

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

UTILIZAÇÃO DE VITAMINA D E SEUS METABÓLITOS  
NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Autor: Ana Flávia Quiles Marques Garcia  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Alice Eiko Murakami  
Coorientadora: Dr<sup>ª</sup>. Cristiane Regina do Amaral Duarte

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril – 2012

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

UTILIZAÇÃO DE VITAMINA D E SEUS METABÓLITOS  
NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE

Autor: Ana Flávia Quiles Marques Garcia  
Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Alice Eiko Murakami  
Coorientadora: Dr<sup>ª</sup>. Cristiane Regina do Amaral Duarte

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

MARINGÁ  
Estado do Paraná  
Abril – 2012

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

G216u Garcia, Ana Flávia Quiles Marques  
Utilização de vitamina D e seus metabólitos na  
alimentação de frangos de corte. / Ana Flávia Quiles  
Marques Garcia. -- Maringá, 2012.  
59 f. : il, figs., tabs.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Alice Eiko Murakami.  
Coorientadora: Prof.<sup>a</sup>Dra.<sup>a</sup> Cristiane Regina do  
Amaral Duarte.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Departamento  
de Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia, 2012.

1. Colecalciferol. 2. Qualidade de carne. 3.  
Resistência óssea. 4. Sistema imune. I. Murakami,  
Alice Eiko, orient. II. Duarte, Cristiane Regina do  
Amaral, coorient. III. Universidade Estadual de  
Maringá. Centro de Ciências Agrárias. Departamento  
de Zootecnia. Programa de Pós-Graduação em  
Zootecnia. IV. Título.

CDD 21.ed. 636.5085  
AHS-000902



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**UTILIZAÇÃO DA VITAMINA D E SEUS METABÓLITOS  
NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE**

Autora: Ana Flávia Quiles Marques Garcia  
Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Alice Eiko Murakami

TITULAÇÃO: Mestre em Zootecnia - Área de Concentração Produção  
Animal

APROVADA em 05 de abril de 2012.

Prof. Dr. Luís Daniel  
Giusti Bruno

Dr<sup>a</sup> Cristiane Regina do  
Amaral Duarte

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Alice Eiko Murakami  
(Orientadora)

*Muitas vezes as pessoas são egocêntricas, ilógicas e insensatas.*

*Perdoe-as assim mesmo.*

*Se você é gentil, as pessoas podem acusá-lo de egoísta, interesseiro.*

*Seja gentil, assim mesmo.*

*Se você é um vencedor, terá alguns falsos amigos e alguns inimigos verdadeiros.*

*Vença assim mesmo.*

*Se você é honesto e franco as pessoas podem enganá-lo.*

*Seja honesto assim mesmo.*

*O que você levou anos para construir, alguém pode destruir de uma hora para outra.*

*Construa assim mesmo.*

*Se você tem Paz, é Feliz, as pessoas podem sentir inveja.*

*Seja Feliz assim mesmo.*

*Dê ao mundo o melhor de você, mas isso pode nunca ser o bastante.*

*Dê o melhor de você assim mesmo.*

*Veja você que no final das contas, é entre você e Deus.*

*Nunca foi entre você e as outras pessoas.*

***Madre Tereza de Calcutá***

Ao meu pai, Fábio Marques Garcia, à minha mãe, Gracecleia Quiles Marques Garcia, meus irmãos Fábio Marques Garcia Junior e Daniele Quiles Marques Garcia e ao meu noivo, Rafael Lachinski de Holanda Guerra, que me apoiaram e deram forças para que eu superasse as dificuldades.

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus, nosso pai, por me abençoar e dar forças nos momentos mais difíceis.

À Universidade Estadual de Maringá, em especial ao Programa de Pós-graduação em Zootecnia, por ter possibilitado a minha formação acadêmica, e o desenvolvimento deste projeto de pesquisa.

Meus agradecimentos ao CNPq, pelo fornecimento da bolsa de estudos durante o período de realização deste Mestrado.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Alice Eiko Murakami, pela orientação, incentivo e exemplo de dedicação.

Aos demais Professores do Departamento de Zootecnia da Universidade Estadual de Maringá, pelo aprendizado e amizade durante o Curso, em especial ao Professor Dr. Antônio Cláudio Furlan, Professor Dr. Ivan Moreira, Professora Dra Tatiana Carlesso dos Santos.

À minha coorientadora e amiga, Cristiane Regina do Amaral Duarte, pela amizade, por todo o aprendizado, apoio, e “solução de problemas”.

Aos funcionários técnicos e administrativos do Departamento de Zootecnia, pela colaboração.

À Professora Dr<sup>a</sup>. Simara Márcia Marcato, pela ajuda, prestabilidade e amizade.

Aos alunos de graduação e pós-graduação, integrantes do grupo de pesquisa em Avicultura da UEM e demais amigos, que de forma direta e indiretamente contribuíram para a elaboração deste trabalho, em especial à Alexandra Potença, Andressa Aparecida Pericato, Cinthia Eyng, Fábio Henrique Ono, Fernando José Urgnani, Jamile Corina Fanhani, Karla Marielli, Karla Paola Picoli, Karoline Stuewe de Mello, Mariana Fátima Zanon Ferreira, Camila Dias Blasques, Bianca Mascarin, Caio Vitaliano, Ana Paula Vitoriano, Ivan Camilo Ospina Rojas, Catarina Stefanelo, Maíra Mangili Puzotti, Mayra Diaz Vargas, Guilherme Rodrigues do Nascimento.

Aos funcionários, alunos e professores do Laboratório de Imunologia, em especial a mestranda Tatiane França Perles, a Doutora Raíssa Bocchi Pedroso e a Professora Dra Tháís Gomes Verzignassi Silveira, por todo o auxílio, apoio, conversas e paciência.

Aos funcionários da Fazenda Experimental de Iguatemi, em especial aos senhores: Antônio Silvério Sobrinho e Mauro dos Santos.

Enfim, todo este trabalho só foi possível com a participação de toda a equipe, desde a elaboração, montagem e condução do experimento, desde já agradeço a todos aqueles que de uma forma ou de outra fizeram este trabalho acontecer.

Aos meus pais, Fábio Marques Garcia e Gracecleia Quiles Marques Garcia, pelo exemplo de vida, pelos conselhos, pelo amor, apoio, confiança e por acreditarem em meu potencial. Ao meu noivo Rafael Lachinski de Holanda Guerra, por todo apoio, aprendizado e carinho dedicado.



## **BIOGRAFIA**

Ana Flávia Quiles Marques Garcia, filha de Fábio Marques Garcia e Gracecleia Quiles Marques Garcia, nasceu em Marília, São Paulo, no dia 24 de fevereiro de 1987.

Em Janeiro de 2009, concluiu o Curso de Zootecnia pela Universidade Estadual de Maringá.

Em março de 2010, iniciou no Curso de Pós-graduação em Zootecnia, em nível de Mestrado, área de concentração: Produção Animal, na Universidade Estadual de Maringá, realizando estudos na área de Nutrição de Aves.

No dia 05 de abril de 2012, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

## SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
I. INTRODUÇÃO .....	1
Revisão bibliográfica: .....	2
LITERATURA CITADA .....	16
II. OBJETIVOS GERAIS.....	21
Objetivos específicos .....	21
III. UTILIZAÇÃO DA VITAMINA D3 E SEUS METABÓLITOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE SOBRE DESEMPENHO, PARAMETROS ÓSSEOS E QUALIDADE DA CARNE .....	22
Introdução .....	24
Material e Métodos .....	25
Resultados e Discussão .....	29
Conclusão.....	36
Literatura Citada .....	37
IV. UTILIZAÇÃO DA VITAMINA D3 E SEUS METABÓLITOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE SOBRE PARAMETROS IMUNOLÓGICOS E MORFOMETRIA INTESTINAL .....	40
Introdução .....	42
Material e Métodos .....	43
Resultados e Discussão .....	48
Conclusões .....	54
Literatura Citada .....	55
V. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	58

## RESUMO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da suplementação de diferentes metabólitos de vitamina D na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, parâmetros ósseos, qualidade de carne, resposta imune e morfometria intestinal. Foram utilizados 952 pintos de corte de um dia de idade em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, sete repetições e 34 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por quatro diferentes fontes de vitamina D:  $D_3$ ,  $25(OH)D_3$ ,  $1,25(OH)_2D_3$ , e  $1\alpha(OH)D_3$ . As diferentes fontes de vitamina D foram incluídas na dieta fornecendo 2000 e 1600 UI de vitamina D nas fases pré-inicial, inicial e crescimento, respectivamente. O peso médio, a conversão alimentar e o ganho de peso durante todos os períodos de criação foram piores nos animais alimentados com  $1\alpha(OH)D_3$  quando comparados aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ). Para diâmetro ósseo, resistência óssea, índice de seador, cinzas, cálcio e fósforo nos ossos não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. A coloração da carne diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos. Todos os metabólitos utilizados nas dietas, com exceção do  $1\alpha(OH)D_3$  apresentaram bom desempenho e qualidade dos ossos, no entanto influenciaram alguns aspectos da qualidade de carne. O peso do intestino diferiu entre os tratamentos aos 7, 21 e 42 dias e o peso do fígado somente aos 42 dias de idade. Os demais órgãos e parâmetros imunológicos avaliados (peso dos órgãos linfoides, reação de hipersensibilidade cutânea basofílica,

avaliação da atividade de macrófagos, dosagem de óxido nítrico e perfil eritrócito: leucócito) foram similares entre os animais alimentados com os diferentes metabólitos. Houve efeito ( $P < 0,05$ ) dos diferentes metabólitos da vitamina  $D_3$  sobre o comprimento dos vilos de jejuno e íleo aos sete dias, diferindo entre os animais alimentados com  $1,25(OH)_2D_3$  e  $1\alpha(OH)D_3$  para jejuno e  $1,25(OH)_2D_3$  e vitamina  $D_3$  para íleo ( $p < 0,05$ ). As diferentes fontes de vitamina D afetaram a morfometria intestinal na fase inicial, porém o efeito não foi observado nas demais fases. Como conclusão, todos os metabólitos utilizados nas dietas, com exceção do  $1\alpha(OH)D_3$  apresentaram desempenho e qualidade dos ossos similares. No entanto, a coloração da carne diferiu entre os animais alimentados com os diferentes metabólitos de vitamina  $D_3$  e a morfometria intestinal sendo os melhores resultados obtido pelos animais alimentados com  $1,25(OH)_2D_3$ , contudo os parâmetros imunológicos foram similares entre os diferentes metabólitos de vitamina D.

**Palavras-chave:** colecalciferol, qualidade de carne, resistência óssea, sistema imune

## ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of different vitamin D metabolites on performance, bone quality characteristics, meat quality, immune response and intestine morphometrics of broiler chickens. There were used 952 1-d-old chicks, male Cobb, distributed in a completely randomized design with four treatments, seven replications and 34 birds each. The treatments consisted in four different metabolites of vitamin D: D<sub>3</sub>, 25(OH) D<sub>3</sub>, 1.25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>, providing 2000 and 1600 IU/kg feed of vitamin D in initial and growth period, respectively. The average weight, feed conversion and weight gain during the role period of production were worse in animals fed with 1 $\alpha$  (OH) D<sub>3</sub> when compared to other treatments ( $p < 0.05$ ). For bone diameters, bone resistance, seedor index, ash, calcium and phosphorus in the bone were not observed differences ( $p > 0.05$ ) between treatments. The meat color were different between treatments ( $p < 0.05$ ), but did not affect the meat quality. All metabolites of vitamin D used in diets, except 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>, showed a good performance and bone quality, but influenced aspects of meat quality. The intestine weight differed between the treatments in 7, 21 and 42 days and the liver at 42 days of age. The other organs and immunological parameters (lymphoid organs, cutaneous basophil hypersensitivity reaction, macrophage activity assessment, measurement of nitric oxide and erythrocyte profile: leukocytes) were similar between the different metabolites. There was a significant effect ( $p < 0.05$ ) of the vitamin D<sub>3</sub> different metabolites on the villi length in jejunum and ileum at 7 days, between animals fed with 1.25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub> to the jejunum and 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and vitamin D<sub>3</sub> to the ileum ( $p < 0.05$ ). The different sources of vitamin D affect the intestine morphometrics in the initial phase, but the effect was not observed in other phases. In conclusion, all of the metabolites, except 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>, showed a good performance and similar bone quality, however the meat

color and intestinal morphometry differed between the different metabolites of vitamin D<sub>3</sub> with the best results for the treatment 1.25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, although, the immunological parameters was similar between the different metabolites of vitamin D<sub>3</sub>.

**Key words:** bone resistance, cholecalciferol, meat quality, imune system

## I. INTRODUÇÃO

A produção, consumo nacional e as exportações de carne de frangos de corte têm apresentado um crescimento acelerado nos últimos anos, que está associado ao preço acessível da carne de frango e a alta qualidade nutricional desta. Porém, com o aumento da demanda de carne de frango, o melhoramento genético no intuito de maior produção de carne acarretou em problemas locomotores e do sistema imune, visto que o desenvolvimento ósseo não acompanhou o maior ganho de peso dos animais. Assim, atualmente há uma grande preocupação com esses problemas considerando que podem interferir no desempenho e ocasionar condenação de carcaça.

Com o intuito de evitar perdas no setor avícola, pesquisadores têm buscado alternativas nutricionais, dentre elas, encontra-se a vitamina D<sub>3</sub> e seus metabólitos em virtude de sua importante atividade biológica no organismo. Destaca-se a participação na regulação da homeostase de cálcio e fósforo em um mecanismo no qual aumenta a captação intestinal destes, diminuindo as perdas renais e ainda estimulando a reabsorção óssea. Isso ocorre, porque a vitamina D controla os níveis de cálcio e fósforo promovendo a mineralização óssea, de maneira que a ausência de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> diminui a absorção de cálcio no intestino, ossos e túbulos renais (McDowell, 1989). Além disso, também pode atuar no sistema imunológico dos animais através da regulação e diferenciação de células como linfócitos, macrófagos e células *natural killer* (Dantas et al., 2009). Atua no processo de *rigor mortis*, importante para a qualidade da carne

através de seu metabolismo relacionado a utilização de cálcio, influenciando a ação das calpains e proteases nos músculos (Montgomery et al., 2000) e no desenvolvimento da mucosa intestinal (Shinki et al., 1985). Esses fatores conseqüentemente podem refletir em maior desempenho dos animais.

A vitamina D é formada pela ação da radiação ultravioleta sobre os esteroides ergosteróis e 7 dehidrocolesterol (Barros, 2010), ou é fornecida na dieta, podendo ser encontrada das seguintes formas: ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>) e colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>), com suas estruturas diferindo apenas quanto ao tamanho das cadeias.

A absorção da vitamina D pela mucosa intestinal ocorre, principalmente, na porção final do duodeno juntamente com lipídios e outros compostos lipossolúveis, pela ação de ácidos, sais biliares e das lipases (Brito, 2008). É incorporada aos quilomicrons, os quais se encaminham via linfática ao fígado, em que é metabolicamente ativada, através da primeira hidroxilação, formando a 25-hidroxicolecalciferol ou 25(OH)D<sub>3</sub>, que é a forma predominante da vitamina D no plasma, uma importante forma de armazenamento da vitamina D. O 25(OH)D<sub>3</sub>, posteriormente é hidroxilado nos rim, na posição 1 por uma enzima denominada 1- $\alpha$ -hidroxilase específica, formando 1,25-dihidroxicolecalciferol ou calcitriol (Aslam et al., 1998, Aburto et al., 1998).

Em virtude da extrema importância no metabolismo, os metabólitos formados a partir da vitamina D se encontram disponíveis para utilização na alimentação animal. Estes têm o intuito de disponibilizar aos animais a vitamina na forma mais ativa, diminuindo os gastos com metabolização da vitamina D, aumentando, assim, sua eficiência no organismo e diminuindo gastos energéticos.

Usualmente os metabólitos mais utilizados nas rações de frangos de corte são o colecalciferol (D<sub>3</sub>) e o 25(OH)D<sub>3</sub> principalmente por causa da meia vida no organismo e custos, visto que o 25(OH)D<sub>3</sub> é a principal forma de armazenamento no organismo e possui uma meia vida de aproximadamente 2 a 3 semanas, enquanto que o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> tem uma meia vida de 6 a 8 horas no organismo (Castro, 2011).

De fato, a 25(OH)D<sub>3</sub> possui uma taxa de absorção aproximadamente 20% maior que a vitamina D<sub>3</sub> (Applegate & Angel, 2005), e o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e o 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub> não necessitam de ativação renal.

### **Revisão bibliográfica:**



## *Metabolismo e funções da vitamina D em frangos de corte*

A vitamina D é considerada parte do grupo de esteroides produzidos pela ação da luz ultravioleta em algumas provitaminas. Este processo consiste na ruptura dos esteroides  $\beta$  precursores, sendo o ergosterol em plantas e o 7- dehidrocolesterol em animais, os quais promovem a síntese do colecalciferol (D3) ou ergocalciferol (D2), com diferenças somente quanto ao tamanho de suas cadeias. (Barral et al., 2007; Barros, 2010).

A ativação do 7-dehidrocolesterol, pro-vitamina inativa, se dá apenas com a luz solar, assim em frangos com pouca ou nenhuma exposição solar, necessitam que o colecalciferol seja fornecido a partir de fontes dietéticas (Aburto et al., 1998).

As vitaminas D2 e D3 não são biologicamente ativas, mas são convertidas *in vivo* a forma ativa da vitamina D, a 1,25-dehidroxicolecalciferol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ), por duas reações sequenciais de hidroxilação, as quais ocorrem no fígado e nos rins. A figura 1 ilustra como ocorre o metabolismo da vitamina D no organismo do animal.

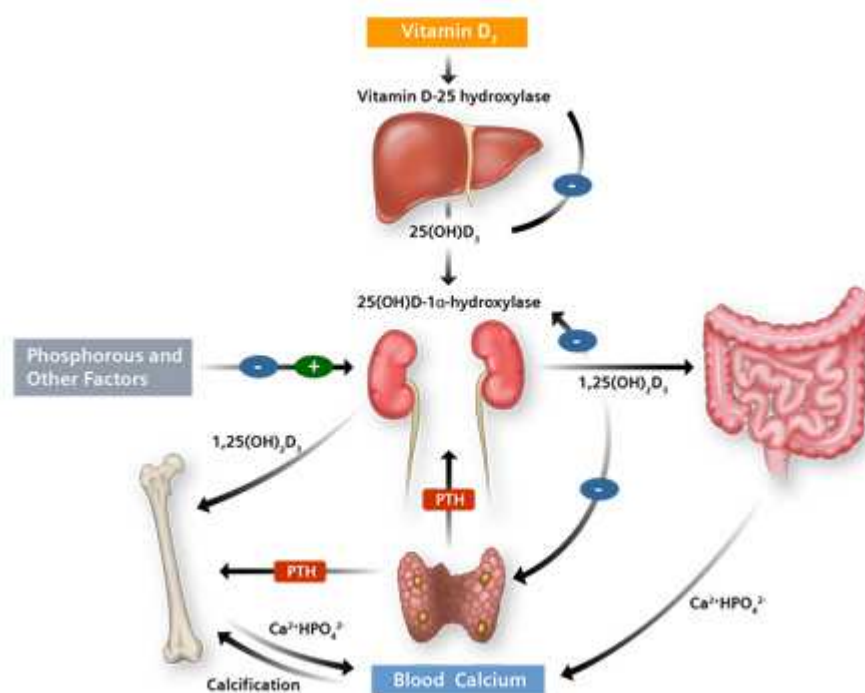


Figura 1. Diagrama do metabolismo da vitamina D no organismo (Medical Siemens, 2012)

Por ser uma vitamina lipossolúvel, a vitamina D é facilmente absorvida por difusão simples na mucosa intestinal juntamente com lipídios e outros compostos lipossolúveis,

pela ação de ácidos, sais biliares e das lipases, o que ocorre, principalmente, na membrana dos enterócitos da porção final do duodeno. Esta absorção depende da formação de micelas para permanecer em suspensão no lúmen intestinal e ser absorvida, incorporada aos quilomicrons, com os quais é transportada ligada a uma proteína de transporte denominada DBP (Proteína ligante de vitamina D) sendo encaminhada via linfática ao fígado (Baynes & Dominiczak, 2000; Barral et al., 2007; Brito, 2008).

No fígado, a vitamina D<sub>3</sub> começará a ser metabolicamente ativada, com a primeira hidroxilação no carbono 25, formando a 25-hidroxicolecalciferol ou 25(OH) D<sub>3</sub> (calcidiol), que é a forma predominante da vitamina D no plasma, constituindo, uma importante forma de armazenamento da vitamina D. Porém, essa forma de vitamina D<sub>3</sub> não é metabolicamente ativa. A hidroxilação desta vitamina depende da ação da enzima NADP-citocromo dependente (P450-redutase) tendo seu desenvolvimento no sistema microsomal hepático e a ação dessa enzima é dependente da concentração de 25(OH)D<sub>3</sub> armazenado (Barral et al., 2007). Uma porção significativa de 25(OH)D<sub>3</sub> é excretada na bile e reabsorvida no intestino delgado, criando uma circulação enterohepática (Baynes & Dominiczak, 2000), o restante se une a uma proteína transportadora, a transcalfiferina, sintetizada no fígado, para ser transportado aos rins.

De acordo com Deluca & Shnoes, (1976), o fígado não é o local exclusivo de conversão da vitamina D<sub>3</sub> em 25(OH)D<sub>3</sub> podendo também ocorrer nos rins ou no intestino. O 25(OH)D<sub>3</sub> atua como um regulador da manutenção das funções fisiológicas da vitamina D e por isto é considerado um indicativo nos níveis plasmáticos desta vitamina.

Nos rins, mais precisamente no túbulo contorcido proximal, o 25(OH)D<sub>3</sub> é hidroxilado na posição 1 por ação de uma enzima denominada 1- $\alpha$ -hidroxilase específica, formando 1,25-hidroxicolecalciferol ou 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (calcitriol), que se constitui o metabólito ativo da vitamina D (Aslam et al., 1998, Aburto et al., 1998). Esta enzima de conversão é ativada por ação do hormônio da paratireoide (PTH) e ocorre em função da queda nos níveis de fosfato e cálcio plasmáticos. Além disso, a ativação pode ocorrer mediante outros fatores relacionados a hormônios como estrógenos, prolactina e hormônio do crescimento em um processo de retroalimentação, aumentando a absorção de cálcio (Grudtner et al., 1997; Barral et al., 2007; Carrilho-Lopes et al., 2009).

Dessa forma, uma queda nos níveis de fosfato sanguíneo decorre da elevação no PHT, ativando a enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase e, conseqüentemente aumenta a conversão em 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e são os níveis deste que vão regular sua produção, inibindo a atividade da

enzima se necessário. Níveis elevados de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e baixos níveis de cálcio plasmático podem levar a uma hipocalcemia, ao mesmo tempo em que reduz a atividade da  $1-\alpha$ -hidroxilase (Guyton & Hall, 2006).

Ainda nos rins, a  $25(\text{OH})\text{D}_3$  pode ser hidroxilada no carbono 24 e não no carbono 1, pela enzima  $\text{D}_3$ -24-hidroxilase, resultando na forma inativa  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Barral et al., 2007). A formação do  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  ou do  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  é controlada por retroalimentação, desta forma, concentrações elevada de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  inibem a atividade da enzima  $1-\alpha$ -hidroxilase e estimulam a atividade da enzima  $\text{D}_3$ -24-hidroxilase (Baynes & Dominiczak, 2000). Outro fator relacionado a regulação são as concentrações de cálcio plasmática, que suprime a ação do PTH e inibi a síntese de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  (Guyton & Hall, 2002). O  $24, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$  também é um metabólito ativo, e tem a função de realizar o transporte de cálcio no intestino e a mobilização do cálcio nos ossos (Deluca & Shnoes, 1976).

Após sua metabolização nos rins, o  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  se liga a uma proteína globulínica específica ( $\alpha$ -globulina) para que seja transportado no plasma, para as células alvo e finalmente ser utilizado pelo organismo. Este metabólito age através de receptores específicos de vitamina D (VDR), levando a transcrição dos genes e síntese de RNAm, desencadeando a síntese de proteínas, como a calbindina, a qual aumenta a captação de íons cálcio e reações como a mobilização de cálcio e fosfato nos ossos. Uma queda na concentração dos receptores de vitamina D (VDR) indica, conseqüentemente, uma queda na absorção de cálcio (McDowell, 1989; Barral et al., 2007).

Entre as ações do  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  está a estimulação da síntese de proteína ligadora de cálcio no intestino delgado, aumentando a absorção deste no intestino, o que permite as ligações eletrostáticas com íons por causa da série de cadeias carboxilas laterais, entre diversos outros fatores. O resultado é um aumento da concentração de cálcio e fosfato para a circulação reduzindo a formação de complexos com o cálcio e, conseqüentemente, os problemas ósseos (Grudtner et al., 1997; Baynes & Dominiczak, 2000; Applegate et al., 2003; Miller et al., 2006).

Também atua como um regulador do hormônio da paratireoide (PTH), através dos receptores de vitamina D (VDR), alterando a absorção e mobilização de cálcio nos intestinos e nos ossos (Carrilho-Lopes et al., 2009). Além disso, possui influência sobre vários genes em relação à imunomodulação, atuando sobre linfócitos, macrófagos e células citotóxicas naturais (Barral et al., 2007).

Existe um análogo sintético ao  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , o  $1\text{-}\alpha$ -hidroxicolecalciferol ou  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  (alfacalcidol), que é convertido no fígado, sem que sejam necessárias hidroxilações nos rins. Este tem um efeito positivo na utilização do fósforo na forma de fitato na dieta (Edwards et al., 2002; Biehl & Baker, 1997). A absorção intestinal de fósforo é em função de um transportador de membrana dependente de sódio denominado NaPi-IIb, o qual é regulado pela  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  (Yan et al., 2006). Segundo Biehl & Baker, 1997, a  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  é cinco vezes mais biologicamente ativo que a vitamina D<sub>3</sub>. Após sua absorção no intestino é levada ao fígado onde são hidroxiladas na posição 25, formando  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , que pode retornar ao trato gastrointestinal ativando e estimulando a produção microbiana de fitase, o que explica a melhor utilização dos minerais complexados. No entanto, alguns análogos da vitamina D, hidroxilados na posição 1 ou na 1 e 25 podem levar a uma toxicidade com possível hipercalcemia (Baynes & Dominiczak, 2000).

Ao longo de todo o trato gastrointestinal existem receptores para vitamina D (VDR), que são de extrema importância para a absorção de cálcio e fosfato. Porém, estes receptores também atuam no desenvolvimento da mucosa intestinal, isto porque estão localizados em concentrações mais elevadas próximos aos locais onde ocorrem maior parte da diferenciação e proliferação celular das células do epitélio intestinal. O que sugere sua atuação no desenvolvimento, integridade, homeostase e saúde intestinal, estimulando a migração de enterócitos da cripta para as vilosidades (Berlanga et al., 2001; Klasing, 2006; Riner et al., 2008; Zanuzzi et al., 2011).

Este mecanismo se torna mais evidente quando se administra vitamina D após um período de deficiência, ou em sintomas de intoxicação por vitamina D, fazendo com que sua ação aconteça rapidamente de forma a reparar os danos causados pela deficiência ou pela hipervitaminose. Porém, em casos de toxidez prolongada, pode resultar em uma diminuição no consumo de ração e, conseqüentemente no desempenho (McCarthy et al., 1984; Zanuzzi et al., 2011).

A ação da vitamina D sobre a mucosa intestinal é explicada principalmente por atuar, por meio do seu metabólito ativo, o calcitriol, na regulação de enzimas responsáveis por seu desenvolvimento. Dentre elas, a ornitina descarboxilase, que converte a putrescina, uma poliamina, em ornitina e a espermidina N-acetiltransferase, que converte putrescina em espermidina. Essas enzimas são reguladas pelo calcitriol, desta maneira se dá a importância da vitamina D sobre a morfologia intestinal (Shinki et al., 1985; Ding et al., 2011). A falta de putrescina induz a redução no comprimento dos vilos e inibição na absorção de

cálcio em pintinhos com deficiência em vitamina D, indicando a relação entre a putrescina e a vitamina D no desenvolvimento da mucosa intestinal (Shinki et al., 1991),

As poliaminas desempenham diversas funções no metabolismo dos animais, a putrescina, a espermidina e a espermina estão relacionadas com a síntese de DNA, RNA e proteínas, estabilização de membranas e com a taxa de diferenciação e proliferação celular. Também atuam sobre a renovação e funcionalidade do trato gastrointestinal e maturação da mucosa intestinal, além disso, o maior potencial de ação das poliaminas parece ser na fase inicial de crescimento (Mezzeti et al., 1981; Shinki et al., 1985).

### ***Vitamina D e desenvolvimento ósseo e metabolismo de cálcio e fósforo***

O osso, a principal reserva de cálcio no organismo, é formado por um tecido heterogêneo e complexo que tem por função suportar a musculatura e todo o peso do animal. Além disso, há uma estrutura orgânica composta de fibras, principalmente colágeno, na qual é depositada a fase mineral, composta principalmente de hidroxiapatita. A fixação desta ao colágeno e posteriormente a calcificação se deve a presença das proteoglicanas e glicoproteínas com alta capacidade para ligações iônicas (Baynes & Dominiczak, 2000).

O desenvolvimento ósseo está intimamente relacionado com o crescimento do animal, desta maneira o tecido ósseo cresce e se desenvolve a medida que está sendo utilizado e pode atrofiar quando em desuso. Funciona como uma reserva metabólica de cálcio e fósforo que pode ser exigida do animal quando houver alterações na homeostase (Kusakawa & Faria, 1998).

O tecido ósseo é constituído de uma matriz mineralizada e células vivas, incluindo condrócitos, osteoblastos, osteócitos, osteoclastos, células endoteliais, monócitos, macrófagos, linfócitos, e células hematopoiéticas e de proteínas estruturais como o colágeno, proteoglicanos, osteocalcina, osteonectina e osteopontina que lhe conferem elasticidade e capacidade de adaptação a forças tensionais (Bernadino, 2009). Os osteoblastos, osteócitos e as células osteoprogenitoras são os responsáveis pela formação do tecido ósseo, e os osteoclastos pela reabsorção óssea. A ação da

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> está relacionada, principalmente, com o metabolismo dos osteoblastos, ou seja, atua diretamente na formação óssea (Suda et al., 1990).

A função e atividade dos osteoblastos são influenciadas por muitos hormônios e fatores de crescimento, principalmente a vitamina D<sub>3</sub>, PTH e calcitonina. O PTH estimula a produção de adenosina monofosfato cíclico (AMPC), o transporte de íons e a síntese de colágeno. A vitamina D, na forma ativa, estimula a síntese de fosfatase alcalina, proteínas e matriz óssea e os fatores de crescimento atuam como receptores autócrinos dos osteoblastos (Baynes & Dominiczak, 2000). O 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> têm sua função ligada à integridade do sistema ósseo, sendo modulador dos condrócitos na placa de crescimento (Boyan et al., 2003; Torres, 2008).

As células ósseas também produzem diversos hormônios cálcio tróficos sistêmicos, como o PTH, estrógeno e uma variedade de reguladores biológicos, como o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> que controlam o metabolismo ósseo local, autócrinos e parácrinos, incluindo citocinas, prostaglandinas (PGs) e fatores de crescimento que atuam em conjunto, regulando as atividades celulares de remodelamento do osso (Henn, 2012). Dessa maneira, uma diminuição no cálcio plasmático estimula a secreção de PTH, que atua diretamente nos rins na reabsorção de cálcio e aumento da síntese de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Com o aumento da reabsorção de cálcio nos ossos, há um aumento da absorção de cálcio no intestino e aumento nas concentrações plasmáticas de cálcio, melhorando a liberação de calcitonina, que atuará inibindo o processo de forma a manter a homeostase no organismo (Baynes & Dominiczak, 2000).

O pico de formação óssea ocorre em frangos até aos 21 dias de idade, em razão, principalmente, a dois processos que ocorrem simultaneamente: a ossificação intramembranosa no perióstio e ossificação endocondral no disco epifisário. A ossificação intramembranosa ocorre a partir do tecido conjuntivo em que as células mesenquimatosas são diferenciadas em osteoblastos (Simão, 2008). No processo endocondral ocorre a proliferação dos condrócitos que compõe o disco e é regulado principalmente pelos hormônios do crescimento, como insulina e a somatomedina, fator de crescimento de fibroblastos e monocinas e por fatores exógenos, como os metabólitos da vitamina D<sub>3</sub>.

É importante salientar que distúrbios da ossificação endocondral fazem com que os ossos apresentem aspectos moles ou curtos, logo um esqueleto curto e pouco desenvolvido, enquanto em distúrbios da ossificação intramembranosa os ossos se tornam finos e quebradiços. A soma dos dois processos resulta em um osso fraco,

quebradiço, mal mineralizado e fino (Pizauro Junior et al., 2002). Estes processos de mineralização óssea são altamente dependentes da presença do cálcio e fosfato, pelo fato do cálcio ser depositado entre o osso e o líquido extracelular constantemente, ao mesmo tempo em que ocorre a reabsorção de osteoclastos e a formação dos osteoblastos (Guyton & Hall, 2006).

No metabolismo ósseo, o PTH age ativando os osteoclastos, a partir dos osteoblastos, os quais possuem receptores para este hormônio. Por sua vez, a calcitonina tem efeito antagônico inibindo a ação dos osteoclastos, por meio da diminuição de células progenitoras (Baynes & Dominiczak, 2000). Além disso, o PTH estimula a ação da enzima 1- $\alpha$ -hidroxilase em baixas concentrações séricas de fosfato e cálcio. O 1,25(OH) $_2$ D $_3$  aumenta a absorção de cálcio e fosfato atuando juntamente com o PTH (Baynes & Dominiczak, 2000).

Outros fatores como as citocinas, interleucina-1(IL-1), fator de necrose (TNF), interferon  $\gamma$  (ITF $\gamma$ ) e o fator B-transformante do crescimento (TGF-B) regulam a atividade dos osteoclastos. A reabsorção destes libera peptídeos de colágeno e cálcio da matriz óssea através das enzimas lisossomais, colágenases e catepsinas em baixo pH (Baynes & Dominiczak, 2000).

Tanto o cálcio, como o fósforo realizam uma função muito importante no metabolismo animal, principalmente com respeito à formação óssea, assim, uma deficiência ou excesso dietético impossibilita a expressão do máximo desempenho animal. A vitamina D está estreitamente relacionada ao metabolismo de cálcio e fósforo, assim na falta de algum deles, há o comprometimento da homeostase destes minerais e, conseqüentemente calcificação e limitações no crescimento das aves (Macari et al., 2002). Em contrapartida, quando em excesso, o cálcio pode agir como antagonista dificultando a absorção de alguns minerais tais como ferro, cobre, zinco, magnésio, sódio, potássio, entre outros (Waldroup, 1996). Além do metabolismo ósseo, o cálcio é responsável por inúmeras funções no nosso organismo incluindo neural e muscular e sua absorção a nível intestinal determinará sua utilização (Bouillon et al., 2003).

Segundo Farquharson & Jefferier, (2000), a vitamina D e seus metabólitos atuam na maior parte do metabolismo ósseo, são essenciais para a sua formação. Sua atuação é através de uma interação com o receptor nuclear VDR, este está localizado na placa de crescimento dos condrócitos.

Existe uma importante relação entre a deficiência de vitamina D e um aumento de problemas ósseos, isso ocorre, há uma diminuição na absorção de cálcio, levando a desmineralização da matriz óssea e, conseqüente queda na resistência óssea, diminuição no teor de cinzas, cálcio e fósforo e aparecimento de problemas locomotores. Com a suplementação de vitamina D, aumenta a absorção de cálcio e fósforo através das células do epitélio intestinal atuando juntamente com o PHT e promovem um aumento nas concentrações de cálcio e fósforo (Suda et al., 1990; Grudtner et al., 1997; Carvalho et al., 2002).

### *Vitamina D e o sistema imunológico*

Em virtude das aves serem criadas em um ambiente confinado sem exposição direta aos raios solares, ocorre uma diminuição nos níveis séricos de vitamina D o que aumenta o risco de doenças autoimunitárias e faz com que sua suplementação seja necessária. A maior concentração de receptores VDR se encontra nas células imunes imaturas do timo e linfócitos CD8 maduros, ainda que em macrófagos e linfócitos CD4 exista uma quantidade relevante (Dantas et al., 2009).

A vitamina D possui um importante papel na modulação da resposta imune, uma vez que atua sobre a diferenciação de células como monócitos, macrófagos ativados, células dendríticas, células natural killer, linfócitos B e T, além de interferir na produção de citocinas. Seu mecanismo de ação está principalmente relacionado com a ligação com seus receptores nucleares VDR que regulam a transcrição do DNA para RNA expressos por inúmeras células no organismo, produzindo interleucina-2, interferon-gama, fator de necrose tumoral, inibição da expressão de interleucina-6, crescimento, diferenciação de linfócitos B e, conseqüentemente aumento na produção de imunoglobulinas por estas células (Bertolini & Tzanno-Martins, 2000; Dantas et al., 2009).

Esta vitamina atua como reguladora do sistema imune principalmente sobre as células precursoras de células T especializadas, no sistema monócito-macrófagos e no estímulo e expressão de genes antimicrobianos, locais que existem maior concentração de receptores VDR. Desta forma, em baixas concentrações de vitamina D no organismo, o sistema imune desenvolve uma autorreação com células T, que atacam tecidos do próprio corpo, as chamadas doenças autoimune. Uma administração de vitamina D faz com que seja reativada a ligação com seu receptor realizando o controle do processo de



apoptose das células, por meio de mecanismos regulatórios de diferenciação e proliferação celular (Castro, 2011).

A presença de receptores VDR no sistema macrófago-monócito é muito importante e indica regulação da vitamina D neste sistema de defesa. Os macrófagos atuam como um mecanismo de defesa primário do organismo com a função de realizar fagocitose secretar citocinas as quais possuem uma ação muito importante no mecanismo de regulação da resposta imunológica, atuando nos processos inflamatórios, cicatrização, metabolismo ósseo e crescimento animal. Macrófagos ativados aumentam a secreção de citocinas que irão estimular a produção de reativos de oxigênio aumentando a produção de óxido nítrico, essenciais para os mecanismos de defesa dos macrófagos, relacionados a resistência as infecções e os efeitos citotóxicos relacionados com a imunidade inata dos animais (Gertner et al., 2008; Galha, 2006; Bueno, 2006; Xavier et al., 2006).

Estudos sugerem que a  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  induz a fusão e diferenciação de macrófagos em decorrência de um estímulo relacionado a imunidade mediada por células (Abe et al., 1983; Galindo et al., 1974). Além disso, a forma ativa da vitamina D afeta a atividade e diferenciação dos macrófagos e pode inibir o sistema antígeno-específico agindo sobre os linfócitos T (Bertolini & Tzanno-Martins, 2000).

A vitamina D também participa de outros processos de imunidade celular, como a resposta basofílica que se constitui de uma resposta timo-dependente mediada por células T, segundo Carrier & DeLoach, (1990), esta resposta pode variar muito em função da idade do animal, genética e número de células T. Para Aslam et al., (1998), que encontraram uma máxima reação basofílica após 20 horas, concluíram que a dieta deficiente em vitamina D deprimiu a resposta, sugerindo que esta pode reduzir a imunocompetência mediada por células T em frangos de corte.

### ***Vitamina D3 e seus metabólitos na alimentação de animais***

A vitamina D é de extrema importância ao organismo animal pelas inúmeras funções fisiológicas que participam no organismo. Há uma disponibilidade de algumas formas de vitamina D para a alimentação animal, desde a mais utilizada que é o colecalciferol, utilizado nos mixes; o  $25(\text{OH})\text{D}_3$ ; o análogo sintético da forma hormonal da vitamina D, a  $1\alpha$ -hidroxicolecalciferol ( $1\alpha\text{-OHD}_3$ ) e o metabólito ativo da vitamina D, o  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ .

Utilizando ácido L-glutâmico e vitamina D<sub>3</sub> sobre os fêmures e tíbias de pintos de corte, avaliada com 5 a 15% ácido L-Glutâmico, combinadas com 0 a 15000 UI de vitamina D<sub>3</sub> foi encontrado o melhor desempenho no nível de 8,56% de ácido L-Glutâmico e 15000 UI de vitamina D<sub>3</sub> (Silva et al., 2001). Os mesmos autores ressaltam que o metabolismo ósseo é regulado pelo hormônio PTH, estrógenos e vitamina D e que na fase inicial existe uma alta necessidade de vitamina D para maximizar o desempenho das aves, visto que estes animais não produzem o metabólito ativo de forma rápida a fim de absorver cálcio necessário para o desenvolvimento ósseo.

Existem produtos à base de extrato da planta *Solanum glaucopHyllum*, comum na América do Sul, disponíveis comercialmente, que contém grande quantidade de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Alguns trabalhos foram realizados utilizando este extrato e encontraram resultados favoráveis a sua utilização, permitindo maior utilização do cálcio e fósforo da dieta (Cheng et al., 2004, Schaublin et al., 2010). Cheng et al., (2004) ressaltam que a utilização do extrato aumentou a síntese de proteína transportadora de cálcio e, conseqüentemente aumento da sua absorção.

Trabalhando com frangos de corte, Biehl & Baker, (1997) utilizaram 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 1α(OH)D<sub>3</sub> em dietas com baixo teor de fósforo disponível e observaram que os dois metabólitos proporcionaram aumento da absorção de fósforo sob a forma de fitato, diminuindo também a incidência de discondroplasia tibial nas aves. Outros autores como Haussler et al. (1973) e Edwards et al. (2002) também relataram a utilização destes metabólitos na alimentação de frangos de corte e obtiveram resultados satisfatórios quanto à absorção de cálcio no intestino, sendo este eficiente a substituição de colecalciferol, em oito vezes mais.

Edwards, (1989) avaliaram a utilização da vitamina D<sub>3</sub> e seus metabólitos, o 25(OH)D<sub>3</sub> e o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, e verificaram uma redução na incidência de discondroplasia tibial com a D<sub>3</sub> e o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. Além disso, ocorreu um aumento no ganho de peso e peso dos ossos de acordo com aumento dos níveis de vitamina (200 a 3600 ICU), da mesma forma, para Rama Rao et al., (2006), os problemas de perna e conversão alimentar melhoraram com o aumento dos níveis de vitamina D.

As aves provenientes de matrizes suplementadas com a exigência ou acima de vitamina D<sub>3</sub> apresentaram melhores desempenho e reduziram discondroplasia tibial em comparação com as aves provenientes de matrizes alimentadas com rações deficientes em vitamina D<sub>3</sub> (Driver et al., 2006).

Para Khan et al., (2010) a suplementação de vitamina D<sub>3</sub> reduziu a incidência de discondroplasia tibial em frangos de corte, principalmente em altas concentrações (2500 a 3500 UI/kg). Os autores sugerem que a vitamina D promove a maturação dos condrócitos de forma a torná-los hipertróficos.

O 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> atua sobre o controle da homeostase do cálcio extracelular, regulando o transporte de cálcio intestinal e a mobilidade de cálcio nos ossos, além disso, também atua como imunomodulador, regulando o crescimento e diferenciação das células (Boland & Norman, 1998).

De acordo com Phadnis & Nemere (2003), existem receptores para o 25(OH)D<sub>3</sub> no epitélio intestinal, o que indica um efeito direto sobre o cálcio nas células intestinais. Porém, este metabólito pode ser de 5 a 10 vezes mais tóxico que a vitamina D<sub>3</sub> (Matilla et al., 2011). Além disso, o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> também está associado aos efeitos tóxicos podendo em doses elevadas levar a uma hipervitaminose (Zanuzzi et al., 2011). Contudo, o trato gastrointestinal possui um mecanismo de adaptação a curto prazo para se recuperar de componentes tóxicos, aumentando a taxa de renovação celular de forma a se adaptar aos agentes estressores.

A vitamina D possui um papel fundamental no metabolismo de cálcio e fósforo e, conseqüentemente, na qualidade de carne. Sua utilização eleva a absorção intestinal de cálcio e fósforo, estimulando a produção de proteína ligadora de cálcio na mucosa, ativando o complexo CAT (*calcium activated tenderization*) pelo aumento dos níveis plasmáticos de cálcio. Este complexo consiste na atividade enzimática das calpaínas que irão atuar no processo de maciez da carne, sendo que este processo é inibido pela calpastatina (Santos, 2006). Desta forma, pode-se dizer que a vitamina D é uma das responsáveis pela maciez da carne (Karges et al., 1999).

Alguns autores relataram efeitos benéficos da utilização de vitamina D em parâmetros de qualidade de carne, como retenção de água (Montgomery et al., 2004), coloração (Wilborn et al., 2004) e força de cisalhamento (Rider et al., 2004; Swanek et al., 1999). Em frangos de corte, Han et al., (2009), trabalhando com 1α(OH)D<sub>3</sub> sobre o desempenho, parâmetros ósseos, sanguíneos e qualidade de carne de peito e coxa, observaram influencia da vitamina D sobre a maior refletância, maior capacidade de retenção de água na carne de peito e redução do pH muscular o que levou a uma diminuição na capacidade da mioglobulina em absorver luz verde seletivamente, resultando em carne menos vermelha e mais amarela. A utilização de vitamina D para bovinos antes do abate, determinou um aumento na maciez, que foi explicado por uma

maior mobilização de cálcio o que ativaria a ação das calpaínas promovendo maior proteólise e consequente redução na força de cisalhamento. A vitamina D também atua no músculo através do aumento do cálcio na linha Z, o que acarreta em aumento do cálcio citosólico muscular e ativa as proteases a atuarem degradando troponina T (Montgomery et al., 2000). De acordo com Scanga et al., (2001) e Swanek et al., (1999), a suplementação de vitamina D aumentou os teores de cálcio no soro, plasma e no músculo, o que ativou as proteases musculares, e explicou uma melhora na força de cisalhamento.

Existem evidências da atuação da vitamina D na morfologia da mucosa intestinal, através da relação entre o metabolismo das vitaminas lipossolúveis e o desenvolvimento das células intestinais (Brito et al., 2010), assim, o aumento nas vilosidades intestinais está relacionado a um importante papel da vitamina D no desenvolvimento morfológico e funcional do intestino (Ding et al., 2011). Mezzeti et al, (1981) comprovaram a existência de uma proteína ligadora de espermina no citosol da mucosa duodenal de frangos de corte e observaram que a utilização de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  em pintinhos com dietas deficientes em vitamina D induziu a síntese molecular de novas proteínas.

As poliaminas desempenham diversas funções no metabolismo dos animais, a putrescina, a espermidina e a espermina estão relacionadas com a síntese de DNA, RNA e proteínas, estabilização de membranas e com a taxa de diferenciação e proliferação celular. Também atuam sobre a renovação e funcionalidade do trato gastrointestinal e maturação da mucosa intestinal (Mezzeti et al., 1981; Shinki et al., 1985; Rigueira, 2010).

A concentração de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  regula a atividade da ornitina descarboxilase, o que influencia o transporte de cálcio. Além disso, a indução de ornitina ocorre no interior das criptas e aumenta a síntese de poliaminas que atuarão sobre as vilosidades intestinais, podendo alterar a morfologia intestinal, comprimento de vilos e microvilosidades e a composição das proteínas na superfície celular (Kumar, 1986).

De acordo com Klasing, (2006), o intestino delgado é sensível à deficiência ou excesso de vitaminas, podendo interferir no desempenho, diferenciação e proliferação celular e, conseqüentemente, no tamanho das vilosidades ou criptas, estando, assim, envolvida nos processos de homeostase intestinal. Suda et al., (1990) confirmam a importância da vitamina D sobre a mucosa intestinal acelerando o processo de migração dos enterócitos das criptas, em que são originárias as células progenitoras, para as vilosidades, estando relacionada com o metabolismo das poliaminas. Em frangos que

tiveram deficiência em vitamina D esta situação torna ainda mais clara, os autores explicam que frangos com deficiência de vitamina D as vilosidades intestinais são de 20 a 30% menores comparadas as de um animal que recebeu suplementação e no caso de uma administração de vitamina D o organismo tende a aumentar o ritmo de diferenciação e proliferação celular de forma a manter a normalidade.

A suplementação de 25(OH)D<sub>3</sub> na dieta de frangos de corte proporcionou maiores comprimentos de vilos e menores profundidades de criptas nos animais (Chou et al., 2009), porém o desempenho não foi influenciado. Estes autores sugeriram que a utilização de 25(OH)D<sub>3</sub> acarretou em menor demanda energética e maior absorção de nutrientes.

Desta maneira, a vitamina D pode melhorar parâmetros fisiológicos, metabólicos e de saúde do organismo animal, proporcionando condições favoráveis para a expressão do máximo desempenho produtivo.

## LITERATURA CITADA

- ABE, E.; MIYAURA, C.; TANAKA, H.; SHINNA, Y. et al.  $1\alpha,25$ -Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> promotes fusion of mouse alveolar macrophages both by a direct mechanism and by a spleen cell-mediated indirect mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** v.80, n.18, p.5583–5587, 1983.
- ABURTO, A.; EDWARDS JUNIOR, H.M.; BRITTON, W.M. The Influence of vitamin A on the utilization and amelioration of toxicity of cholecalciferol, 25 hydroxycholecalciferol, and 1,25-dihydroxycholecalciferol in young broilerchickens. **Poultry Science**, v.77, n.4, p.585–593, 1998.
- APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H.L. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n.7, p.1140-1148, 2003.
- APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R. Los metabolitos de la vitamina D son prometedores para uso en dietas avícolas. **Vademécum Avícola**, 2005.
- ASLAM, S.M., GARLICH, J.D., QURESHI, M.A., 1998. Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 77, n.6, p. 842–849, 1998.
- BARRAL, D.; BARROS, A.C.; ARAÚJO, R.P.C. Vitamina D: uma abordagem molecular. **Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada**, v.7, n.3, p.309-315, 2007.
- BARROS, R. **Efeito da vitamina D ativada no desempenho zootécnico e qualidade óssea de suínos**. 2010. 57f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BAYNES, J.; DOMINICZAK, M. **Bioquímica Médica**. São Paulo: Manole, 2000, 566p.
- BERNADINO, V.M.P. Influência dos lipídios da dieta sobre o desenvolvimento ósseo de Frangos de corte. **Revista Eletrônica Nutritime**, v.6, n. 3, p.960-966, 2009.
- BERTOLINI D.L, TZANNO-MARTINS C. Revisão: efeitos imunomoduladores da vitamina D. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.22, n.3, p.157-161, 2000.
- BIEHL, R.R.; BAKER, H.D.  $1\alpha$ -hydroxycholecalciferol does not increase the specific activity of intestinal phytase but does improve phosphorus utilization in both cecectomized and sham operated chicks fed cholecalciferol-adequate diets. **Journal of Nutrition**, v.127, p.2054–2059, 1997.
- BOLAND, A.R; NORMAN, A.W.  $1\alpha,25(\text{OH})_2$ -vitamin D<sub>3</sub> signaling in chick enterocytes: enhancement of tyrosine phosphorylation and rapid stimulation of mitogen-activated protein (map) kinase. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.69, p.470–482, 1998.
- BOUILLON, R; VAN CROMPHAUT, S; CARMELIET, G. Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms. **Journal of Cellular Biochemistry**. v.88, n.2, p.332-339, 2003.
- BOYAN, B.D; SYLVIA, V.L; DEAN, D.D et al. Differential regulation of growth plate chondrocytes by  $1\alpha,25$ -(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 24r,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> involves cell-maturation-specific membrane receptor-activated phospholipid metabolism. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**,v.13, n.2, p.143-154, 2002.
- BRITO, J.A.G. **Vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol) e 25-hidroxicolecalciferol (25-OHD<sub>3</sub>) em rações de frango de corte**. 2010. 120f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) Curso de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- BRITO, J.A.G.; BERTECHINI, A.C.; FASSANI, E.J.; RODRIGUES, P.A.; LIMA, E.M.C.; MENEGHETTI, C. Efeito da vitamina D<sub>3</sub> e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.12, p.2656-2663, 2010.

- BUENO, R. **Estudo do gene NRAMP1 canino em macrófagos Infectados com leishmania leishmania chagasi**. 2006. 88F. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CARRILLO-LÓPEZ, N.; FERNÁNDEZ-MARTÍN, J.L.; CANNATA-ANDÍA, J.R. Papel de calcio, calcitriol y sus receptores en la regulación de la paratiroides. **Nefrología**, v.29, n.2, p.103-108, 2009.
- CARVALHO, D.C.L; ROSIM, G.C; GAMA, L.O.R. et al. Tratamentos não farmacológicos na estimulação da osteogênese. **Revista Saúde Pública**, v.36, n.5, p.647-654, 2002.
- CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico vitamina D. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**. v.55, n.8, p. 566-575, 2011.
- CHENG, Y.H.; GOFF, J.P.; SELL, J.L. et al. Utilizing *Solanum glaucophyllum* alone or with phytase to improve phosphorus utilization in broilers. **Poultry Science**, v.83, p.406-413, 2004.
- CHOU, S.H.; CHUNG, T.K.; YU, B. Effects of supplemental 25-hydroxycholecalciferol on growth performance, small intestine morphology, and immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 88, p. 2333-2341, 2009.
- CORRIER, D.E.; DELOACH, J.R. Evaluation of cell-mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. **Poultry Science**, v.69: p. 403-408, 1990.
- DANTAS, A.T; DUARTE, A.L.B; MARQUES, C.D.L. A vitamina D na artrite reumatoide e no lúpus eritematoso sistêmico. **Temas de reumatologia clínica**, v.10, n.2, 2009.
- DELUCA, H. F. & SCHNOES, H. K. Metabolism and mechanism of action of vitamin D. **Annual Review of Biochemistry**, v.45, p.631-666, 1976.
- DING, B.A; PIRONE, A; LENZI, C. Effect of hen diet supplemented with 25-OH-D3 on the development of small intestinal morphology of chick. **Animal and Feed Sciences**, v.20, p.420-431, 2011.
- DRIVER, J.P., A. ATENCIO, G.M. PESTI, H.M. et al. The effect of maternal dietary vitamin D3 supplementation on performance and tibial dyschondroplasia of broiler chicks. **Poultry Science**, v.85: 39-47, 2006.
- EDWARDS Jr., H.M.; SHIRLEY, R.B.; ESCOE, W.B. et al. Quantitative evaluation of 1- $\alpha$ -hydroxycholecalciferol as a cholecalciferol substitute for broilers. **Poultry Science**, v.81, p.664-669, 2002.
- EDWARDS, H.M Jr. The effect of dietary cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol and 1,25-dihydroxycholecalciferol on the development of tibial dyschondroplasia in broiler chickens in the absence and presence of disulfiram. **The Journal of Nutrition**, v.119, n.4, p.647-652, 1989.
- FARQUHARSON, C.; JEFFERIES, D. Chondrocytes and longitudinal bone growth: The development of tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, v. 79, p. 994-1004, 2000.
- GALHA, V. **Relação entre imunossupressão e coccidiose clínica em frangos de corte criados comercialmente**. 2006. 83f. Dissertação de Mestrado, Universidade Paulista, São Paulo.
- GALINDO B, LAZDINS J, CASTILLO R. Fusion of normal rabbit alveolar macrophages induced by supernatant fluids from BCG-sensitized lymph node cells after elicitation by antigen. **Infection and Immunity**, v.9, n.2, p.212-216,1974.
- GERTNER, L.R.S.; SANTIN, E.; SAAD, M.B. Influência fumonisina sobre a resposta imunológica de aves. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v.6, p. 401-411, 2008.
- GRÜDTNER V.S, WEINGRILL P, FERNANDES A.L. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.37, p.143-151, 1997.

- GUYTON, A.C.; HALL, A.J.E. **Tratado de Fisiologia Médica** – 11<sup>a</sup> edição, Rio de Janeiro, Ed. Elsevier, 2006. 632p.
- HAN, J.C.; YANG, X.D.; ZHANG, T. et al. Effects of 1 $\alpha$ -hydroxycholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat quality, and type IIB sodium phosphate cotransporter gene expression of one-to-twenty-one-day-old broilers. **Poultry Science**, v.88, p.323-329, 2009.
- HAUSSLER, M.R.; ZERWEKH. J.E.; HESSE, R.H. et al. Biological activity of 1- $\alpha$ -hydroxycholecalciferol, a synthetic analog of the hormonal form of vitamin D<sub>3</sub>. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v.70, p.2248-2252, 1973.
- HENN, J. D. Bioquímica do tecido ósseo. Disponível em: <[http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/osso\\_henn.pdf](http://www6.ufrgs.br/favet/lacvet/restrito/pdf/osso_henn.pdf)> Acesso em 16/01/2012.
- KARGES, K., OWENS, F.N; GILL, D.R. et al. Effects of supplemental vitamin D levels on feed intake and blood minerals of yearling steers. **Oklahoma Agriculture**, p 134–142, 1999.
- KHAN, S.H; SHAHID, R; MIAN, A.A; et al. Effect of the level of cholecalciferol supplementation of broiler diets on the performance and tibial dyschondroplasia. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, p.584-593, 2010.
- KLASING, K. C. **Micronutrient supply: Influence on gut health and immunity**. Avian Gut Function in Health and Disease. Ed. CABI International, Cambridge, MA, 2006. p. 210–223.
- KUMAR, R. The metabolism and mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. **Kidney International**, v. 30, p. 793-803, 1986.
- KUSSAKAWA, K.C.K.; FARIA. H.G. Discondroplasia tibial em frangos de corte: aspectos nutricionais. **Arquivo de Ciências e Saúde Unipar**, v.2, n.3, p. 275-282, 1998.
- MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia Aplicada a frango de corte**. 2.ed. Jaboticabal: Funep/Unesp, 2002. 375p.
- MATTILA, P.H; VALKONEN, E; VALAJA, J. Effect of different vitamin d supplementations in poultry feed on vitamin D content of eggs and chicken meat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 59, p. 8298–8303, 2011.
- MCCARTHY, J.T; BARHAM, S.S; KUMAR, R. 1,25dihydroxyvitamin D, rapidly alters the morphology of the duodenal mucosa of rachitic chicks: evidence for novel effects of 1,25-dihydroxyvitamin D. **Journal Steroid Eiorhen**, v.21, n.3, p.253-258, 1984.
- MCDOWELL, LEE RUSSELL. Vitamin in Animal Nutrition, Academic Press, 1989.
- MEDICAL SIEMENS-** Types of Vitamin D and How Vitamin D is Metabolized. Disponível em: <<http://www.medical.siemens.com/>> Acesso em 20/01/2012.
- MEZZETI, G; MORUZZI, M.S. BARBIROLI, B. Evidence for a 1.25 - dihydroxycholecalciferol-dependent Spermine.-binding protein in chick duodenal mucosa. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.102, n.1, p.287-294, 1981.
- MILLER, E. H. Vitamin D insufficiency in male osteoporosis. **Clinical Cornerstone**, v.8, n. 3, p.14-19, 2006.
- MONTGOMERY, J.L.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. The use of vitamin D<sub>3</sub> to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v.78, p.2615–2621, 2000.
- MONTGOMERY, J.L.; PARRISH Jr., F.C.; BEITZ, D.C. et al. The use of vitamin D<sub>3</sub> to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2615-2621, 2004.
- PHADNIS, R; NEMERE, I. Direct, Rapid Effects of 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> on Isolated Intestinal Cells.**Journal of Cellular Biochemistry**, v.90, p.287–293, 2003.



- PIZAURO JÚNIOR, J.M.; CIANCAGLINI, P.; MACARI, M. Tibial dyschondroplasia: mechanisms of the lesion and control. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, Campinas, v. 4, p.169-185, 2002.
- RAMA RAO, S.V.; RAJU, M.V.L.N.; PANDA, A.K. Effect of high concentrations of cholecalciferol on growth, bone mineralization and mineral retention in broiler chicks fed suboptimal concentrations of calcium and nonphytate phosphorus. **Journal of Applied Poultry Research**, v.15, n.4, p.493-501, 2006.
- RIDER SELL, N.; MIKEL, W.B.; XIONG, Y.L. et al. Vitamin D<sub>3</sub> supplementation of cull cows: Effects on longissimus and semi tendinosus muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 82, p.225-230, 2004
- RIGUEIRA, J.C.S. **Influência da contagem de células somáticas no perfil e teores e aminos bioativas e na qualidade de leite cru e de queijo mussarela**. 2010, 147 f. Dissertação (Doutorado em Zootecnia) - Universidade Federal de Belo Horizonte, Belo Horizonte.
- RINER K., BOOS A., HÄSSIG M., LIESEGANG A. Vitamin D receptor distribution in intestines of domesticated sheep *Ovis ammon* f. *aries*. **Journal of Morphology**. 269:144–152, 2008
- SANTOS, E.R. **Caracterização do processo de *rigor mortis*, da maciez dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* e efeito da radiação gama na vida comercial da carne de avestruz (*Struthio camelus*)**. 2006. 163f. Tese (Doutorado em Higiene veterinária e processamento), Faculdade de veterinária, Niteroi.
- SCANGA, J.A.; BELK, K.E.; TATUM, J. D.; SMITH, G.C. Supranutritional oral supplementation with vitamin D<sub>3</sub> and calcium and the effects on beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.79, n.4, p.912-918, 2001.
- SCHAUBLIN, H.; WIEDMER, H.; ZWEIFEL, R. The effect of a new herbal vitamin D<sub>3</sub> on performance, blood parameters and tibial dyschondroplasia in broiler chickens. **Aviforum – Swiss aviculture formation and research centre**, 2010.
- SHINKI, T. H.; TANAKA, J. TAKITO, A. et al. Putrescine is involved in the vitamin D action in chick intestine. **Gastroenterology**, v.100, p.113–122, 1991.
- SHINKI, T.; TAKAHASHI, N.; KADOFUKU, T. et al. Induction of spermidine N-acetyltransferase by 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> as an early common event in the target tissues of vitamin D. **Journal of Biological Chemistry**, v.260, p.2185-2190, 1985.
- SILVA, F.; MORAES, G.H.K; PERES, A.C et al. Efeitos do Ácido L-Glutâmico e da Vitamina D<sub>3</sub> nos Fêmures e Tibiotarsos de Pintos de Corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.6, p.2067-2077, 2001.
- SIMÃO, A.M.S. **Estudos das características cinéticas da fosfatase alcalina reconstituída em sistemas vesiculares**. 2008. 148f. Tese (Doutorado em Química), Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
- SUDA, T.; SHINKI, T.; TAKAHASHI, N. The role of vitamin d in bone and intestinal cell differentiation. **Annual Review of Nutrition.**, v.10, p.195-211, 1990.
- SWANEK, S.S.; MORGAN, J.B.; OWENS, F.N.; GILL, D. R.; STRASIA, C.A.; DOLEZAL, H. G.; RAY, F. K. Vitamin D<sub>3</sub> supplementation of beef steers increases Longissimus tenderness. **Journal of Animal Science**, v.77, n.4, p.874-881, 1999.
- TORRES, C. **Desempenho produtivo de reprodutoras de frangos de corte suplementadas com 25-hidroxicolecalciferol**. 2008. 100f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) Curso de Pós Graduação em Zootecnia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- WALDROUP, P.W.. Biossay remain necessary to estimative phosphorus, calcium, bioavailability. **Feedstuffs**, v. 68, p.13-20, 1996.

- WILBORN, B.S.; KERTH, C.R.; OWSLEY, W.F. et al. Improving pork quality by feeding supra nutritional concentrations of vitamin D<sub>3</sub>. **Journal of Animal Science**, v.82, p. 218-224, 2004.
- XAVIER, E.G; RUTZ, F; ROLL, V.F.B. Imunonutrientes na produção de suínos. In: Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul. p.174-190 2006.
- YAN, F.; KERSEY, J.H.; FRITTS C.A. et al. Effect of phytase supplementation on the calcium requirement of broiler chicks. **International Journal of Poultry Science**, v.5, n.2, p.112-120. 2006.
- ZANUZZI, C.N; NISHIDA, F; PORTIANSKY, P.A et al. Effects of *Solanum glaucophyllum* toxicity on cell proliferation and apoptosis in the small and large intestine of rabbits. **Research in Veterinary Science**, 2011.

## II. OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a utilização dos diferentes metabólitos da vitamina D<sub>3</sub> na alimentação de frangos de corte.

### Objetivos específicos

- Estudar os efeitos do colecalciferol (Vitamina D<sub>3</sub>), 25-hidroxicolecalciferol (25(OH)D<sub>3</sub>), 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) e 1 $\alpha$ -hidroxicolecalciferol (1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub>) no desempenho de frangos de corte;
- Estudar o efeito de diferentes metabólitos da vitamina D sobre parâmetros ósseos e qualidade de carne de frangos de corte;
- Comparar o efeito da vitamina D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub> sobre a morfologia intestinal;
- Estudar a atividade da vitamina D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 1 $\alpha$ -OHD<sub>3</sub> como agente imunomodulador;
- Sugerir o melhor metabólito de vitamina D nas rações de frangos de corte.

### III. UTILIZAÇÃO DA VITAMINA D<sub>3</sub> E SEUS METABÓLITOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE SOBRE DESEMPENHO, PARÂMETROS ÓSSEOS E QUALIDADE DA CARNE

**RESUMO** – O objetivo deste experimento foi avaliar o efeito de diferentes metabólitos da vitamina D na alimentação de frangos de corte sobre o desempenho, parâmetros ósseos e qualidade de carne. Foram utilizados 952 pintos de corte de um dia de idade, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, sete repetições e 34 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por quatro diferentes fontes de vitamina D: D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, e 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>, incluídas na dieta fornecendo 2000 e 1600 UI de vitamina D nas fases inicial e crescimento, respectivamente. O peso médio, a conversão alimentar e o ganho de peso durante todos os períodos de criação foram piores nos animais alimentados com 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub> quando comparados aos demais tratamentos ( $p < 0,05$ ). Para diâmetro, resistência óssea, índice de seador, cinzas e cálcio e fósforo nos ossos não foram observadas diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos. A coloração da carne diferiu ( $P > 0,05$ ) entre os tratamentos. Todos os metabólitos utilizados nas dietas, com exceção do 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub> apresentaram bom desempenho e qualidade dos ossos, no entanto influenciaram alguns aspectos da qualidade de carne.

**Palavras-chave:** colecalciferol, qualidade de carne, resistência óssea

## **USE OF VITAMIN D<sub>3</sub> AND ITS METABOLITES IN BROILER FEED ON PERFORMANCE PARAMETERS AND BONE QUALITY OF MEAT**

**ABSTRACT** - The aim of this experiment was to evaluate the effect of different vitamin D metabolites on performance, bone quality characteristics and meat quality of broilers. There were used 952 1-d-old chicks, male Cobb, distributed in a completely randomized design with four treatments, seven replications and 34 birds each. There were evaluated four different metabolites of vitamin D: D<sub>3</sub>, 25(OH) D<sub>3</sub>, 1.25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$  (OH) D<sub>3</sub>, providing 2000 and 1600 IU/kg feed of vitamin D in initial and growth period, respectively. The average weight, feed conversion and weight gain during the role period of production were worse in animals fed with 1 $\alpha$  (OH) D<sub>3</sub> when compared to other treatments ( $p < 0.05$ ). For bone parameters were not observed differences ( $p > 0.05$ ) between treatments. However the meat color were different between treatments ( $p < 0.05$ ). The different metabolites of vitamin D affected the performance of broiler chickens, and the lower performance was introduced by treating the source containing 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>, the other sources did not differ among themselves for bone quality characteristics.

**Key words:** bone resistance, cholecalciferol, meat quality

## Introdução

A produção, consumo nacional e as exportações de carne de frangos de corte têm apresentado um crescimento relevante nos últimos anos. Este crescimento está associado ao preço acessível e a alta qualidade nutricional da carne de frango. Porém, com o melhoramento genético das aves, o desenvolvimento ósseo não foi proporcional ao ganho de peso dos animais que acarretou em maior incidência de problemas locomotores, sendo de grande preocupação atualmente, por interferir sobre o desempenho e condenação de carcaça em abatedouros. Sabe-se que fatores nutricionais proporcionam melhora nos problemas locomotores. Entre eles, destaca-se a vitamina D pela sua importante participação no metabolismo de cálcio e fósforo. Assim, a deficiência em vitamina D pode agravar ainda mais esses fatores, acarretando queda na produtividade e aparecimento de distúrbios metabólicos.

A vitamina D<sub>3</sub> ingerida necessita ser metabolizada em 25-hidroxicoilecalciferol (25(OH)D<sub>3</sub>) no fígado, e posteriormente, em seu metabólito ativo, a 1,25-dihidroxicoilecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) nos rins, para ser utilizada pelo organismo. Atualmente estes metabólitos estão disponíveis comercialmente, existe ainda o 1- $\alpha$ -hidroxicoilecalciferol (1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>), hidróxi análogo do metabólito ativo 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, o qual é convertido no fígado na forma ativa.

A utilização destes tem o intuito de disponibilizar aos animais as formas metabolizadas de vitamina D, aumentando sua eficiência no organismo e diminuindo gastos energéticos. De fato, a 25(OH)D<sub>3</sub> possui uma taxa de absorção aproximadamente 20% maior que a vitamina D<sub>3</sub> (Applegate & Angel, 2005) e o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e o 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub> não necessitam metabolização renal.

A vitamina D está intimamente relacionada com a diminuição na incidência de problemas ósseos, por estar envolvida em diversos processos fisiológicos, incluindo a absorção de cálcio e fósforo, mineralização e mobilização óssea (Rennie & Whitehead, 1996; Driver et al., 2005; Korver, 2005; Kasim et al., 2006). No organismo, a vitamina D proporciona absorção de cálcio e fósforo no intestino, aumentando a eficiência de utilização, e conseqüentemente, o aumento das cinzas ósseas. Regulando a secreção de paratormônio (PTH) e estimula diversos tecidos, os quais possuem receptores para vitamina D (Norman, 1985).

Estudos sugerem que a vitamina D também pode interferir no desempenho zootécnico (Yarger et al., 1995; Brito et al., 2010) e qualidade da carne (Han et al., 2012; Pereira, 2007; Enright et al., 1999), como retenção de água (Montgomery et al., 2004), coloração (Wilborn et al., 2004) e força de cisalhamento (Rider et al., 2004). A utilização de vitamina D eleva a absorção intestinal de cálcio e fósforo, estimulando a produção de proteína ligadora de cálcio na mucosa, o que ativa o complexo CAT (*calcium activated tenderization*) pelo aumento dos níveis plasmáticos de cálcio. Este complexo regula a atividade enzimática das calpaínas e outras proteases, que irão atuar no processo de maciez da carne (Santos, 2006).

Assim, este trabalho teve como objetivo a avaliação dos efeitos da utilização de diferentes metabólitos de vitamina D em dietas de frangos de corte sobre o desempenho, parâmetros ósseos e qualidade de carne.

## **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido no setor de avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, sob aprovação do Comitê de Ética de animais em experimentação – CEEA/UEM (Registro N°034/2011). Foram utilizados 952 pintos de corte, machos, da linhagem comercial "Cobb". As aves foram distribuídas em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (rações contendo diferentes metabólitos de vitamina D<sub>3</sub>), sete repetições e 34 aves por unidade experimental.

Os tratamentos foram constituídos por quatro diferentes fontes de vitamina D: colecalciferol (D<sub>3</sub>), 25-hidroxicolecalciferol (25(OH)D<sub>3</sub>), 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), e 1 $\alpha$ -hidroxicolecalciferol (1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>). As diferentes fontes de vitamina D foram inseridas na dieta, substituindo a vitamina D e fornecendo 2000 UI de vitamina D<sub>3</sub>, nas fases pré-inicial e inicial e 1600 UI de vitamina D na fase de crescimento, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005). O suplemento vitamínico foi isento de vitamina D.

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, utilizando os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, em cada fase, segundo Rostagno et al. (2005).

A composição percentual e calculada das rações experimentais se encontra na Tabela 1.

As aves foram alojadas em um galpão convencional de 30 m de comprimento e 8 m de largura, com cobertura de telha fibrocimento, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com 40 cm de altura e tela de arame até a altura do telhado, provido de cortinas móveis. O galpão foi dividido em 28 boxes de 3,85 m<sup>2</sup> com capacidade para 34 aves cada, com piso recoberto com palha de arroz (primeiro uso).

Tabela 1: Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 7 dias, 8 a 21 dias e 22 a 42 dias de idade

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>1-7 Dias</b>	<b>8-21 Dias</b>	<b>22-42 Dias</b>
Milho	54,81	58,06	62,74
F. Soja	37,31	34,54	29,06
Fosfato Bicálcico	1,89	1,75	1,54
Calcário	0,84	0,81	0,75
Óleo de soja	2,92	2,96	3,99
Sal comum	0,300	0,300	0,300
DI-metionina 99%	0,356	0,244	0,227
L-lisina 78%	0,341	0,185	0,222
L-treonina 99%	0,134	0,048	0,054
Supl. Min e Vitam. <sup>1,2</sup>	0,400	0,400	0,400
Inerte <sup>3</sup>	0,700	0,700	0,700
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição calculada</b>			
Energia Met. (kcal/kg)	2950	2959	3125
Proteína bruta (%)	22,04	20,79	18,72
Lisina digestível (%)	1,330	1,146	1,045
Met + Cis digestível (%)	0,944	0,814	0,753
Triptofano digestível (%)	0,242	0,228	0,200
Treonina digestível (%)	0,865	0,746	0,679
Valina digestível (%)	0,912	0,870	0,781
Arginina digestível (%)	1,391	1,314	1,156
Cálcio (%)	0,939	0,884	0,794
Fósforo disponível (%)	0,470	0,442	0,396
Sódio (%)	0,138	0,138	0,138
BED <sup>4</sup>	210	200	177

<sup>1</sup> Suplemento Vitamínico Inicial (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 2.916.667,00 UI; Vit. E 8.750,00 mg; Vit. K3 433,333 mg; Vit. B1 408,333 mg; Vit. B2 1.333,334 mg; Vit. B12 4.166,667 mcg; Niacina 8.983,333 mg; Ácido Pantotênico 3.166,666 mg; Ácido Fólico 200,00 mg; Antioxidante 1450,00; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

Suplemento Vitamínico de Crescimento (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 2.250.000,00 UI; Vit. E 7.000,0000 mg; Vit. K3 455,00 mg; Vit. B1 343,000 mg; Vit. B2 1.000,00 mg; Vit. B12 7.000,00 mcg; Niacina 7.105,00 mg; Ácido Pantotênico 2.612,50 mg; Ácido Fólico 160,00 mg; Antioxidante 1.200,00; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

<sup>2</sup> Mistura mineral (Conteúdo por kg de premix): Ferro 12.600,000 mg; Cobre 3.072,000 mg; Iodo 248,00 mg; Zinco 12.600,000 mg; Manganês 15.004,0000 mg; Selênio 61,2000 mg; Cobalto 50,400 mg; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

<sup>3</sup> As vitaminas D3, 25(OH)D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 1-Alpha-D<sub>3</sub> foram incluídas em substituição ao inerte: 2000 UI e 1600, para fase inicial e de crescimento, respectivamente.

<sup>4</sup> Balanço Eletrolítico da dieta



Até o quinto dia de idade foram utilizados comedouros tubulares infantis, sendo gradativamente substituídos por comedouros tubulares adulto, os bebedouros utilizados foram do tipo “nipple” em todo o período experimental. Para controle de temperatura na fase inicial foram utilizadas campânulas com lâmpada infravermelho como fonte de aquecimento. Água e ração foram fornecidas à vontade em um programa de alimentação dividido em três fases, sendo a pré-inicial do primeiro ao sétimo dia de idade, inicial dos oitavo ao 21º dia de idade e crescimento, do 22º ao 42º dia de idade. Os frangos foram vacinados no incubatório contra a Doença de Marek.

A mortalidade e as sobras de ração foram registradas para determinação do consumo de ração pelas aves. As possíveis causas de mortalidade foram determinadas por meio de necropsia.

Foi utilizado um programa de luz contínua durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23h de luz/dia.

Para avaliação de desempenho (ganho de peso, peso médio, consumo de ração, conversão alimentar), as aves e a ração foram pesadas semanalmente durante o experimento.

Para avaliação dos parâmetros ósseos, as pernas esquerdas de duas aves por unidade experimental foram coletadas aos 7, 21 e 42 dias de idade e permaneceram congelados (-20° C) até o início das análises.

Após o descongelamento das pernas, o tecido muscular aderido foi retirado com auxílio de tesouras e pinças, separando os fêmures e as tíbias. Posteriormente, os ossos foram pesados em balança analítica ( $g \pm 0,0001$ ) e o comprimento e o diâmetro foram medidos na porção média usando paquímetro eletrônico digital (mm). O índice de seedor (Seedor et al., 1991) foi calculado segundo a fórmula:

Índice de Seedor: *peso do osso (mg)/comprimento do osso (mm)*

A análise de resistência óssea foi realizada no Laboratório de Materiais de Construção e Mecânica de Solos do Centro de Tecnologia da UEM, utilizando os ossos descongelados *in natura*. O mecanismo consistiu em uma base que apoia as regiões das epífises ósseas e com a força aplicada na região central do osso. Os valores foram expressos em quilograma força (kgf).

Após o ensaio de resistência óssea, os ossos foram preparados para a determinação do teor de minerais, no Laboratório de Análises de Alimentos – LANA,

da UEM. Para tanto, os ossos foram desengordurados em éter de petróleo, secos em estufa de ventilação forçada, triturados e pesados em balança analítica (0,001g). Posteriormente foram secos em estufa a 105°C por 12 horas, pesados após resfriamento e calcinados em mufla a 600° C, para obtenção das cinzas, segundo a metodologia de Oliveira, (2006).

Para avaliação da qualidade da carne foram coletadas amostras do peito e da coxa de duas aves por unidade experimental aos 42 dias de idade, exceto para capacidade de retenção de água, na qual foi coletada apenas uma ave por unidade experimental.

A determinação do pH foi realizada diretamente no filé do peito esquerdo das aves, com auxílio de um pHmêtro TESTO® 15 minutos *post mortem*. O ponto de incisão do eletrodo foi aferido em três diferentes regiões da parte interna do músculo do peito (*pectoralis major*) superior, médio e inferior. A medida foi obtida pela média dos três pontos aferidos.

A avaliação da coloração da carne de peito e de coxa foi determinada utilizando colorímetro da marca KONICA MINOLTA modelo CR300. Foram avaliadas as características **L\*** (luminosidade– nível de escuro a claro), **a\*** (intensidade de vermelho/verde) e **b\*** (intensidade de amarelo/azul), com três repetições por ponto, em três diferentes regiões da parte interna do músculo do peito (*pectoralis major*) superior, médio e inferior e da parte interna da coxa, aos 15 min *post mortem*, de acordo com a metodologia proposta por Honikel (1998). Foi determinada a cor real da amostra analisada = croma; ângulo de saturação da cor = Hue-Angle) aos 15 min *post mortem*, de acordo com a metodologia de Harder (2005).

Para determinação da perda de peso por cozimento (PPC) foi utilizado o músculo peitoral esquerdo da ave, o qual foi refrigerado e posteriormente pesado, para obtenção do peso antes do cozimento. Este foi embalado em papel laminado e mantido numa chapa elétrica de modelo comercial, com aquecimento, por aproximadamente 10 minutos a 180°C até que o interior do peito atingisse 80°C. Ao estabilizar o peito em temperatura ambiente, a amostra de peito foi pesada novamente, obtendo assim o peso após o cozimento.

A análise de força de cisalhamento foi realizada com os mesmos filés utilizados na análise de determinação da perda de peso por cozimento. Para tanto, as amostras foram aparadas e cortadas em três retângulos (1,0 x 1,0 x 1,3 cm). A análise acima descrita foi realizada utilizando um texturômetro TAXT2i, acoplado com a probe

*Warner-Bratzler Shear Force* – mecânico, com capacidade de 20 kg e velocidade do seccionador de 20 cm/minuto, fornecendo a medida da força de cisalhamento (FC) da amostra, em quilograma força ( $\text{kgf.cm}^{-2}$ ).

A análise da capacidade de retenção de água (CRA) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Nakamura & Katok (1985). Logo após o abate, o peito esquerdo de uma ave por unidade experimental foi coletado totalizando sete amostras por tratamento. O método consistiu na pesagem inicial de 1g de músculo cru, embrulhado em papel filtro e centrifugado a 1500rpm durante quatro minutos. As amostras foram pesadas após a centrifugação e secas em estufa a 70°C por 12 horas. Após este período, as amostras secas foram novamente pesadas. O cálculo para determinar a CRA em porcentagem foi obtido pela diferença do peso da amostra de carne após centrifugação e o peso da amostra após secagem, sendo essa diferença dividida pelo peso inicial da amostra crua e posteriormente multiplicada por 100.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio do programa estatístico SAEG (2005). Os dados foram submetidos à análise de variância. As comparações entre as médias das variáveis estudadas para os diferentes tratamentos foram realizadas mediante o teste de comparação de médias de Tukey, considerando  $p < 0,05$ .

O modelo a ser utilizado é descrito abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$  = observação do animal j submetido a fonte de vitamina D3 i;

$\mu$  = constante geral;

$T_i$  = efeito da fonte de vitamina D3 i;

$e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$ .

## **Resultados e Discussão**

As médias e os erros padrões para peso médio, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar estão apresentados na Tabela 2. As aves alimentadas com dieta contendo o metabólito  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  apresentaram menor ganho de peso e pior conversão alimentar em todos os períodos avaliados ( $p < 0,05$ ). A vitamina D, em casos de toxidez prolongada, pode resultar em uma diminuição no consumo de ração e, conseqüentemente no desempenho (McCarthy et al., 1984; Zanuzzi et al., 2011).

O consumo de ração foi influenciado pelos diferentes metabólitos. No período de 1 a 21 dias, o grupo alimentado com o metabólito  $25(\text{OH})\text{D}_3$  apresentou menor consumo de ração comparado aos grupos alimentados com  $\text{D}_3$  e  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Já no período total de criação (1 a 42 dias), o grupo  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  apresentou as menores médias para consumo de ração em relação aos grupos alimentados com  $\text{D}_3$  e  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Contudo, é importante salientar que apenas o grupo  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  foi diferente dos demais ( $p < 0,05$ ) para conversão alimentar em todos os períodos avaliados. O  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  apesar de ser análogo ativo da vitamina D possui uma eficiência de utilização mais baixa em frangos de corte, diminuindo o desempenho dos animais (Han et al., 2009).

Os valores de ganho de peso, no período de 1 a 21 dias, foram maiores ( $p < 0,05$ ) para os animais alimentados com  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  em comparação aos tratados com  $25(\text{OH})\text{D}_3$ , porém essa diferença não persistiu no período total de criação (1 a 42 dias). Provavelmente à medida que a vitamina D sofre uma hidroxilação, sua molécula tende a se tornar mais polar sendo mais facilmente absorvida no intestino delgado (Applegate & Angel, 2005). Além disso, no período inicial, as aves não possuem o sistema enzimático completo para realizar a hidroxilação no fígado, o que favorece a administração de metabólitos prontamente ativos (Swiatkiewiez et al., 2006), explicando o maior aproveitamento dos metabólitos já hidroxilados.

O  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  fornecido em doses elevadas pode se tornar tóxico, diminuindo a absorção de cálcio e fósforo, e conseqüentemente, prejudicando o desempenho do animal (Reddy e Tserng, 1989). No presente trabalho, os metabólitos foram utilizados nas rações de modo a suprir a exigência de vitamina  $\text{D}_3$  para frangos de corte recomendada por Rostagno et al. (2005), em substituição à vitamina  $\text{D}_3$ . Esta metodologia foi utilizada com a finalidade de igualar a quantidade de vitamina  $\text{D}_3$  fornecida por cada metabólito, visto que cada um dos produtos fornece diferentes quantidades de vitamina  $\text{D}_3$ . Assim, as recomendações dos fabricantes foram extrapoladas em até 10 vezes, o que pode ter causado uma sobrecarga do organismo dos animais resultando em uma diminuição no desempenho.

A suplementação dos diferentes metabólitos em conjunto com uma fonte de vitamina  $\text{D}_3$  é uma forma de maximizar o desempenho dos animais, uma vez que proporciona aos animais uma forma de armazenamento da vitamina D. Os metabólitos atuarão em conjunto com a vitamina D e estes agirão de formar a reduzir gastos energéticos e potencializando resultados. A utilização dos metabólitos em substituição total a exigência de vitamina D é uma opção desde que seja melhor estudada, principalmente, considerando a eficiência de

cada vitamina, visto que a quantidade fornecida neste trabalho pode ter causado uma hipervitaminose nos animais.

Tabela 2. Valores médios dos parâmetros de desempenho alimentados com diferentes fontes de vitamina D, nos períodos de 1 a 7, 1 a 21 e 1 a 42 dias de idade.

	D <sub>3</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1α(OH)D <sub>3</sub>	CV %
1 a 7 dias					
Peso médio (g)	181,69±1,34 a	181,39±2,24 a	184,54±1,23 a	161,29±1,35 b	2,37
Ganho de peso (g)	135,60±1,33 a	135,3±2,24 a	138,37±1,26 a	115,13±1,33 b	3,21
Consumo (g)	167,15±1,34 a	163,53±0,99 a	167,66±1,26 a	154,04±1,44 b	2,06
Conversão Alimentar (kg/kg)	1,256±0,02a	1,211±0,02 a	1,212±0,01 a	1,339±0,02 b	3,98
1 a 21 dias					
Peso médio (g)	1017,27±17,60 ab	996,10±16,82 a	1054,54±10,60 b	898,43±8,07 c	3,703
Ganho de peso (g)	791,86±15,48 ab	768,63±15,46 a	823,82±10,24 b	691,98±7,22 c	4,339
Consumo (g)	1200,42±22,32 b	1119,42±23,86 a	1246,94±12,62 b	1182,36±20,53 ab	4,525
Conversão Alimentar (kg/kg)	1,517±0,021 a	1,457±0,022 a	1,515±0,024 a	1,712±0,031 b	4,212
1 a 42 dias					
Peso médio (g)	2671,50±9,46 a	2642,14±20,48 a	2710,29±38,31 a	2315,29±20,22 b	2,54
Ganho de peso (g)	2625,50±9,43 a	2596,06±20,47 a	2664,11±38,27 a	2269,12±20,26 b	2,59
Consumo (g)	4547,93±54,77 a	4391,76±44,51 ab	4580,72±47,32 a	4282,67±55,17 b	3,01
Conversão Alimentar (kg/kg)	1,716±0,011 a	1,692±0,009 a	1,716±0,010 a	1,887±0,017 b	1,79

<sup>a-b</sup>Médias seguidas por letras diferem entre si (p<0,05) pelo teste de Tukey a 5 %.

As médias de parâmetros ósseos e qualidade de carne estão apresentadas nas Tabelas 3 e 4. Embora o  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  aumente a absorção de cálcio no intestino e reduza a formação de complexos com o cálcio e, conseqüentemente, os problemas ósseos (Grudtner et al., 1997; Applegate et al., 2003; Miller et al., 2006), neste estudo não foram observadas diferenças ( $p>0,05$ ) para os parâmetros ósseos, diâmetro dos ossos, índice de seedor, resistência óssea, composição de cinzas, cálcio e fósforo entre os diferentes metabólitos utilizados (Tabelas 3). É importante salientar que os valores encontrados neste trabalho para estas características estão próximos aos encontrados na literatura (Aslam et al., 1998; Fritts & Waldroup, 2003; Driver et al., 2006; Han et al., 2009). Resultados similares aos deste estudo foram mostrados por Han et al. (2009), que observaram que o metabólito  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  diminuiu o desempenho dos animais, no entanto, com melhora nos parâmetros ósseos. Isso indica que para os parâmetros ósseos esses os níveis de vitamina D utilizados foram adequados.

De acordo com a literatura, dentre os metabólitos testados neste estudo, o metabólito  $25(\text{OH})\text{D}_3$  é mais ativo que a vitamina  $\text{D}_3$  e proporciona o maior aproveitamento (Fritts & Waldroup, 2003). No entanto, neste estudo os diferentes metabólitos apresentaram resultados similares para os parâmetros ósseos. Segundo Aburto et al., (1998) a atividade da  $\text{D}_3$ , do  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  e da  $25(\text{OH})\text{D}_3$  pode variar dependendo da resposta biológica, com maior ou menor eficiência dependendo da característica avaliada, como maior resistência óssea ou melhor qualidade de carne. Estes autores observaram uma maior atividade da  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  em relação ao  $\text{D}_3$  e a  $25(\text{OH})\text{D}_3$  para reduzir a incidência de problemas ósseos.

Além disso, o fato de todos os metabólitos serem fornecidos nas rações de modo a igualar a quantidade de vitamina D pode ser uma explicação para não ter apresentado diferenças entre os diferentes metabólitos porque a vitamina D age de forma a manter a homeostase no organismo.

A deficiência de vitamina  $\text{D}_3$  pode comprometer a formação óssea, sendo que a vitamina D, o cálcio e o fósforo são de extrema importância para a mobilização óssea (Pereira, 2010). Isto indica que os níveis utilizados estavam de acordo com as necessidades para manutenção do tecido ósseo, visto que não comprometeu os parâmetros ósseos estudados.

Tabela 3. Médias e erros padrões dos parâmetros ósseos da tíbia e fêmur: Diâmetro (D), Índice de Seedor (IS), Resistência óssea (RO), Teor de cinzas (%), Cálcio (%) e Fósforo (%), na Matéria seca desengordurada de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D, aos 7, 21 e 42 dias.

	D <sub>3</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1α(OH)D <sub>3</sub>	
Tíbia 7 dias					
Diâmetro (mm)	2,916±0,059	2,998±0,062	2,897±0,045	2,812±0,045	4,955
Índice de Seedor	28,56±1,03	29,18±0,74	28,11±0,82	26,34±0,62	6,906
Cinzas (%)	45,02±3,67	47,95±1,78	49,37±3,63	50,85±1,95	13,286
Cálcio (%)	12,04±0,50	11,04±0,99	12,52±0,39	12,38±0,30	9,775
Fósforo (%)	7,80±0,22	7,24±0,45	7,39±0,52	8,03±0,41	11,738
Tíbia 21 dias					
Diâmetro (mm)	5,414±0,750	5,546±0,138	5,589±0,113	5,432±0,091	6,603
Índice de Seedor	86,42±3,31	91,21±2,27	95,74±2,68	88,31±2,2	7,238
RO(kgf)	16,07±0,91	15,62±1,37	14,35±0,63	14,50±0,39	15,990
Cinzas (%)	43,14±0,46	45,15±1,16	44,22±7,40	45,14±1,28	20,953
Cálcio (%)	13,97±0,61	15,49±0,58	13,83±0,27	15,03±0,19	7,296
Fósforo (%)	6,68±0,43	7,16±0,27	7,23±0,32	6,22±0,67	12,511
Tíbia 42 dias					
Diâmetro (mm)	8,47±0,212	8,173±0,215	8,239±0,249	7,944±0,199	7,405
Índice de Seedor	196,74±4,02	195,23±2,80	188,40±5,02	183,63±5,15	5,786
RO(kgf)	34,18±6,06	31,66±2,67	34,31±2,68	35,38±2,86	18,915
Cinzas (%)	34,48±2,34	38,20±4,02	37,79±1,73	393,64±2,32	14,948
Cálcio (%)	10,76±0,56	12,19±0,25	14,30±0,88	13,16±0,960	9,334
Fósforo (%)	7,92±0,83	7,85±0,44	6,70±0,07	10,25±1,17	11,470
Fêmur 7 dias					
Diâmetro (mm)	3,111±0,044	3,100±0,083	3,041±0,076	3,092±0,101	6,750
Índice de Seedor	26,38±0,73	26,63±0,54	26,85±1,25	25,50±0,91	9,027
Cinzas (%)	40,70±0,88	42,59±0,91	43,00±1,58	40,80±1,68	7,105
Cálcio (%)	11,37±0,22	10,57±0,35	11,58±0,25	11,85±0,36	6,063
Fósforo (%)	7,104±0,353	6,431±0,218	7,238±0,281	7,623±0,265	8,455
Fêmur 21 dias					
Diâmetro (mm)	6,144±0,103	6,091±0,087	6,085±0,164	6,204±0,148	5,585
Índice de Seedor	86,36±1,76	86,26±1,93	82,47±2,85	87,20±2,16	6,548
Cinzas (%)	43,14±0,46	45,15±1,16	41,60±0,70	45,14±1,28	4,675
Cálcio (%)	13,97±0,61	15,49±0,58	14,10±2,45	15,03±0,19	9,705
Fósforo (%)	7,89±0,23	8,79±0,99	8,07±0,89	6,74±0,44	8,649
Fêmur 42 dias					
Diâmetro (mm)	9,502±0,129	9,492±0,257	9,439±0,119	9,719±0,232	5,552
Índice de Seedor	175,81±6,06	174,2±8±8,23	187,94±4,95	197,21±15,942	13,721
Cinzas (%)	34,86±1,45	36,64±1,04	34,00±1,70	32,13±1,13	8,618
Cálcio (%)	10,54±0,21	12,47±0,71	11,37±0,67	10,34±0,55	10,023
Fósforo (%)	7,71±0,34	7,38±0,36	7,56±0,74	7,90±0,78	14,430

(P>0,05) \*Teste Tukey 5%



Tabela 4. Médias e estimativas de parâmetros de qualidade da carne do peito e coxa de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D.

	D <sub>3</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	1,25(OH)2D <sub>3</sub>	1 $\alpha$ (OH)D <sub>3</sub>	CV %	
PEITO	<sup>1</sup> L* (15 min <i>pm</i> )	43,68±0,42 b	45,68±0,36 ab	45,50±0,37 a	43,99±0,53 ab	2,494
	<sup>2</sup> a* (15 min <i>pm</i> )	5,38±0,41	6,70±0,95	5,07±0,57	5,91±0,47	29,204
	<sup>3</sup> b* (15 min <i>pm</i> )	6,93±0,47	7,71±0,55	6,86±0,58	6,06±0,52	20,452
	<sup>1</sup> L* (24 h <i>pm</i> )	50,39±0,82	51,20±0,61	51,75±0,40	52,84±0,26	2,936
	<sup>2</sup> a* (24 h <i>pm</i> )	8,59±0,41	10,36±0,48	8,92±0,19	10,13±0,47	26,451
	<sup>3</sup> b* (24 h <i>pm</i> )	7,33±0,67	8,41±0,26	7,32±0,25	7,05±0,57	15,159
	pH	6,07±0,04	6,07±0,05	6,13±0,06	6,06±0,03	2,011
	<sup>4</sup> PPC(%)	28,71±1,95	29,79±1,58	25,78±4,39	25,87±2,14	32,582
	<sup>5</sup> FC (kgf/cm <sup>-2</sup> )	3,64±0,16	3,87±0,46	3,66±0,37	4,00±0,41	26,963
	<sup>6</sup> CRA(%)	59,48±2,88	62,16±1,58	59,44±2,19	61,60±2,35	10,024
COXA	<sup>1</sup> L* (15 min <i>pm</i> )	51,71±0,81	51,50±0,96	52,97±0,51	51,45±0,64	3,828
	<sup>2</sup> a* (15 min <i>pm</i> )	8,59±0,41 b	10,36±0,48 a	8,92±0,19 ab	10,13±0,47 ab	11,040
	<sup>3</sup> b* (15 min <i>pm</i> )	7,33±0,67	8,41±0,26	7,32±0,25	7,05±0,57	15,715
	<sup>1</sup> L* (24 h <i>pm</i> )	53,18±0,27	53,76±0,79	54,76±0,81	53,63±0,49	3,156
	<sup>2</sup> a* (24 h <i>pm</i> )	11,89±1,00 a	10,52±0,38 ab	8,89±0,41 b	10,21±0,35 ab	15,420
	<sup>3</sup> b* (24 h <i>pm</i> )	7,97±0,52 a	7,93±0,22 a	6,77±0,24 ab	6,20±0,24 b	12,147

<sup>a-b</sup>Médias seguidas por letras diferem entre si (p<0,05) pelo teste de Tukey a 5 %.

<sup>1</sup>Luminosidade; <sup>2</sup>intensidade de vermelho/verde; <sup>3</sup>intensidade de amarelo/azul; <sup>4</sup>perda de peso por cocção; <sup>5</sup>força de cisalhamento e <sup>6</sup>capacidade de retenção de água. *pm*: *post mortem*.

As variáveis CRA, FC, PPC e pH da carne não diferiram ( $p < 0,05$ ), entre os diferentes metabólitos da vitamina D<sub>3</sub>. Esperava-se diferenças entre os tratamentos para estas características, em virtude da vitamina D ser envolvida no metabolismo de cálcio e na ativação das calpains, proteases dependentes de cálcio que atuam no processo de amaciamento da carne (Montgomery et al., 2000).

A luminosidade da carne do peito 15 min *post mortem* foi maior nos animais alimentados com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> em comparação aos alimentados com vitamina D<sub>3</sub>, ( $p < 0,05$ ). A luminosidade está relacionada com a desnaturação proteica da carne, assim, quanto maior a desnaturação, maior é a liberação de líquido intracelular e menos luz é transmitida através das fibras. Estas mudanças nas reações bioquímicas acarretam em carne mais pálida e valores maiores de L\* (Duarte et al., 2007). No entanto, a maior luminosidade, neste caso, ainda não caracterizou carne PSE (L\* < 53,0), visto que uma carne considerada PSE é caracterizada não apenas pelos valores de L\*, mas também pela associação com uma brusca queda do pH. Com a utilização da vitamina D espera-se comprovar uma maior atividade das calpains e conseqüentemente, maiores valores de L\*.

O encolhimento das fibras musculares é ocasionado pela queda no pH, o que aumenta a perda de líquido e a refletância da carne. No entanto neste trabalho, embora a luminosidade (L\*) tenha apresentado diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos, a capacidade de retenção de água da carne do peito não foi afetada ( $p > 0,05$ ), visto que de maneira geral, maiores valores de luminosidade estão correlacionados positivamente com menor capacidade de retenção de água (Castellini et al., 2002). Esta está relacionada à formação de ácido lático e a queda no pH *post mortem*, o que diminui a degradação enzimática da estrutura miofibrilar e conseqüentemente piora a capacidade de retenção de água (Roque-Specht et al., 2009).

A intensidade de vermelho/verde (a\*) da carne da coxa 15 min *post mortem* foi maior nas aves alimentadas com 25(OH)D<sub>3</sub> que naquelas alimentadas com vitamina D<sub>3</sub> ( $p < 0,05$ ). A intensidade de a\* alta é relacionada com a formação do complexo carbonomioglobina, atribuídas a redução do íon ferro da molécula mioglobina combinada com o oxigênio formando a oxi-mioglobina o que confere a coloração mais escura, influenciando o tipo de fibra muscular.

A vitamina D age regulando as concentrações de cálcio no sangue e no músculo dos animais, desta maneira, após o abate do animal ocorre um declínio do pH que ativa as proteases dependentes de cálcio com maior atividade das calpains e de outras

enzimas proteolíticas, acarretando consequente efeito sobre a coloração, textura, maciez e capacidade de retenção de água. No entanto, neste estudo, o pH da carne foi similar entre os animais alimentados com os diferentes metabólitos indicando que estes atuam de maneira similar nas concentrações de cálcio. Os valores de pH estão correlacionados negativamente com a intensidade de amarelo/azul ( $b^*$ ) e a luminosidade ( $L^*$ ). Dessa maneira, uma queda no pH reduz a mioglobina resultando em uma carne menos vermelha e mais amarela (Han et al., 2012).

No entanto, 24 horas *post mortem* os maiores valores de  $a^*$  da carne da coxa foram apresentados pelo tratamento contendo a fonte D3 e os menores para o  $1,25(OH)_2D_3$ , sem diferenças em relação aos demais. A intensidade de amarelo/azul ( $b^*$ ) na carne da coxa 24 horas *post mortem* foi maior nos animais alimentados com vitamina  $D_3$  e  $25(OH)D_3$  em comparação aos animais alimentados com  $1\alpha(OH)D_3$  ( $p < 0,05$ ). O  $1\alpha(OH)D_3$  é metabolizado no fígado a  $1,25(OH)_2D_3$ , este possui meia vida mais curta (de 6 a 8 horas) em comparação ao  $25(OH)D_3$  (de 2 a 3 semanas), dessa maneira apesar de ter uma maior taxa de absorção intestinal sua utilização pode ser prejudicada pela ausência de reservas no organismo (Silva et al., 2008; Castro, 2011).

Embora as diferentes fontes influenciem estes parâmetros, a cor real e o ângulo de saturação dos cortes foram similares entre os tratamentos. Isto porque a coloração da carne é resultado da absorção de luz seletiva e que depende de inúmeros fatores como a concentração de mioglobina, a composição das fibras, proteínas e a presença de líquidos na carne (Gaya & Ferraz, 2006).

## Conclusão

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que todos os metabólitos utilizados nas dietas, com exceção do  $1\alpha(OH)D_3$  apresentaram desempenho e qualidade dos ossos similares. No entanto, a coloração da carne diferiu entre os animais alimentados com os diferentes metabólitos de vitamina  $D_3$ .

## Literatura Citada

- ABURTO, A.; EDWARDS JUNIOR, H. M.; BRITTON, W. M. The Influence of vitamin A on the utilization and amelioration of toxicity of cholecalciferol, 25-hydroxycholecalciferol, and 1,25-dihydroxycholecalciferol in young broilerchickens. **Poultry Science**, v. 77, n. 4, p. 585–593, 1998
- APPLEGATE, T. J.; ANGEL, R.; CLASSEN, H. L. Effect of dietary calcium, 25-hydroxycholecalciferol, and bird strain on small intestinal phytase activity in broiler chickens. **Poultry Science**, v. 82, n. 7, p. 1140-1148, 2003.
- APPLEGATE, T.J.; ANGEL, R. Los metabolitos de la vitamina D son prometedores para uso en dietas avícolas. **Vademécum Avícola**, 2005.
- ASLAM, S.M., GARLICH, J.D., QURESHI, M.A. Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. **Poultry Science**, v.77, n.6, p.842–849, 1998.
- BRITO, J.A.G.; BERTECHINI, A.C.; FASSANI, E.J. et al. Efeito da vitamina D<sub>3</sub> e 25-hidroxi-colecalciferol sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a morfologia intestinal de frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Lavras, v.39, n.12, p.2656-2663, 2010.
- DRIVER, J.P., A. ATENCIO, G.M. PESTI, H.M. et al. The effect of maternal dietary vitamin D<sub>3</sub> supplementation on performance and tibial dyschondroplasia of broiler chicks **Poultry Science**, v.85, p.39-47, 2006.
- CASTELLINI, C; MUGNAI, C; DAL BOSCO, A. Effect of organic production system on broiler carcass and meat quality. **Meat Science**, v. 60, p.219–225, 2002.
- CASTRO, L.C.G. O sistema endocrinológico: vitamina D. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metab**, v.55, n.8, p.566-575, 2011.
- DRIVER, J.P.; PESTI, G.M.; BAKALLI, R.I. et al. Calcium requirements of the modern broiler chicken as influenced by dietary protein and age. **Poultry Science**, v.84, p.1629-1639, 2005.
- DUARTE, K.F.; JUNQUEIRA, O.M.; FILARDI, R.S et al. Efeito dos níveis de energia e programas de alimentação sobre a qualidade de carcaça e desempenho de frangos de corte abatidos tardiamente. **Acta Scientiarum: Animal Sciences**, v.29, n.1, p.39-47, 2007.
- ENRIGHT, K; ELLIS, M; MCKEITH, F. et al. The influence of level of dietary vitamin D<sub>3</sub> supplementation and post-mortem aging time on pork quality. **University of Illinois at Urbana-Champaign**, 1999.
- FRITTS, C. A; WALDROUP, P. W. Effect of Source and Level of Vitamin D on Live Performance and Bone Development in Growing Broilers. **Poultry Science**, v.12, p.45-52, 2003.
- GAYA, L.G.; FERRAZ, J.B.S. Aspectos genéticos-quantitativos da qualidade de carne em frangos. **Ciência Rural**, v.36, n.1, 2006.
- GRÜDTNER VS, WEINGRILL P, FERNANDES AL. Aspectos da absorção no metabolismo do cálcio e vitamina D. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v.37, p.143-151, 1997.
- HAN, J.C.; YANG, X.D.; ZHANG, T. et al. Effects of 1 $\alpha$ -hydroxycholecalciferol on growth performance, parameters of tibia and plasma, meat quality, and type IIb sodium phosphate cotransporter gene expression of one-to-twenty-one-day-old broilers. **Poultry Science**, v. 88, p. 323-329, 2009.
- HAN, J.C; WANG, Y.L; QU, H.X. et al. One Alpha-hydroxycholecalciferol Improves Growth Performance, Tibia Quality, and Meat Color of Broilers Fed Calcium- and Phosphorus-Deficient Diets. **Journal of Animal Science**, v.25, n.2, p.267-271, 2012.

- HARDER, M. N. C. **Efeito do urucum (*Bixa orellana*) na alteração de características de ovos de galinhas poedeiras.** 2005. 74 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2005.
- HONIKEL, K.O. Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. **Meat Science**, v. 49, p. 447-457, 1998.
- KASIM S, BLAKE B.L, FAN X, et al. The role of dopamine receptors in the neurobehavioral syndrome provoked by activation of L-type calcium channels in rodents. **Developmental Neuroscience**. v.28, n.6, p.505-517, 2006.
- KORVER, D. Research, analytical techniques and practical experiences using HyD™. In: ARKANSAS NUTRITION CONFERENCE, 2005, Arkansas. **Proceedings...** ,2005. p.12.
- MILLER, E. H. Vitamin D insufficiency in male osteoporosis. **Clinical Cornerstone**, v.8, n. 3, p.14-19, 2006.
- MONTGOMERY, J.L.; PARRISH JR, F.C.; BEITZ, D.C.; HORST, R.L.; HUFFLONERGAN, E.J.; TRENKLE, A.H. The use of vitamin D<sub>3</sub> to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, Albany, v.78, p.2615–2621, 2000.
- MONTGOMERY, J.L.; PARRISH Jr., F.C.; BEITZ, D.C. et al. The use of vitamin D<sub>3</sub> to improve beef tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 78, p. 2615-2621, 2004.
- NAKAMURA, M.; KATOK, K. Influence of thawing method on several properties of rabbit meat. **Bulletin of Ishika Prefecture College of Agriculture**, v.11, p.45-49, 1985.
- NORMAN A.W. The vitamin D endocrine system. **Physiologist**, v.28, n.4, p.219-232, 1985.
- OLIVEIRA, A.F.G. **Estudo do padrão de crescimento ósseo em frangos de corte de diferentes grupos genéticos criados em duas densidades populacionais.** 2006. 73f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Universidade Estadual de Maringá, Maringá.
- PEREIRA, R. Eficiência de uma fitase bacteriana na liberação de fósforo fítico em dietas de frangos de corte. 2010. 58f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal)- Universidade de São Paulo, Piracicaba.
- REDDY, G. S.; K.-Y. TSERNG. Calcitroic acid, end product of renal metabolism of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> through C-24 oxidation pathway. **Biochemistry**, v.28, p.1763–1769, 1989.
- RENNIE, J. S., WHITEHEAD, C.C. Effectiveness of dietary 25-and1-hydroxy colecalciferol in combating tibial dyschondroplasia in broiler chickens. **Br. Poultry Science**, v.37, p.413–421, 1996.
- RIDER SELL, N.; MIKEL, W.B.; XIONG, Y.L. et al. Vitamin D<sub>3</sub> supplementation of cull cows: Effects on longissimus and semi tendinosus muscle tenderness. **Journal of Animal Science**, v. 82, p. 225-230, 2004.
- ROQUE-SPECHT, V.F; SIMONI, V; PARISE, N et al. Avaliação da capacidade de retenção de água em peitos de Frango em função do pH final evaluation of water retention capacity in chicken breasts due to final pH. **Revista Brasileira Agrociência, Pelotas**, v.15, n.1-4, p.77-81, 2009.
- ROSTAGNO, H.S., ALBINO, L.F.T., DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos. Composição de alimentos e exigências nutricionais.** Viçosa: UFV, 2ed. 185p. 2005.
- SANTOS, E.R. **Caracterização do processo de rigor mortis, da maciez dos músculos *Gastrocnemius internus* e *Fibularis longus* e efeito da radiação gama na vida comercial da carne de avestruz (*Struthio camelus*).** Tese (Doutorado em Higiene veterinária e processamento), Faculdade de veterinária, Niteroi, 163p, 2006.
- SEEDOR, J.G.; QUARTUCCIO, H.A.; THOMPSON, D.D. The biophosphonate alendronate ( MK – 217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 6, n.4, p. 339 – 346, 1991.

- SILVA, B.C.C; CAMARGOS, B.M; FUJII, J.B. Prevalência de deficiência e insuficiência de vitamina d e sua correlação com PTH, marcadores de remodelação óssea e densidade mineral óssea, em pacientes ambulatoriais. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metab.**, v.52, n.3, p.482-488, 2008.
- ŚWIĄTKIEWICZ S., KORELESKI J., KOPOWSKI J., Effect of phytase and 25-hydroxycholecalciferol on performance and bone quality in broiler chickens. **Medycyna weterynaryjna**, v.62, p.81-84, 2006.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA – UFV. SAEG – **Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas**. Versão 5.0. Viçosa, MG: 2005. 150p. (Manual do usuário).
- WILBORN B.S., KERTH C.R., OWSLEY W.F. et al. Improving pork quality by feeding supranutritional concentrations of vitamin D3. **Journal of Animal Science**, v.82, p. 218-224, 2004.
- YARGER, J.G.; QUARLES, C.L.; HOLLIS, B.W. et al. Safety of 25-hydroxycholecalciferol in poultry rations. **Poultry Science**, v.74, n.9, p.1437-1446, 1995.

#### IV. UTILIZAÇÃO DA VITAMINA D<sub>3</sub> E SEUS METABÓLITOS NA ALIMENTAÇÃO DE FRANGOS DE CORTE SOBRE PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS E MORFOMETRIA INTESTINAL

**RESUMO** - O objetivo deste experimento foi avaliar os efeitos da suplementação da vitamina D<sub>3</sub> e seus diferentes metabólitos na alimentação de frangos de corte sobre a resposta imune e morfometria intestinal. Foram utilizados 952 pintos de corte de um dia de idade, distribuídas em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos, sete repetições e 34 aves por unidade experimental. Os tratamentos foram constituídos por quatro diferentes fontes de vitamina D: D<sub>3</sub>, 25(OH) D<sub>3</sub>, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$  (OH) D<sub>3</sub>. As diferentes fontes de vitamina D foram incluídas na dieta fornecendo 2000 e 1600 UI de vitamina D nas fases inicial e de crescimento, respectivamente. O peso relativo do intestino delgado diferiu entre os tratamentos aos 7, 21 e 42 dias e o fígado somente aos 42 dias de idade. Os demais órgãos e parâmetros imunológicos avaliados (peso dos órgãos linfoides, reação de hipersensibilidade cutânea basofílica, avaliação da atividade de macrófagos, dosagem de óxido nítrico e perfil eritrócito: leucócito) foram similares entre os animais alimentados com os diferentes metabólitos. Houve efeito ( $P < 0,05$ ) dos diferentes metabólitos da vitamina D<sub>3</sub> sobre o comprimento dos vilos de jejuno e íleo aos sete dias, diferindo entre os animais alimentados com 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub> para jejuno e 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> e vitamina D<sub>3</sub> para íleo ( $p < 0,05$ ). As diferentes fontes de vitamina D afetaram a morfometria intestinal na fase inicial, porém o efeito não foi observado nas demais fases. Os parâmetros imunológicos não foram afetados pelos diferentes metabólitos de vitamina D. Os diferentes metabólitos de vitamina D afetaram positivamente a morfometria intestinal na fase inicial, sendo os melhores resultados obtido pelos animais alimentados com 1,25-dihidroxicolecalciferol, contudo os parâmetros imunológicos foram similares entre os diferentes metabólitos de vitamina D.

**Palavras-chave:** colecalciferol, macrófagos, vilosidades

## **USE OF VITAMIN D3 AND ITS METABOLITES IN BROILER FEED ON IMMUNOLOGICAL PARAMETERS AND INTESTINAL MORPHOMETRY**

**ABSTRACT** - The aim of this experiment was to evaluate the effect of different vitamin D metabolites on immune response and intestine morphometrics of broiler chickens. There were used 952 1-d-old chicks, male Cobb, distributed in a completely randomized design with four treatments, seven replications and 34 birds each. There were evaluated four different metabolites of vitamin D: D<sub>3</sub>, 25(OH) D<sub>3</sub>, 1.25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$  (OH) D<sub>3</sub>, providing 2000 and 1600 IU/kg feed of vitamin D in initial and growth period, respectively. The different metabolites of vitamin D did not affect the relative weight of the organs except for the weight of the intestine and liver at 21 and 42 days. There was a significant effect ( $P < 0.05$ ) of the vitamin D<sub>3</sub> different metabolites on the villi length of jejunum and ileum at 7 days, between animals fed with 1.25 (OH) 2D<sub>3</sub> and 1 $\alpha$  (OH) D<sub>3</sub> to the jejunum and 1,25 (OH) 2D<sub>3</sub> and vitamin D<sub>3</sub> to the ileum ( $p < 0.05$ ). There were no differences ( $p > 0.05$ ) for weight of lymphoid organs, cutaneous basophil hypersensitivity reaction, macrophage activity assessment, measurement of nitric oxide and erythrocyte profile: leukocytes. The different sources of vitamin D affect the intestine morphometrics in the initial phase, but the effect was not observed in other phases. The immunological parameters were not affected by metabolites of vitamin D.

**Key words** cholecalciferol, intestinal morphometry, macrophages



## Introdução

A avicultura de corte avançou muito nas últimas décadas, melhorando significativamente os principais índices produtivos, como conversão alimentar, idade ao abate e mortalidade. Porém, o melhoramento genético, para melhoria do desempenho, pode ter prejudicado o sistema imunológico do animal (Cheema et al., 2003). Assim a suplementação de nutrientes adequados na ração, principalmente aqueles com ação imunomoduladora, como a vitamina D, é uma forma de prevenir problemas imunológicos e promover a integridade intestinal.

A vitamina D pode ser encontrada das seguintes formas: ergocalciferol (vitamina D<sub>2</sub>) e colecalciferol (vitamina D<sub>3</sub>). Suas estruturas diferem apenas quanto ao tamanho das cadeias e são formadas, mediante ação da radiação ultravioleta sobre os esteroides, ergosteróis e 7 dehidrocolesterol (Barros, 2010), ou são fornecidas na dieta. As vitaminas D<sub>2</sub> e D<sub>3</sub> não são biologicamente ativas, mas são convertidas *in vivo* a forma ativa da vitamina D, a 1,25- dihidroxicolecalciferol, por duas reações sequenciais de hidroxilação.

Sabe-se que a vitamina D está relacionada ao metabolismo do cálcio e também atua na resposta imune por meio de mecanismos antiproliferativos, pró-diferenciação e imunomodulatórios (Muszkai et al., 2010). A vitamina D é um potente regulador do sistema imunológico em geral e especificamente das células T. No metabolismo, o calcitriol liga-se ao receptor VDR e juntos regulam a transcrição de diversos genes, o que explica a presença de receptores em diversos componentes do sistema imunológico, como o timo e as células T, nas quais o calcitriol age aumentando a produção de IL-4 por Th2. A presença destes receptores para a vitamina D (VDR) em células mononucleares sanguíneas e em células CD4<sup>+</sup> Th sugere a influência da vitamina D no sistema imunológico. Além disso, o calcitriol tem a capacidade de inibir a produção de IL-2, IFN-gama, TNF-alfa e a proliferação de células T helper tipo 1 (Th1)1 (Biondo-Simões, 2003) e o calcitriol função de regular os receptores VDR, os quais por sua vez, promovem um equilíbrio entre as células T (Catorna, 2006).

Além disso, a concentração de 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> através ativação de enzimas como a ornitina descarboxilase e espermidina N-acetiltransferase regula a síntese de poliaminas, as quais desempenham um importante papel no crescimento e diferenciação celular, acelerando a taxa de migração de enterócitos da região das criptas para as vilosidades

intestinais, podendo alterar a morfologia intestinal, comprimento de vilos e microvilosidades e a composição das proteínas na superfície celular (Moruzzi et al., 1982; Kumar, 1986; Suda et al., 1990; Drozdowski & Thomson, 2006).

Desta maneira, este trabalho teve como objetivo a avaliação dos efeitos da utilização de diferentes fontes de vitamina D em dietas de frangos de corte sobre a resposta imune e a morfometria da mucosa intestinal.

## **Material e Métodos**

O experimento foi conduzido no setor de avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi da Universidade Estadual de Maringá, sob aprovação do Comitê de Ética de animais em experimentação – CEEA/UEM (Registro N°034/2011). Foram utilizados 952 pintos de corte, machos, da linhagem comercial "Cobb", distribuídos em um delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro tratamentos (rações contendo diferentes metabólitos de vitamina D<sub>3</sub>), sete repetições e 34 aves por unidade experimental.

Os tratamentos foram constituídos por quatro diferentes fontes de vitamina D: colecalciferol (D<sub>3</sub>), 25-hidroxicolecalciferol (25(OH)D<sub>3</sub>), 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), e 1 $\alpha$ -hidroxicolecalciferol (1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>). As diferentes fontes de vitamina D foram incluídas na dieta fornecendo 2000 UI de vitamina D<sub>3</sub>, nas fases pré-inicial e inicial e 1600 UI de vitamina D na fase de crescimento, de acordo com as recomendações de Rostagno et al. (2005). O suplemento vitamínico foi isento de vitamina D.

As rações foram formuladas à base de milho e farelo de soja, utilizando os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos, em cada fase, segundo Rostagno et al. (2005).

As composições percentuais e calculadas das rações experimentais se encontram na Tabela 1.

As aves foram alojadas em um galpão convencional de 30 m de comprimento e 8 m de largura, com cobertura de telha fibrocimento, piso de concreto e paredes laterais de alvenaria com 40 cm de altura e tela de arame até a altura do telhado, provido de cortinas móveis. O galpão foi dividido em 28 boxes de 3,85 m<sup>2</sup> com capacidade para 34 aves cada, com piso recoberto com palha de arroz (primeiro uso).

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de 1 a 7 dias, 8 a 21 dias e 22 a 42 dias de idade

<b>Ingredientes (%)</b>	<b>1-7 Dias</b>	<b>8-21 Dias</b>	<b>22-42 Dias</b>
Milho	54,81	58,06	62,74
F. Soja	37,31	34,54	29,06
Fosfato Bicálcico	1,89	1,75	1,54
Calcário	0,84	0,81	0,75
Óleo de soja	2,92	2,96	3,99
Sal comum	0,300	0,300	0,300
DL-metionina 99%	0,356	0,244	0,227
L-lisina 78%	0,341	0,185	0,222
L-treonina 99%	0,134	0,048	0,054
Supl. Min e Vitam. <sup>1,2</sup>	0,400	0,400	0,400
Inerte <sup>3</sup>	0,700	0,700	0,700
<b>TOTAL</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>	<b>100,00</b>
<b>Composição calculada</b>			
Energia Met. (kcal/kg)	2950	2959	3125
Proteína bruta (%)	22,04	20,79	18,72
Lisina digestível (%)	1,330	1,146	1,045
Met + Cis digestível (%)	0,944	0,814	0,753
Triptofano digestível (%)	0,242	0,228	0,200
Treonina digestível (%)	0,865	0,746	0,679
Valina digestível (%)	0,912	0,870	0,781
Arginina digestível (%)	1,391	1,314	1,156
Cálcio (%)	0,939	0,884	0,794
Fósforo disponível (%)	0,470	0,442	0,396
Sódio (%)	0,138	0,138	0,138
BED <sup>4</sup>	210	200	177

<sup>1</sup> Suplemento Vitamínico Inicial (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 2.916.667,00 UI; Vit. E 8.750,00 mg; Vit. K3 433,333 mg; Vit. B1 408,333 mg; Vit. B2 1.333,334 mg; Vit. B12 4.166,667 mcg; Niacina 8.983,333 mg; Ácido Pantotênico 3.166,666 mg; Ácido Fólico 200,00 mg; Antioxidante 1450,00; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

Suplemento Vitamínico de Crescimento (Conteúdo por kg de premix): Vit. A 2.250.000,00 UI; Vit. E 7.000,000 mg; Vit. K3 455,00 mg; Vit. B1 343,000 mg; Vit. B2 1.000,00 mg; Vit. B12 7.000,00 mcg; Niacina 7.105,00 mg; Ácido Pantotênico 2.612,50 mg; Ácido Fólico 160,00 mg; Antioxidante 1.200,00; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

<sup>2</sup> Mistura mineral (Conteúdo por kg de premix): Ferro 12.600,000 mg; Cobre 3.072,000 mg; Iodo 248,00 mg; Zinco 12.600,000 mg; Manganês 15.004,000 mg; Selênio 61,2000 mg; Cobalto 50,400 mg; Veículo q.s.p. 1.000,00 g.

<sup>3</sup> As vitaminas D3, 25(OH)D3, 1,25(OH)2D3 e 1- $\alpha$ -D3 foram incluídas em substituição ao inerte: 2000 UI e 1600, para fase inicial e de crescimento, respectivamente.

<sup>4</sup> Balanço Eletrolítico da dieta

Até o quinto dia de idade foram utilizados comedouros tubulares infantis, sendo gradativamente substituídos por comedouros tubulares adulto, os bebedouros utilizados foram do tipo “nipple” em todo o período. Para controle de temperatura na fase inicial foram utilizadas campânulas com lâmpada infravermelha como fonte de aquecimento. Água e ração foram fornecidas à vontade em um programa de alimentação dividido em

três fases, sendo a primeira pré-inicial do primeiro aos sétimo dia de idade, inicial do oitavo ao 21º dias de idade e de crescimento, do 22º ao 42º dia de idade.

A mortalidade e as sobras de ração foram registradas para determinação do consumo de ração pelas aves. As possíveis causas de mortalidade foram determinadas por meio de necropsia.

Os frangos foram vacinados no incubatório contra a Doença de Marek e aos 7 dias contra doença de Newcastle. Foi utilizado um programa de luz contínua durante os primeiros dez dias e o restante do período experimental com 23h de luz/dia.

Aos 7, 21 e 42 dias de idade, duas aves por repetição foram sacrificadas por atordoamento por choque e posterior sangria para a realização da coleta de órgãos e vísceras.

Para a determinação do peso relativo dos órgãos, as aves foram pesadas individualmente e as carcaças dissecadas para remoção dos órgãos linfoides (Timo, Baço e Bolsa de Fabricius) e proventrículo, moela, intestino delgado e grosso, fígado e pâncreas. O peso dos órgãos foi obtido em balança de precisão (0,001g), imediatamente, após a dissecação e remoção dos tecidos exógenos. O peso relativo de cada órgão foi obtido pela fórmula:

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

Para a determinação do Perfil eritrocítico e leucocítico, aos 28 e 42 dias foram colhidas amostras de sangue com anticoagulante (EDTA), através de punção da veia jugular de uma ave por unidade experimental, totalizando sete aves por tratamento. Para avaliação das células vermelhas (eritrócitos) e células brancas (leucócitos) foram realizadas contagens diferenciais leucocitárias através de esfregaço sanguíneo de acordo com Charles Noriega (2000).

Para avaliação da atividade fagocítica de macrófagos foi utilizada uma ave por repetição, totalizando sete aves por tratamento. As aves foram inoculadas no 38º dia de vida, através de injeção intra-abdominal de Sephadex G-50<sup>®</sup> (Sigma) a 3%, (um mL/100g de peso vivo) (Qureshi et al., 1986; Konjufca, 2004). Para esse procedimento foram utilizados cateteres intravasculares G-14. Após 42 horas, as aves foram submetidas a atordoamento por eletronarcose e sacrificadas através de deslocamento cervical. As aves foram lavadas com detergente neutro e sanitizadas com álcool 70%, sendo transportadas ao laboratório. Procedeu-se a abertura da cavidade abdominal, com posteriormente lavagem com 20 mL de solução de PBS estéril heparinizada contendo 0,5 UI/L (Liquemine<sup>®</sup> 25.000 UI/5mL – Roche). Foram coletados aproximadamente 15

mL de líquido abdominal com auxílio de seringas, e imediatamente acondicionado em tubos Falcon em banho de gelo. O material foi centrifugado a 1500 rpm/10 minutos, sendo o “pellet”, ressuspensionado em 2 mL de meio RPMI 1640<sup>®</sup> (Sigma). Foi adicionado 150 µL dessa suspensão de macrófagos a cada poço da placa de cultura (24 poços), contendo lamínula de 13 mm de diâmetro.

Os macrófagos foram incubados a temperatura ambiente por uma hora. Após, este período, a placa foi lavada com PBS estéril gelado para remover as células não aderentes. Em seguida, foi adicionado 150 µL de suspensão a 3% de eritrócitos de carneiros em meio RPMI 1640<sup>®</sup> (Sigma), incubando em estufa a temperatura de 37°, em concentração de 5% de gás carbônico, por uma hora. Posteriormente, a placa foi lavada com PBS estéril gelado. Em seguida, foi realizada a coloração, utilizando um kit comercial (Panótico Rápido LB<sup>®</sup> - Laborclin). Após 24 horas, as lâminas foram montadas utilizando Permount<sup>®</sup> e os macrófagos foram contados, e verificado o número de células com hemácias fagocitadas. A atividade fagocítica (FA) foi calculada pela relação entre o número de macrófagos contendo hemácias fagocitadas e o número total de macrófagos contados.

Ao mesmo tempo foi realizada uma segunda placa, que seguiram os mesmos passos até a incubação em estufa a temperatura de 37°, em concentração de 5% de gás carbônico, em que permaneceram por 24 horas, para a determinação da concentração de óxido nítrico produzida pelos macrófagos aderidos. Após este período, os sobrenadantes foram coletados e mantidos a -80 C até a realização das análises. A dosagem de óxido nítrico foi realizada por meio da reação de Griess e posterior leitura em espectrofotômetro.

A reação de hipersensibilidade cutânea basofílica ou avaliação da imunidade mediada por células *in vivo*, foi realizada aos 35 dias de idade, utilizando uma ave de cada unidade experimental, totalizando sete aves por tratamento (Corrier & DeLoach, 1990).

Cada ave foi inoculada intradermicamente, no espaço interdigital entre o 3° e 4° dedo da pata direita com 0,1 mL de uma solução fitohemaglutinina PHA-M<sup>®</sup> (1057601 - Invitrogen). Como controle negativo, 0,1 mL de PBS estéril foi inoculado entre o 3° e 4° dedo da pata esquerda. O espessamento da pele, de ambas as patas, foi aferido em milímetros utilizando um paquímetro digital antes da inoculação e após 12, 24, 48 e 72 horas após a inoculação.

O cálculo (Corrier & DeLoach, 1990) foi realizado da seguinte forma:

*Reação = resposta a fitohemaglutinina – resposta do controle*

A resposta a fitohemaglutinina é medida pela espessura da pele após o tempo de inoculação menos a espessura no tempo zero (antes da inoculação). A resposta do controle é medida pela espessura da pele após o tempo de inoculação (PBS) menos a espessura no tempo zero (antes da inoculação).

A análise morfométrica da mucosa intestinal foi realizada aos 7, 21 e 42 dias, utilizando duas aves por unidade experimental, totalizando 14 aves por tratamento. Os fragmentos do intestino delgado foram retirados a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo de Meckel e no segmento intestinal seguinte até o ceco, correspondente ao íleo.

Após a colheita, as amostras foram lavadas em solução salina, fixados em formol 10%, e em seguida desidratadas em uma série de concentrações crescentes de alcoóis, diafanizadas em xilol e incluídas em parafina. Foram feitos cortes histológicos transversais e semisseriados, com sete micrômetros de espessura e corados pelo método de Hematoxilina-Eosina. A captura de imagens para análise morfométrica foi realizada através de câmera digital de alta resolução PRO SERIES da Mídia Cibertecnics, acoplada ao microscópio Olympus Bx 40. Para a leitura das imagens foi utilizado um analisador de imagem computadorizado IMAGE PROPLUS 4.1, da Mídia Cibertecnics.

Foram efetuadas 40 medidas (20 medidas para altura de vilo e 20 para profundidade de cripta) por segmento. As alturas dos vilos foram medidas a partir da região basal do vilo, coincidente com a porção superior das criptas até seu ápice. As criptas foram medidas da sua base até a região de transição cripta:vilo.

Para realização da análise estatística, os dados obtidos de cada parâmetro foram desdobrados em polinômios ortogonais de forma a permitir a análise de variância e regressão de acordo com suas distribuições, utilizando o programa estatístico SAEG®

O modelo utilizado é descrito abaixo:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + e_{ij}$$

em que:

$Y_{ij}$  = observação do animal  $j$  submetido a fonte de vitamina D3  $i$ ;

$\mu$  = constante geral;

$T_i$  = efeito da fonte de vitamina D3  $i$ ;

$e_{ij}$  = erro aleatório associado a cada observação  $Y_{ij}$ .

## Resultados e Discussão

Os valores médios dos pesos relativos dos órgãos de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D, aos 7, 21 e 42 dias, estão demonstrados na Tabela 2. Aos 7 dias, as aves alimentadas com o metabólito  $25(\text{OH})\text{D}_3$  apresentaram maior peso absoluto do intestino delgado ( $p < 0,05$ ) em relação ao grupo  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ , no entanto o comprimento e o peso relativo do intestino delgado no mesmo período não apresentaram diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os metabólitos. Aos 21 dias, os metabólitos apresentaram efeito inverso com relação ao peso absoluto, peso relativo e comprimento do intestino delgado de modo que o grupo alimentado com a fonte  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$  apresentaram maiores pesos em relação ao  $25(\text{OH})\text{D}_3$ , porém sem diferenças em relação aos demais tratamentos.

Maiores pesos e comprimento do intestino delgado podem representar uma maior superfície de absorção dos nutrientes, porém aos 42 dias os comprimentos e pesos absolutos não apresentaram diferenças ( $p > 0,05$ ) entre si para os diferentes metabólitos. Somente o peso relativo do intestino delgado foi maior ( $p < 0,05$ ) para os animais alimentados com  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ , em relação aos demais metabólitos. Considerando que o peso relativo foi maior, sem alteração no peso absoluto e comprimento, pode-se concluir maior peso relativo pelo menor peso corporal dos animais alimentados com  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ . Para peso do fígado aos 42 dias, o grupo  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ , apresentou o maior peso ( $p < 0,05$ ) que o grupo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , que não se diferenciaram dos demais. Este maior peso relativo do fígado pode ser explicado também pelo menor peso médio menor dos animais alimentados com  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ . As demais variáveis de peso dos órgãos e vísceras não apresentaram diferenças ( $p > 0,05$ ) entre os diferentes metabólitos utilizados nas dietas.

Os valores médios da morfometria da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D, aos 7, 21 e 42 dias de idade, estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 2. Médias e erros padrões dos pesos relativos dos órgãos (%), peso (g) e comprimento (cm) do intestino delgado de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D, aos 7, 21 e 42 dias de idade.

	D <sub>3</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1α(OH)D <sub>3</sub>	CV %
7 dias					
Fígado (%)	3,393±0,219	3,336±0,087	3,204±0,170	3,236±0,139	12,939
Intestino delgado (%)	5,830±0,155	5,800±0,213	5,65±0,174	6,02±0,225	8,804
Intestino delgado (cm)	87,57±1,65	84,36±1,51	85,21±2,52	87,93±1,50	5,653
Intestino delgado (g)	10,77±0,25 ab	10,87±0,49 a	10,01±0,34 ab	9,35±0,39 b	9,705
Intestino grosso (%)	0,998±0,037	1,050±0,035	1,030±0,048	1,083±0,030	9,685
Moela (%)	4,036±0,090	3,896±0,151	4,078±0,206	3,887±0,151	10,320
Pâncreas (%)	0,387±0,017	0,387±0,024	0,372±0,027	0,381±0,028	16,938
Proventrículo (%)	0,845±0,028	0,881±0,019	0,905±0,049	0,940±0,048	11,379
21 dias					
Fígado (%)	2,968±0,140	2,859±0,059	3,079±0,074	2,684±0,132	9,814
Intestino delgado (%)	4,477±0,117 ab	4,098±0,063 b	4,485±0,070 ab	4,865±0,095 a	9,583
Intestino delgado (cm)	132,43±0,98 ab	123,50±2,00 b	128,57±2,58 ab	132,71±3,07 a	4,695
Intestino delgado (g)	37,26±1,74 ab	34,08±0,89 b	37,30±0,98 ab	40,42±1,60 a	9,606
Intestino grosso (%)	0,794±0,023	0,735±0,023	0,798±0,026	0,803±0,032	8,870
Moela (%)	2,429±0,207	2,513±0,106	2,408±0,117	2,429±0,194	9,644
Pâncreas (%)	0,346±0,018	0,330±0,016	0,359±0,014	0,300±0,014	2,597
Proventrículo (%)	0,589±0,027	0,587±0,014	0,587±0,018	0,590±0,022	9,108
42 dias					
Fígado (%)	1,934±0,048 ab	1,884±0,051 ab	1,863±0,033 a	2,098±0,088 b	7,985
Intestino delgado (%)	2,629±0,114 a	2,631±0,060 a	2,556±0,070 a	3,063±0,166 b	10,767
Intestino delgado (cm)	171,00±4,69	172,71±6,30	169,29±4,84	180,00±6,97	8,821
Intestino delgado (g)	70,81±1,46	76,58±2,31	74,24±2,19	79,56±3,59	8,878
Intestino grosso (%)	0,495±0,007	0,508±0,026	0,501±0,019	0,533±0,022	10,356
Moela (%)	1,334±0,106	1,456±0,049	1,346±0,049	1,443±0,050	12,928
Pâncreas (%)	0,209±0,008	0,196±0,009	0,204±0,010	0,208±0,028	11,367
Proventrículo (%)	0,282±0,011	0,318±0,018	0,286±0,010	0,320±0,020	13,663

<sup>ab</sup>Médias seguidas por letras diferentes entre si (p<0,05) pelo teste de Tukey a 5 %.



Tabela 3. Média e erros padrões do comprimento de vilos no duodeno, jejuno e íleo, em frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos de vitamina D.

	Comprimento de vilos ( $\mu\text{m}$ )				CV (%)
	D <sub>3</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1 $\alpha$ (OH)D <sub>3</sub>	
7 dias					
Duodeno	1000,98 $\pm$ 55,03	901,46 $\pm$ 143,53	1009,91 $\pm$ 44,44	823,3375,19	21,684
Jejuno	577,97 $\pm$ 45,29ab	597,75 $\pm$ 10,75ab	615,78 $\pm$ 28,20a	489,83 $\pm$ 27,74b	11,975
Íleo	395,53 $\pm$ 36,35b	461,83 $\pm$ 11,71ab	490,91 $\pm$ 6,44a	463,44 $\pm$ 4,14ab	9,615
21 dias					
Duodeno	1248,00 $\pm$ 90,38	1367,99 $\pm$ 50,52	1326,50 $\pm$ 68,50	1369,82 $\pm$ 65,50	11,816
Jejuno	832,24 $\pm$ 9,97	858,02 $\pm$ 53,67	917,41 $\pm$ 45,97	938,28 $\pm$ 69,44	12,173
Íleo	690,25 $\pm$ 8370	699,10 $\pm$ 58,26	631,68 $\pm$ 44,89	629,60 $\pm$ 15,13	17,651
42 dias					
Duodeno	1867,31 $\pm$ 89,72	1882,04 $\pm$ 82,74	1979,49 $\pm$ 70,00	1985,23 $\pm$ 95,87	10,687
Jejuno	1201,02 $\pm$ 109,17	1111,81 $\pm$ 61,35	1041,75 $\pm$ 94,88	1105,48 $\pm$ 67,68	20,352
Íleo	701,40 $\pm$ 20,33	697,02 $\pm$ 22,37	798,98 $\pm$ 36,52	743,76 $\pm$ 27,62	8,384
Profundidade de cripta ( $\mu\text{m}$ )					
7 dias					
Duodeno	123,13 $\pm$ 7,46	104,94 $\pm$ 5,21	118,88 $\pm$ 3,03	114,28 $\pm$ 1,75	9,527
Jejuno	96,95 $\pm$ 14,03	109,12 $\pm$ 4,78	99,62 $\pm$ 10,54	103,22 $\pm$ 6,75	21,220
Íleo	93,69 $\pm$ 6,06	106,95 $\pm$ 3,50	94,85 $\pm$ 6,82	92,64 $\pm$ 6,29	13,389
21 dias					
Duodeno	126,39 $\pm$ 4,81	118,63 $\pm$ 4,87	126,47 $\pm$ 3,34	139,22 $\pm$ 5,87	8,668
Jejuno	119,28 $\pm$ 8,34	132,97 $\pm$ 7,90	131,36 $\pm$ 15,08	132,77 $\pm$ 4,61	16,895
Íleo	102,45 $\pm$ 3,31	111,25 $\pm$ 6,52	111,57 $\pm$ 2,99	99,62 $\pm$ 13,34	8,874
42 dias					
Duodeno	220,16 $\pm$ 6,88	204,14 $\pm$ 9,00	222,09 $\pm$ 4,59	216,22 $\pm$ 7,17	8,006
Jejuno	140,20 $\pm$ 4,25	144,97 $\pm$ 7,48	136,13 $\pm$ 7,98	140,90 $\pm$ 3,72	11,415
Íleo	117,61 $\pm$ 6,96	117,38 $\pm$ 2,06	133,82 $\pm$ 8,8	118,52 $\pm$ 3,55	12,949
Relação vilos:cripta ( $\mu\text{m}$ )					
7 dias					
Duodeno	8,17 $\pm$ 0,35	8,47 $\pm$ 1,15	8,50 $\pm$ 0,33	7,25 $\pm$ 0,73	20,704
Jejuno	6,24 $\pm$ 0,61	5,53 $\pm$ 0,33	6,35 $\pm$ 0,41	4,89 $\pm$ 0,57	19,147
Íleo	4,23 $\pm$ 0,34	4,47 $\pm$ 0,23	5,28 $\pm$ 0,36	5,09 $\pm$ 0,33	14,952
21 dias					
Duodeno	9,18 $\pm$ 1,13	11,57 $\pm$ 0,39	10,49 $\pm$ 0,45	9,90 $\pm$ 0,56	17,06
Jejuno	7,21 $\pm$ 0,57	7,35 $\pm$ 0,86	7,25 $\pm$ 0,72	7,12 $\pm$ 0,63	21,833
Íleo	6,75 $\pm$ 0,83	6,39 $\pm$ 0,69	5,65 $\pm$ 0,33	6,33 $\pm$ 0,14	18,541
42 dias					
Duodeno	8,59 $\pm$ 0,63	9,39 $\pm$ 0,80	8,93 $\pm$ 0,38	9,22 $\pm$ 0,59	16,901
Jejuno	8,55 $\pm$ 0,69	5,79 $\pm$ 0,64	6,48 $\pm$ 0,38	6,28 $\pm$ 0,51	13,179
Íleo	5,93 $\pm$ 0,38	7,80 $\pm$ 0,30	7,54 $\pm$ 0,32	8,01 $\pm$ 0,14	18,522

(P&gt;0,05) \*Teste Tukey 5%

Aos 7 dias o 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> proporcionou maior comprimento dos vilos que a 1 $\alpha$ (OH)D<sub>3</sub>, no jejuno e que a vitamina D<sub>3</sub> no íleo. Os demais metabólitos não diferiram (p>0,05) nestes mesmos segmentos. Provavelmente, o aumento das vilosidades intestinais do grupo que recebeu o metabólito 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> pode ter ocorrido pelo

aumento nos níveis séricos deste metabólito, que influenciou a ativação de enzimas que atuam na regulação do desenvolvimento da mucosa intestinal. Assim, um aumento nas vilosidades intestinais está relacionado a um importante papel da vitamina D no desenvolvimento morfológico e funcional do intestino (Ding et al., 2011). Os animais alimentados com  $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$ , apresentaram intestinos relativamente mais pesados, porém menores comprimentos de vilos em comparação ao  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , sugerindo que o  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  pode ter acarretado em menor demanda energética e maior absorção de nutrientes (Chou et al., 2009).

Ao longo de todo o trato gastrointestinal existem receptores para vitamina D que são de extrema importância para a absorção de cálcio e fósforo, porém estudos sugerem que estes receptores atuam também no desenvolvimento da mucosa intestinal. Isto porque estão localizadas em concentrações mais elevadas próximas a locais em que ocorrem maior diferenciação e proliferação celular no intestino, sugerindo sua atuação no desenvolvimento, integridade, homeostase e saúde intestinal (Klasing, 2006; Riner et al., 2008; Zanuzzi et al., 2011). De acordo com McCarthy et al., (1984), este mecanismo se torna mais evidente quando administrado vitamina D após um período de deficiência, fazendo com que sua ação aconteça rapidamente de forma a reparar os danos causados pela deficiência.

As poliaminas, putrescina, espermidina e espermina, desempenham diversas funções no metabolismo dos animais, principalmente na fase inicial, atuando sobre a renovação e funcionalidade do trato gastrointestinal e maturação da mucosa intestinal (Mezzeti et al., 1981; Shinki et al., 1985). A enzima ornitina descarboxilase converte a putrescina em ornitina e a espermidina N-acetiltransferase, em espermidina. Essas enzimas são reguladas pelo  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , desta maneira se dá a importância da vitamina D sobre a morfologia intestinal (Shinki et al., 1985; Ding et al., 2011). A falta de putrescina induz a redução no comprimento dos vilos e inibição na absorção de cálcio em pintinhos com deficiência em vitamina D, indicando a relação entre a putrescina, vitamina D e desenvolvimento da mucosa intestinal (Shinki et al., 1991),

Os valores médios para parâmetros imunológicos de frangos de corte alimentados com diferentes fontes de vitamina D aos 7, 21 e 42 dias de idade estão demonstrados na Tabela 4 e 5.

Tabela 4. Média e erros padrões do peso relativo dos órgãos linfoides (%) em frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos da vitamina D

	D <sub>3</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1α(OH)D <sub>3</sub>	CV (%)
7 dias					
Timo	0,371±0,033	0,389±0,052	0,398±0,039	0,356±0,038	28,719
Baço	0,100±0,006	0,100±0,013	0,093±0,009	0,094±0,008	26,136
Bolsa de Fabrícus	0,205±0,010	0,181±0,015	0,173±0,016	0,171±0,011	19,587
21 dias					
Timo	0,375±0,025	0,400±0,028	0,394±0,043	0,399±0,029	21,780
Baço	0,122±0,004	0,125±0,008	0,144±0,010	0,114±0,010	18,146
Bolsa de Fabrícus	0,254±0,018	0,255±0,030	0,299±0,018	0,259±0,027	19,940
42 dias					
Timo	0,342±0,030	0,321±0,024	0,293±0,035	0,317±0,025	23,795
Baço	0,120±0,070	0,109±0,070	0,093±0,070	0,104±0,060	17,383
Bolsa de Fabrícus	0,174±0,016	0,155±0,009	0,158±0,013	0,179±0,016	21,596

(P>0,05) \*Teste Tukey 5%

Os metabólitos da vitamina D utilizados neste estudo não afetaram ( $p>0,05$ ) o peso relativo dos órgãos linfoides, o que significa que eles atuam de forma similar nos órgãos linfoides e principalmente na imunidade celular, visto que o timo é um órgão que possui receptores para vitamina D e atua principalmente em resposta mediadas por células T e produção de IL-4 por células Th2 (Catorna, 2006).

A reação de hipersensibilidade cutânea basofílica, avaliação da atividade de macrófagos, dosagem de óxido nítrico e perfil eritrócito: leucócitos dos animais não foram influenciadas ( $p>0,05$ ) pelos diferentes metabólitos da vitamina D. Como o calcitriol atua como imunomodulador de células do sistema imune como: linfócitos, macrófagos, citocinas e células citotóxicas naturais (*natural killer*) e grande parte das células do sistema imune possuem receptores para a vitamina D, sugerindo a participação desta na regulação do sistema imune (Bertolini & Tzanno-Martins, 2000; Bhalla et al., 1983), era esperado que os metabólitos pudessem atuar de maneira distinta no sistema imune dos animais.

As aves são capazes de particionar a utilização vitamina D em função de seu estado de saúde, além disso, a resposta imune primária é uma resposta fraca. A vitamina D favorece o desenvolvimento de células Th2 que induzem o crescimento e diferenciação celular e, que conseqüentemente, induzem a produção de imunoglobulinas. Dessa maneira, quando houver resposta secundária, esta tende a ser mais rápida com grande produção de anticorpos específicos (Chou et al., 2009). Os resultados corroboram com Fritts et al., (2002), no qual as fontes de vitamina D não diferiram quanto a resposta mediada por células.

Tabela 5. Média e erros padrões dos parâmetros imunológicos em frangos de corte alimentados com diferentes metabólitos de vitamina D

	D <sub>3</sub>	25-OHD <sub>3</sub>	1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1 $\alpha$ (OH)D <sub>3</sub>	CV (%)
Reação interdigital fitohemaglutinina (mm)					
12h	0,238±0,059	0,211±0,091	0,253±0,099	0,243±0,187	74,568
24h	0,281±0,040	0,199±0,042	0,257±0,093	0,211±0,106	55,264
48h	0,237±0,038	0,254±0,072	0,360±0,164	0,348±0,076	76,883
72h	0,347±0,089	0,377±0,120	0,613±0,162	0,624±0,151	60,403
Atividade fagocítica (AF) de macrófagos e dosagem de óxido nítrico ( $\mu$ m/mL)					
AF (%)	27,78±1,70	18,01±2,94	18,72±3,70	23,06±2,49	25,733
Óxido Nítrico	37,86±7,61	68,33±10,36	50,71±11,67	50,67±16,68	48,550
Perfil eritrocítico e leucocítico (%)					
28 dias					
Linfócito	68,83±1,68	61,90±2,33	59,01±2,14	65,17±3,03	9,552
Heterofilo	29,33±1,56	29,68±2,60	32,35±1,90	27,50±2,84	19,595
Heter: Linfócito	0,46±0,04	0,49±0,06	0,56±0,06	0,44±0,07	31,149
Basófilo	2,17±0,48	1,85±0,55	2,16±0,28	1,33±0,33	57,878
Monócito	2,17±0,60	3,42±0,89	3,86±0,63	3,33±1,09	64,688
Eosinofilo	2,50±0,48	3,14±0,41	2,58±0,57	2,67±0,42	43,737
42 dias					
Linfócito	68,94±5,93	62,03±4,08	74,79±2,53	73,25±3,62	15,850
Heterofilo	22,06±4,63	19,90±2,76	14,97±2,12	16,70±2,66	44,241
Heter: Linfócito	0,37±0,12	0,34±0,07	0,21±0,03	0,24±0,04	66,769
Basófilo	1,61±0,41	2,83±0,40	2,57±0,27	1,52±0,51	49,103
Monócito	2,38±0,82	6,06±1,12	5,13±0,53	4,11±1,70	64,038
Eosinofilo	2,81±0,84	3,00±0,27	1,96±0,29	2,51±0,58	52,248

(P>0,05) \*Teste Tukey 5%

A resposta de hipersensibilidade cutânea basofílica ou resposta timo-dependente mediada por células T, não foi influenciada ( $p>0,05$ ) pelo diferentes metabólitos de vitamina D fornecidos na dieta. Talvez a dosagem utilizada neste estudo esteja acima das exigências das aves, visto que todos os metabólitos foram igualados em unidades internacionais seguindo as recomendações de Rostagno et al., (2005). Aslam et al., (1998) encontraram uma máxima reação basofílica após 20 horas e concluíram que a dieta deficiente em vitamina D deprimiu a resposta, sugerindo que esta pode reduzir a imunocompetência mediada por células T em frangos de corte.

Embora vitamina D atue como imunomodulador no organismo, induzindo a fusão e diferenciação de macrófagos em decorrência de um estímulo relacionado a imunidade mediada por células (Abe et al., 1983; Galindo et al., 1974), os resultados para atividade fagocítica e dosagem de óxido nítrico, indicativo da atividade dos macrófagos, não diferiram ( $p>0,05$ ) com os diferentes metabólitos. Os macrófagos atuam como um mecanismo de defesa primário do organismo com a função de realizar fagocitose e secretar citocinas, as quais possuem uma ação muito importante no mecanismo de regulação da resposta imunológica, atuando nos processos inflamatórios, cicatrização,

metabolismo ósseo e crescimento animal. Macrófagos ativados aumentam a secreção de citocinas que estimulam a produção de reativos de oxigênio, aumentando a produção de óxido nítrico, essenciais para os mecanismos de defesa dos macrófagos, relacionados a resistência a infecções e efeitos citotóxicos relacionados com a imunidade inata dos animais (Galha, 2006; Bueno, 2006; Xavier et al., 2006; Gertner et al., 2008).

Quanto ao perfil eritrocítico e leucocítico, a contagem de células sanguíneas não diferiu ( $p < 0,05$ ) entre os metabólitos. Os valores encontrados são semelhantes aos considerados normais de 60 a 65% de linfócitos, 25 a 30% de heterófilos, 2% de eosinófilos, 1,7% de basófilos e 10% de monócitos, com uma relação heterófilo: linfócito próximo a 1:2 (Laganá et al., 2005), o que comprova que as diferentes fontes de vitamina D não influenciaram este parâmetro.

### **Conclusões**

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que os diferentes metabólitos de vitamina D afetaram positivamente a morfometria intestinal somente na fase inicial, sendo os melhores resultados obtidos pelos animais alimentados com 1,25-dihidroxicolecalciferol, contudo os parâmetros imunológicos foram similares entre os diferentes metabólitos de vitamina D.

## Literatura Citada

- ABE, E; MIYAURA, C.; TANAKA, H.; SHIINA, Y. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> promotes fusion of mouse alveolar macrophages both by a direct mechanism and by a spleen cell-mediated indirect mechanism. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v.80, n.18, p.5583–5587, 1983.
- ASLAM, S. M., GARLICH, J. D., QURESHI, M. A., 1998. Vitamin D deficiency alters the immune responses of broiler chicks. **Poultry Science**, v. 77, n. 6, p. 842–849, 1998.
- BARROS, R. **Efeito da vitamina D ativada no desempenho zootécnico e qualidade óssea de suínos**. 2010, 57 f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- BERTOLINI DL, TZANNO-MARTINS C. Revisão: efeitos imunomoduladores da vitamina D. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v.22, n.3, p.157-161, 2000.
- BHALLA, A.K., AMENTO, E.P., CLEMENS, T.L. et al. Specific high-affinity receptors for 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in human peripheral blood mononuclear cells: Presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. **Journal of clinical Endocrinology Metabolism**, v 57, 1308, 1983.
- BIONDO-SIMÕES, M. L. P. et al. Opções terapêuticas para as doenças inflamatórias intestinais: revisão. **Revista brasileira de Coloproctologia**, v.23, n.3, p.172-82, 2003.
- BUENO, R. **Estudo do gene nramp1 canino em macrófagos Infectados com leishmania leishmania chagasi**.2006. 88f. Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- CATORNA MT , ZHU Y , FROICU M , et al.Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, and the immune system. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 80, p. 1717S-1720, 2004.
- CHARLES NORIEGA, M.L.V.C. **Apuntes de hematología aviar: material didático para curso de hematologia aviária**. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de producción animal: Aves. México, 2000. 70p.
- CHEEMA, M. A; QURESHI, M. A; HAVENSTEIN, G. B. A comparison of the immune response of a 2001 commercial broiler with a 1957 random bred broiler strain when fed representative 1957 and 2001 broiler diets. **Poultry Science**, v.82, p.1519–1529, 2003.
- CHOU, S.H.; CHUNG, T.K.; YU, B. Effects of supplemental 25-hydroxycholecalciferol on growth performance, small intestine morphology, and immune response of broiler chickens. **Poultry Science**, v. 88, p. 2333-2341, 2009.
- CORRIER, D.E.; DELOACH, J.R. Evaluation of cell-mediated, cutaneous basophil hypersensitivity in young chickens by an interdigital skin test. **Poultry Science**, v. 69: p. 403–408, 1990.
- DING, B.A; PIRONE, A; LENZI, C. Effect of hen diet supplemented with 25-OH-D<sub>3</sub> on the development of small intestinal morphology of chick. **Journal of Animal and Feed Sciences**, v.20, 420–431, 2011.
- DROZDOWSKI, L; THOMSON, A.B.R. Intestinal mucosal adaptation.**World Journal of Gastroenterology**, v.12, n.29, p. 4614-4627, 2006.
- FRITTS, C.A; ERF, G.F; BERSI, T.K. Effect of Source and Level of Vitamin D on Immune Function in Growing Broilers. **Journal Applied Poultry Research**, v.13, p.263-273, 2004.
- GALHA, V. **Relação entre imunossupressão e coccidiose clínica em frangos de corte criados comercialmente**. 2006. 83f Dissertação (Mestrado em Imunopatologia)-Universidade Paulista, São Paulo.

- GALINDO B, LAZDINS J, CASTILLO R. Fusion of normal rabbit alveolar macrophages induced by supernatant fluids from BCG-sensitized lymph node cells after elicitation by antigen. **Infect Immun**. v.9, n.2, p. 212-216, 1974.
- GERTNER, L. R. S.; SANTIN, E.; SAAD, M. B. Influência fumonisina sobre a resposta imunológica de aves. **Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais**, v. 6, p. 401-411, 2008.
- KLASING, K. C. **Micronutrient supply: Influence on gut health and immunity**. **Avian Gut Function in Health and Disease**. Ed. CABI International, Cambridge, MA, p. 210-223, 2006.
- KUMAR, R. The metabolism and mechanism of action of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. **Kidney International**, v. 30, p. 793-803, 1986.
- KONJUFCA, V. K. Influence of dietary vitamin E on phagocytic functions of macrophages in broilers. **Poultry Science**, 83, 1530-1534, 2004.
- LAGANÁ C, RIBEIRO AML, GONZÁLEZ FHD, et al. Suplementação de vitaminas e minerais orgânicos nos parâmetros bioquímicos e hematológicos de frangos de corte em estresse por calor. **Boletim da Indústria Animal**, v.62, p.157-165, 2005.
- MCCARTHY, J.T; BARHAM, S.S; KUMAR, R. 1,25dihydroxyvitamin D, rapidly alters the morphology of the duodenal mucosa of rachitic chicks: evidence for novel effects of 1,25-dihydroxyvitamin D. **Journal Steroid Biochemistry**, v. 21, n.3, p.253-258, 1984.
- MEZZETI, G; MORUZZI, M.S. BARBIROLI, B. Evidence for a 1.25 - dihydroxycholecalciferol-dependent Spermine-binding protein in chick duodenal mucosa. **Biochemical and biophysical research communications**, v.102, n.1, p.287-294, 1981.
- MORUZZI, M.S; MONTI, M.G; PICCININI, G et al. Spermine-binding protein and polyamine metabolism in duodenal mucosa of chick embryo. **Life Sciences**, v.31, n. 15, p.1639-1644, 1982
- MUSZKAI, P; CAMARGO, M.B.R; GRIZ, L.H.M. et al. Evidence-based non-skeletal actions of vitamin D. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**. v.54, n.2, p. 110-117, 2010.
- QUERSHI, M.A.; DIETERI, R.R.; BACON, L.D. Genetic variation in the recruitment and activation of chicken peritoneal macrophages (42293). In: The Society for Experimental Biology and Medicine. **Anais...**, v. 181, p. 560-568, 1986.
- RINER K., BOOS A., HÄSSIG M., LIESEGANG A. Vitamin D receptor distribution in intestines of domesticated sheep *Ovis ammon f. aries*. **Journal of Morphology**. v.269, p.144-152, 2008
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 2 ed. Viçosa, MG: UFV, Departamento de Zootecnia, 2005, 186 p.
- SHINKI, T., H. TANAKA, J. TAKITO, A. Et al. Putrescine is involved in the vitamin D action in chick intestine. **Gastroenterology**, v.100, p.113-122, 1991.
- SHINKI, T.; TAKAHASHI, N.; KADOFUKU, T. et al. Induction of spermidine N1-acetyltransferase by 1 $\alpha$ , 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> as an early common event in the target tissues of vitamin D. **Journal of Biological Chemistry**, v.260, p.2185-2190, 1985.
- SUDA, T.; SHINKI, T.; TAKAHASHI, N. The role of vitamin d in bone and intestinal cell differentiation. **Annual Review of Nutrition**., v.10, p.195-211, 1990.
- XAVIER, E.G; RUTZ, F; ROLL, V.F.B. Imunonutrientes na produção de suínos. In Simpósio UFRGS sobre Produção, Reprodução e Sanidade Suína, 2006, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, p.174-190 2006.

ZANUZZI, C.N; NISHIDA, F; PORTIANSKY, P.A et al. Effects of *Solanum glaucophyllum* toxicity on cell proliferation and apoptosis in the small and large intestine of rabbits. **Research in Veterinary Science**, 2011.



## V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos neste estudo sugerem que os diferentes metabólitos da vitamina D constituem uma opção como fonte de vitamina D para frangos de corte, já que, com exceção do  $1\alpha(\text{OH})\text{D}$ , as demais fontes apresentaram desempenho, qualidade dos ossos e parâmetros imunológicos similares. Apesar dos metabólitos apresentarem diferenças significativas para coloração da carne e vilosidades intestinais não pode-se concluir com certeza que a vitamina D interem sobre estes fatores pois seriam necessário maiores respostas.

Dessa forma, por estarem envolvidos em diversos processos fisiológicos há inúmeros fatores que podem ser considerados e mais amplamente estudados. Como exemplo, a exigência utilizada está de acordo com a utilização contida nos premixes comerciais e com a utilização no campo, sugerindo que esta exigência pode ser mais estudada de forma a reduzir ou considerar a maior atividade dos metabólitos da vitamina D em relação à vitamina D<sub>3</sub>, podendo reduzir a inclusão destes de modo compatível.

Além disso, os diferentes metabólitos mostraram comportamento muito semelhante nas variáveis estudadas o que mostra a eficiência de utilização bastante

semelhante entre as fontes e da forma como foram administrados não atuaram como imunomoduladores.

Assim, há muitas indagações a respeito da utilização destes metabólitos e uma necessidade de maiores pesquisas a respeito.