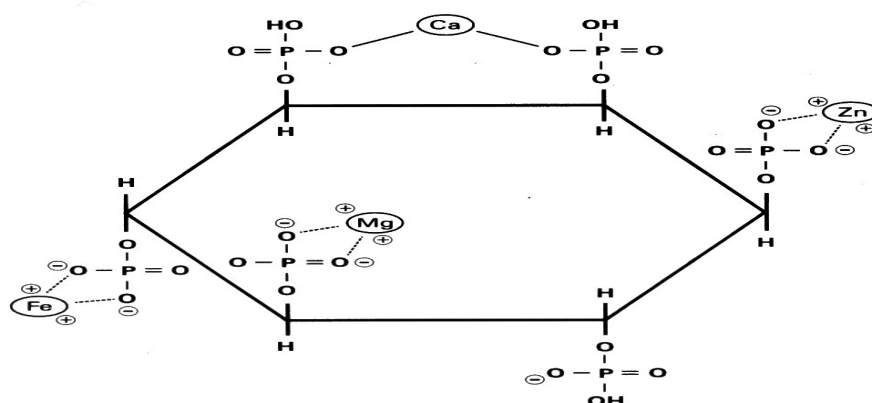


FIGURA 2 – Ácido fítico ligado a cátions (PETERSEN, 2001)

Para KESHAVARZ (1999) e SELLE et al. (2000), a molécula de fitato apresenta alto teor de fósforo (28,2%), porém, com alto potencial de quelação. Se por um lado, o fitato é reconhecido como nutriente devido ao seu conteúdo de fósforo (REDDY et al., 1982), já por outro lado, pode ser considerado tóxico devido à fixação de vários elementos essenciais, reduzindo a sua disponibilidade (JOHNSTON et al., 2004).

Vários estudos têm demonstrado a ação da fitase sobre a digestibilidade do fósforo, disponibilidade de nutrientes ligados ao fitato, como minerais e aminoácidos (LANDBLOM et al., 2001; LUDKE et al., 2002; SHELTON et al., 2003; FIALHO et al., 2004). A ação desta enzima se reflete também no desempenho e excreção de fósforo nos dejetos, que pode ser reduzido em 20% a 50% (LEI et al., 1993; KEMME et al., 1997; MURRY et al., 1997; HARPER et al., 1997). Pesquisas, como as de CROMWELL et al. (1993), demonstraram não haver efeitos negativos quanto ao desempenho e força óssea, com a retirada de fósforo inorgânico da dieta de suínos em crescimento-terminação suplementadas com 500 UF (unidades de fitase).

A suplementação de dietas de suínos com fitase microbiana tem mostrado aumento da utilização de fósforo, cálcio, cobre e zinco, com redução

na excreção desses minerais na urina (ADEOLA et al., 1995). HAN et al. (1997) afirmaram que a substituição de fósforo inorgânico por fitase é fisiologicamente viável e economicamente vantajosa para suínos em fase de crescimento-terminação. Também O'QUINN et al. (1997) afirmaram que 300 UF da enzima fitase é capaz de substituir o fósforo inorgânico em dietas a base de sorgo e farelo de soja para suínos em crescimento-terminação. Estes autores observaram que, com a adição de fitase às dietas pobres em fósforo, houve melhora na taxa de crescimento, na porcentagem de cinzas dos ossos e na absorção do fósforo.

Em estudo envolvendo suínos na fase de crescimento-terminação onde avaliou-se o desempenho e a digestibilidade do fósforo, HARPER et al. (1997) utilizaram dietas contendo fitase exógena de origem microbiana (500UF/kg) e níveis reduzidos de fósforo inorgânico. Concluíram que a enzima é eficaz para manter teores adequados de fósforo em dietas onde o fósforo inorgânico é retirado, reduzindo a excreção de fósforo em aproximadamente 21%.

A enzima fitase (mio-inositol hexafosfato fosfohidrolase) é uma fosfatase que catalisa a hidrólise do ácido fítico a fosfato de inositol, myo-inositol e fósforo inorgânico (JONGBLOED et al., 1994; VATS & BANERJEE, 2004).

Para KORNEGAY & YI (1996), as possíveis fontes de fitase para aves e suínos são: a fitase endógena presente em alguns ingredientes das dietas; a fitase originada a partir de bactérias da flora microbiana e a fitase produzida por microorganismos exógenos.

Nas farinhas protéicas, como soja e leguminosas, esta atividade é insignificante. Para suínos, a atividade da flora microbiana tem atuação no intestino grosso e a fitase microbiana produzida por estes microorganismos promove a hidrólise do fitato liberando o fósforo sem que o animal se beneficie, sendo excretado nas fezes. Desta forma, a fitase exógena, produzida principalmente por fungos, é a principal fonte de fitase disponível (REBOLLAR & MATEOS, 1999; KONIETZNY & GREINER, 2002).

A fitase é produzida por muitos fungos, bactérias e leveduras. Comercialmente, a fitase é produzida por microorganismos, principalmente fungos do gênero *Aspergillus* (*Aspergillus niger* e *Aspergillus ficuum*), por

técnicas de recombinação de DNA (HARPER et al., 1997; VATS & BANERJEE, 2004).

Dois tipos de fitases são conhecidos: a 3-fitase e a 6-fitase. A primeira produzida por microorganismos e a segunda normalmente produzida por plantas. A 3-fitase inicia a desfosforilação do fitato na posição três, enquanto a 6-fitase inicia na posição seis. Seus modos de ação conseqüentemente são diferentes, assim como suas curvas de pH e de temperatura. A 6-fitase apresenta atividade em pH 5,2 e temperatura de 45°C a 60°C, enquanto a 3-fitase, produzida por uma cepa de *Aspergillus* apresenta pH ótimo entre 2,5 e 5,5 e temperatura variando de 35°C a 63°C, sendo mais efetiva (KIES, 1996).

Vários fatores podem influenciar a capacidade da fitase de hidrolisar o fitato no trato digestivo dos animais monogástricos, entre os quais destacam-se a variação do pH, da umidade, da temperatura, a presença de certos minerais como o cálcio (Ca) e de outras enzimas, além do tempo de passagem da digesta (PENZ JÚNIOR, 1998). SCHWARTZ & HOPPE (1992) demonstraram que a fitase pode permanecer estável por três a quatro meses em dieta farelada, porém, se a dieta for peletizada a 70°C, a atividade inicial diminuirá de 15 a 25%.

Segundo MCKNIGHT (1997), níveis de cálcio acima de 0,70% em pH 6,0 permitem a reação do cálcio e ácido fítico, formando fitato de cálcio, complexo inacessível à fitase, pela competição do cálcio pelos sítios ativos da enzima (WISE, 1983). Assim, para o desarranjo máximo do fitato, é necessário que os níveis de cálcio mantenham a relação Ca:P total entre 1,7:1 e 3:1 (BEERS & JONGBLOED, 1992). Já BÜHLER et al. (1998) afirmam que o nível de cálcio nas rações suplementadas com fitase não deve ultrapassar 0,9% para suínos em terminação e estes autores sugerem ainda que a relação Ca:P nestas rações deve situar-se entre 2,7:1 a 3,5:1.

LEI et al. (1994) demonstraram redução no desempenho e redução na resposta da fitase quando a relação Ca:P na dieta foi aumentada de 1,5:1 para 3,0:1 em leitões lactentes. Também QUIAN et al. (1996) relataram efeito negativo no desempenho de leitões lactentes, na digestibilidade do P e na resistência óssea, comparando dietas suplementadas com fitase e a relação Ca:P de 1,0:1, com relação 1,6:1 e 2:1. Efeitos semelhantes foram

demonstrados por LIU et al. (2000) em suínos nas fases de crescimento e de terminação alimentados com rações onde a relação Ca:P foi de 1,0:1,1,3:1 e 1,5:1.

Os minerais presentes nas células e tecidos dos animais apresentam várias funções químicas e concentrações específicas, dependendo do elemento e do tecido considerado. Suas concentrações devem ser mantidas dentro de certos limites para garantir a integridade estrutural e funcional dos tecidos, auxiliando no crescimento, saúde e produtividade animal (UNDERWOOD, 1966). São considerados essenciais quando atendem os seguintes critérios: presença em concentração constante; deficiência resultante em anormalidades estruturais e bioquímicas e adição à dieta como fator de recuperação (NUNES, 1998).

Como os minerais, as vitaminas também desempenham funções de catalisadores e coenzimas, componentes da estrutura dos tecidos, cofatores enzimáticos, além da participação em diversas reações bioquímicas do metabolismo. A maioria não pode ser armazenada no organismo (MCDOWELL, 1989, 1992). Deficiências de minerais podem levar semanas e até meses para se manifestarem. Com relação às vitaminas, antes do aparecimento de sinais clínicos da sua retirada das rações, a concentração no sangue e na urina tende a diminuir e, posteriormente, ocorre redução tanto das atividades metabólicas quanto das enzimáticas. Após estas alterações é que serão observados sintomas clínicos reversíveis ou irreversíveis (SWECKER & THATCHER, 1988; McGLONE, 2000).

De todos os minerais requeridos na dieta de suínos, o cálcio e o fósforo são os mais importantes e requeridos em maior quantidade (CROMWELL, 1995). Dependendo da idade, do peso e da fase, crescimento, gestação ou lactação, as necessidades dietéticas para o Ca oscilam entre 0,5 e 0,9 % e para o P entre 0,4 e 0,7%. A exigência de cálcio para suínos é aproximadamente 1,2 vezes a necessidade de fósforo (KOPINSKI, 2002).

Mais de 99% do cálcio e aproximadamente 80% do fósforo estão disponíveis no tecido ósseo, onde estes minerais são depositados e transformados em matriz inorgânica para dar rigidez, resistência e sustentabilidade ao esqueleto. Os ossos também se constituem em importante reserva mineral, visto que podem ser transferidos para o sangue, músculos e

outros tecidos do corpo quando demandados fisiologicamente pelo organismo durante o controle hormonal (ADEOLA et al., 1998; BROUNS & VERMEER, 2000).

Os ossos desempenham papel vital na homeostasia dos minerais sendo considerado um tipo especial de tecido conjuntivo. Do ponto de vista bioquímico, é definido por sua inter-relação com a matriz orgânica (35%) e a matriz inorgânica (65%). O componente inorgânico constitui-se primordialmente de hidroxiapatita de cálcio ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) que proporciona força e dureza ao osso e constitui o reservatório para 99% do cálcio, 80% do fósforo corporal, além de outros minerais em menor quantidade. O osso ainda não mineralizado é conhecido como osteóide (ROSENBERG, 1994; RATTANAKUL et al., 2003).

O cálcio e fósforo encontrados na porção trabecular dos ossos, substância esponjosa, estão em constante equilíbrio dinâmico com líquidos corporais e outros tecidos corpóreos (HAYS & SWENSON, 1996). Esses minerais podem estar em quantidades aumentadas ou reduzidas, quando estiverem associados a processos patológicos, principalmente os hormônio-dependentes (MEYER & HARVEY, 1998; BROUNS & VERMEER, 2000).

Apesar da dureza e resistência às pressões, o tecido ósseo é muito plástico, sendo capaz de remodelar sua estrutura interna em resposta a modificações nas forças físicas a que está submetido normalmente. Embora as características anatômicas do osso não se alterem durante a vida adulta, ocorrem alterações na substância óssea devido à remoção e substituição de porções microscópicas de osso, mas sem alteração do seu volume, ou seja, ocorre renovação óssea com manutenção da arquitetura e competência fisiológica (GARTNER & HIATT, 1999; TORBEN et al., 2000).

O osso é um tecido em constante renovação por processos anabólicos, aposição e processos catabólicos, a reabsorção. Este processo é intenso em indivíduos em crescimento, que reduz com o tempo, mas nunca cessa. A atividade destrutiva dos osteoclastos e construtiva dos osteoblastos possibilitam a remodelação dos ossos, sendo os envoltórios ósseos responsáveis pela renovação e manutenção do volume do osso (TORBEN et al., 2000).

O processo de aposição é executado exclusivamente pelos osteoblastos, que formam o osteóide na superfície da matriz orgânica. Em

condições normais, 70% desta fração orgânica é mineralizada quase que imediatamente, sendo que, no restante, a mineralização ocorre lenta e gradualmente. Este ritmo de mineralização pode variar, porém, normalmente existe um lapso temporal de 12 a 15 dias entre a formação da matriz e sua mineralização (ROSENBERG, 1994; GU et al., 2005).

A reabsorção do osso compreende a remoção simultânea da matriz óssea e dos minerais, este processo ocorre por mecanismos diferentes, denominados osteoclasia e osteólise. A osteoclasia é a reabsorção superficial do tecido ósseo, produzida pelos osteoclastos, sendo que ocorre nas superfícies das trabéculas, subperiosticamente, na superfície dos canais de Harvers e de Volkmann e na superfície medular. Os osteoclastos são responsáveis pela remodelação do osso alterado, como ocorre na fratura e necrose óssea. A osteólise é o processo de reabsorção profunda, centrada ao redor de osteócitos maduros e ativos (KROOK, 1982). O sítio natural para a reabsorção óssea é o osso mais velho, rico em minerais e que está situado profundamente na trabécula e na periferia dos ósteons. A renovação óssea é um processo fisiológico, no qual a fase reabsortiva tem o propósito de manutenção dos níveis adequados de cálcio do plasma (GU et al., 2005). Numerosos estudos demonstram que a osteólise é o mecanismo mais importante na reabsorção óssea, tanto sob condições fisiológicas quanto na reabsorção patológica aumentada (MORÉS et al., 1999).

O cálcio e o fósforo usualmente são estudados de forma conjunta devido ao metabolismo e mecanismos homeostáticos que controlam os seus níveis no organismo, estarem intrinsecamente relacionados (DUCAN & PRASSE, 1982).

Existem vários mecanismos orgânicos homeostáticos de controle projetados para manter constante o nível de cálcio plasmático incluindo o paratormônio (PTH), a calcitonina e o 1,25-dihidroxicolicálciferol, que é a forma ativa da vitamina D3.

O PTH é liberado na corrente circulatória em resposta a um ligeiro decréscimo de cálcio plasmático. Este hormônio estimula a síntese da vitamina D ativa no rim e incrementa a reabsorção do cálcio e fósforo dos ossos. Também atua nos túbulos renais aumentando a reabsorção de cálcio e reduzindo a de fósforo. Por sua vez, a vitamina D ativa produzida pelo rim em

resposta ao PTH atua no intestino, aumentando a absorção de cálcio e fósforo da dieta. Estes dois hormônios em conjunto também aumentam a mobilização do cálcio dos ossos, fazendo crescer a atividade dos osteoclastos. Quando o nível de calcemia é normal, a secreção de PTH é inibida mediante mecanismo de *feedback* negativo, sendo então liberado um hormônio secretado pelas células parafoliculares da glândula tireóide, a calcitonina, que atua reduzindo os níveis de calcemia ao aumentar a atividade osteoblástica e reduzir a osteoclástica no tecido ósseo (ROSOL & CAPEN, 1997; COEHEN & ROE, 2000).

Os níveis séricos de cálcio e de fósforo deverão ser determinados sempre que haja evidência clínica sugerindo distúrbios no metabolismo dos minerais. Muitas alterações nestas vias metabólicas são acompanhadas por sinais clínicos ou radiológicos sugestivos da enfermidade óssea. Portanto, se há qualquer sintoma de osteopatia, deve-se considerar a determinação dos níveis de cálcio e fósforo. Também é importante avaliar a atividade da fosfatase alcalina (ALP) e a concentração de proteínas totais (COLES, 1986).

De acordo com o NRC (1998), as exigências nutricionais para fósforo, minerais e vitaminas diminuem com o passar da idade e peso vivo. Além disso, na fase de terminação, os suínos não só consomem maior quantidade de ração, como também apresentam menor eficiência alimentar, quando comparado a outras fases de desenvolvimento. Os resultados das pesquisas de VELOSO et al. (1999) indicam que níveis de cálcio e fósforo nas rações de suínos nas fases de crescimento podem variar consideravelmente sem prejudicar o desempenho dos animais.

Neste sentido, MAVROMICHALIS et al. (1999) e PETER et al. (2001) afirmaram que o excesso de nutrientes adicionado às dietas é excretado nas fezes, contribuindo para a poluição ambiental, sendo a suinocultura considerada uma atividade potencialmente poluidora.

O excesso de fósforo, nitrogênio e outros minerais presentes nos dejetos, quando em contato com superfícies aquáticas, favorecem o crescimento desordenado de algas. A decomposição destas consome oxigênio dissolvido na água, processo denominado eutroficação. Este processo compromete a sobrevivência de espécies aquáticas, como peixes, crustáceos, etc (PERDOMO et al., 2001).

De acordo com CAVALCANTE (1994), o suprimento adequado de fósforo nas rações, além evitar gastos desnecessários decorrentes de desperdícios, no caso de seu emprego excessivo, irá contribuir para maior desempenho do rebanho, caracterizado por taxas de crescimento mais rápidas e eficientes, bem como pelo adequado desenvolvimento ósseo, podendo ainda contribuir para redução da descarga de poluentes no solo decorrente do fósforo não absorvido pelo organismo e excretado com os dejetos.

NUNES (2000) avaliou a retirada dos suplementos micromineral e/ou vitamínico da ração de suínos em fase de terminação, concluindo que tal procedimento não causou efeitos negativos sobre os parâmetros de desempenho, níveis de minerais nos metacarpos, características da carcaça, vida de prateleira, parâmetros sanguíneos, além de ser economicamente viável.

Já FURTADO (2003) trabalhou com retirada do suplemento micromineral/vitamínico e redução de níveis de fósforo inorgânico (1/3 e 2/3) da ração de suínos em terminação. Baseado no desempenho, no rendimento de carcaça e nos parâmetros de qualidade da carne, como: pH, valores médios de coliformes fecais e totais, mesófilos e psicotróficos, concluiu que a retirada do suplemento micromineral/vitamínico associada à redução de 1/3 e 2/3 de fósforo inorgânico da ração de suínos em terminação foi viável.

Para uma produção suína sustentável é essencial a diminuição dos resíduos de elementos contaminadores que são gerados pelas granjas de suínos, assim como o estabelecimento de uma limitação do uso de matérias primas procedentes de fontes não renováveis, como os fosfatos. Desta forma, estudos têm sido conduzidos no sentido de determinar estratégias que permitam reduzir a participação alimentar do fósforo aos suínos como via preventiva para limitar a presença deste mineral nos resíduos. Neste contexto, o uso de fitases tem especial contribuição (JONDREVILLE, 2005).

A racionalização do processo produtivo possibilita dietas de baixo custo, com fornecimento de quantidades adequadas dos nutrientes, de modo que os animais consigam desenvolver-se com maior eficiência. O produtor obterá maior remuneração da sua atividade e ao mesmo tempo, disponibilizará no mercado produtos de boa qualidade por menor preço. Isso terá como

consequência adicional o meio ambiente menos poluído devido à incorporação de menores quantidades de minerais provenientes dos dejetos (LOPES, 1999).

Neste sentido o presente experimento teve como objetivo avaliar as possíveis ocorrências de alterações metabólicas ósseas induzidas pelos níveis reduzidos de fósforo, utilizando-se a fitase, já que em suinocultura a genética dos animais evolui rapidamente e os conceitos sobre necessidades nutricionais devem ser reavaliados periodicamente.

REFERÊNCIAS

1. ADEOLA, O.; LAWRENCE, B. V.; SUTTON, A. L.; CLINE, T. R. Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.3384-3391, 1995.
2. ADEOLA, O; CLINE, T. R.; ORBAN, J. I.; RAGLAND. D.; SUTON.A. L. Supplementation of low-calcium and phosphorus diets with phytase and cholecalciferol. **Swine Day**, Purdue, v.3, p.105-112, 1998.
3. BEDFORD, M. R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition-their current value and future benefits. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 86, p.1-13, 2000.
4. BEERS, S.; JONGBLOED, A. W. Effect *Aspergillus niger* phytase in diets for piglets on their performance and apparent digestibility of phosphorus. **Animal Production**, East Lothian, v.55, n.3, p.425-430, 1992.
5. BORGES, F. M. O. Utilização de enzimas em dietas avícolas. **Cadernos Técnicos da Escola de Veterinária da UFMG**, Belo Horizonte, n.20, p.5-30, 1997.
6. BROUNS. F.; VERMEER. C. Functional ingredients for reducing the risks of osteoporosis. **Trends in Food Science & Tecnology**, Colney, n.11, p.22-33, 2000.
7. BUHLER, M.G.; LIMPER, J.; MULLER, A.; SCHWARZ, G.; SIMON, O.; SOMMER, M.; SPRING, W.; Las enzimas en la nutrición animal. **Arbeitsgemeinschaft fur Wirkstoffe in der Tierernahrung**, Boon 1998. 47p.
8. CAVALCANTE, S.G. **Biodisponibilidade de fósforo de cinco fosfatos para suínos recém-desmamados e avaliação de seu desempenho produtivo**. Belo Horizonte, 1994 65f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

9. COEHEN, A. J.; ROE, F. J. C. Review of risk factors for osteoporosis with particular reference to a possible aetiological role of dietary salt. **Food and Chemical Toxicology**, London, v.38, p.237-253, 2000.
10. COLES, E. H. **Veterinary clinical pathology**. 3.ed. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. 566 p.
11. CROMWELL, G. L.; COFFEY, R. D.; PARKER, G. R.; MONEGUE, H. J.; RANDOLPH, J. H. Efficacy of a recombinant-derived phytase in improve the bioavailability of phosphorus in corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 2000-2008, 1995.
12. CROMWELL, G. L.; STAHLY, T. S.; COFFEY, R. D.; MONEGUE, H. J.; RANDOLPH, J.H. Efficacy of phytase in improving the bioavaliability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, p.1831-1840, 1993.
13. DUCAN, J.R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1982. 217 p.
14. FIALHO, E. T.; SILVA, H. O.; LIMA, J. A. F.; LARA, L. B.; VIEIRA NETO, J.; SILVA, L. F. Efeito da fitase sobre o desempenho e o teor de uréia no plasma de suínos na fase de crescimento. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande. **Anais...**Campo Grande: SBZ, 2004. p. 3-11.
15. FURTADO, C. C. V. **Avaliação dos efeitos da retirada dos suplementos micromineral – vitamínico associados à redução de fósforo inorgânico em rações de suínos na fase de terminação**. Goiânia, 2003. 50f. Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
16. GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1999. cap.7, p.104-123.
17. GU, G.; MULARI, M.; PENG, Z.; HENTUNEN, T. A.; VAANANEN, H. K. Death of osteocytes turns off the inhibition of osteoclasts and triggers bone resorption. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.335, p.1095 -1101, 2005.
18. HAN, K.; CHOI, H. L.; KWON, K. Study on the effect of inorganic phosphorus sources and phytase supplementation en weaning-growing barrows. **Arquivo Latino-Americano de Produção Animal**, San Jose, v.5, p.297-299, 1997.
19. HARPER, A. F.; KORNEGAY, E. T.; SCHELL, T. C. Phytase supplementation of low – phosphorus growing – finishing pig diets improves performance, phosphorus digestibility, and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 3174-3186, 1997.

20. HAYS, V.W.; SWENSON, M.J.; In: SWENSON, M.J.; REECE, W.O. **Dukes fisiologia dos animais domésticos**. Guanabara-Koogan. 11.ed. Rio de Janeiro. 1996. 856p.
21. JOHNSNTHON, S. L.; WILLIAMS, S. B.; SOUTHERN, L. L.; BIDNER, T. D.; BUNTING, L. D.; MATTHEWS, J. O.; OLCOTT, B. M. Effect of phytase addition and dietary calcium and phosphorus levels on plasma metabolites and ileal and total-tract nutrient digestibility in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, p.705-714, 2004.
22. JONDREVILLE, C. D. Le phosphore dans la nutrition des porcs. **Productions animales**, Nouzilly, n.18, p.183-192, 2005.
23. JONGBLOED, A. W.; MROZ, Z.; KEMME, P. A. Apparent digestibility and retention of nutrients bound phytate complexes as influenced by microbial phytase and feeding regimen in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p. 126-132, 1994.
24. KEMME, P. A.; JONGBLOED, A. W.; VAN DER KLIS, J. D. The impact of microbial phytase on the nutrition of monogastric and the environment. **Feed manufacturing in Southern Europe-CIHEAM-IAMZ**, Zaragoza: New challenges, v. 26, p.135-147, 1997.
25. KESHAVARZ, K. Por que "es necesario emplear la fitasa en la dieta de las ponedoras? **Indústria Avícola**, Mount Morris, v.46, n.10, p.13-14, 1999.
26. KIES, K. Phytase – Mode of action. In: COELHO, M. B.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in Animal Nutrition and Waste Management**. Mount Olive: BASF Corporation, 1996. p.205-212.
27. KONIETZNY, U.; GREINER, R. Molecular and catalytic properties of phytase-degrading enzymes (phytases), **International Journal of Food and Technology**, Dettenheim, n.37, p. 791-812, 2002.
28. KOPINSKI, J. **Phosphorus for pigs** In: Department of primary industries. Queensland government, Reviewed February 2002. Disponível em: <http://www.dpi.qld.gov.au/pigs/4417.html>. Acesso em: 02 jul. 2003.
29. KORNEGAY, E. T.; YI, Z. Sites of phytase activity in gastrointestinal tract of swine and poultry. In: COELHO, M. C.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in Animal nutrition and waste management: a BASF reference manual**. New Jersey: BASF, 1996. p.241-248.
30. KROOK, L. **Metabolic disease of bone and bones**. New York: Department of Pathology, 1982. 54p.
31. LANDBLOM, D. G.; HARROLD, R. L.; POLAND, W. W.; DAWSON, K. A.

- Effects of fibrozyme and phytase enzymes on growing-finishing pig performance in field pea-canola meal supplemented diets.** Dickinson Research Extension Center. 2001 Disponível em <http://www.ag.ndsu.nodak.edu/dickinso/research/2001/swine01a.html>. Acesso em: 17 mar. 2003.
32. LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios da bioquímica**. 2.ed. São Paulo: SAVIER, 1995. 1013p.
 33. LEI, X. G.; KU, P. K.; MILLER E. R. YOKOYAMA, M. T. Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase linearly improves phytate phosphorus utilization by weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, n.12, p.3359-3367, 1993.
 34. LEI, X. G.; KU, P. K.; MILLER, E. R.; YOKOYAMA, M.T.; ULLREY, D. E. Calcium level affects the efficacy of supplementation microbial phytase in corn-soybean meal diets weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p.139-143, 1994.
 35. LIMA, G. J. M. M. Uso de aditivos na produção de suínos. In: SIMPÓSIO SOBRE AS IMPLICAÇÕES SÓCIO-ECONÔMICAS DO USO DE ADITIVOS NA PRODUÇÃO ANIMAL, 1999, Piracicaba-SP. **Anais...**Piracicaba, 1999. p.51-61.
 36. LIU, J.; BOLLINGER, D. W.; LEDOUX, D. R.; VEUM, T. L. Effects of calcium:phosphorus ratios on apparent absorption of calcium and phosphorus in the small intestine, cecum, and colon of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, p.106- 109, 2000.
 37. LOPES, J. B.; VITTI, D. M. S. S.; FIGUEIREDO, A. V.; BARBOSA, H. P. Absorção real, perdas endógenas e exigência de fósforo para suínos em final de crescimento, pela técnica da diluição isotópica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n.49, p.17- 26,1999.
 38. LUDKE, M. C. M. M.; LOPES, J.; LUDKE, J. V. Fitase em dietas para suínos em crescimento: (II) Parâmetros de carcaça e ossos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 103-108, 2002.
 39. MAVROMICHALIS, I.; HANCOCK, J. D.; KIM, I. H.; SENNE, B. W.; KROPF, D. H.; KENNEDY, G. A.; HINES, R. H.; BEHNKE, K. C. Effects of omitting vitamin and trace mineral premixes and (or) reducing inorganic phosphorus additions on growth performance, carcass characteristics, and muscle quality in finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, p.2700-2708, 1999.
 40. McDOWELL, L.R. **Minerals in animal and human nutrition**. 2. ed. San Diego: Academic Press, 1992. 524p.
 41. McDOWELL, L.R. **Vitamines in animal nutrition comparative aspects**

- to human nutrition.** San Diego: Academic Press, 1989. 486p.
42. McGLONE, J. J. Deletion of supplemental minerals and vitamins during the late finishing period does not affect weight gain and feed intake. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, p.2797-2800, 2000.
 43. McKNIGHT, W. F. Phytase technical specifications and properties In: _____ **SHORT COURSE ON FEED TECHNOLOGY**, 7.ed. Korea: Korean Society of Animal Nutrition and Feedstuffs, 1997.
 44. McKNIGHT, W. F. Technical specifications and properties of phytase. In: COELHO, M. C.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF reference manual**. New Jersey: BASF, 1996. p.1-15.
 45. MEYER, D. J., HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. 373p.
 46. MORES, N.; BARBOSA, H. P.; BARIONI JR, W. Efeito de diferentes fontes de fósforo na dieta sobre as características dos ossos de porcas e suas proles. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.19, n.1, Rio de Janeiro, p.3- 11,1999.
 47. MURRY, A. C.; LEWIS, R. D.; AMOS, H. E. The effect of microbial phytase in a pearl millet-soybean meal diet on apparent digestibility and retention of nutrients, serum mineral concentration, and bone mineral density of nurse pigs. **Journal of Animal Science**, Campaign, v.75, p.1284-1291, 1997.
 48. NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient Requirements of Swine**. 10.ed. Washington, DC: National Academy of Science, 1998. 189 p.
 49. NUNES, I. J. **Nutrição animal básica**. 2.ed. Belo Horizonte: FEP-MVZ, 1998. 388 p.
 50. NUNES, R. C. **Efeitos da retirada dos suplementos micromineral e/ou vitamínico da ração de suínos em terminação**. 2000. 67f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
 51. O'QUINN, P. R.; KNABE, D. A.; GREGG, E. J. Efficacy of Natuphos R in sorghum – based diets on finishing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, p.1299-1307, 1997.
 52. OLIVEIRA, A.P.A. **Desempenho e avaliação da carcaça de suínos em terminação recebendo ração com fitase associada à retirada de microminerais, vitaminas e fósforo inorgânico**. 2006. 56f.

Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.

53. PENZ JÚNIOR, A. M. Enzimas em rações para aves e suínos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 35., 1998, Botucatu. **Anais....** Botucatu: SBZ, 1998. p.165-178.
54. PERDOMO, C. C.; LIMA, G. J. M. M.; NONES, K. Produção de suínos e meio ambiente. In: SEMINÁRIO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA SUINOCULTURA, 9., 2001, Gramado-RS. Disponível em: <http://www.cnpsa.embrapa.br/publicacoes/anais/anais0104perdomo.pdf>. Acesso em 21/set/2005.
55. PETER, C. M.; PARR, T. M.; PARR, E. N.; WEBEL, D. M.; BAKER, D. H. The effects of phytase on growth performance, carcass characteristics, and bone mineralization of late-finishing pigs fed maize-soybean meal diets containing no supplemental phosphorus, zinc, copper and manganese. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.94, p.199-205, 2001.
56. PETERSEN, S. T. Propriedades e características de RonozimeTM P, a nova fitase da Roche. In: SIMPÓSIO ROCHE DE NUTRIÇÃO ANIMAL. Campinas. **Anais...** Campinas: Roche, 2001. p.17-30.
57. QUIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; CONNER Jr., D. E. Adverse effects of wide calcium: phosphorus ratios on supplemental phytase. Efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.6, p.1288-1297, 1996.
58. RATTANAKUL, C.; YONGWIMON, L.; NATEETIP, K.; WOLLKIND, D. J. Modeling of bone formation and resorption mediated by parathyroid hormone: response to estrogen/PTH therapy. **BioSystems**, v.70, p.55-72, 2003.
59. REBOLLAR, P. G.; MATEOS, G. G. El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA. AVANCES EN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL, 15, 1999, Madrid. **Anais eletrônicos...** [on line], 1999. p. 19-64. Disponível em: <http://www.etsia.upm.es/fedna/publi.htm>. Acesso em: 09 jan. 2006.
60. REDDY, N. R.; SATHE, S. K.; SALUNKHE, K. K. Phytase in legumes and cereals. **Advances Food Research**, San Diego, v.28, n.1, p.1, 1982.
61. ROBERSON, K. D. Estimation of the phosphorus requirement of weanling pigs fed supplemental phytase. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 80, p.91-100, 1999.
62. ROSENBERG, A. E. Esqueletal system and soft tissue tumors. In:

- COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Robins: pathologic basis of disease**. 5.ed. Philadelphia: W B Saunders Company, 1994. cap.27, p.1213-1271.
63. ROSOL, T. J.; CAPEN, C. C. Calcium- regulating hormones and diseases of abnormal mineral (calcium, phosphorus, magnesium) metabolism. In: KANECO, J. J., HARVEY, J. W., BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Academic Press, 1997, p.619-702.
64. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos** (Tabelas brasileiras). 2.ed. Viçosa:UFV -Imp. Univ., 2000. 61p.
65. SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL, R. A.; BRYDEN, W. L. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, v.13, p.255-278, 2000.
66. SHELTON, J. L.; SOUTHERN, L. L.; BIDNER, T. D.; PERSICA, M. A.; BRAUN, J.; COUSINS, B.; McKNIGHT, F. Effect of microbial phytase on energy availability, and lipid and protein deposition in growing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.81, p.2053-2062, 2003.
67. SHWARTZ, G.; HOOPE, P.P. Phytase enzyme to curb pollution from pigs and poultry. **Feed Magazine**, v.1, p.22-26, 1992.
68. SILVA, C.A. Tendências e perspectivas da utilização de antibióticos e promotores de crescimento na suinocultura. In: Porkworld-Megaportal da suinocultura na américa latina. 2005, [on line]. Disponível em: <http://www.porkworld.la/porkworld/publicacoes.asp?pais=brasil&codigo=51432>. Acesso em: 07 jun. 2006.
69. SILVA, H. O.; FIALHO, E. T.; LIMA, J. A. F.; FREITAS, R. T. F.; LOGATO, P. V. R.; FONTES, D. O.; SCHOULTEN, N. A. Efeito da fitase sobre a excreção de cálcio e fósforo em suínos na fase de crescimento. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS, 11., 2003, Goiânia . **Anais...**Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2003. p.296-296.
70. SWECKER, W. S.; THATCHER, C. D. The investigation of nutritional disorders **Veterinary Clinical North America**. Philadelphia, v. 4, p.127-44, 1988.
71. TORBEN, L.; FERNANDEZ, J. A.; ENGBERB, R. M. Bone turnover in growing pigs fed three levels of dietary calcium. **Canadian Journal of Animal Science**, Ottawa, v.80, n.4, p.547-557, 2000.
72. UNDERWOOD, J.E. **The mineral nutrition of livestock**. London, Commonwealth Agricultural Bureaux. 2.ed., 1966, cap.1, p.1-47.

73. VATS, P.; BANERJEE, U. C. Production studies and catalytic properties of phytase (*myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases*): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**. Nagar, v.35, n.1, p.3-14, 2004.
74. VELOSO, J. A. F.; MEDEIROS, S. L. S. Avaliação nutricional do fósforo disponível de quatro fontes de fósforo para suínos em fase de terminação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.51, n.5, p.1-5, 1999.
75. WISE, A. Dietary factors determining the biological activities of phytate. **Nutrition Abstract Review**, Oxon, v.53, n.9, p.791-806, 1983.

CAPÍTULO 2. AVALIAÇÃO METABÓLICA DE SUÍNOS EM TERMINAÇÃO SUBMETIDOS À RETIRADA DOS SUPLEMENTOS MICROMINERAIS-VITAMÍNICOS, REDUÇÃO DO NÍVEL DE FÓSFORO INORGÂNICO E ADIÇÃO DE FITASE NA RAÇÃO

RESUMO

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da restrição micromineral-vitamínica com redução gradativa do fósforo inorgânico em rações contendo fitase sobre o metabolismo ósseo, função hepática e renal de suínos em terminação. Foram alojadas 48 fêmeas suínas com idade inicial de 105 dias ($66,15 \pm 0,14$ kg), recebendo dietas experimentais a base de milho, farelo de soja e farelo de trigo. Os animais foram divididos aleatoriamente em seis tratamentos: dieta completa (T1), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T4), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase (T6). O experimento foi dividido em duas etapas; a primeira composta por 24 animais que foram abatidos aos 150 dias (106,65 kg) e a segunda composta por 24 animais que foram abatidos aos 175 dias (123,87 kg). Foram avaliados: cálcio total, cálcio iônico, fósforo, relação cálcio / fósforo, proteínas totais, albumina, AST, GGT, ALP, uréia e creatinina no soro. Para isso, utilizaram-se um analisador bioquímico automático e reagentes comerciais. Os resultados obtidos das análises do cálcio total, cálcio iônico, fósforo, relação Ca:P proteínas totais, albumina, AST, GGT, ALP, uréia e creatinina mostraram-se dentro do intervalo de normalidade. A redução do fósforo inorgânico em dietas suplementadas com fitase, não interferiram no metabolismo ósseo. A retirada do suplemento micromineral-vitamínico e a redução progressiva do fósforo inorgânico em dietas suplementadas com fitase não provocaram alterações nas provas de função hepática e renal. A restrição de microminerais e vitaminas por 60 dias na fase de terminação não provocou alterações clínicas nos animais.

Palavras-Chave: função hepática, função renal e metabolismo ósseo,

METABOLIC AVALUATIONS IN PIGS WITH MICRO MINERAL AND VITAMINS WITHDRAWAL, INORGANIC PHOSPHORUS REDUCTION AND PHYTASE SUPPLEMENTATION

ABSTRACT

The experiment aimed to evaluate the effects of diets without micro minerals and vitamins, reduced inorganic phosphorus levels and phytase addition in bone metabolism and renal and hepatic functions in finishing pigs. Forty eight 105-day old females were randomly allotted in six groups: standard diets (T1), composed of corn, soybean meal and wheat meal; standard ration without micro mineral and vitamin supplement (T2); T2 ration with phytase (T3) T2 ration reducing 1/3 of inorganic P with phytase (T4), T2 ration reduced 2/3 of inorganic P with phytase (T5) and T2 ration with complete reduction of inorganic P with phytase (T6). The experiment was carried out in two phases: phase 1: 24 animals slaughtered at 150 days of age (106,65 kg); and phase 2: 24 animals slaughtered at 175 days of age (123,87 kg). The serum parameters evaluated were: total and ionic calcium, phosphorus, calcium/phosphorus ratio, total protein, albumin, AST, GGT, alkaline phosphatase, urea and creatinine. All biochemical parameters were analyzed using commercial kits in an automatic analyzer. The levels obtained for all analyzed parameters ranged within normal established values for this species and age. Inorganic phosphorus decrease in phytase-added diets did not interfere in bone metabolism. Vitamin and mineral supplements withdrawal and progressive decrease of inorganic phosphorus and phytase addition in diets of finishing pigs did not change hepatic or renal function. Micro minerals and vitamin restriction for 60 days during finishing phase in pigs did not lead to clinical changes.

Key words: bone metabolism, hepatic function, renal function.

1. INTRODUÇÃO

Em dietas para suínos, compostas principalmente por milho e farelo de soja, o fósforo (P) encontra-se, na sua maior parte, na forma de ácido fítico, indisponível para monogástricos (TEJEDOR et al., 2001). Para promover a disponibilização do fósforo, a enzima fitase libera, além do fósforo, outros nutrientes que formam complexos com o fitato (ADEOLA et al., 1995; PETERSSON, 2001; LUDKE et al., 2002).

Diante da evidência clínica sugestiva de distúrbios metabólicos, os níveis séricos de cálcio e fósforo devem ser determinados, bem como a concentração de proteínas totais (COLES, 1986). A determinação da atividade da fosfatase alcalina (ALP) no soro é de particular interesse na investigação da doença hepatobiliar e óssea que mostram elevações moderadas na osteomalácia e bastante elevadas no raquitismo (MOSS & HENDERSON, 1998).

O nível de aspartato aminotransferase (AST) é indicador não específico de lesão hepática, apesar de ocorrer em alta concentração nos hepatócitos. Por outro lado, a determinação da atividade enzimática da gama glutamiltransferase (GGT) é melhor indicador, especialmente para lesão aguda do fígado e dos ductos biliares (RADOSTITIS et al., 1994).

Podem-se observar drásticas alterações nos valores das proteínas plasmáticas em hepatopatias e nefropatias (COLES, 1986; SILVERMAN & CHRISTENSON, 1998). Nas lesões severas, especialmente as parenquimatosas, a formação das proteínas plasmáticas é retardada e qualquer fator que afete a síntese de albumina pode causar diminuição na relação albumina/proteína (MULLEN, 1976).

Para WELTHON et al. (1998), a determinação de uréia sérica em conjunto com a creatinina se fundamenta na determinação da localização da origem da azotemia.

Neste trabalho, avaliaram-se os efeitos da restrição micromineral-vitamínica na dieta com redução gradativa do P inorgânico e adição de fitase no metabolismo ósseo, função hepática e renal de suínos em terminação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás de Agosto a Outubro de 2004. O período experimental foi dividido em duas etapas, uma composta por 24 fêmeas abatidas aos 150 dias com 106,65 kg de peso médio (35 dias de experimento) e outra por 24 fêmeas abatidas aos 175 dias com 123,87 kg de peso médio (60 dias de experimento).

Os animais foram alojados em galpão de terminação com 24 baias em alvenaria, piso compacto, dispostas em fila dupla com corredor central. Na primeira fase, 48 fêmeas suínas híbridas de linhagem comercial, com 105 dias de idade e 66,15 kg de peso médio, foram alojadas aos pares, permanecendo durante sete dias em adaptação às novas condições experimentais. Após o abate de 24 animais aos 150 dias de vida, as 24 fêmeas restantes foram alojadas individualmente até os 175 dias de idade.

As marrãs foram divididas em seis tratamentos, dieta completa (grupo controle); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico com fitase (T3); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico com fitase (T4); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico com fitase (T5) e dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 3/3 de fósforo inorgânico com fitase (T6).

As dietas experimentais foram formuladas a base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com 16,7% de proteína bruta, 3.270kcal/kg de energia metabolizável, 0,82% de cálcio, e para fósforo, 0,320, 0,320, 0,320, 0,254, 0,184, 0,115 para fósforo disponível (%) e 0,513, 0,520, 0,520, 0,455, 0,387, 0,320 para fósforo total (%) para os seis tratamentos, respectivamente. A mistura ocorreu na fábrica de ração da Escola de Veterinária da UFG seguindo as exigências propostas por ROSTAGNO et al. (2000). O fornecimento de água e das dietas foi à vontade e o arraçãoamento efetuado duas vezes ao dia, às 8h e às 17h.

A enzima fitase obtida por fermentação com fungos do grupo *Aspergillus niger* (NATUPHOS 5000®, BASF NUTRIÇÃO ANIMAL) foi

incorporada às dietas experimentais na quantidade de 500 UF (unidades de fitase)/kg, conforme proposto LUDKE et al. (2000).

As colheitas de sangue foram efetuadas imediatamente antes do abate nas duas etapas experimentais. As amostras de sangue foram obtidas por punção da veia cava cranial e processadas para obtenção do soro conforme MORENO et al. (1997). Para quantificação dos metabólitos, utilizaram-se reagentes comerciais Labtest® e as leituras efetuadas com analisador bioquímico automático Bioplus® modelo BIO-2000IL-A. A atividade enzimática foi determinada com valor corrigido para 37°C.

Para metabolismo ósseo, foram avaliados cálcio sérico total, cálcio livre, fósforo inorgânico e proteínas totais. O cálcio livre foi calculado utilizando-se fórmula derivada da equação original retirada do monograma de McLean-Hastings de acordo com WEISSMAN & PILEGGI (1980).

$$\text{mg Ca}^{++} \text{ Livre/100mL} = \frac{6 (\text{Ca Total}) - (\text{Pt} / 3)}{\text{Pt} + 6}$$

Onde:

Ca Total = mg de cálcio total /100mL

Pt = g de proteína total /100mL

Ca⁺⁺ = mg de cálcio livre/ 100mL

Para avaliação das funções hepática e renal, foram determinadas as concentrações séricas das proteínas totais, da albumina e as atividades enzimáticas da aspartato aminotransferase (AST), da gama glutamiltransferase (GGT), da fosfatase alcalina (ALP) e as concentrações séricas da uréia e da creatinina.

Todos os animais eram semanalmente submetidos a avaliação clínica conforme metodologia descrita por PLONAIT et al. (1997).

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6x2, testando-se os efeitos de seis tipos de dieta em duas idades distintas, com quatro repetições por tratamento e/ou idade.

As variáveis cálcio (Ca), cálcio livre (Ca^{++}), fósforo (P), relação cálcio/fósforo (Ca:P), proteínas totais (PT), albumina (ALB), uréia e creatinina, foram submetidas ao teste para a avaliação de normalidade (teste de Lilliefors), e avaliação da homogeneidade de variâncias (testes de Cochran e Bartlett). Procedeu-se então a análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste Student Newman Keuls. As variáveis AST, GGT, ALP foram submetidas aos testes de normalidade e homogeneidade, constatando-se ausência de linearidade dos dados e submetidas à análise de variância não paramétrica e comparadas pelo teste Kruskal-Wallis, considerando $p < 0,05$.

Para avaliar o conteúdo dos diferentes analitos séricos, utilizaram-se os valores de normalidade disponíveis na literatura para suínos, considerando-se as condições de manejo e a fase de terminação (Quadro 1).

QUADRO 1–Intervalo de variação dos valores bioquímicos séricos compilados na literatura utilizados como parâmetros de normalidade para avaliação dos animais deste estudo

| Analito Autores | Ca total mmol/L | Ca livre mmol/L | Ca:P mmol/L | P mmol/L | Pt.total g/L | Albumina g/L | Uréia mmol/ L | Creatinin a mmol/L | AST UI/L | GGT UI/L | ALP UI/L |
|---------------------------------|--------------------|--------------------|----------------|-------------|-----------------|-----------------|---------------------|--------------------------|-------------|-------------|-------------|
| FRIENDSHIP et al. (1984) | 2,16 a 2,92 | 1,02 | 0,85 a 0,96 | 2,25 a 3,44 | 52 a 83 | 19 a 42 | 2,57 a 8,57 | 77 a 165 | 16 a 67 | – | 180 a 813 |
| PRIKOSZOVITS & SCHUH (1995) | 2,80 ± 0,20 | – | 0,94 ± 0,16 | 3,08 ± 0,67 | – | – | – | – | – | – | 211±57 |
| MAKINDE et al. (1996) | 3,10± 0,20 | 1,24 | 1,29 | 2,40 ± 0,4 | 71±5 | 46 ± 5 | – | 156 ± 3 | 34±14 | – | 257± 116 |
| RICO et al. (1977) | – | – | – | – | – | – | – | – | – | 35 ±14 | – |
| Intervalo de normalidade | 2,16 a 3,30 | 1,02 a 1,24 | 0,78 a 1,29 | 2,25 a 3,44 | 52 a 83 | 19 a 51 | 2,57 a 8,57 | 77 a 165 | 16 a 67 | 21 a 49 | 141 a 813 |

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não foi verificada interação significativa entre tratamento e idade. Para os valores médios obtidos para os diferentes analitos dosados relacionados ao metabolismo ósseo (Tabela 1), constatou-se que a concentração sérica média do cálcio total aos 150 dias, esteve entre 2,46 e 2,92 mmol/L. Aos 175 dias de idade variou de 1,99 a 2,53 mmol /L, valores dentro da normalidade (Quadro 1).

TABELA 1-Cálcio (Ca) total (mmol/L), cálcio livre (mmol/L), fósforo (P)(mmol/L), relação cálcio / fósforo (mmol/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios padrões por idade. Goiânia, 2006.

| Trat.* | Idade/Dias | Ca Total | Ca Livre | P | Ca: P |
|-----------|------------|-------------------|-------------------|---------------------|--------------------|
| T1 | 150 | 2,72 ^a | 0,97 | 3,04 ^A | 0,90 ^{aB} |
| | 175 | 1,99 ^b | 0,85 | 3,08 | 0,65 ^b |
| T2 | 150 | 2,69 | 0,97 | 2,79 ^{aA} | 0,97 ^{aB} |
| | 175 | 2,27 | 0,86 | 3,19 ^b | 0,71 ^b |
| T3 | 150 | 2,51 | 0,91 | 2,62 ^{aAB} | 0,95 ^B |
| | 175 | 2,28 | 0,85 | 3,24 ^b | 0,71 |
| T4 | 150 | 2,48 | 0,92 | 2,76 ^A | 0,91 ^B |
| | 175 | 2,00 | 0,80 | 2,78 | 0,72 |
| T5 | 150 | 2,46 | 0,82 | 2,70 ^{aAB} | 0,92 ^B |
| | 175 | 2,53 | 0,90 | 3,29 ^b | 0,78 |
| T6 | 150 | 2,92 ^a | 1,10 ^a | 2,28 ^B | 1,28 ^{aA} |
| | 175 | 2,43 ^b | 0,94 ^b | 2,70 | 0,91 ^b |
| Média/DP | 150 | 2,63 ±0,41 | 0,95 ±0,20 | 2,70 ±0,31 | 0,99 ±0,20 |
| Média /DP | 175 | 2,25 ±0,33 | 0,87 ±0,12 | 3,05 ±0,37 | 0,75 ±0,13 |

* T1 (dieta completa), T2 (dieta sem microminerais e vitaminas), T3 (dieta T2 + fitase), T4 (dieta T2, sem 1/3 fósforo inorgânico + fitase), T5 (dieta T2, sem 2/3 de fósforo inorgânico + fitase), T6 (dieta T2, sem fósforo inorgânico + fitase)
 Letras maiúsculas (entre tratamentos) e minúsculas (entre idades) na mesma coluna diferem (p<0,05) entre si (Student Newman Keuls)

No tratamento controle (T1), o cálcio total e a relação Ca:P apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre as idades, mas estiveram dentro dos limites de normalidade, este fato pode ser atribuído ao pequeno número de repetições por grupo (quatro animais), uma vez que variações orgânicas individuais não são diluídas em amostragem reduzida. O mesmo achado se repetiu quando 100% de fósforo inorgânico foi retirado (T6). A mesma diferença ocorreu para cálcio livre e relação Ca:P, variáveis dependentes do valor do cálcio sérico.

A concentração sérica do fósforo aos 150 dias variou de 2,28 a 3,04 mmol/L, dentro do intervalo de normalidade (Quadro 1). A dieta com restrição total de fósforo inorgânico, apresentou o menor teor de P sérico em relação aos demais tratamentos, no entanto esta diferença foi significativa apenas para os tratamentos que correspondem, respectivamente, à dieta controle (T1), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2) e dieta sem suplemento micromineral-vitamínico sem 1/3 de fósforo inorgânico com fitase (T4).

A relação Ca:P na dieta foi de 1,6:1 para a dieta completa (T1), para dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2) e para dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3). Para os animais que receberam dieta sem 1/3 de fósforo inorgânico com adição de fitase (T4) a relação foi de 1,8:1. Já para os animais que receberam dieta sem 2/3 de fósforo inorgânico e adicionado fitase (T5), a relação Ca :P foi de 2,1:1 e, finalmente, para os animais em que foi retirado 100% do fósforo da dieta e adicionado fitase (T6) esta relação aumentou para 2,5:1. Estas proporções estão de acordo com o NRC (1998) e KATAREN et al. (1993), entre 1,5:1 a 2,5:1 para crescimento e mineralização óssea. Entretanto, BEERS & JONGBLOED (1992) sugerem manter a relação Ca:P total entre 1,7:1 e 3:1 para garantir a melhor ação da fitase. Neste estudo, a maior relação Ca:P (2,5:1) foi observada na dieta completa sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico com fitase (T6), onde também foi verificado o menor valor para fósforo sérico. Resultados semelhantes foram descritos por KOCH et al. (1985), LEI et al. (1993) e QIAN et al. (1996).

KOCH & MAHAN (1986) observaram que o aumento da relação Ca:P na dieta resultou em declínio linear na concentração sérica de P aos 21 e 35 dias de tratamento, enquanto a concentração sérica de Ca aumentou, particularmente

aos 21 dias. Situação semelhante foi encontrada quando 100% do fósforo foi retirado da dieta com fitase (T6) e com 35 dias restrição verificou-se maior valor para Ca (2,92mmol/L) e menor valor (2,43mmol/L) com 60 dias de restrição, enquanto a concentração sérica do P foi de 2,28 e 2,70mmol/L para as duas etapas respectivamente. De forma similar, SOMMERVILLE et al. (1985) demonstraram que dietas pobres em fósforo provocam aumento do cálcio sérico em suínos. Para FOX et al. (1978), este efeito é explicado pelo aumento na eficiência de absorção de cálcio intestinal, induzido pela deficiência de fósforo que resulta em decréscimo na formação óssea, com aumento da reabsorção de cálcio ósseo e renal.

LEI et al. (1993) constataram grande redução na habilidade da fitase em disponibilizar o fósforo fítico em dietas com teores normais comparadas com dietas com teores reduzidos de cálcio em leitões desmamados. Níveis de cálcio acima de 0,70% em pH 6,0 viabilizam a formação do fitato de cálcio, complexo inacessível a fitase, devido à competição do cálcio pelos sítios ativos da enzima (MCKNIGHT, 1977; WISE, 1983; SELLE et al., 2000). Neste estudo, os níveis de cálcio na dieta foram de 0,82%, mas a concentração sérica de P esteve dentro dos padrões de normalidade para a faixa etária, indicando que esse fenômeno não deve ter ocorrido. BÜHLER et al. (1998) afirmam que dietas suplementadas com fitase não devem conter mais que 0,9% de cálcio para suínos em terminação. Estes autores sugerem que a relação Ca :P nestas dietas deve situar-se entre 2,7:1 a 3,5:1.

Para 60 dias de experimento, o fósforo sérico variou de 2,70 a 3,29 mmol/L, dentro dos limites de normalidade (Quadro 1). Não foi observada diferença ($p>0,05$) entre os tratamentos. ENGSTRON et al. (1985) ressaltaram que a hipofosfatemia manifesta-se progressivamente em dietas deficientes em fósforo e a média mínima de P inorgânico no plasma foi atingida entre 34 e 41 dias. Neste experimento, após 35 e 60 dias de restrição com suplementação da fitase, as concentrações séricas de P estiveram dentro dos valores normais, confirmando sua eficiência em disponibilizar o P fítico (MURRY et al., 1985; ADEOLA et al., 1998; MATSUI et al., 2000).

Há contínuo intercâmbio de cálcio e fósforo entre o sangue e os ossos, sendo mais ativo nos ossos esponjosos. Quando a absorção intestinal é baixa, os

níveis de fósforo na urina são reduzidos, ocorrendo aumento na reabsorção de fósforo nos túbulos renais, chegando próximo a 99%, visando manter a concentração do mesmo no sangue (MAYNARD & LOOSLI, 1974; CHURCH & POND, 1977; MOREIRA et al., 2004). Pode-se inferir neste estudo que os mecanismos homeostáticos associados à ação da fitase contribuíram para que os valores do P séricos mantivessem-se dentro dos parâmetros de normalidade.

Considerando ainda o fósforo sérico, dieta sem suplementação micromineral-vitamínica sem a adição de fitase (T2), dieta sem suplementação micromineral-vitamínica, com a adição de fitase (T3) e dieta sem 2/3 de fósforo inorgânico mais fitase (T5) apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre as duas idades estudadas. Na dieta sem suplementação micromineral-vitamínica sem a adição de fitase (T2) esta diferença manifestou-se também na relação Ca:P.

Os valores da relação Ca:P no soro variaram de 0,90 a 1,28mmol/L para os animais abatidos aos 150 dias no tratamento que receberam dietas sem fósforo inorgânico (T6) e conseqüentemente, com maior relação cálcio/fósforo na dieta (2,5:1), apresentaram, quando comparados aos outros tratamentos, valores maiores ($p < 0,05$) embora dentro da amplitude de normalidade citada na literatura (Quadro 1). Esta alteração era esperada por este tratamento apresentar menor teor de P sérico com relação aos demais tratamentos. Para os animais com 175 dias de idade os valores da relação Ca:P variaram de 0,65 a 0,91mmol/L.

LOPES (1998) avaliou a cinética e fluxo biológico do fósforo em suínos e verificou que nos animais submetidos à dieta com menor nível de P ocorreu maior mobilização do P de origem óssea para o sangue, sugerindo tratar-se de mecanismo para manutenção do nível sérico de P. O autor afirma ainda que ocorre aumento da saída do P dos tecidos moles (fígado e rins) para contribuir com a manutenção dos níveis séricos deste mineral, bem como para o desempenho de funções normais no organismo animal.

MOSS & HENDERSON (1998) relataram que as determinações da fosfatase alcalina (ALP) no soro são de particular interesse na investigação da doença hepatobiliar e doença óssea. Os níveis séricos dessa enzima mostram elevações moderadas na osteomalácia, sendo que no raquitismo podem ser observados níveis crescentes de duas a quatro vezes aos dos valores observados em animais hígidos. BOYD et al. (1984) observaram que dietas com baixos níveis

de fósforo resultam em aumento da atividade da ALP. Neste experimento, os valores séricos da atividade enzimática da ALP permaneceram dentro do intervalo de normalidade (Quadro 1). Apenas os animais que receberam ração sem suplementação micromineral-vitamínica sem adição de fitase (T2) apresentaram diferença ($p < 0,05$) entre as duas idades. Diante destes resultados, pode-se inferir que a enzima fitase foi eficiente em disponibilizar o P, uma vez que, apesar da restrição progressiva deste mineral nos tratamentos T4, T5 e T6, a atividade sérica da enzima permaneceu dentro dos parâmetros de normalidade.

Entretanto, em outros trabalhos utilizando fitase e determinação de atividade sérica de ALP, os resultados descritos foram diferentes. YOUNG et al. (1993) observaram diminuição da atividade da ALP com adição da fitase à dieta de suínos jovens. LEI et al. (1993) e QIAN et al. (1996) observaram redução da atividade desta enzima e aumento da concentração de P sérico com suplementação de fitase.

A retirada da suplementação micromineral-vitamínica não desencadeou sinais clínicos de deficiências. McGLONE (2000) avaliou a retirada do suplemento micromineral-vitamínico da dieta de suínos 30 dias antes do abate e também não encontrou efeitos negativos sobre a saúde dos animais. Este autor sugeriu que as reservas orgânicas destes nutrientes foram capazes de suprir as exigências durante o experimento. No presente estudo, não se pode atribuir este fato à capacidade da fitase em disponibilizar, além do fósforo, outros nutrientes que formam complexos com o fitato, já que no tratamento, onde foi retirada desta suplementação e não foi adicionada a fitase (T2), os sinais de deficiência também não foram observados nem aos 60 dias de restrição. Estes resultados são semelhantes aos descritos por PETER et al. (2001) que afirmaram que a suplementação de Zn, Cu e Mn podem ser reduzidas ou eliminadas sem causar alterações deletérias aos suínos na fase final de terminação (80 a 120 kg). Por outro lado, SHELTON et al. (2005), estudando a adição de fitase em dietas para suínos com e sem suplementação nas fases de creche, crescimento e terminação, relataram somente sinais de deficiência nos animais na fase de creche que receberam dietas sem suplementação e sem fitase.

Os animais de todos os tratamentos, ao longo do período de estudo, não manifestaram sinais de claudicação ou aumento de volume das epífises

ósseas, paraqueratose, alterações no sistema respiratório que pudessem ser creditados à supressão micromineral/vitamínica, ou ainda a redução progressiva do fósforo inorgânico. Estas observações são semelhantes a resultados de estudos anteriores de SOBESTIANSKY et al. (1991) e NUNES et al. (2002). Segundo McGLONE (2000), as deficiências de minerais e vitaminas levam semanas ou até meses para produzir manifestações clínicas. Adicionalmente, deve-se ressaltar que a unidade experimental deste estudo foi de dois animais para os 150 dias e de um animal para os 175 dias. Nesta situação, os animais foram menos expostos à condição normal de uma granja, onde os quadros de estresse são mais acentuados.

O resultado da determinação da atividade enzimática da AST para os animais com 150 dias variou de 24 a 51 UI/L e entre 23 e 34 UI/L para 175 dias de idade (Tabela 2). Os valores obtidos também estiveram dentro dos valores de normalidade (Quadro 1). A avaliação da concentração de AST no soro é utilizada como indicador de lesão hepática e/ou muscular (DUNCAN & PRASSE, 1982; MEYER et al., 1995). No entanto, por não ser específica para o tecido hepático, a determinação de outros parâmetros séricos que reflitam a integridade morfológica e funcional do fígado se faz necessária para verificar a presença de hepatopatia. Por esta razão determinaram-se concomitantemente outras enzimas séricas.

Para os animais com 150 dias de idade a determinação da atividade enzimática da gama glutamiltransferase (GGT) variou de 35 a 43 UI/L e entre 39 e 51 UI/L para os animais com 175 dias (Tabela 2). Esta enzima é detectada principalmente nas células dos ductos biliares. Desta forma, lesões no epitélio biliar e desordens colestáticas resultam no aumento da sua atividade no soro sanguíneo em todas as espécies estudadas (PEARSON, 1993). Apesar de ser encontrada em outros tecidos, o aumento da atividade dessa enzima no soro é sempre de origem hepática e/ou biliar (HOFFMANN et al., 1989; FRENCH et al., 1999). Os valores médios observados neste experimento estão dentro da normalidade (Quadro 1), confirmando a ausência de lesão hepática crônica ou doença biliar ativa.

TABELA 2-Proteínas totais (g/L), albumina (g/L), AST(UI/L),GGT(UI/L), ALP(UI/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios padrões por idade. Goiânia, 2006.

| Tratamento | Idade/Dias | Prot.Totais | Albumina | AST | GGT | ALP |
|------------|------------|-------------------|-----------------|---------|-------|-----------------|
| T1 | 150 | 80 ^a | 37 | 34 | 43 | 48 |
| | 175 | 57 ^{bc} | 30 | 26 | 47 | 51 |
| T2 | 150 | 79 | 34 | 51 | 40 | 28 ^a |
| | 175 | 71 | 29 | 24 | 41 | 19 ^b |
| T3 | 150 | 75 | 28 ^a | 31 | 35 | 45 |
| | 175 | 72 ^{AB} | 40 ^b | 24 | 45 | 35 |
| T4 | 150 | 76 | 41 | 31 | 38 | 50 |
| | 175 | 63 ^{BC} | 36 | 34 | 45 | 34 |
| T5 | 150 | 81 | 30 | 37 | 38 | 49 |
| | 175 | 78 ^A | 30 | 25 | 39 | 43 |
| T6 | 150 | 76 ^a | 37 | 24 | 38 | 47 |
| | 175 | 70 ^{bAB} | 36 | 23 | 51 | 42 |
| Média/ DP | 150 | 78±7 | 35 ±9 | 34 ± 15 | 39±10 | 44±12 |
| Média/ DP | 175 | 69±9 | 33±8 | 26±11 | 45±14 | 37±17 |

T1 (dieta completa), T2 (dieta sem microminerais e vitaminas), T3 (dieta T2 + fitase), T4 (dieta T2, sem 1/3 fósforo inorgânico + fitase), T5 (dieta T2, sem 2/3 de fósforo inorgânico + fitase), T6 (dieta T2, sem fósforo inorgânico + fitase)

AST GGT ALP - minúsculas diferentes (entre idades) na mesma coluna diferem (p<0,05) entre si (Kruskal-Wallis)

Demais variáveis - letras maiúsculas diferentes (entre tratamentos) e minúsculas diferentes (entre idades) na mesma coluna diferem (p<0,05) entre si (Student Newman Keuls)

O resultado da determinação da atividade enzimática da ALP aos 150 dias de idade variou de 28 a 50 UI/L e entre 19 e 51UI/L aos 175 dias (Tabela 2). Estes valores médios estiveram dentro da amplitude de variação dos valores de normalidade (Quadro 1) e confirmam a ausência de lesões hepáticas. É oportuno salientar que as dosagens da GGT e ALP são empregadas no diagnóstico diferencial entre doenças hepatobiliares e óssea.

A concentração de proteínas totais apresentou variação para os 150 dias de idade de 75 a 81g/L e de 57 a 78g/L para os 175 dias. A concentração

de albumina variou para os 150 dias de 28 a 41g/L e para os 175 dias entre 29 e 40g/L. Estes valores médios observados, tanto para proteínas totais quanto para a albumina, nas duas fases estudadas, estão dentro dos valores de normalidade (Quadro 1). Esses resultados associados às provas enzimáticas negativas reafirmam a ausência de hepatopatias, uma vez que, de acordo com COLES (1986), alterações nos valores das proteínas plasmáticas ocorrem em associação com hepatopatias e nefropatias.

Neste estudo a concentração sérica de proteínas totais aos 175 dias para a dieta completa (T1) apresentou menor valor ($p<0,05$) em relação a todos os tratamentos, exceto para a dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T4). No tratamento dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5) verificou-se a maior concentração sérica de proteínas totais, sendo que este valor diferiu ($p<0,05$) dos tratamentos T1 e T4.

Na dieta completa (T1), com a progressão da idade, observou-se redução ($p<0,05$) na concentração de proteínas totais. Esta observação também se repetiu na dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase (T6).

Considerando ainda a progressão da idade, constatou-se aumento ($p<0,05$) da concentração sérica de albumina na dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3) entre as duas idades.

O valor médio da globulina sérica apresentou variação de 35 ± 11 a 56 ± 9 g/L aos 150 dias de idade e entre 27 a 48g/L para 175 dias. Esta amplitude está dentro da variação considerada normal encontrada na literatura. FRIENDSHIP et al. (1984) encontraram valores entre 25 a 35g/L em suínos de terminação e o CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE (1993) cita valores entre 53 a 64 (59 ± 6 g/L).

A mensuração da uréia no soro é feita para avaliar função renal, no entanto, pode apresentar-se diminuída em associação à falência hepática e anomalias congênitas do sistema porta. O nível de uréia pode estar alto com um aumento no consumo dietético de proteína, colapso catabólico ou hemorragia no interior do trato gastrintestinal (MEYER & HARVEY, 1998).

Para os 150 dias de idade o valor médio encontrado para concentração de uréia apresentou variação de 3,58 a 5,04mmol/L e variou entre 4,08 e 5,45mmol/L aos 175 dias (Tabela 3) estando dentro dos padrões de normalidade (Quadro 1). Apenas no tratamento submetido à dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5) ocorreu diferença ($p<0,05$) entre as etapas, caracterizando um aumento desta concentração sérica com a progressão da idade.

JOHNSTON et al. (2004) relataram aumento da concentração plasmática de uréia em suínos alimentados com dietas com baixos níveis de Ca e P e suplementadas com fitase. Os autores atribuíram este fato à maior disponibilização de proteínas pela fitase, gerando excesso de aminoácidos, aumentando a desaminação e, conseqüentemente, aumentando a formação de uréia. No presente estudo não foi confirmada esta constatação.

Para a creatinina sérica, o valor médio encontrado apresentou variação de 150 ± 14 a 180 ± 21 mmol/L aos 150 dias e entre 164 ± 31 e 185 ± 18 mmol/L para os 175 dias (Tabela 3), dentro do intervalo de normalidade (Quadro 1). Apenas a dieta completa sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3) apresentou diferença ($p<0,05$) com aumento da concentração da creatinina com a progressão da idade. De acordo com COLES (1986), a creatinina deve ser analisada em conjunto com a uréia por não sofrer influencia do metabolismo das proteínas.

Em todas as espécies mamíferas, a creatinina tem passagem livre pelos glomérulos e aparece no filtrado glomerular e no plasma com a mesma concentração (FINCO, 1998). Os níveis não se alteram acima do normal até que 60 a 75% dos néfrons estejam destruídos (RADOSTITIS et al., 1994). A observação dos valores médios tanto da concentração sérica de uréia como da creatinina, permite inferir que estes estão dentro da normalidade (Quadro1), e indicam ausência de nefropatia. Desta forma, pode ser observado que a retirada dos microelementos, a retirada progressiva do fósforo inorgânico e a adição de fitase não interferiram negativamente no funcionamento hepático e renal. Pode-se também considerar que a toxicidade da fitase é mínima, o que foi confirmado por MATSUI et al. (2000).

TABELA 3 - Uréia (mmol/L) e creatinina (mmol/L) séricos de suínos aos 150 e 175 dias submetidos a dietas restritivas em suplemento micromineral-vitamínico e com níveis decrescentes de fósforo, com adição de fitase. Médias e desvios padrões por idade. Goiânia, 2006.

| TRATAMENTO | IDADE/DIAS | URÉIA | CREATININA |
|------------|------------|-------------------|------------------|
| T1 | 150 | 4,45 | 151 |
| | 175 | 4,25 | 174 |
| T2 | 150 | 3,91 | 160 |
| | 175 | 5,45 | 164 |
| T3 | 150 | 4,70 | 150 ^a |
| | 175 | 4,62 | 185 ^b |
| T4 | 150 | 3,79 | 171 |
| | 175 | 4,08 | 185 |
| T5 | 150 | 3,58 ^a | 151 |
| | 175 | 5,04 ^b | 178 |
| T6 | 150 | 5,04 | 180 |
| | 175 | 5,37 | 170 |
| Média/ DP | 150 | 4,25 ±1,08 | 160 ±24 |
| Média/ DP | 175 | 4,80 ±0,96 | 176 ±22 |

T1 (dieta completa), T2 (dieta sem microminerais e vitaminas), T3 (dieta T2 + fitase), T4 (dieta T2, sem 1/3 fósforo inorgânico + fitase), T5 (dieta T2, sem 2/3 de fósforo inorgânico + fitase), T6 (dieta T2, sem fósforo inorgânico + fitase)

Letras minúsculas diferentes (entre idades) na mesma coluna diferem (p<0,05) entre si (Student Newman Keuls)

4. CONCLUSÃO

A suplementação com 500 FU/kg de fitase em dietas formuladas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo para suínos em terminação mostrou-se eficiente na disponibilização do P fítico com 35 e 60 dias de restrição total de fósforo inorgânico e de suplementos microminerais e vitamínicos, uma vez que não provocou alterações clínicas, não interferiu no metabolismo ósseo e nas provas de função hepática e renal nos animais.

5. REFERÊNCIAS

1. ADEOLA, O.; LAWRENCE, B. V.; SUTTON, A. L.; CLINE, T. R. Phytase-induced changes in mineral utilization in zinc-supplemented diets for pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.73, p.3384-3391, 1995.
2. ADEOLA, O; CLINE, T. R.; ORBAN, J. I.; RAGLAND, D.; SUTON, A. L. Supplementation of low-calcium and phosphorus diets with phytase and cholecalciferol. **Swine Day**, Purdue, v.3, p.105-112, 1998.
3. BEERS, S.; JONGBLOED, A. W. Effect *Aspergillus niger* phytase in diets for piglets on their performance and apparent digestibility of phosphorus. **Animal Production**, East Lothian, v.55, n.3, p.425-430, 1992.
4. BOYD, R. D.; HALL, D.; WU, J. F. Plasma alkanine phosphatase as a criterion for determining biologically available phosphorus for swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.55, n.1, p.263, 1984.
5. BUHLER, M.G.; LIMPER, J.; MULLER, A.; SCHWARZ, G.; SIMON, O.; SOMMER, M.; SPRING,W.; Las enzimas en la nutrición animal. **Arbeitsgemeinschaft fur Wirkstoffe in der Tierernahrung, Bonn** 1998.47p.
6. CANADIAN COUNCIL ON ANIMAL CARE, APPENDIX D -Breeding, physiological and nutritional parameters by species [on line], 1993. Disponível em: <http://www.unmc.edu/Education/Animal/guide/appenD5.html>. Acesso em: 27 ago, 2003.
7. CHURCH, D. C.; POND, W. G. **Bases científicas para la nutrición y alimentación de los animales domésticos**. Zaragoza, Editorial Acribia,. 1977. 161-219 p.
8. COLES, E. H. **Veterinary clinical pathology**. 3 ed., Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1986. 566 p.
9. DUCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1982. 217p.
- 10.ENGSTRON, G. W.; HORST, R. L.; REINHART, T. A. Effect of dietary phosphorus levels on porcine renal 25-hydroxyvitamin D-1 and 24R-hidroxilase activities and plasma 1,25-dihydroxivitamin D₃ concentration. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.60, p.1005-1011, 1985.
- 11.FINCO. D. R. Kidney function. In: KANEKO, J. J. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 4.ed. San Diego: Academic Press, 1997. cap.17, p.441-484.

12. FOX, J; PICKARD, D. W.; CARE, A. D.; MURRAY, T. M. Effect of low phosphorus diets on intestinal calcium absorption and the concentration of calcium-binding protein intact and parathyroidectomized pigs. **Journal of Endocrinology**. v.3, p.379-387, 1978.
13. FRENCH, T. W.; BLUE, J. T.; STOKOL, T. Veterinary Clinical Chemistry, **Clinical Pathology Modules**. [on line], 1999. Disponível em: <http://web.vet.cornell.edu/public/popmed/clinpath/Cpmodules/chempanl.html> . Acessado em: 10 ago, 2003.
14. FRIENDSHIP, R. M.; LUMSDEN, J. H.; MCMILLAN, I.; WILSON, M. R. Hematology and Biochemistry Reference Values for Ontario Swine. **Canadian Journal of Comparative Medicine**, Ontario. v.48, n.4, p.390-393, 1984.
15. HOFFMANN, W. E., KRAMER, J., MAIN, A. R., TORRES, J. L. **Clinical enzymology in the clinical chemistry of laboratory animals**. New York: Pergamon Press, 1989. 762p.
16. JOHNSNTHON, S. L.; WILLIAMS, S. B.; SOUTHERN, L. L.; BIDNER, T. D.; BUNTING, L. D.; MATTHEWS, J. O.; OLCOTT, B. M. Effect of phytase addition and dietary calcium and phosphorus levels on plasma metabolites and ileal and total-tract nutrient digestibility in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.82, p.705-714, 2004.
17. KETAREN, P. P.; BATTERHAM, E. S.; DETTMANN, E. B.; FARRELL, D. J. Phosphorus studies in pigs. 3. Effect of phytase supplementation on the digestibility and availability of phosphorus in soya-bean meal for grower pigs. **Brithish Journal of Nutrition**, Cambridge, v.70, n.1, p.289-311, 1993.
18. KOCH, M. E.; MAHAN, D. C .Biological characteristics for assessing low phosphorus intake in finishing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.62, p.163 -172, 1986.
19. KOCH, M. E.; MAHAN, D. C.; CORLEY, J. R. An evaluation of various biological characteristic in assessing low phosphorus in a take in weanling swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.59, n 6, p.1546-1556, 1985.
20. LEI, X. G.; KU, P. K.; MILLER E. R. YOKOYAMA, M. T. Supplementing corn-soybean meal diets with microbial phytase linearly improves phytate phosphorus utilization by weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, n.12, p.3359-3367, 1993.
21. LOPES, J. B. **Avaliação da absorção real e das perdas endógenas de fósforo para suínos pela técnica da diluição isotópica**. 1998. 87f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo, Piracicaba.

22. LUDKE, M. C. M. M.; LOPES, J.; LUDKE, J. V. Fitase em dietas para suínos em crescimento: (II) Parâmetros de carcaça e ossos. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.32, n.1, p.103-108, 2002.
23. LUDKE, M. C. M. M.; LOPES, J.; NICOLAIEWSKY, S. Efeito da fitase em dietas com ou sem fósforo inorgânico para suínos em fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.2, p.485 – 494, 2000.
24. MAKINDE, M.O.; MAJOK, A.A.; HILL, F.W.G. Biochemical and hematological values in abattoir pigs with and without subclinical lesions. **Onderstepoort journal of veterinary research**. v.63, p.11-14, 1996
25. MATSUI, T.; NAKAGAWA, Y.; TAMURA, A.; WATANABE, C.; FUJITA, K; NAKAJIMA, T.; YANO H. Efficacy of yeast phytase in improving phosphorus bioavailability in a corn-soybean meal based diet for growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, n.1, p.94-99, 2000.
26. MAYNARD, L. A.; LOOSLI, J. K. **Nutrição Animal**. 2. ed. São Paulo: Livraria Freitas Bastos, 1974. 550 p.
27. MCGLONE, J. J. Deletion of supplemental minerals and vitamins during the late finishing period does not affect weight gain and feed intake. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, p.2797-2800, 2000.
28. McKNIGHT, W. F. Technical specifications and properties of phytase. In: COELHO, M. C.; KORNEGAY, E. T. **Phytase in animal nutrition and waste management: A BASF reference manual** 1996. New Jersey: BASF, 1996. p.1-15.
29. MEYER, D. J. COLES, E. H., RICH, L. J. **Medicina de laboratório veterinário: interpretação e diagnóstico**. São Paulo: Roca, 1995. 308p.
30. MEYER, D. J., HARVEY, J. W. **Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis**. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1998. 373p.
31. MOREIRA, J. A.; VITTI, D. M. S. S.; LOPES, J. B.; TRINDADE NETO, M. A. Cinética do fósforo em tecidos de suínos alimentados com dietas contendo enzima fitase. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.56, n.1, p.9-16, 2004.
32. MORENO, A. M.; SOBESTIANSKY, J.; LOPES, A. C.; SOBESTIANSKY, A.A.B. **Colheita e processamento de amostras de sangue em suínos para fins de diagnóstico**. Concórdia: EMBRAPA – CNPSA, 1997.30p.
33. MOSS, D. W.; HENDERSON, A. R. Enzimas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Fundamentos de Química Clínica**. 4 ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap.19, p.275-325.
34. MULLEN, P. A. The diagnosis of liver dysfunction in farm animals and horses. **The Veterinary Record**, v.99, n.17, p.330-334. 1976.

35. MURRY, A. C.; LEWIS, R. D.; AMOS, H. E.; The effect of microbial phytase in a pearl millet-soybean meal diet on apparent digestibility and retention of nutrients serum mineral concentration, and bone mineral density of nurse pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, p.1284-1291, 1985
36. NATIONAL RESEARCH COUNCIL-NRC. **Nutrient Requirements of Swine**. 10 ed. Washington, DC: National Academy of Science, 1998. 189 p.
37. NUNES, R. C.; KRONKA, R. N.; SOBESTIANSKY, J.; LOPES, E. L.; GONÇALVES, J. R. Retirada dos suplementos micromineral e/ou vitamínico da ração de suínos em fase de terminação. Desempenho, níveis de minerais nos metacarpos e custo de produção. **Ciência Animal Brasileira**. Goiânia, v.3, n.1, p.49-57, 2002.
38. PEARSON E.G. Moléstias do sistema hepatobiliar. In: SMITH, B.P. **Tratado de medicina interna de grandes animais**. São Paulo: Manole, 1993. v.1, cap.31, p.839-872.
39. PETER, C. M.; PARR, T. M.; WEBEL, D. M.; BAKER, D. H. The effects of phytase on growth performance, carcass characteristics, and bone mineralization of late-finishing pigs fed maize-soybean meal diets containing no supplemental phosphorus, zinc, cooper and manganese. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v.94, n.3, p.199-205, 2001.
40. PETTERSSON, D. Melhoria do valor nutricional dos ingredientes através da suplementação de enzimas In: SIMPÓSIO DE NUTRIÇÃO ANIMAL, 2001, Campinas e Chapecó. **Anais...** São Paulo: Produtos Roche Químicos e Farmacêuticos Ltda, 2001. p.31-42.
41. PLONAIT, H. Der Tierarzt in Bestand, Klinische Untersuchung und Probenentnahme. In: PLONAIT, H; BICHHARDT,K.; LEHBUCH DER SCHNVEINEKRAHEITEN. 2.ed. Paul Parey, Berlim, 1997. p.1-8.
42. PRIKOSZOVITS, A.; SCHUH, M.; The mineral content of calcium, phosphorus and magnesium in the serum and bones and serum activity of alkaline phosphatase in slaughtered fattening pigs. **Dtsch Tierarztl Wochenscher**. v.1, n.102, p.53-55, 1995.
43. QUIAN, H.; KORNEGAY, E. T.; CONNER Jr., D. E. Adverse effects of wide calcium: phosphorus ratios on supplemental phytase. Efficacy for weanling pigs fed two dietary phosphorus levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.74, n.6, p.1288-1297, 1996.
44. RADOSTITIS, O. M., BLOOD, D. C., GAY, C. C. **Veterinary medicine**. 7ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994.1763 p.
45. RICO, A.G.; BRAUM, J.P.;BERNARD, P.;THOUVENOT ,J.P.;T. Tissue and blood gamma-glutamyl transferase distribution in pig. **Research in veterinary science**, v.3, n.23, p.395-396, 1977.

46. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos** (Tabelas brasileiras). 2 ed. Viçosa:UFV – Imp. Univ., 2000. 61p.
47. SELLE, P. H.; RAVINDRAN, V.; CALDWELL, R. A.; BRYDEN, W. L. Phytate and phytase: consequences for protein utilization. **Nutrition Research Reviews**, Sidney, v.13, p.255-278, 2000.
48. SHELTHON, J. L.; LEMIEUX, F. M.; SOUTHERN, L. L.; BIDNER, T. D. Effect of microbial phytase addition with the trace mineral premix in nurse, growing, and finishing pig diets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.83, p.376-385, 2005.
49. SILVERMAN, L.M.; CHRISTENSON, R.H.; Aminoácidos e Proteínas. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Fundamentos de Química Clínica**. 4.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, cap.18, p.234-274.
50. SOBESTIANSKY, J.; LIMA, G. J. M.M.; MORES, N.; DALLA COSTA, O. A.; CRIPPA, J.; GOMES, P. C.; MONTICELLI, C.; Retirada do suplemento micromineral e vitamínico de rações de suínos em terminação (54 a 100 kg): efeito sobre a saúde dos animais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE VETERINÁRIOS ESPECIALISTAS EM SUÍNOS. 5., 1991, Águas de Lindóia, **Anais...**, Águas de Lindóia, 1991. p.109.
51. SOMMERVILLE, B.A.; MAUNDER, E.; ROSS, R.; CARE, A.D.; BROWN, R.C. Effect of dietary calcium and phosphorus depletion on vitamin D metabolism and calcium binding protein in growing pig. **Hormone and Metabolic Research**. v.17, n.2, p.78-81, 1985.
52. TEJEDOR, A. A.; ALBINO, L. F.T.; ROSTAGNO, H. S.; VIEITES, F. M. Efeito da adição da enzima fitase sobre o desempenho e a digestibilidade ileal de nutrientes. **Revista Brasileira de Zootecnia**. Viçosa, v.30, n.3, p.802-808, 2001.
53. WEISSMAN, N.; PILEGGI, V. Iones Inorganicos. In: HENRY, R. J.; CANNON, D. C.; WINKELMAN, J. W. **Química Clínica-bases Y técnicas**. Barcelona: Jims, 1980. p.643-762.
54. WHELTON, A.; WASTSON, A. J.; ROCK, R. C.; Metabólitos nitrogenados e função renal. In: BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R. **Fundamentos de Química Clínica**. 4.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap.32, p.552-574.
55. WISE, A. Dietary factors determining the biological activities of phytate. **Nutrition Abstracts and Reviews**, Aberdeen, v.53, n.9, p.791-806, 1983.
56. YOUNG, L. G.; LEUNISSEN, M.; ATKINSON, J. L. Addition of microbial phytase to diets of young pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.72, p. 2147-2150, 1993.

CAPÍTULO 3 – AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DE FÍGADO, RIM, TIREÓIDE, PARATIREÓIDE E OSSO DE SUÍNOS EM TERMINAÇÃO SUBMETIDOS À RESTRIÇÃO DE FÓSFORO INORGÂNICO, MICROCROMINERAIS E VITAMINAS E SUPLEMENTADOS COM FITASE

RESUMO

O objetivo do presente estudo foi avaliar histologicamente fígado, rim, tireóide, paratireóide e osso metacarpo de suínos submetidos a restrições de microminerais, vitaminas e fósforo, e suplementados com a enzima fitase em dois períodos de restrição. Foram utilizadas 48 fêmeas suínas com idade inicial de 105 dias ($66,15 \pm 0,14$ kg), recebendo dietas experimentais à base de milho e farelos de soja e trigo. Os animais foram agrupados aleatoriamente em seis tratamentos: dieta completa (T1); dieta completa sem suplemento micromineral-vitamínico (T2); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico e com fitase (T3); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T4); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico e com fitase (T5); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico e com fitase (T6). O experimento foi executado em duas etapas, sendo a primeira composta por 24 animais, restrição de 35 dias e abate aos 150 dias (106,65 kg) e, a segunda, composta por 24 animais, restrição de 60 dias e abate aos 175 dias (123,87 kg). No momento do abate foram colhidos fragmentos de fígado, rim, tireóide, paratireóide e osso metacarpiano de cada animal dos diversos tratamentos. Todos os fragmentos foram fixados em solução de formol tamponado a 10% e corados por hematoxilina e eosina. A coloração de tricrômico de Mallory foi empregada nas amostras ósseas. Ao exame histopatológico dos rins foram constatados 37 animais com nefrite intersticial (77%). À histopatologia hepática foi observado discreto infiltrado inflamatório mononuclear de distribuição predominantemente focal em 15 animais (31,25%). Os tratamentos preconizados não provocaram alterações histológicas nas glândulas paratireóide e tireóide. À microscopia dos ossos metacarpianos foi observada discreta osteocondrose em animais dos diferentes tratamentos e fases. Entretanto, durante o período experimental não foram observadas quaisquer alterações clínicas relacionadas a doenças metabólicas ósseas ou a osteocondrose. Ainda, frente aos resultados, concluiu-se que a fitase foi eficiente em disponibilizar o fósforo fítico da dieta, uma vez que não foram observadas lesões ósseas macro e microscópicas características de deficiência de fósforo.

Palavras-Chave: alterações histopatológicas, fitase, restrição de fósforo, suínos.

HISTOLOGICS AVALUATIONS OF LIVER, KIDNEY, THYROID, PARATHYROID AND METACARPIAN BONE OF FINISHING PIGS WITH MICRO MINERAL AND VITAMINS WITHDRAWAL, INORGANIC PHOSPHORUS REDUCTION AND PHYTASE SUPPLEMENTATION

ABSTRACT

The present experiment aimed to evaluate histological changes in hepatic, renal, thyroid, parathyroid and metacarpian bone tissues of pigs submitted to diets without micro minerals and vitamins, reduced inorganic phosphorus levels and phytase addition in two restriction times. Forty eight 105-days old ($66,15 \pm 0,14$ kg) female pigs were received experimental diets with corn, soybean and wheat. The animals were randomly distributed in six groups: standard diets (T1), composed of corn, soybean meal and wheat meal; standard ration without micro mineral and vitamin supplement (T2); T2 ration with phytase (T3) T2 ration reducing 1/3 of inorganic P with phytase (T4), T2 ration reduced 2/3 of inorganic P with phytase (T5) and T2 ration with complete reduction of inorganic P with phytase (T6). The experiment was carried out in two phases: Phase 1, 24 animals, 35 days of restriction and slaughter at 150 days of age (106,65 kg), and Phase 2, 24 animals, 60 days of restriction and slaughter at 175 days of age (123,87 kg). At slaughter, samples of liver, kidney, thyroid, parathyroid and metacarpian bone were collected from all animals. The samples were fixed in 10% buffered formaldehyde and stained by hematoxilin and eosin. The Mallory's trichrome stain was used in bone sections. Kidney histopathological evaluation showed interstitial nephritis in 37 animals (77%). Mononuclear inflammatory infiltrated was observed focally on liver of 15 animals (31,25%). Treatments didn't promote histopathological changes in thyroid and parathyroid glands. The metacarpian bone microscopy showed osteochondrosis in animals of different treatments and phases. However, in experimental time, clinic signs of bone metabolic disease and osteochondrosis were not verified. Phytase addition was efficient to provide phytic phosphorus in the diet, since no macro or microscopic lesions characterizing phosphorus deficiency in the bone samples were present.

Keywords: phytase, phosphorus restriction, histopathologic changes, pigs.

3.1 INTRODUÇÃO

Uma adequada nutrição é fundamental para a viabilidade econômica e ambiental na produção suinícola. Animais alimentados corretamente têm melhor desenvolvimento e excretam menos resíduos minerais em seus dejetos REESE & MILLER (2006).

A alimentação de suínos tem custos elevados, chegando a representar cerca de 70% dos gastos nesta atividade. Desta maneira, a retirada dos suplementos minerais e vitamínicos pode representar uma prática vantajosa na produção de suínos (NUNES, 2000; FURTADO, 2003; OLIVEIRA, 2006).

O fósforo, adicionado às rações, representa 1,0% a 1,5% das despesas totais com a alimentação dos suínos. Existem vários fatores que interferem na sua absorção e a quantidade aproveitada pelo animal depende do nível de fósforo na dieta, da fonte do mesmo, da relação Ca:P na dieta, do pH intestinal e de outros elementos minerais que são antagônicos à absorção e utilização de fósforo (FIGUEIREDO et al., 2001).

A adição da enzima fitase à ração permite melhor aproveitamento de nutrientes, incrementando a utilização do fósforo, dos aminoácidos e da energia e representa economia significativa no custo final da formulação das rações (REBOLLAR & MATEOS, 1999).

O fósforo é nutriente essencial em vários processos metabólicos dos animais. Sabe-se que 80% são encontrados nos ossos, que não funcionam apenas como elementos estruturais, mas também como local de estoque deste e de outros minerais, os quais para atender as necessidades do organismo podem ser mobilizados quando a ingestão é inadequada. Assim, consumindo dietas deficientes, os suínos irão mobilizar fósforo dos ossos, podendo representar risco potencial às doenças metabólicas ósseas (ENDRES & RUDE, 1998; PENZ & VIOLA, 1998).

De acordo com ENGSTRON et al. (1985), a hipofosfatemia se manifesta em suínos submetidos a dietas deficientes em fósforo em torno dos 34 a 41 dias. Com base nesta informação, alguns experimentos foram desenvolvidos para avaliar a cinética e o fluxo biológico do fósforo no organismo animal, os quais demonstraram a capacidade do organismo em promover a reabsorção de fósforo

ósseo, destinado a equilibrar o nível sérico desse mineral. (LOPES, 1998; LOPES et al., 1999, VELOSO et al., 1999; FIGUEIREDO et al., 2000; MOREIRA et al., 2004).

Contudo, MOREIRA et al. (2004) relataram menor mobilização de fósforo nos ossos que nos rins, sugerindo que estes são os locais de maior intercâmbio do fósforo com o plasma e os fluidos intersticiais. Desta forma, o tecido ósseo, apesar de ser um dos locais de maior mobilização de fósforo, apresenta valor inferior aos demais tecidos, demonstrando que as trocas entre as células ósseas com o plasma são mais lentas.

A capacidade do organismo em promover a homeostase do fósforo em períodos de até 41 dias de restrição, aliado ao curto período da fase de terminação, motivou alguns pesquisadores a avaliar a redução do fósforo inorgânico em dietas de suínos nesta fase (CROMWELL et al., 1993; HARPER et al., 1997; MAVROMICHALIS et al., 1999; FURTADO, 2003; OLIVEIRA, 2006). Estes autores demonstraram não haver alterações no desempenho, qualidade de carcaça, mineralização óssea, além de observarem redução na excreção de fósforo fecal.

No entanto, pouco se conhece sobre os efeitos destas modificações na composição das dietas para suínos junto aos diferentes tecidos orgânicos. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar possíveis alterações histológicas do fígado, rim, tireóide, paratireóide e osso, de suínos submetidos a restrições de microminerais, vitaminas e fósforo e suplementados com a enzima fitase em períodos de restrição de 35 e 60 dias.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Setor de Suinocultura do Departamento de Produção Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás, no período de agosto a outubro de 2004, sendo executado em duas etapas. A primeira composta por 24 fêmeas abatidas aos 150 dias com $106\text{kg} \pm 0,6$, de peso médio (35 dias de experimento) e a segunda composta por

24 fêmeas abatidas aos 175 dias com $123\text{kg} \pm 0,8$ de peso médio (60 dias de experimento).

Os animais foram alojados em galpão de terminação com 24 baias em alvenaria, piso compacto, dispostas em fila dupla com corredor central. Na primeira fase, 48 fêmeas suínas híginas de linhagem comercial, com 105 dias de idade e $66,15 \pm 0,14\text{kg}$ de peso médio, foram alojadas aos pares, permanecendo durante sete dias em adaptação às novas condições experimentais. Após o abate de 24 animais aos 150 dias de vida, as 24 fêmeas restantes foram alojadas individualmente até completarem 175 dias de idade.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 6×2 , testando-se os efeitos de seis tipos de dieta em duas idades distintas, com quatro repetições por tratamento e/ou idade.

As marrãs foram divididas em seis tratamentos, dieta completa, grupo controle (T1); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico (T2); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico com fitase (T3); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 1/3 de fósforo inorgânico com fitase (T4); dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico com fitase (T5) e dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 3/3 de fósforo inorgânico com fitase (T6).

As dietas experimentais foram formuladas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo com 16,7% de proteína, 3.270kcal/kg de energia metabolizável, 0,82% de cálcio, e para fósforo, 0,320, 0,320, 0,320, 0,254, 0,184, 0,115 para fósforo disponível (%) e 0,513, 0,520, 0,520, 0,455, 0,387, 0,320 para fósforo total (%) para os seis tratamentos, respectivamente. A mistura ocorreu na fábrica de ração da Escola de Veterinária da UFG, seguindo as exigências propostas por ROSTAGNO et al. (2000). O fornecimento de água e das dietas foi à vontade e o arraçoamento efetuado duas vezes ao dia, às 8h e às 17h.

A enzima fitase obtida por fermentação com fungos do grupo *Aspergillus niger* (NATUPHOS 5000®, BASF NUTRIÇÃO ANIMAL) foi incorporada às dietas experimentais na quantidade de 500UF (unidades de fitase)/kg, conforme proposto LUDKE et al. (2000).

O abate foi realizado em frigorífico com Serviço de Inspeção Federal (SIF), onde fragmentos de fígado, rim, tireóide, paratireóide e osso metacarpo

foram colhidos de cada animal dos diversos tratamentos, sendo os mesmos fixados em formol a 10% tamponado (LUNA, 1968; SANTOS & MELLO, 1986). Após fixação, os fragmentos do osso metacarpo foram descalcificados sob vácuo moderado, em ácido fórmico a 10% e tamponado com citrato de sódio em pH 4,5. Após a laminação, os cortes foram corados pela técnica de rotina com hematoxilina e eosina (HE) (LUNA, 1968; BANCROFT & STEVENS, 1996). Fragmentos selecionados foram corados pela técnica tricrômico de Mallory (BEHMER et al., 1976).

Para leitura das lâminas, foi utilizado microscópio óptico de campo claro, marca Carl Zeiss®, modelo Jenaval. O processamento histológico foi realizado no Laboratório de Histopatologia do Setor de Patologia Animal da Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.

As alterações microscópicas observadas nos rins foram classificadas de acordo com critérios descritos por CONFER & PANCIERA (1998) e JONES (2000), modificados para este estudo, conforme apresentado no Quadro 1.

| QUADRO 1 - Classificação microscópica de nefrites intersticiais | |
|---|--|
| Tipos | Descrição |
| Focal | Infiltrado inflamatório em uma única área, podendo localizar-se tanto na cortical, junção cortico-medular e medular renal |
| Multifocal | Infiltrado inflamatório em várias áreas, podendo localizar-se tanto na região cortical, a junção cortico-medular e a medular renal |
| Difusa | Infiltrado inflamatório extenso acometendo a região da cortical, junção cortico-medular, medular e pelve renal |

* Quadro modificado segundo critérios propostos por CONFER & PANCIERA (1998), JONES (2000)

Para a avaliação das lesões da placa epifisária consideraram-se as seguintes variáveis histomorfológicas: desorganização das colunas de condrócitos, fissuras verticais, estrias eosinofílicas (necrose), separação fisal e fratura vertical da cartilagem, sendo as lesões classificadas através de escore numérico em normal (0), discreta (1 a 5), moderada (5 a 10) e acentuada (> 10), considerando a soma total dos valores atribuídos a cada variável.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o período experimental não foram observadas quaisquer alterações clínicas nos animais dos diferentes tratamentos. Contudo, dentre os fragmentos de rim colhidos dos 48 animais, 37 (77%) apresentaram nefrite intersticial, sendo que destes, 20 (54%) foram de distribuição focal e 17(46%) multifocal, com discreto infiltrado predominantemente linfoplasmocitário observado em ambas as formas de nefrite (Figura 1), de acordo com os critérios descritos no Quadro1.

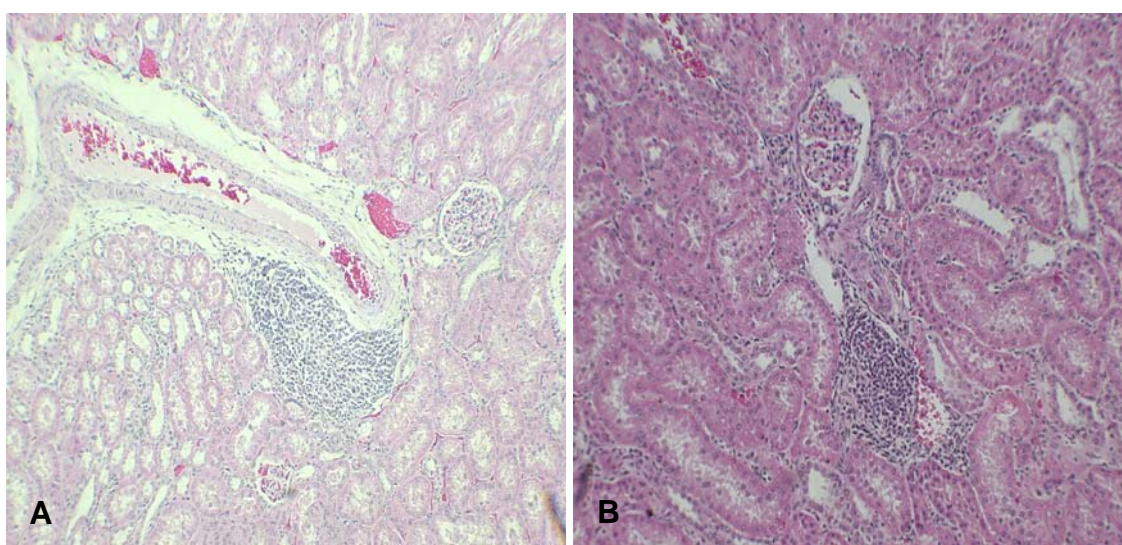


FIGURA 1- Fotomicrografias de rim suíno. A) Infiltrado inflamatório mononuclear perivascular (T1). HE, 12,5x. B) Infiltrado inflamatório mononuclear intersticial e periglomerular (T6). HE, 12,5x

A distribuição dos animais com nefrite de acordo com o tratamento e classificação histológica está apresentada na Figura 2.

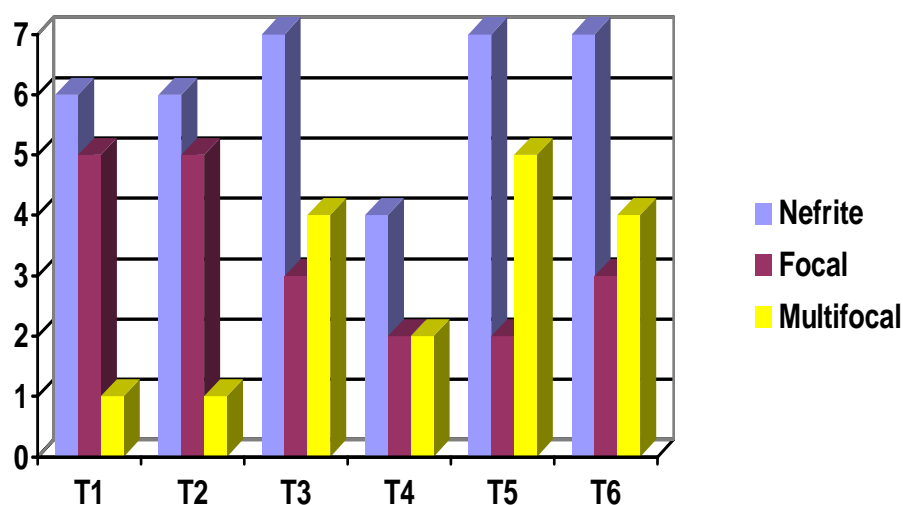


FIGURA 2 – Distribuição dos animais com nefrite de acordo com o tratamento e classificação histológica (n=37)

Vale ressaltar que não foram observadas alterações macroscópicas renais e, portanto, tais órgãos não foram condenados pelo Serviço de Inspeção Federal (SIF). Estes resultados assemelham-se aos de HINSCHING (2003) que encontrou 72% de lesões compatíveis com nefrite intersticial em rins de suínos não condenados pelo SIF. WILSON et al. (1972), NEVES (1985), FABBI et al. (1991) e DROLET et al. (2002) confirmam que a incidência de nefrite intersticial em suínos é relativamente comum. RUNNELLS et al. (1980), acrescentam que além da espécie canina que apresenta alta incidência de nefrite intersticial, as espécies mais susceptíveis são a suína e felina. Entretanto CONFER & PANCIERA (1998) afirmam que infiltrados inflamatórios renais não estão necessariamente associados à insuficiência renal, podendo ainda não determinar alterações clínicas.

Assim, os achados de nefrite intersticial discreta que foram observados na maioria dos animais dos diferentes tratamentos não estão relacionados ao uso da fitase ou à restrição micromineral-vitamínica, visto que a nefrite é um achado comum na espécie suína (WILSON et al., 1972; NEVES 1985; FABBI et al., 1991; DROLET et al., 2002). Constatou-se ainda, que a presença de discreto infiltrado inflamatório focal ou multifocal não resultou em disfunções renais, corroborando as descrições de CONFER & PANCIERA (1998).

Ao exame microscópico do fígado de 15 (31,25%) animais dos diferentes tratamentos, observou-se discreto infiltrado inflamatório mononuclear de distribuição predominantemente multifocal em 9 (60%) animais, sendo esta comumente observada na zona 1. (Figura 3).

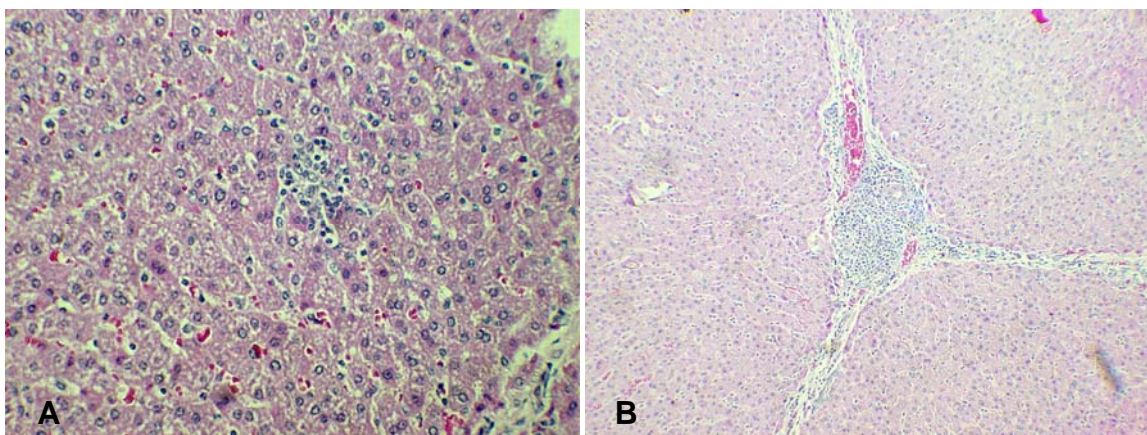


FIGURA 3 – Fotomicrografias de fígado suíno. A) Discreto infiltrado inflamatório mononuclear focal (T1). HE, 25x. B) Infiltrado inflamatório mononuclear periportal (T6). HE, 12,5x

A distribuição das lesões hepáticas entre os animais dos tratamentos preconizados e a classificação histológica estão descritas na Figura 4.

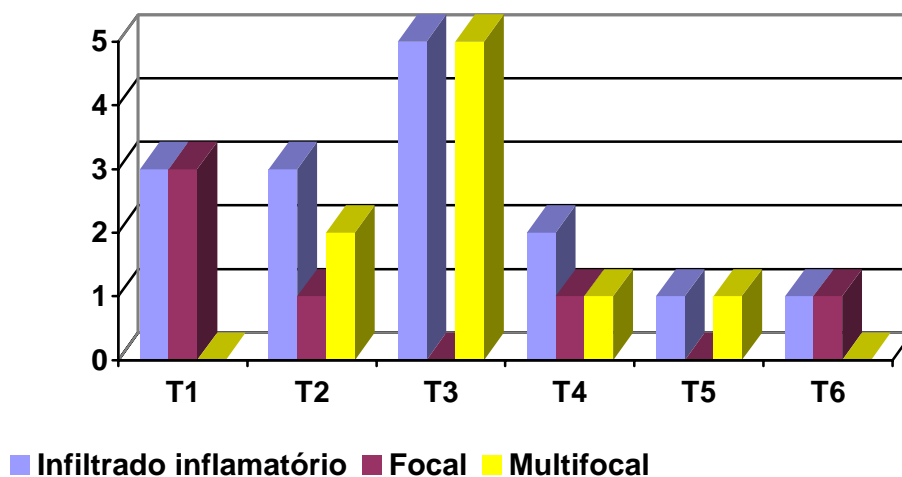


FIGURA 4 – Distribuição dos animais com infiltrado inflamatório hepático de acordo com o tratamento e classificação histológica (n=15)

De acordo com MACLACHLAN & CULLEN (1998), somente lesões que afetam grande extensão do parênquima hepático poderão produzir sinais de insuficiência, visto que lesões focais raramente comprometem quantidades

suficientes de parênquima que ultrapassem as reservas hepáticas. Neste estudo, as alterações observadas nos 15 animais estavam presentes em animais de todos os tratamentos, demonstrando que a suplementação com a enzima fitase e a restrição de fósforo, microminerais e vitaminas não interferiu de forma decisiva no órgão, à semelhança do resultado observado no exame renal acima descrito. Esta afirmação está em consonância com o observado por MATSUI et al. (2000) que demonstram que a utilização de altos níveis de fitase em rações não provocou efeito tóxico.

Durante o período experimental não foram observadas quaisquer alterações clínicas que pudessem ser relacionadas a doenças metabólicas ósseas ou a osteocondrose, como claudicação, dificuldade de locomoção ou aumento de volume das epífises ósseas. Entretanto, ao exame microscópico dos ossos metacarpianos observaram-se lesões compatíveis com osteocondrose em grau discreto em animais de todos os tratamentos nas duas idades estudadas.

Em três animais de cada idade observaram-se lesões compatíveis com osteocondrose moderada na placa epifisária do osso metacarpo, que corresponderam aos animais que receberam dieta sem suplemento micromineral-vitamínico com fitase (T3), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico com fitase (T4) e dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico com fitase (T6) aos 150 dias. Já aos 175 dias, estas alterações estiveram presentes nos animais dos grupos controle (T1), dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem 2/3 de fósforo inorgânico com fitase (T5) e dieta sem suplemento micromineral-vitamínico, sem fósforo inorgânico com fitase (T6) (Tabela 1).

TABELA 1 – Distribuição dos animais com osteocondrose na placa epifisária do osso metacarpiano de acordo com o tratamento, idade e intensidade da lesão (n=48). Goiânia, 2006.

| Intensidade | Tratamentos – 150 dias | | | | | | |
|-------------|------------------------|----|----|----|----|----|-------|
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | Total |
| Normal | 2 | 1 | - | - | - | - | 3 |
| Discreta | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 3 | 18 |
| Moderada | - | - | 1 | 1 | - | 1 | 3 |
| Acentuada | - | - | - | - | - | - | - |
| Intensidade | Tratamentos – 175 dias | | | | | | |
| | T1 | T2 | T3 | T4 | T5 | T6 | |
| Normal | 2 | - | 2 | - | - | - | 4 |
| Discreta | 1 | 4 | 2 | 4 | 3 | 3 | 17 |
| Moderada | 1 | - | - | - | 1 | 1 | 3 |
| Acentuada | - | - | - | - | - | - | - |

As alterações histopatológicas observadas na placa de crescimento resumiram-se em fraturas trabeculares metafisárias, linhas de deslocamento abrupto na placa de crescimento, estrias eosinofílicas, fissuras no interior da cartilagem, desorientação de células cartilaginosas e desorganização do padrão de crescimento cartilaginoso (Figura 5), que compreendem alterações similares às descritas por DEWEY et al. (1993), sendo características de lesões iniciais de osteocondrose em suínos jovens. Contudo, a ocorrência de osteocondrose no osso metacarpiano possivelmente não constituiu efeito direto do tratamento, mas da própria precocidade dos animais geneticamente melhorados, uma vez que a lesão foi diagnosticada em animais de todos os tratamentos, inclusive nos do grupo controle e naqueles onde não houve restrição de fósforo (T2 e T3).

Tal afirmação também tem suporte no estudo conduzido por DOIGE & WEISSBRODE (1998), os quais afirmam que padrões irregulares de ossificação endocondral são de ocorrência comum nos suínos e que a maioria passa despercebida. Segundo HILL (1985), a osteocondrose pode fazer parte do padrão usual de crescimento da cartilagem dos suínos modernos, uma vez que estas lesões são frequentemente encontradas em leitões a partir 12 dias de idade. Ainda, DEWEY, et al. (1993) encontraram 94% de lesões histológicas características de osteocondrose em suínos de abate, número próximo ao constatado neste estudo que foi de 85,4%.

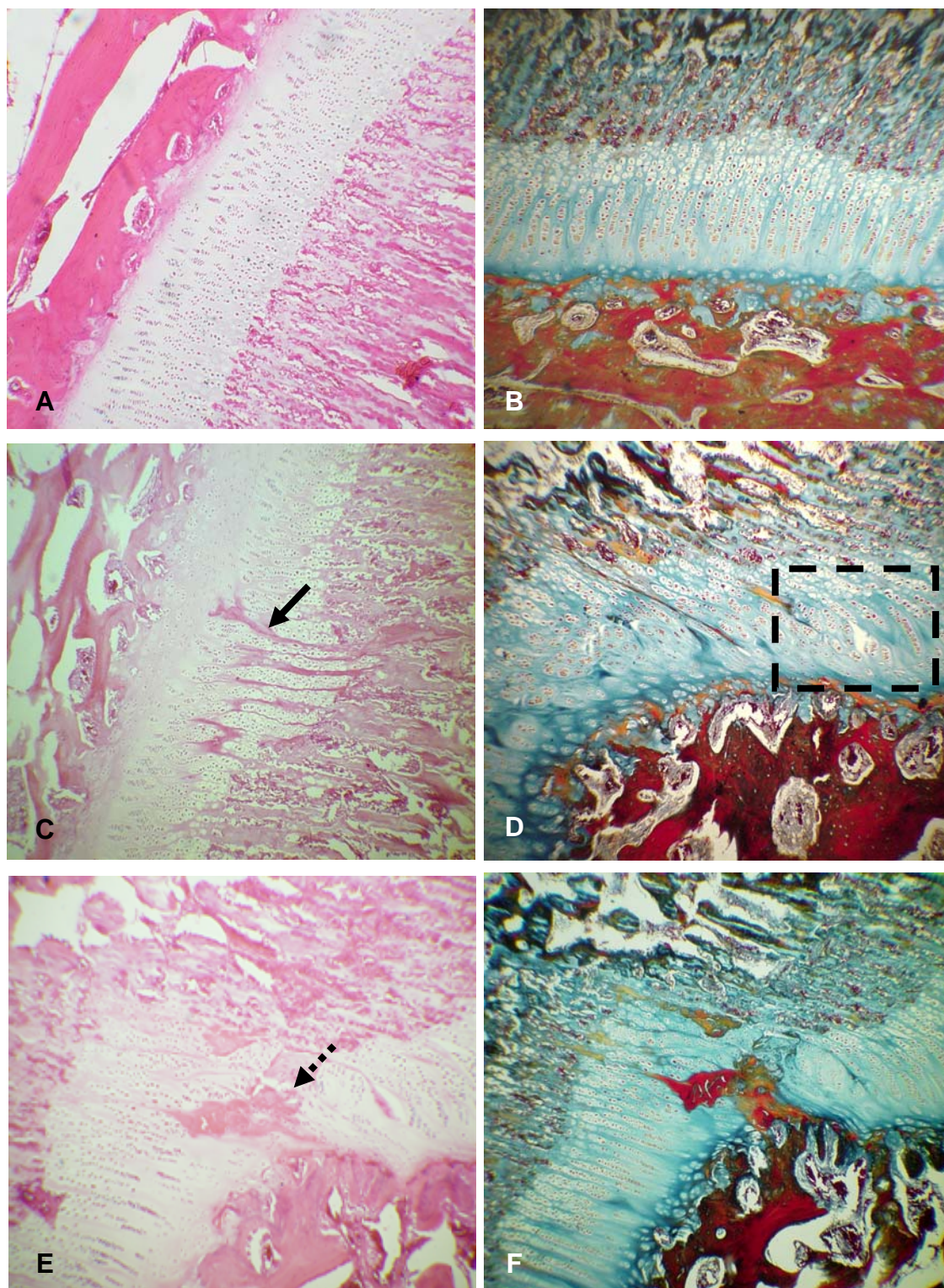


FIGURA 5 – Fotomicrografias da placa epifisária do osso metacarpo suíno. A e B) Histologia normal. C e D) Osteocondrose discreta. Observar estrias eosinofílicas (seta) e desorganização das colunas de condrócitos (campo pontilhado). E e F) Osteocondrose moderada. Notar fraturas verticais na cartilagem (seta pontilhada). HE 12,5x - Colunas à esquerda; Tricrômico de Mallory 12,5x – Colunas à direita

KÄÄNTEE (1983), em estudo de lesões microscópicas típicas de osteocondrose na cartilagem metafisária de suínos na fase de terminação, avaliou o efeito de diferentes relações Ca:P na dieta sobre o tecido ósseo encontrando osteocondrose em todos os tratamentos, porém, com menor intensidade nos animais dos grupos que receberam rações com relação Ca:P adequada, sendo tais achados semelhantes aos do presente experimento, visto que a lesão foi observada em suínos dos diferentes tratamentos, contudo, em menor intensidade e número de animais, conforme demonstrado na Tabela 1.

Apesar disso, não é possível afirmar sobre a interferência direta das dietas na gênese das lesões ósseas observadas, visto que a osteocondrose compreende uma osteocondropatia de caráter multifatorial, onde variáveis como, trauma, hereditariedade, velocidade de crescimento e isquemia devem ser consideradas no desencadeamento da doença (EKMAN & CARLSON, 1998). ORTH (1999) comenta que os avanços nas áreas da genética e nutrição durante o século XX resultaram em melhores taxas de crescimento para animais domésticos. Entretanto, um inconveniente foi o aumento da prevalência de problemas de crescimento dos ossos longos, resultando em osteocondrose.

De acordo com DEWEY (2006), o estresse mecânico sobre a cartilagem imatura causa distúrbios circulatórios na junção osteocondral, os quais contribuem para as lesões de discondroplasia nos suínos pesados. As alterações da placa de crescimento ocorrem quando esta é deslocada pelas estrias eosinofílicas ocorrendo o fechamento da placa por unidades ósseas da epífise e da metafise. Segundo YTRESHUS (2004), estudos sobre a ocorrência de osteocondrose espontânea em suínos indicam que as lesões subclínicas são caracterizadas por áreas de condronecrose associadas à não perfusão dos canais da cartilagem, e que em estudos experimentais, onde o tecido cartilaginoso foi privado de fonte vascular, as lesões induzidas foram similares às de origem espontânea. Assim, as alterações constatadas na placa epifisária dos animais deste estudo também podem ter sido estimuladas por fatores vasculares, como má perfusão, não sendo prudente atribuí-las diretamente às dietas testadas neste delineamento.

No exame histopatológico da glândula paratireóide predominou a presença de células principais claras (inativas), sendo que o tecido conjuntivo

mostrou-se preservado e não foram observados sinais de hiperplasia das células principais escuras (ativas). Esta figura histológica foi constante em todos os animais dos diferentes tratamentos, sendo a mesma representativa quanto aos padrões de normalidade para a espécie. Assim, pode-se afirmar que os tratamentos preconizados não provocaram alterações nas paratireóides. Neste estudo, a quantidade de cálcio nas dietas manteve-se constante em 0,82% para todos os tratamentos, não desencadeando quadro de hipocalcemia que é um fator primordial para ativação do paratormônio (PTH). Esta observação está de acordo com FIGUEIREDO (2001), que afirma que em dietas com fornecimento de níveis insuficientes de fósforo, para atender à demanda do animal, o organismo lança mão de mecanismos fisiológicos, visando manter o equilíbrio homeostático do fósforo na corrente sanguínea, ocorrendo aumento da enzima 1α -hidroxilase renal com conseqüente aumento na quantidade da forma ativa da vitamina D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) no plasma e no intestino. Como conseqüência, ocorrerá aumento na absorção de fósforo no trato gastrointestinal. Simultaneamente, os níveis de PTH tendem a decrescer, diminuindo a excreção e aumentando a reabsorção de fósforo inorgânico pelos túbulos renais.

RIOND et al. (2001), dosando o hormônio PTH sérico observaram queda nos valores do mesmo em suínos alimentados com dietas pobres em P, sugerindo que este fato parece estar relacionado ao aumento da vitamina D sérica, que inibe a transcrição de PTH na paratireóide. Estes autores afirmaram que o aumento nas concentrações de vitamina D e a diminuição das concentrações de PTH, em relação à baixa concentração de P são respostas que interagem para manter a homeostase do P em suínos submetidos a dietas com deficiência deste mineral.

Na Figura 6 observa-se o aspecto histológico de normalidade da glândula paratireóide, tanto de um animal do tratamento controle (T1), como de outro daquele com restrição de 100% de fósforo e adição de fitase (T6), corroborando que a inclusão da fitase na dieta e a supressão de fósforo inorgânico não interferiram na morfologia da glândula, ao menos no espaço temporal estudado.

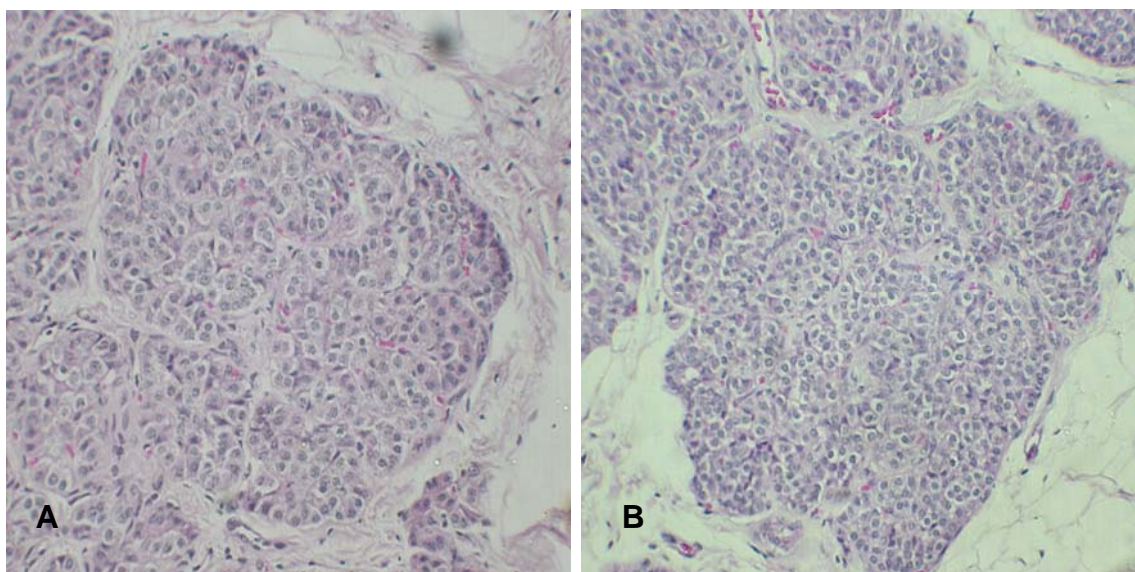


FIGURA 6 – Fotomicrografias da glândula paratireóide de suíno. A e B) Aspecto histológico normal em T1 e T6, respectivamente. HE, 12,5x

Ao exame histológico da glândula tireóide nos diferentes tratamentos do presente estudo observou-se tecido glandular com padrões estruturais normais, onde, as células parafoliculares ou células C, produtoras de calcitonina, estavam localizadas no tecido intersticial entre os folículos tireoidianos, ou ocasionalmente agrupadas na parede folicular, bem como nos espaços intersticiais, representando 0,1% do volume da tireóide, a semelhança do que descreve BANKS (1992).

Neste experimento não foram observados sinais de hiperplasia das células parafoliculares (Figura 6). A população destas células foi semelhante nos animais de todos os tratamentos, confirmando que os diferentes tratamentos não ocasionaram alterações nesta glândula, e sugerindo que a deficiência de fósforo provavelmente não foi elevada o suficiente para desencadear reabsorção óssea e provocar hipercalcemia, situação necessária para desencadear a ativação da calcitonina. Segundo CAPEN (1998) e EKLOU-KALONJI et al. (1999), a concentração de íons cálcio no sangue é o principal estímulo fisiológico para secreção deste hormônio pelas células parafoliculares, sendo que a hiperplasia destas células ocorre em resposta a hipercalcemia de longa duração. A Figura 6 mostra o padrão de normalidade histológica da glândula tireóide do tratamento controle (T1) e do tratamento com restrição de 100% de fósforo e adição de fitase (T6).

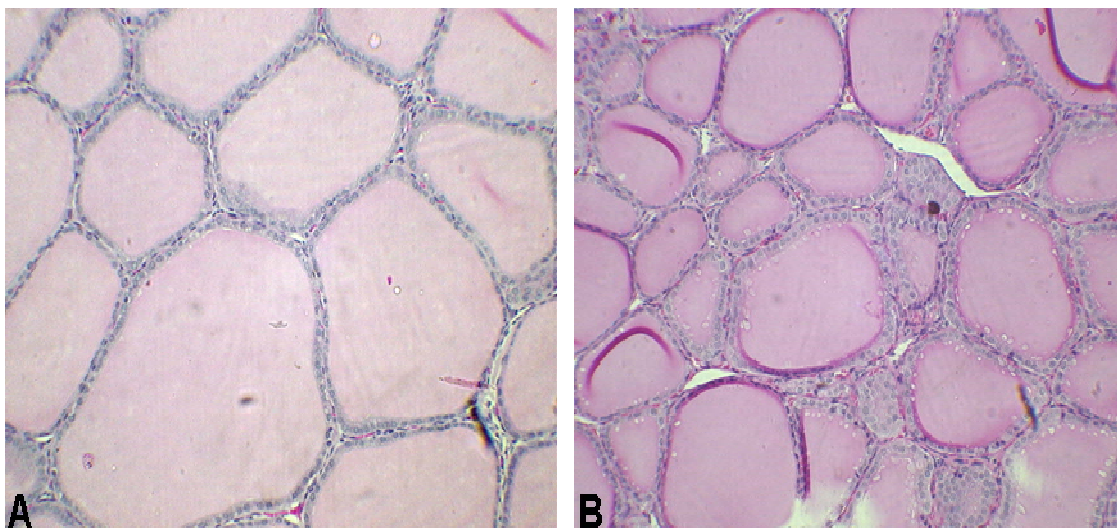


FIGURA 7 – Fotomicrografias da glândula tireóide de suíno. A e B) Aspecto histológico normal em T1 e T6, respectivamente. HE, 12,5x

3.4 CONCLUSÕES

Lesões microscópicas de caráter inflamatório observadas no fígado e rins não estão relacionadas ao uso da fitase, sendo de ocorrência comum em suínos de abate.

As alterações microscópicas características de osteocondrose na placa epifisária nos animais deste estudo possivelmente não estão diretamente relacionadas às dietas restritivas.

Os tratamentos preconizados não provocaram alterações histológicas nas glândulas paratireóide e tireóide.

3.5 REFERÊNCIAS

1. BANCROFT, D. J., STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques**. 4.ed., Toronto: Churchill Livingstone, 1996. 776p.
2. BANKS, W. J. **Histologia veterinária**. 2.ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1992. 629p.
3. BEHMER, O, A., TOLOSA, E, M., FREITAS NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: EDART-Universidade de São Paulo. 1976. 257p.

4. CAPEN, C.C. Sistema Endócrino. In: CARLTON, W. W., MC GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thonson**. 2.ed. Porto Alegre. ArtMed, 1998. cap.2, p 95-131.
5. CONFER, W.A.; PANCIERA, R. J. Sistema Urinário. In: CARLTON, W. W., MC GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thonson**. 2.ed. Porto Alegre. ArtMed, 1998. Cap.5, p.228-265.
6. CROMWELL, G. L.; STAHLY, T, S.; COFFEY, R. D.; MONEGUE, H. J.; RANDOLPH, J.H. Efficacy of phytase in improving the bioavailability of phosphorus in soybean meal and corn-soybean meal diets for pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.71, p.1831-1840, 1993.
7. DEWEY, C. E. Disease of the nervous and locomotor systems.Cap.5, In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J. J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D. J. p.86 - 95. **Disease of swine**. 9.ed, 2006, Ames: Blackwell Publishing, 1153p.
8. DEWEY, C.E., FRIENDSHIP, R.M., WILSON, M.R. Clinical and postmortem examination of sows culled for lameness. **Canadian Veterinary Journal**, Ottawa, v.34, p.555-556,1993.
9. DOIGE, C. E, WEISSBRODE, S. E. Doenças dos ossos e das articulações. In: CARLTON, W. W., MC GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thonson**. 2. ed. Porto Alegre: ArtMed, 1998. p. 474-485.
10. DROLET, R., D'ALLAIRE, S., LAROCHELLE, R., MAGAR, R., RIBOTTA, M., HIGGINS, R. Infectious agents identified in pigs with multifocal interstitial nephritis at slaughter. **Veterinary Record**, v.5, n.150, p.139 - 143, 2002.
11. EKLOU-KALONJI, E.; ZERATH, E.; COLIN, C.; LACROIX, C.; HOLY, X.; DENIS, I.; POINTILLART, A. Calcium- regulating hormones, bone mineral content, breaking load and trabecular remodeling are altered in growing pigs fed calcium-deficient diets. **American Society for Nutritional Science**, Bethesda, v.10, p.188-93, 1999.
12. EKMAN, S, CARLSON, C. S. The pathophysiology of osteochondrosis. **Veterinary Clinics North Am: Small Animal Practics**, v.28, n.1, p.17-32, 1998.
13. ENDRES, D. B.; RUDE, R. K. Metabolismo mineral e ósseo. In: BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. **Fundamentos de química clínica**. 4.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. cap.31, p 523-551.
14. ENGSTRON, G. W.; HORST, R. L.; REINHART, T. A. Effect of dietary phosphorus levels on porcine renal 25-hydroxyvitamin D-1 and 24R-hidroxilase activities and plasma 1,25-dihydroxivitamin D₃ concentration. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.60, p.1005-1011, 1985.

15. FABBI, M., PIZZOCARO, P., LUINI, M., SCANZIANI, E. Isolation of leptospire from slaughter pigs with chronic interstitial nephritis. **Selezione Veterinária**, v.32, n.1, p.227-235, 1991.
16. FIGUEIREDO, A. V.; FIALHO, E. T.; VITTI, D. M. S. S.; LOPES, J. B.; SILVA FILHO, J. C.; TEIXEIRA, A. S.; LIMA, J. A. F. Ação da fitase sobre a disponibilidade biológica do fósforo, por meio da técnica da diluição isotópica, em dietas com farelo de arroz integral para suínos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.1, p.177-182, 2000.
17. FIGUEIREDO, A. V.; VITTI, D.M. S. S.; LOPES, J. B.; BARBOSA, H. P. Disponibilidade biológica do fósforo de fontes fosfatadas determinadas por intermédio da técnica de diluição isotópica. II. Suínos em crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.30, n.5, p.1514-1520, 2001.
18. FURTADO, C. C. V. **Avaliação dos efeitos da retirada dos suplementos micromineral – vitamínico associados à redução de fósforo inorgânico em rações de suínos na fase de terminação**. Goiânia, 2003. 50 f. Dissertação (mestrado em Zootecnia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
19. HARPER, A. F.; KORNEGAY, E. T.; SCHELL, T. C. Phytase supplementation of low – phosphorus growing – finishing pig diets improves performance, phosphorus digestibility, and bone mineralization and reduces phosphorus excretion. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.75, p.3174-3186, 1997.
20. HILL, M. A. Dyschondroplasias of growth cartilages (osteochondrosis) in crossbred commercial pigs at one and 15 days of age: Radiological, angiomicrographical and histological findings. **Veterinary Record**, v.12, p.40-46, 1985.
21. HINSCHING, C. **Estudo anatomopatológico de rins de suínos na fase de terminação abatidos em frigoríficos industriais sob inspeção federal no estado de Goiás**. Goiânia, 2003, 53f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Goiás.
22. JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2000. 1415p.
23. KAAANTEE, E. Effects of Ca and P levels in the feed on serum calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, hydroxyproline and 25-hydroxycholecalciferol levels, and on the ash content of the third metacarpal bone in pigs. **Nord Veterinary Medicine**, Helsinki v.35, n.7-9, p.237-286, 1983.
24. LOPES, J. B. **Avaliação da absorção real e das perdas endógenas de fósforo para suínos pela técnica da diluição isotópica**. 1998. 87f. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura (CENA) da Universidade de São Paulo, Piracicaba.

25. LOPES, J. B.; MOREIRA, J. A.; TRINDADE NETO, M. A.; VITTI, D. M. S. S. Cinética do fósforo em tecidos de suínos alimentados com dietas contendo diferentes níveis da enzima fitase. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 38, 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: SBZ, 2001. p.717-719.
26. LOPES, J. B.; VITTI, D. M. S. S.; FIGUEIREDO, A. V.; BARBOSA, H. P. Absorção real, perdas endógenas e exigência de fósforo para suínos em final de crescimento, pela técnica da diluição isotópica. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v.51, n.49, p.1999.
27. LUDKE, M. C. M. M.; LOPES, J.; NICOLAIEWSKY, S. Efeito da fitase em dietas com ou sem fósforo inorgânico para suínos em fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, n.2, p.485-494, 2000.
28. LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology**. 3.ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258p.
29. MACLACHLAN, N.J.; CULLEN, J, M. Fígado sistema biliar e pâncreas exócrino In: CARLTON, W. W., MC GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thonson**. 2.ed. Porto Alegre. ArtMed, 1998. Cap.2, p.95-131.
30. MATSUI, T.; NAKAGAWA, Y.; TAMURA, A.; WATANABE, C.; FUJITA, K; NAKAJIMA, T.; YANO H. Efficacy of yeast phytase in improving phosphorus bioavailability in a corn-soybean meal based diet for growing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.78, n.1, p.94-99, 2000.
31. MAVROMICHALIS, I.; HANCOCK, J.D.; KIM, I.H.; SENNE, B.W.; KROPF, D.H.; KENNEDY, G.A.; HINES, R.H.; BEHNKE, K.C. Effects of omitting vitamin and trace mineral premixes and (or) reducing inorganic phosphorus additions on growth performance, carcass characteristics, and muscle quality in finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v.77, p.2700-2708, 1999.
32. MOREIRA, J. A.; VITTI, D. M. S. S.; LOPES, J. B.; TRINDADE NETO, M. A. Cinética do fósforo em tecidos de suínos alimentados com dietas contendo enzima fitase. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 1, p.9-3. 2004.
33. NEVES, D. S. **Patologia renal de suínos abatidos para consumo**. Belo Horizonte, 1985, 69f. Dissertação (Mestrado). Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais.
34. NUNES, R. C. **Efeitos da retirada dos suplementos micromineral e/ou vitamínico da ração de suínos em terminação**. 2000. 67f. Tese (Doutorado em Produção Animal) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.
35. OLIVEIRA, A.P.A. **Desempenho e avaliação da carcaça de suínos em terminação recebendo ração com fitase associada à retirada de microminerais, vitaminas e fósforo inorgânico**. 2006. 56f. Dissertação

- (mestrado em Zootecnia) Escola de Veterinária, Universidade Federal de Goiás, Goiânia.
36. ORTH, M. W. The regulation of growth plate cartilage turnover. **Journal Animal Science**, Champaign, v.77, n.2, p.183-189, 1999.
 37. PENZ Jr., A. M.; VIOLA, E. S. Nutrição. In: SOBESTIANSKY, J; WENTZ, I; SILVEIRA, P. R. S. da; SESTI, L.A. (Ed.) **Suinocultura Intensiva: produção e saúde do rebanho**. Brasília: EMBRAPA, Sistema de Produção de Informação-SPI, 1998. p.45-63
 38. REBOLLAR, P. G.; MATEOS, G. G. El fósforo en nutrición animal. Necesidades, valoración de materias primas y mejora de la disponibilidad. In: CURSO DE ESPECIALIZACIÓN FEDNA. AVANCES EN NUTRICIÓN Y ALIMENTACIÓN ANIMAL, 15, 1999, Madrid. **Anais eletrônicos...** [on line], 1999. p. 19-64. Disponível em: <http://www.etsia.upm.es/fedna/publi.htm>. Acesso em: 09 jan. 2006.
 39. REESE & MILLER. Nutrient deficiencies and excesses. Cap.57. In: STRAW, B. E.; ZIMMERMAN, J.J.; D'ALLAIRE, S.; TAYLOR, D, J. p.931-943. **Disease of swine**, 9.ed. 2006, Ames: Blackwell Publishing, 1153p.
 40. RIOND, J. L.; WARNER, M.; COSTE, H.; PARVU, G. Pathophysiological effects of low dietary phosphorus in pigs. **The Veterinary Journal**, n.161, p.165-73, 2001.
 41. ROSTAGNO, H. S.; ALBINO, L. F. T.; DONZELE, J. L.; GOMES, P. C.; FERREIRA, A. S.; OLIVEIRA, R. F.; LOPES, D. C. **Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos** (Tabelas brasileiras). 2 ed. Viçosa:UFV – Imp. Univ., 2000. 61p.
 42. RUNNELLS, R. A., MONLUX, W. S., MONLUX, A. A.W. **Princípios de patologia veterinária**. 7.ed., México : Continental, 1980. 862p.
 43. SANTOS, J. A., MELLO, M. R. **Diagnóstico médico veterinário** (colheita de material). 7.ed. São Paulo: Nobel, 1986. 190p.
 44. VELOSO, J. A. F.; MEDEIROS, S. L. S. Avaliação nutricional do fósforo disponível de quatro fontes de fósforo para suínos em fase de terminação. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 51, n. 5, p.12-16, 1999.
 45. WILSON, D. A., HARVEY, D. C., SNOOK, C. D. A biochemical and pathological study of kidney diseases in slaughtered pigs. **British Veterinary Journal**, London, v.10, n.128, p.512-22, 1972.
 46. WOODARD, J. C. Sistema esquelético. In: JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. São Paulo: Manole, 2000. p.913-961.

47. YTRESHUS, B. **Osteochondrosis - a morphological study of aetiology and pathogenesis.** 2004, 101f. Tese (Doutorado em medicina veterinária)
- The Norwegian School of Veterinary Science. Oslo.

CAPÍTULO 4 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nos últimos anos a enzima fitase tem se destacado como um dos aditivos mais pesquisados, especialmente por favorecer a utilização de nutrientes pelos animais, melhorando a eficiência e proporcionando melhor desempenho, além de reduzir custo de produção e a poluição ambiental. Além disso, o fornecimento de quantidades adequadas de nutrientes nas dietas para suínos também é importante na medida em que proporcione limitação do uso de matérias primas procedentes de fontes não renováveis, maior lucratividade ao produtor e preço acessível ao consumidor final, sem interferência negativa na qualidade do produto. Neste contexto, a inclusão de fitase nas dietas para suínos pode representar especial contribuição.

De posse dos resultados obtidos com este experimento, foi possível estabelecer que:

- 1) A redução do fósforo inorgânico em dietas suplementadas com fitase não interferiu no metabolismo ósseo de suínos em terminação. Os valores encontrados para o fósforo e cálcio séricos, bem como, para fosfatase alcalina (ALP) mantiveram-se dentro do intervalo de normalidade para a espécie e idade nos dois períodos de restrição estudados. Este fato pode ser confirmado pela ausência de lesões macroscópicas e microscópicas características de deficiência de fósforo.
- 2) As alterações microscópicas sugestivas de osteocondrose na placa epifisária nos animais deste estudo não podem ser atribuídas às dietas restritivas, mas a própria precocidade da espécie já que a osteocondrose faz parte do padrão normal de crescimento da cartilagem dos suínos modernos.
- 3) A restrição de microminerais-vitaminas por 60 dias na fase de terminação não provocou alterações clínicas nos animais, não foi observada interferência positiva da fitase com relação à retirada de microminerais e vitaminas.

4) A retirada do suplemento micromineral-vitamínico e a redução progressiva do fósforo inorgânico em dietas suplementadas com fitase não provocou alterações nas provas de função hepática e renal. As lesões microscópicas de caráter inflamatório discreto, observadas no fígado e rins não estão relacionadas ao uso da fitase, mas de ocorrência esperada em suínos ao abate.

5) A suplementação com a enzima fitase ao nível de 500 FU/kg em dietas formuladas à base de milho, farelo de soja e farelo de trigo para suínos em terminação mostrou-se eficiente na disponibilização do P fítico mesmo com 60 dias de restrição total de fósforo inorgânico.

6) Os resultados obtidos no presente trabalho são suficientes para sugerir a inclusão de fitase em dietas com restrição de fósforo inorgânico para suínos em fase de terminação, embora indique que estudos complementares a campo deverão ser implementados para uma maior acurácia de resultados.

7) Frente aos resultados deste estudo é possível inferir que organismo suíno tem capacidade de adaptar-se a situações de restrição de nutrientes. Constata-se ainda, que para determinar proporções ideais quanto a retirada de microminerais, vitaminas e o fósforo inorgânico na fase de terminação, deve ser realizada associação entre os resultados aqui obtidos e os dados de desempenho, qualidade da carne e avaliação econômica, para uma inferência segura e responsável.