

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NUCLEOTÍDEOS PURÍNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE IMUNO-ESTIMULADOS

Autor: Alceu Kazuo Hirata
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami

Maringá
Estado do Paraná
Abril - 2021

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

NUCLEOTÍDEOS PURÍNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE IMUNO-ESTIMULADOS

Autor: Alceu Kazuo Hirata
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami

Tese apresentada como parte das exigências para obtenção do título de DOUTOR EM ZOOTECNIA no Programa de Pós-graduação em Zootecnia na Universidade Estadual de Maringá – Área de concentração: Produção Animal

Maringá
Estado do Paraná
Abril 2021

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

H668n

Hirata, Alceu Kazuo

Nucleotídeos purínicos na alimentação de frangos de corte imuno-estimulados / Alceu Kazuo Hirata. -- Maringá, PR, 2021.

111 f.: il., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Alice Eiko Murakami.

Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, 2021.

CDD 23.ed. 636.5

Síntique Raquel Eleutério - CRB 9/1641




UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

**NUCLEOTÍDEOS PURÍNICOS NA ALIMENTAÇÃO DE
FRANGOS DE CORTE IMUNO-ESTIMULADOS**

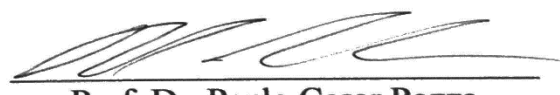
Autor: Alceu Kazuo Hirata
Orientadora: Profª Drª Alice Eiko Murakami

**TITULAÇÃO: Doutor em Zootecnia - Área de Concentração Produção
Animal**

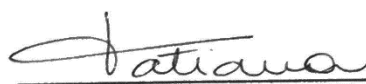
APROVADO em 26 de abril de 2021.



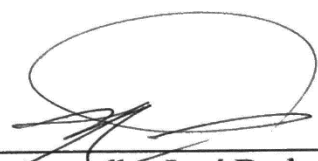
Profª Drª Claudia Yurika Tamehiro



Prof. Dr. Paulo Cesar Pozza



**Profª Drª Tatiana Carlesso dos
Santos**



**Dr. Ramalho José Barbosa
Rodrigueiro**



Profª Drª Alice Eiko Murakami
Orientadora

A vida me ensinou a nunca desistir,
nem ganhar, nem perder, mas procurar evoluir.

Chorão (Charlie Brown Júnior)

AGRADECIMENTOS

A Prof.^a Dr.^a Alice Eiko Murakami, pela oportunidade da realização do doutorado e confiança, dedicada orientação, incentivo, ensinamentos e conselhos sinceros. Obrigado.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Zootecnia da UEM, em especial, Prof.^a Dr.^a Tatiana Carlesso dos Santos, Prof. Dr. Leandro D. Castilha e Prof. Dr. Paulo Cezar Pozza, pelos ensinamentos e fundamental contribuição na realização deste trabalho.

À Universidade Estadual de Maringá, por ter possibilitado desenvolver este trabalho e, disponibilizar ensino gratuito e de qualidade.

À CAPES, pela concessão da bolsa de estudos.

Aos meus amigos e colegas Kelly Nunes, Ana Eliza, Caio de Souza, Humberto Lipori, Amanda Castelani, Wellington Fernando, Elison Santos, Pedro Ezídio, Letícia Marques, Gabriele Bartzike, Guilherme Orioli pela amizade, apoio e companheirismo no decorrer dos experimentos.

A Solange Iung, secretária do Programa de Pós-graduação em Zootecnia, sempre prestativa, obrigado pela ajuda, paciência e amizade.

A todos os funcionários da FEI (Fazenda Experimental Iguatemi – UEM), em especial a Toninho Silvério Sobrinho, pela constante ajuda nos trabalhos a campo e pela amizade e parceria de sempre, “você é o cara”.

A Prof.^a Dr.^a Márcia Izumi Sakamoto, pelos ensinamentos e orientações acadêmicas, profissionais e interpessoais. Sem a sua ajuda e conselhos, com certeza não me fariam evoluir durante o andamento do doutorado e, pode ter certeza de que isso tudo me tornará um profissional cada vez melhor, Obrigado mesmo!

Aos meus grandes amigos que esta cidade me deu Henrique Penha, Carlos Menegatti e Rafael Okawa, pela força e compreensão de sempre, como também a equipe amadora de beisebol Maringá Black Mavericks.

A minha família por acreditarem na minha decisão e em minha capacidade de estar realizando este sonho!

Por fim, a minha namorada Natany Caroline Soares, pelo companheirismo e pela compreensão. Por me aguentar falando de frangos de corte, galinhas de postura comercial e afins. Pela motivação e carinho. Pela fé e por sempre acreditar em mim e nos meus sonhos. E, por entender os meus dias ausentes e me ajudar diretamente ou indiretamente nessa fase da minha vida!

E, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado!

BIOGRAFIA

ALCEU KAZUO HIRATA, filho de Solange de Fátima dos Santos Hirata e Alceu Mutsuo Hirata, nasceu em 27 de janeiro de 1987, na cidade de Indaiatuba, Estado de São Paulo - Brasil.

Em julho de 2011, concluiu a graduação em Medicina Veterinária pela Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP / Campus Luiz Meneghel, localizada em Bandeirantes, Paraná - Brasil.

Em julho de 2011, foi efetivado pela empresa BRF – Unidade Produtora de Toledo, Paraná em que exerceu a função de médico veterinário extensionista.

Em março de 2015, concluiu o Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, na área de concentração Produção Animal na Universidade Estadual de Maringá, Paraná - Brasil.

Em março de 2017, ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, nível de Doutorado, área de concentração Produção Animal na Universidade Estadual de Maringá, Paraná - Brasil.

ÍNDICE

LISTA DE TABELAS.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	viii
RESUMO.....	14
ABSTRACT.....	16
I. INTRODUÇÃO.....	18
1. Nucleotídeos.....	20
2. Fontes de nucleotídeos.....	22
3. Síntese dos nucleotídeos.....	23
4. Absorção dos nucleotídeos.....	24
5. Nucleotídeos no metabolismo energético.....	27
6. Ação fisiológica dos nucleotídeos no trato intestinal.....	28
7. Nucleotídeos na saúde animal.....	29
8. Nucleotídeos e o sistema imunológico.....	30
9. Nucleotídeos na nutrição animal.....	35
10. Referências bibliográficas.....	37
OBJETIVOS GERAIS.....	41
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	41
II. Efeitos dos nucleotídeos adenosina-5-monofosfato (AMP) e guanosina-5-monofosfato (GMP) como fonte energética em dieta com redução de energia de frangos de corte na fase de crescimento.....	42
Resumo.....	42
Abstract.....	43
Introdução.....	44
Material e métodos.....	45
Resultados e discussão.....	48

Conclusão	59
Referências	59
III. Efeitos da inosina-5-monofosfato (IMP) como fonte energética sobre a performance animal, sistema imunológico, perfil bioquímico, rendimento e qualidade de carcaças de frangos de corte.....	62
Resumo	62
Abstract	63
Introdução	64
Materiais e métodos	65
Resultados e discussão	70
Conclusão.....	82
Referências	82
IV. Inosina-5-monofosfato (IMP) em dieta de frangos de corte na fase inicial desafiados com <i>Eimeria</i> spp.	87
Resumo	87
Introdução	89
Material e métodos.....	90
Resultados e discussão.....	94
Conclusão.....	107
Referências.....	107
V. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	110

LISTA DE TABELAS

III. Efeitos dos nucleotídeos adenosina-5-monofosfato (AMP) e guanosina-5-monofosfato (GMP) como fonte energética em dieta com redução de energia de frangos de corte na fase de crescimento.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de frangos de corte em fase crescimento (21 a 42 dias).	46
Tabela 2. Desempenho de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP, no período de 21-42 dias de idade.	50
Tabela 3. Perfil bioquímico de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.	52
Tabela 4. Desdobramento dos valores de triglicérides de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.....	53
Tabela 5. Títulos de IgY (Log ₁₀) para doença de Newcastle de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.	54

Tabela 6. Rendimento de carcaça, cortes e gordura abdominal (%) (média) de frangos de corte machos alimentados com dietas com redução energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.	56
Tabela 7. Coloração e pH de peito de frangos de corte de 21 a 42 dias, machos alimentados com dietas com redução energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.	57
Tabela 8. Coloração e pH de coxa de frangos de corte de 21 a 42 dias, machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.	58

IV. Efeitos da inosina-5-monofosfato (IMP) como fonte energética sobre a performance animal, sistema imunológico, perfil bioquímico, rendimento e qualidade de carcaças de frangos de corte.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de frangos de corte de 1 a 42 dias na fase inicial (1 a 21 dias) e crescimento (21-42 dias)	66
Tabela 2. Desempenho de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) de 1 a 21 e de 1 a 42 dias de idade.....	71
Tabela 3. Perfil bioquímico de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.....	73
Tabela 4. Contagem de células leucocitárias de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.....	75
Tabela 5. Teste Elisa para doença de Newcastle em soro de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.....	77
Tabela 6. Creatinina muscular (mg/dL) do músculo pectoralis major de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.....	78

Tabela 7. Rendimento de carcaça e cortes (%) de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 42 dias de idade.....	79
Tabela 8. Coloração, pH e capacidade de retenção de água (%) de peito de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.....	80
Tabela 9. Coloração e pH de coxa de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.....	81
Tabela 10. Matéria seca (%) e emissão de amônia (mg/100g) de cama de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.....	82

V. Inosina-5-monofosfato (IMP) em dieta de frangos de corte na fase inicial desafiados com *Eimeria* spp.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de frangos de corte em fase inicial (1 a 21 dias).....	91
Tabela 2. . Desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) e desafiados ou não com vacina de <i>Eimeria</i> spp.....	96
Tabela 3. Desdobramento da interação para o ganho de peso de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	96
Tabela 4. Desdobramento da interação para a conversão alimentar de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	97
Tabela 5. Altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de duodeno e jejuno aos 21 dias de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados ou não com vacina de <i>Eimeria</i> spp.....	99
Tabela 6. Desdobramento da interação para altura de vilo de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	100

Tabela 7. Desdobramento da interação para a relação vilo:cripta de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	100
Tabela 8. . Contagem de células leucocitárias aos 21 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	102
Tabela 9. Contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados com vacina de <i>Eimeria</i> spp.....	104
Tabela 10. Desdobramento da interação do dia pós-infecção (DPI) 5 da contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	105
Tabela 11. Desdobramento da interação do dia pós-infecção (DPI) 7 da contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	105
Tabela 12. Desdobramento da interação do dia pós-infecção (DPI) 8 da contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com <i>Eimeria</i> spp.....	105
Tabela 13. Imunoglobulina A (IgA) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados com vacina de <i>Eimeria</i> spp.....	106

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura e formação do nucleotídeo.....	21
Figura 2. Estruturas das bases nitrogenadas nos nucleotídeos	21
Figura 3. Via <i>de novo</i> e de salvamento das purinas e pirimidinas.....	25
Figura 4. Digestão e absorção dos nucleotídeos	26

RESUMO

O objetivo neste estudo foi avaliar a utilização dos nucleotídeos adenosina-5-monofosfato (AMP), guanosina-5-monofosfato (GMP) e inosina-5-monofosfato (IMP) como fonte energética na dieta de frangos de corte sobre desempenho animal, perfil bioquímico, sistema imunológico, morfologia intestinal, rendimento de carcaças e cortes e qualidade da carne de frangos de corte. **Experimento 1:** O período experimental foi de 21 a 42 dias de idade, 896 pintos de corte machos, da linhagem Cobb-Vantress®. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial (2 x 3) +1+1 (AMP e GMP 3 níveis de suplementação, + controle positivo (CP), + controle negativo (CN)), totalizando 8 tratamentos, sendo o CP uma dieta convencional à base de milho e farelo de soja; controle CN com 100 kcal abaixo dos valores da dieta convencional, e suplementados nesta dieta com redução de energia 3 níveis de inclusão para AMP e GMP (0,07%, 0,14% e 0,21%), 7 repetições com 16 aves por unidade experimental. Uma interação foi observada para triglicerídeos ($P < 0,05$), em que os níveis de suplementação de AMP com 0,07% e 0,14% apresentaram menores valores quando comparados ao nível de 0,21% de AMP e todos os níveis de GMP. Houve efeito crescente de níveis ($P < 0,05$) para AMP e quanto maior a suplementação de AMP, maiores foram os títulos de anticorpos. A partir de 0,21% de suplementação de AMP houve diferenças quando comparado ao tratamento CN. Para os demais parâmetros avaliados as variáveis não diferenciaram ($P > 0,05$). Conclui-se que com 0,21% de suplementação de AMP houve melhora do sistema imune sem comprometer o desempenho, rendimento de carcaça e qualidade de carne. **Experimento 2:** Foram utilizados 960 pintos de frangos de corte de um dia de idade em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e oito repetições de 20 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram em: uma dieta convencional controle positivo (CP), uma dieta controle negativo (CN) com redução de 100 kcal/kg abaixo dos valores da formulação da CP e quatro níveis de suplementação do nucleotídeo inosina-5-monofosfato (IMP) em dieta CN (0; 0,07; 0,12; 0,17 e 0,22%) de 1 a 42 dias. Aos 21 dias de idade dos frangos de corte houve efeito linear decrescente ($P < 0,05$) para a conversão alimentar (CA). No período de 1-21 dias de idade dos frangos de corte houve efeito linear decrescente ($P < 0,05$) para a conversão alimentar (CA) sem influenciar ($P > 0,05$) no ganho de peso (GP) e consumo de ração (CR). Houve efeito linear decrescente ($P < 0,05$) para contagem de heterófilos, monócitos e basófilos aos 21 dias de idade. Pode ser observado aos 21 dias de idade efeito linear crescente ($P < 0,05$) para contagem celular de linfócitos e para os títulos de anticorpos. Aos 42 dias de idade, pode ser observado efeito linear crescente ($P < 0,05$) para o CR e GP. Aos 42 dias de idade pode ser observado efeito linear crescente ($P < 0,05$) para

a contagem de linfócitos e efeito linear decrescente ($P < 0,05$) para os parâmetros de contagem de heterofilos e glicose. A suplementação de IMP pode suprir a necessidade energética de dietas com redução de energia melhorando as variáveis de desempenho no nível de suplementação de 0,22% para fase inicial e 0,17% para fase crescimento, e contribuindo na modulação de células leucocitárias e produção de anticorpos a partir de 0,12% de suplementação sem influenciar negativamente no rendimento de carcaças e cortes, na qualidade da carne e na eliminação de amônia pelas excretas. **Experimento 3:** Foram utilizados 1000 frangos de corte de um dia de idade, machos, da linhagem comercial Cobb-Vantress®, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, em um esquema fatorial 5 x 2 (IMP x desafiados ou não com a vacina contra coccidiose) com cinco tratamentos e dez repetições de 20 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram em uma dieta controle e quatro níveis de suplementação do nucleotídeo inosina-5-monofosfato na forma pura (IMP) (0,12; 0,17; 0,24 e 0,32%). No terceiro dia de idade, foi realizado um desafio sanitário com vacina viva atenuada de *Eimeria* spp. Houve interação ($P < 0,05$) entre os níveis de IMP e o desafio vacinal para GP e CA para os frangos de corte. Desdobrando a interação para o GP, verifica-se que suplementando o IMP na dieta as aves desafiadas com 0,24% e 0,32% não foram observadas diferenças de GP quando comparada as aves não desafiadas. Altura de vilo, relação vilo:cripta de duodeno e altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta apresentaram interação ($P < 0,05$) e desdobrando a interação pode ser observado maior altura de vilo das aves desafiadas nos níveis de suplementação 0%, 0,24% e 0,32% de IMP. Desdobrando a interação da relação vilo:cripta de jejuno pode ser observado que as aves desafiadas apresentaram menores relações das aves não desafiadas nos níveis 0%, 0,17%, 0,24% e 0,32% de suplementação de IMP. Pode ser observado um efeito de níveis ($P < 0,05$) para a contagem de heterofilo, e quanto maior a suplementação de IMP, maior é a população desta célula, como também para desafio sanitário para a contagem de heterofilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e H:L dos frangos de corte suplementados com IMP e o aumento de contagem de heterofilos, eosinófilos, basófilos e H:L e a diminuição de linfócitos e monócitos. Para a contagem de oocistos de *Eimeria* spp. Nos dias pós-infecção 11 e 14 pode ser observado efeito para níveis de suplementação de IMP ($P < 0,05$) e mesmo com o grupo desafiado apresentar maior quantidade de oocistos, pode-se observar menor quantidade conforme houve aumento dos níveis de suplementação. A imunoglobulina A (IgA) apresentou efeito para níveis de suplementação ($P < 0,05$), e pode ser observado aumento de IgA tanto para as aves desafiadas como as não desafiadas com o aumento da suplementação de IMP na dieta. A suplementação de IMP em dietas de frangos de corte influenciou positivamente no desempenho de aves desafiadas a partir de 0,24% para o GP e 0,12% para a CA e redução de oocistos a partir de 0,12% de suplementação, melhorando o sistema imune independente do desafio sanitário. Assim, pode-se concluir que os nucleotídeos AMP, GMP e IMP podem proporcionar melhoras nos índices zootécnicos, sistema imunológico e saúde intestinal.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the use of adenosine-5-monophosphate (AMP), guanosine-5-monophosphate (GMP) and inosine-5-monophosphate (IMP) nucleotides as energy source in broilers diet on animal performance, biochemical profile, immune system, intestinal morphology, carcass yield, cut yield and meat quality of broiler chickens. **Experiment 1:** The experimental period was from 21 to 42 days of age and 896 male broiler chicks of the Cobb-Vantress® strain were used. The experimental design was completely randomized, in a factorial arrangement (2 x 3) +1+1 (AMP and GMP in 3 levels of supplementation, + positive control (PC), + negative control (NC)), totaling 8 treatments, being the PC a conventional diet based on corn and soybean meal; NC control with 100 kcal below the values of the conventional diet, and supplemented in this diet with reduced energy 3 inclusion levels of AMP and GMP (0.07%, 0.14% and 0.21%), 7 repetitions with 16 birds per experimental unit. An interaction was observed for triglycerides ($P < 0.05$), where the AMP supplementation levels with 0.07% and 0.14% had lower values when compared to the level of 0.21% of AMP and all levels of GMP. There was an increasing effect of levels ($P < 0.05$) for AMP where the highest is the AMP supplementation, the highest is the antibody titers. From 0.21% of AMP supplementation there were differences when compared to the NC treatment. For other parameters evaluated, the variables did not differ ($P > 0.05$). It was concluded that with 0.21% of AMP supplementation there was an improvement in the immune system without compromising performance, carcass yield and meat quality. **Experiment 2:** 960-day-old broiler chicks were used in a completely randomized experimental design, with six treatments and eight replications of 20 birds per experimental unit. The treatments consisted of: a conventional positive control diet (PC), a negative control diet (NC) with a reduction of 100 kcal / kg below the values of the PC formulation and four supplementation levels of nucleoside inosine-5-monophosphate (IMP) in NC diet (0, 0.07, 0.12, 0.17 and 0.22%) from 1 to 42 days. At 21 days of age of broilers there was a linear decreasing effect ($P < 0.05$) for feed conversion (FC). In the period of 1-21 days of age of broilers there was a linear decreasing effect ($P < 0.05$) of FC without influencing ($P > 0.05$) in weight gain (WG) and feed intake (FI). There was a linear decreasing effect ($P < 0.05$) for counting heterophiles, monocytes and basophils at 21 days of age. At 21 days of age, an increasing linear effect ($P < 0.05$) can be observed for lymphocyte cell count and for antibody titers. At 42 days of age, an increasing linear effect ($P < 0.05$) can be observed for FI and WG. The IMP levels

presented higher averages in relation to the PC diet ($P < 0.05$) for FI. The NC diet showed lower averages when compared to the IMP levels ($P < 0.05$) for serum glucose, lymphocyte count, antibody titers and volatile NH_3 at 21 days. At 42 days of age, an increasing linear effect ($P < 0.05$) can be observed for lymphocyte count and a decreasing linear effect ($P < 0.05$) for heterophile and glucose count parameters. The IMP levels presented higher averages in relation to PC diet ($P < 0.05$) for FI, pancreas relative weight and differential leukocyte count. The NC diet showed lower averages when compared to the levels of IMP ($P < 0.05$) at 42 days for FI, relative pancreas weight and lymphocyte count. IMP supplementation can supply the energy requirement of diets with reduced metabolizable energy by improving performance parameters at the supplementation level of 0.22% for initial phase and 0.17% and 0.22% for the growth phase, and contributing to the modulation of leukocyte cells and antibodies production from 0.12% supplementation without negatively influencing the yield of carcasses and cuts, meat quality and the elimination of ammonia by excreta. **Experiment 3:** 1000 one-day-old male broiler chickens of the Cobb-Vantress® commercial strain were used, distributed in a completely randomized experimental design, in a 5 x 2 factorial scheme (nucleotide levels x challenged or not with the vaccine against coccidiosis) with five treatments and ten replicates of 20 birds per experimental unit. The treatments consisted of a control diet and four supplementation levels of the nucleotide inosine-5-monophosphate in pure form (IMP) (0.12, 0.17, 0.24 and 0.32%). On the third day of age, a sanitary challenge with live attenuated *Eimeria* spp were carried out. There was interaction ($P < 0.05$) between IMP levels and the vaccine challenge for WG and FC for broilers. Breaking down the interaction for WG, it is verified that supplementing IMP in diet, challenged birds with 0.24% and 0.32% did not show differences in WG when compared to unchallenged birds. Villus height, villus:duodenal crypt ratio and villus height, crypt depth and villus:crypt ratio showed interaction ($P < 0.05$) where, unfolding the interaction, higher villus height of deviated birds can be observed in the supplementation levels 0%, 0.24% and 0.32% IMP. Unfolding the interaction of the villus:jejunal crypt ratio it can be observed that challenged birds had lower ratios than unchallenged birds at the 0%, 0.17%, 0.24% and 0.32% IMP supplementation levels. An effect of levels ($P < 0.05$) can be observed for heterophyll count, where the highest is the IMP supplementation, the highest is the population of this cell, as well as for sanitary challenge for the count of heterophils, lymphocytes, monocytes, eosinophils, basophils and H:L of broiler chickens supplemented with IMP where the increase in the count of heterophils, eosinophils, basophils and H:L and the decrease of lymphocytes and monocytes were observed. For the count of *Eimeria* spp. On days 11 and 14 post-infection, an effect can be observed for IMP supplementation levels ($P < 0.05$) where even with the challenged group presenting a greater number of oocysts, a smaller amount can be observed as there was an increase in supplementation levels. Immunoglobulin A (IgA) showed an effect for supplementation levels ($P < 0.05$), where an increase in IgA can be observed for both challenged and unchallenged birds with the increase of IMP supplementation in diet. IMP supplementation in broiler diets positively influenced the performance of challenged birds from 0.24% for WG and 0.12% for FC and oocyst reduction from 0.12% of supplementation, improving the immune system independent of the health challenge. Thus, it can be concluded that the nucleotides AMP, GMP and IMP can provide improvements in zootechnical indices, immune system and intestinal health.

I.INTRODUÇÃO

A constante busca por resultados melhores no que se refere ao desempenho animal em frangos de corte está em constante ascensão. Produzir alimento de qualidade com custos de produção bem planejados e respeitando os critérios que o mercado consumidor impõe é o desafio atual das agroindústrias para continuar sobrevivendo neste mercado competitivo. Anos atrás, o setor foi impactado severamente com o banimento do uso de promotores de crescimento, moléculas antimicrobianas utilizadas para prevenir enfermidades nos animais, pela União Europeia em janeiro de 2006 (Superchi et al., 2011; Khan, 2014). Desde então, empresas e produtores vêm buscando alternativas, que assim como os promotores anteriormente liberados, otimizem o produção com melhor aproveitamento de nutrientes energéticos, proteicos, vitaminas e minerais (Alagawany et al., 2018).

Neste contexto, as enfermidades intestinais estão entre as principais causas de perdas nos índices zootécnicos como mortalidade das aves, ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Além do mais, o sistema imunológico demanda de grande quantidade de energia para reparar lesões causadas no trato intestinal (Muir, 1998; Muir et al., 2000). Assim, os nucleotídeos são substâncias com potenciais vantagens para o problema abordado (Carver, 1999), uma vez que estes podem fornecer energia para as células e, serem aproveitados em situação de desenvolvimento corporal e estresse (Mateo, 2005).

Desta forma, em situações de rápido desenvolvimento do organismo ou presença de alguma patologia, principalmente no trato gastrointestinal, os nucleotídeos provenientes da dieta podem poupar o custo da síntese “*de novo*” na formação de

nucleotídeos e otimizar a ação de tecidos com rápida divisão celular (Carver, 1999). Assim, a suplementação de nucleotídeos via dieta propicia a renovação de células que demandam aporte de aminoácidos e bases nitrogenadas (Uauy et al., 1994), como , também a produção de imunoglobulinas, principalmente a imunoglobulina A (IgA) (Muir, 1998; Muir et al., 2000), poupando energia, principalmente a que seria utilizada pelo sistema imunológico (Selvaraj, 2012).

Além disso, ao suprir o aporte de nucleotídeos via dieta, a via de salvamento é ativada, fazendo com que as células utilizem as bases nitrogenadas, sem a necessidade de ativação da síntese "de novo" para formação de novos compostos poupando energia (Uauy et al., 1994; Carver, 1999). Igualmente, a nutrição humana os nucleotídeos também são explorados na nutrição animal em diferentes formas, como *blends* (Sauer et al., 2012) e também na forma purificada à base de leveduras, tais como inosina-5-monofosfato (IMP) (Yan et al., 2018), adenosina-5-monofosfato (AMP) e guanosina-5-monofosfato (GMP) (Daneshmand et al., 2017; Meng et al., 2017). Em frangos de corte, a suplementação de nucleotídeos na dieta para o rápido *turnover* celular em enterócitos contribuiu para a maturação e o desenvolvimento de células através de técnicas de isótopos ambientais (Pelícia et al., 2011).

Diante dos efeitos relatados ao uso de tais compostos em dietas animais, três experimentos foram realizados buscando avaliar a influência dos nucleotídeos AMP, GMP e IMP em dietas de frangos de corte. O experimento 1 teve por objetivo avaliar os nucleotídeos AMP e GMP como aditivos em dietas com redução de energia metabolizável, avaliando parâmetros de desempenho, perfil bioquímico, imunológico e de qualidade de carne na fase de crescimento; o experimento 2 buscou utilizar a IMP como aditivo em dietas de frangos de corte com energia metabolizável reduzida na fase de inicial e de crescimento avaliando os parâmetros de desempenho animal, perfil bioquímico, imunológico, de volatilização de amônia (NH₃) em cama das aves, creatinina muscular e na qualidade de carne. E, o experimento 3 avaliou se a utilização da IMP como aditivo em dietas de frangos de corte na fase inicial com desafio de vacina contendo protozoários do gênero *Eimeria* spp. sobre o desempenho, perfil sérico, imunológico e histológico.

1. Nucleotídeos

No metabolismo celular existem compostos com funções importantes e essenciais para a vida. Dentre estes compostos estão os nucleotídeos, que são capazes de constituírem os ácidos desoxirribonucleicos (DNA) e ribonucleico (RNA), que são primordiais para armazenar informações genéticas dos seres vivos. São também cofatores enzimáticos, reguladores fisiológicos (AMP cíclico por exemplo) e, por fim, considerados moedas energéticas no metabolismo celular constituídos nas moléculas de adenosina-trifosfato (ATP) e guanosina-trifosfato (GTP) (Nelson e Cox, 2013).

Os nucleotídeos são grupos de agentes bioativos de baixo peso molecular como também compostos intracelulares, que desempenham papel importante na fisiologia atividades de animais. Estas moléculas consistem basicamente em uma base nitrogenada, uma pentose e de um a três fosfatos e na ausência do grupamento fosfato. Esta molécula é conhecida como nucleosídeo (Rudolph, 1994). São heterocíclicos, ou seja, contêm anéis não uniformes entre si e derivados das purinas e das pirimidinas, com uma molécula de açúcar conectada a um nitrogênio do anel de uma purina ou pirimidina (Rodwell et al., 2017). O açúcar nos ribonucleosídeos é a D-ribose, enquanto nos desoxirribonucleosídeos é a 2-desoxi-d-ribose, sendo que estes estão ligados através da ligação β -N-glicosídica, no N-1 de uma pirimidina e no N-9 de uma purina (Nelson and Cox, 2013).

As pirimidinas e purinas sofrem conversões entre bases, nucleosídeos e nucleotídeos. Um nucleosídeo é formado quando uma pirimidina ou purina se liga a um açúcar pentose, ribose ou 2-desoxirribose, via uma ligação glicosídica. Posteriormente, um nucleotídeo resulta quando o ácido fosfórico é esterificado na pentose de um nucleosídeo (Figura 1). Mono, di ou trifosfatos podem se formar, e essas formas são prontamente interconvertidas, pois funcionam na energia celular e metabolismo (Rudolph, 1994). Independente do ácido nucleico (DNA ou RNA) existem nestas moléculas duas bases púricas conhecidas como adenina (A) e guanina (G). No caso das duas pirimídicas, a citosina (C) é semelhante entre o DNA e o RNA, entretanto, há uma distinção entre a segunda base pirimídica, sendo para DNA a timina (T), enquanto para RNA é a uracila (U) (Figura 2) (Rudolph, 1994).

No que se refere a ligação entre as bases púricas e pirimídicas, purinas e pirimidinas estão sempre ligadas formando um par sob forma de hidrogênio, portanto

frágeis em meios aquosos devido a hidrólise que ocorre nesta situação. Assim, no momento em que uma adenina estiver presente, uma ligação com uma timina ou uma uracila existirá, enquanto na existência de uma guanina, uma citosina está conectada através das pontes de hidrogênio (Rodwell et al., 2017).

Porém, para que todos estes nucleotídeos se proliferem atuando em suas respectivas funções vitais nos organismos vivos, estas moléculas devem ser sintetizadas. E, para formação dos nucleotídeos existem duas vias para sintetizá-los conhecidas como via *de novo* e vias de salvamento (Carver, 1994; Rudolph, 1994; Carver, 1999).

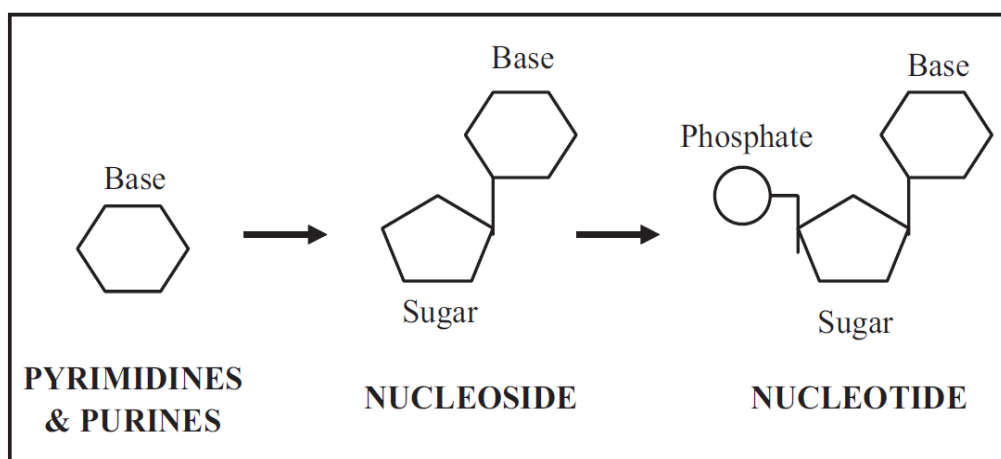


Figura 1. Estrutura e formação do nucleotídeo (Hess e Greenberg, 2012).

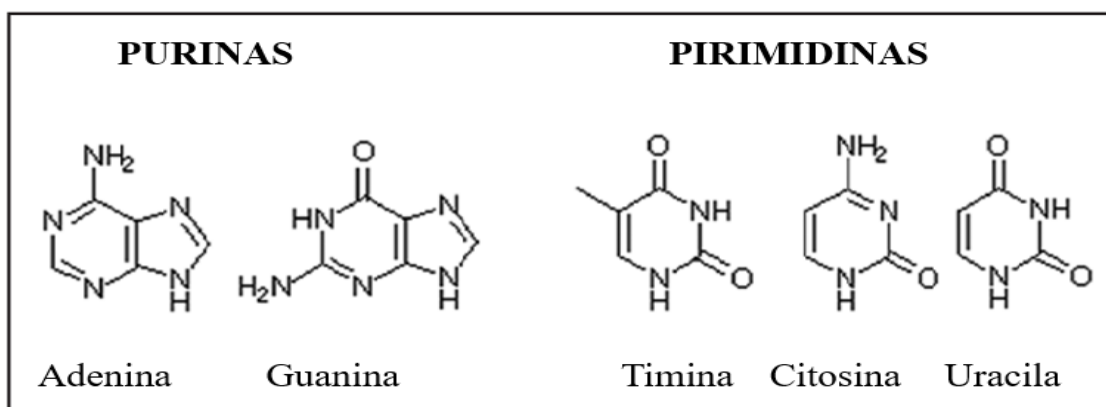


Figura 2. Estruturas das bases nitrogenadas nos nucleotídeos (Hess e Greenberg, 2012).

2. Fontes de nucleotídeos

Nos alimentos, de maneira geral, existe uma quantidade de nucleoproteínas, ácidos nucleicos ou até mesmo nucleotídeos, que são ingeridos e podem ser digeridos e absorvidos pelos organismos vivos (Quan et al., 1990). Estas substâncias podem ser encontradas em concentrações diferentes em todos os alimentos de origem animal e vegetal, na forma de proteínas conectadas aos ácidos nucleicos conhecidos como nucleoproteínas (Schloerb, 2001).

Carnes e sementes contêm em sua composição uma quantidade maior de nucleotídeos quando comparados ao leite, ovos e frutas em que estas concentrações dependem, principalmente da densidade celular destes alimentos. A exemplo disso, o conteúdo total de RNA oscila entre 50 e 400 mg /100 g para as vísceras animais, 80 e 350 mg/100 g para alimentos marinhos e 140 e 490 mg/100 g para leguminosas secas (Gil, 2002).

Apesar de ter uma quantidade inferior de nucleotídeos quando comparada a outras fontes de alimentos, o leite é o alimento com maior quantidade de estudos com esta temática (Singhal et al., 2010; Wang et al., 2015). A utilização de nucleotídeos em fórmulas infantis de leite podem proporcionar melhor ganho de peso e desenvolvimento da criança (Gil, 2002), desenvolvimento cerebral (Wang et al., 2015) e prevenção contra diarreia e problemas gastrointestinais (Singhal et al., 2008).

Produtos comerciais contendo nucleotídeos são produzidos a partir de leveduras (Shurson, 2018). As leveduras podem ter concentração de nucleotídeos variando entre 3,3 e 9,5% (Bacha et al., 2013). Estudos vêm demonstrando que estas leveduras, exemplo da *Saccharomyces cerevisiae*, contêm alta quantidade de nucleotídeos purínicos em sua composição (Hesketh et al., 2019).

Dentre os nucleotídeos purínicos estão a adenosina-5-monofosfato (AMP), guanosina-5-monofosfato (GMP) e a inosina-5-monofosfato (IMP) e estes podem ser utilizados tanto em alimentos relacionados a existência destas leveduras (Carver, 1999; Singhal et al., 2010; Shurson, 2018; Wu et al., 2018), como também em extratos de leveduras ou a purificação dos nucleotídeos a partir deste produto (Zhang et al., 2008; Daneshmand et al., 2017; Yan et al., 2018).

3. Síntese dos nucleotídeos

De maneira geral, os organismos vivos podem sintetizar nucleotídeos através de processos como a via *de novo* e a via de salvamento (Figura 4) (Carver, 1999). Estes processos ocorrem independentemente se as bases nitrogenadas são purinas ou pirimidinas. A via *de novo* tem como propósito a formação de novos nucleotídeos celulares a partir de 10 reações. Quando é levado em consideração as purinas, a primeira substância formada é a inosina-5-monofosfato (IMP) que pode ser convertida em adenosina-monofosfato (AMP) ou guanosina-monofosfato (GMP), dependendo da necessidade celular do nucleotídeo. Nas pirimidinas, diferentemente das purinas, não existe a ação da fosforribosil-pirofosfato (PRPP), e esta substância não participa até a formação do ácido orótico e conseqüentemente da orotidina-monofosfato (OMP). A uridina monofosfato (UMP) é formada a partir da OMP, que por sua vez origina a CTP (citosina trifosfato) e a TTP (tiamina trifosfato) (Rudolph, 1994).

No caso das vias de salvamento ou recuperação, nas quais nucleotídeos são formados a partir de bases e nucleosídeos pré-formados, servem como processo mais eficiente em termos de energia e como o principal caminho de síntese em células que não podem realizar a síntese *de novo* (Hess e Greenberg, 2012). Por exemplo, tecidos em rápida proliferação do sistema imunológico e gastrointestinais podem não conseguir atender as demandas de nucleotídeos pela via de síntese *de novo*, porém a via de salvamento pode ser iniciada para suprir a necessidade de nucleotídeos (Muir et al., 2000; Gil, 2002). Cabe enfatizar que a formação dos nucleotídeos pela via *de novo* ou pela via de salvamento dependem também da fase do ciclo celular que uma célula de um tecido específico está no momento (Grimble e Westwood, 2001).

A via de salvamento pode iniciar a partir da necessidade de nucleotídeos pelas células quando a via “de novo não” é suficiente para a formação de novos nucleotídeos. Bases purínicas encontradas no citoplasma celular podem reagir com enzimas específicas e substratos para a via de salvamento ter continuidade. Importante ressaltar, para que ocorra a transformação de bases e nucleosídeos em nucleotídeos, o PRPP com a ação da hipoxantina-guanina-fosforiboxiltransferase (HGPRT), para a base de guanina, e adenina-fosforribosiltransferase (APRT), para a adenosina são importantes para originar

novamente os nucleotídeos GMP e AMP respectivamente (Quan et al., 1990; Sanderson e He, 1994; Uauy et al., 1994).

Como os nucleotídeos são produzidos endogenamente pelos seres vivos, estas substâncias não são consideradas essenciais e são classificadas como “semiessenciais” (Carver, 1999). Assim, ele é considerado apenas essencial ou semiessencial no momento em que exista necessidade destes nutrientes (Uauy et al., 1994; Muir, 1998; Carver, 1999).

Caso não exista a ingestão alimentar de qualquer derivado dos nucleotídeos, ou até mesmo baixas quantidades, os enterócitos podem ativar a síntese *de novo* e utilizando aminoácidos disponíveis nestas células, sintetizar nucleotídeos que podem ser utilizados para a formação de ácidos nucleicos, podem ser degradados em nucleosídeos e bases nitrogenadas podendo ser convertidos em ácido úrico, retornando para o lúmen intestinal ou corrente sanguínea (Quan et al., 1990; Uauy et al., 1994).

4. Absorção dos nucleotídeos

Na cavidade oral, esôfago e estômago, estes ácidos nucleicos e nucleotídeos não são digeridos, pois, apenas enzimas digestivas do suco pancreático, como as proteases, hidrolisam as nucleoproteínas em ácidos nucleicos, e as fosfoesterases, desoxirribonucleases e as ribonucleases transformam os ácidos nucleicos em nucleotídeos na porção duodenal do intestino liberadas através da ação nervosa das glândulas parótidas no momento da alimentação (Uauy et al., 1994; Lu et al., 2003).

Nucleotidases e fosfatases alcalinas intestinais podem hidrolisar os nucleotídeos em nucleosídeos no lúmen intestinal (Figura 3) e, conseqüentemente serem absorvidos também através de transportadores de sódios nos enterócitos (Uauy et al., 1994). Os nucleotídeos, de maneira geral, não são facilmente absorvidos nas vilosidades intestinais por não adentrarem as membranas celulares, necessitando de receptores específicos de membrana (Sanderson e He, 1994). Assim, quando não absorvidos na forma de nucleotídeos serão hidrolisados em nucleosídeos e, caso não absorvidos pelos enterócitos

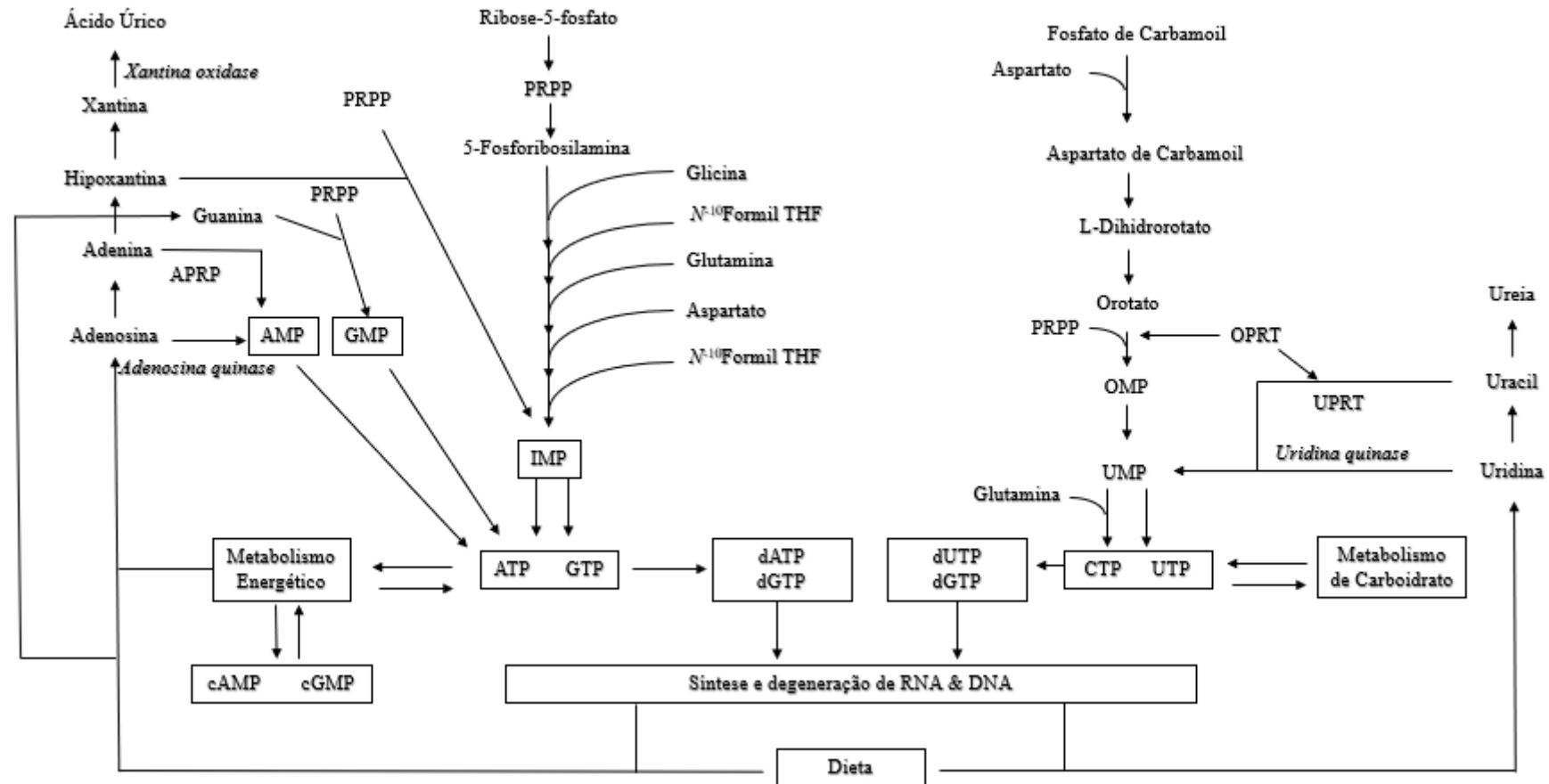


Figura 3. Via *de novo* e de salvamento das purinas e pirimidinas adaptado de Grimble e Westwood (2001).

As enzimas localizadas na região das bordas em escova das vilosidades intestinais conhecidas como (nucleosidases e fosfatases) hidrolisam estes nucleosídeos em pentoses (riboses ou desoxirriboses), bases nitrogenadas e íons fosfato (Quan et al., 1990).

Após adentrarem nos enterócitos os nucleotídeos, nucleosídeos, purinas e pirimidinas podem participar nas vias de salvamento, sendo nucleosídeos e bases nitrogenadas convertidos em nucleotídeos ou em ácidos nucleicos. Os nucleosídeos absorvidos através dos enterócitos, estes podem ser degradados em ácido úrico e retornarem novamente ao lúmen intestinal, como também, serem absorvidos e seguir no sistema circulatório (Quan et al., 1990; Uauy et al., 1994).

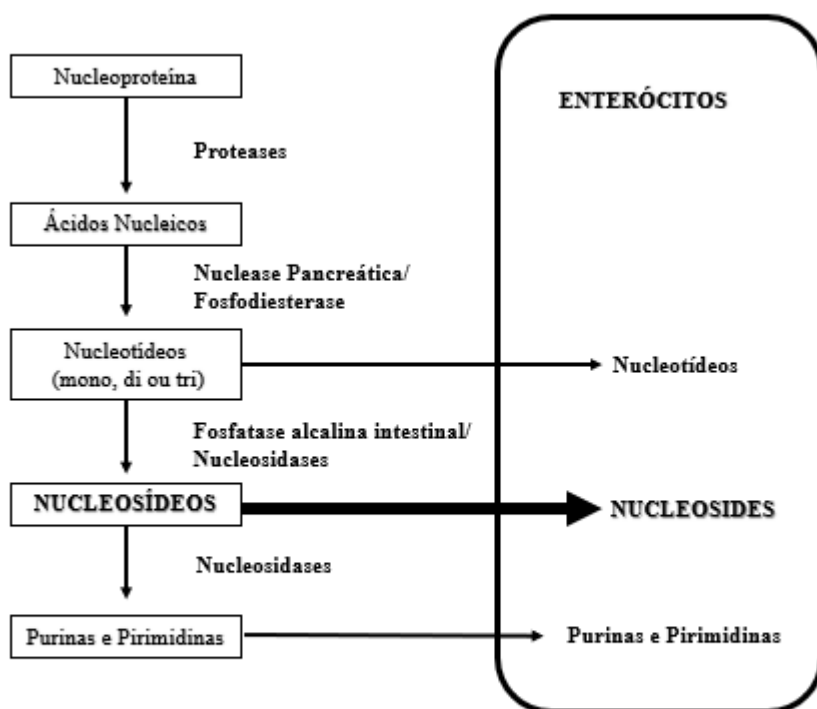


Figura 4. Digestão e absorção dos nucleotídeos (Hung, 2015) adaptado de (Uauy et al., 1994)

5. Nucleotídeos no metabolismo energético

Os nucleotídeos podem desempenhar funções fisiológicas importantes nos organismos vivos. São moléculas que participam diretamente na biossíntese de adenosina-trifosfato (ATP) essencial para o metabolismo energético, aumentando a atividade enzimática para replicação do DNA no processo de divisão celular na mitose (Carver, 1999) e a síntese de proteínas, por estar envolvido na síntese de RNA (Nelson e Cox, 2013).

A nível celular, o ATP é a principal fonte de energia livre (Hess and Greenberg, 2012) e como doador e receptor primário de fosforil, o ATP e a adenosina-difosfato (ADP) facilitam a transferência de energia química das reações catabólicas produtoras de energia para as reações dependentes de energia da biossíntese, especificamente interconversões metabólicas e fosforilação oxidativa (Carver, 1999).

Podem atuar nas reações de oxido-redução de proteínas, carboidratos e lipídeos relacionados com a produção de coenzimas e metabolismo lipídico aumentando moléculas de carbono em ácidos graxos, proporcionando formação de ácidos graxos poli-insaturados. Promovem estímulo na hematopoese aumentando a afinidade do oxigênio por hemoglobina no sistema circulatório. No sistema digestório, especificamente nas células epiteliais, os nucleotídeos como AMP, GMP e UMP são capazes de influenciar o crescimento, maturação e recuperação/ regeneração (Li et al., 2016; Daneshmand et al., 2017).

A partir do momento que existe uma condição de imunossupressão em relação a alteração de metabolismo, o requerimento de nutrientes como proteínas, fontes de energia, minerais e vitaminas devem ser considerados, pois a demanda por nutrientes associada ao sistema imunológico comprometido é um componente dos "custos" de manutenção de uma ave (Selvaraj, 2012). Além disso, a repartição e o desvio de nutrientes da produção em favor de funções imunológicas relacionadas não são eficientes ou desejáveis. (Chadd, 2007). Este comportamento do sistema imunológico é crucial para o entendimento da importância entre a ativação e o consumo de energia que ao ser ativado, pois ao ser ativado pode consumir 25% a 30% da taxa metabólica energética (Figura 5) do organismo (Straub et al., 2010).

Todas estas funções fisiológicas demandam nucleotídeos, e a produção destas substâncias endógenas pode exigir a ação de mecanismos para a produção de novos nucleotídeos. Assim, a via *de novo*, levando em consideração a necessidade energética do processo, é onerosa, necessitando de requerimento de precursores de aminoácidos, além de grande quantidade de energia na forma de ATP (Carver, 1999).

Porém, outro mecanismo alternativo para a manutenção de *pools* de nucleotídeos é necessária, em que bases pré-formadas de pirimidinas e purinas, junto de nucleosídeos são convertidos em nucleotídeos através da via de salvamento (Carver, 1999). Esta via pode proporcionar economia de energia do organismo na produção de novos *pools* de nucleotídeos permitindo que células incapazes de promover a via *de novo* produzam nucleotídeos para atender à exigência momentânea desta substância, além de manter um saldo apropriados de nucleotídeos no organismo (Rudolph, 1994).

6. Ação fisiológica dos nucleotídeos no trato intestinal

Os nucleotídeos, principalmente quando provenientes de fontes exógenas, podem promover benefícios para os enterócitos que estão em desenvolvimento ou em crescimento, por serem células de alta proliferação celular e com maior demanda de síntese de DNA e RNA (Hess e Greenberg, 2012). Contudo, as células intestinais ao *turnover* celular rápido precisa ativar a via *de novo* para suprir a demanda de nucleotídeos, porém, o enterócito é limitado para produzir a quantidade necessária, principalmente dos nucleotídeos de bases purínicas. Mesmo que a síntese de pirimidinas é maior quando comparada a das purinas, ainda assim, o processo é ineficiente e demanda alto requerimento de energia (Carver, 1999). Devido a estas características, o enterócito utiliza preferencialmente as purinas para realizar a via de salvamento (Savaiano e Clifford, 1981).

Assim, a utilização de nucleotídeos na dieta pode favorecer o desenvolvimento intestinal dos animais. Em roedores recém-desmamados pode ser observado a aceleração da maturação do intestino ao serem suplementados com nucleosídeos, aumento dos níveis de proteínas mucosais, aumento de DNA e altura de vilosidades quando comparados com os roedores que consumiram a dieta com ausência de suplementação de nucleosídeos

(Uauy et al., 1990). No mesmo experimento, roedores adultos que consumiram mesmas dietas com redução de nucleosídeos, apresentaram diminuição da atividade de marcadores de maturação intestinal, como as enzimas fosfatase alcalina, leucina aminopeptidase, sulcrase, maltase e lactase. Estes resultado podem estar relacionados a capacidade destes nucleosídeos de suprirem a quantidade necessária de nucleotídeos pela hipótese (Savaiano e Clifford, 1981), pois os enterócitos não são eficientes em promover a síntese *de novo* das purinas.

Sem desafios de microrganismos nas alças intestinais, a utilização de nucleotídeos na dieta de animais de produção também se mostrou eficiente em relação ao desenvolvimento do intestino dos animais (Daneshmand et al., 2017; Wu et al., 2018). A utilização de nucleotídeos purínicos GMP e AMP demonstraram eficientes no desenvolvimento intestinal, apresentando aumento da altura de vilo e aumento da profundidade de cripta em aves que foram suplementadas com a AMP (Daneshmand et al., 2017). Estes resultados apontam que as vilosidades são as estruturas mais importantes no que se refere a absorção dos nutrientes provindos da dieta, a quantidade de vilosidades e a qualidade é um fator determinante para o desenvolvimento dos animais (Sato et al., 1999). Assim, a quantidade aumentada destas substâncias relacionadas aos nucleotídeos, como a adenosina, pode aumentar também o material genético e assim melhorar a capacidade de absorção de nutrientes (Ho et al., 1979)

7. Nucleotídeos na saúde animal

Proliferações parasitárias por protozoários a nível intestinal e infecções bacterianas sistêmicas do trato digestório são situações clínicas com impacto negativo na produção de frangos de corte (Krüger e Van Der Werf, 2018b). No entanto, com a proibição do uso de promotores de crescimento na produção animal pela União europeia, buscando eliminar as chances do produto cárneo conter resíduos destes antibióticos para evitar uma eventual resistência a estes microrganismos, alternativas devem ser estudadas para garantir a saúde dos animais (Swiatkiewicz et al., 2014).

As enfermidades, independente da espécie animal durante a fase inicial de produção, ocorrem com frequência por diversos fatores, como em situações de estresse

por alta densidade e a separação entre a cria e a matriz (Sauer et al., 2012). A utilização de nucleotídeos na dieta de animais que foram desafiados com agentes causadores de lesões intestinais apresentaram maior crescimento e maturação celular neste órgão, mostram rapidez na recuperação da enfermidade (Carver, 1999).

A UMP tem a capacidade de reduzir a diarreia em leitões desmamados, além de preservar as vilosidades intestinais promovendo melhor desenvolvimento deste órgão e conseqüentemente apresentam melhores resultados para o parâmetro de desempenho (Li et al., 2016). Uma quantidade reduzida de estudos é encontrada na literatura relacionada aos nucleotídeos com a saúde de frangos de corte, galinhas de postura comercial e perus. Dentre os estudos existentes, a utilização de nucleotídeos purificados pode aumentar o estímulo do sistema imune humoral, elevando os títulos de anticorpos contra o vírus da vacina de Bronquite infecciosa das aves (IBV), promovendo ação adjuvante a vacina (Wu et al., 2018).

8. Nucleotídeos e o sistema imunológico

8.1. Sistema imunológico celular e humoral

O entendimento do estado fisiológico das aves é de suma importância para a prevenção de infecções patogênicas e casuísticas de enfermidades na avicultura. Apesar de não existir evidências de um mecanismo específico referente a ação dos nucleotídeos provenientes da suplementação dietética sobre o sistema imunológico sistêmico, este aditivo pode influenciar o sistema imune celular e humoral (Wu et al., 2018).

Segundo Rudolph et al. (1985), o sistema imunológico quando em situação de baixo aporte de purinas e pirimidinas na dieta, apresentou redução nas respostas do sistema imunológico *in vitro* e *in vivo*, em que linfócitos T-Helper (Th) apresentaram redução na população celular, diminuição da atividade e maturação de linfócitos T e apoptose celular de linfócitos. Assim, estes efeitos podem supor que os linfócitos T apresentaram dependência de nucleotídeos obtidos através da via de salvamento para manter a população destes leucócitos.

A capacidade de linfócitos relacionados a produção de anticorpos otimizarem a titulação de anticorpos se faz presente com o uso de AMP e GMP em animais com desafios vacinais por mecanismos desconhecidos (Daneshmand et al., 2017). Pode ser observado que suínos na fase de terminação, alimentados com dietas de alta inclusão de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) e suplementados com nucleotídeos, não apresentaram prevenção da oxidação lipídica corporal, mas foi observada capacidade de defesa aos danos no DNA de linfócitos localizados na corrente sanguínea (Salobir et al., 2007).

A nível sérico, poucos estudos são realizados utilizando nucleotídeos como aditivo na dieta na produção animal, porém, pesquisas apontam que nucleotídeos contribuem com o aumento de imunoglobulinas (Daneshmand et al., 2017). Além disso, não apenas a produção de imunoglobulinas, mas o processos inflamatório causado por situações de estresse e infecções provenientes de patógenos requer energia em maior quantidade e modulando substâncias energéticas para ações voltadas ao sistema nervoso central (SNC) em que os estímulos para liberação de citocinas são realizadas, como também outros órgãos endócrinos e imunológicos (Straub et al., 2010).

Em estudos utilizando aves livres de patógenos específicos (*specific pathogen-free* ou SPF) desafiadas com vírus de bronquite infecciosa das aves (IBV) e suplementadas com nucleotídeos à base de leveduras na dieta, foi observado aumento dos títulos de anticorpos contra este patógeno, confeccionando uma resposta rápida e fortalecida do sistema imunológico contra o IBV (Wu et al., 2018). Além disso, ao determinarem o comportamento de interleucinas (IL) e interferons em íleo de aves SPF foi observada a diminuição de interferon-alfa (INF- α) nas aves que consumiram os nucleotídeos à base de leveduras. Estas IL's são produzidas pelos linfócitos T e normalmente são produzidas em processos inflamatórios (Sabat et al., 2014). O INF- α é uma citocina pró-inflamatória que atua interferindo na replicação de microrganismos patogênicos em células dos organismos vivos (Paul et al., 2015). Com a redução desta citocina sem a influência de das IL-22 e IL-17, a ação do sistema imune inato na região de íleo de aves SPF se apresentou moderado com a suplementação de nucleotídeos na dieta (Wu et al., 2018).

8.2.Sistema imunológico e a barreira intestinal

O intestino, juntamente com o mesentério são atualmente considerados órgãos importantes do sistema imunológico na ação contra agressões por patógenos e toxinas no trato gastrointestinal. Cabe salientar que a barreira intestinal é composta por quatro fatores importantes que atuam para neutralizar microrganismos e toxinas, que são as barreiras físicas, químicas, imunológicas e de microrganismos (Abbas et al., 2015). Dentre as físicas e químicas, a formação de muco com aumento de células caliciformes nos enterócitos é evidenciada pela maior expressão gênica de mucinas e zônulas de oclusões (Wu et al., 2018). Junto a formação de muco, a liberação de imunoglobulinas pode ser observada que a principal imunoglobulina é a IgA produzida pelo sistema imunológico mucosal, a partir de mecanismos que ocorrem na porção intestinal (Sanderson and He, 1994; Muir, 1998; Muir et al., 2000).

No intestino, existe um tecido linfoide associado a mucosa ou MALT (*mucosa-associated lymphoid tissue*), localizado por toda a superfície epitelial e, mesmo com ação de células imunológicas como linfócitos T-CD8 aderidos em vilosidades e células dendríticas captadoras de antígenos, o principal mecanismo de defesa contra patógenos é realizado através da produção e liberação de imunoglobulinas para o lúmen intestinal, em que a principal imunoglobulina neutralizadora de antígenos é a imunoglobulina A (IgA) (Abbas et al., 2015). A síntese desta imunoglobulina pode ser dividida em vias aferente e eferente (Muir, 1998).

A produção das imunoglobulinas se inicia primeiramente com a existência de células imunológicas maduras e imaturas, produzidas na medula óssea através do processo de hematopoese na corrente sanguínea. Estas células imunológicas são estocadas em linfonodos, no caso de mamíferos (Abbas et al., 2015), e em órgãos imunológicos como bolsa cloacal e divertículo de Meckel nas aves (Jeurissen et al., 1994). No momento em que um antígeno localizado no lúmen intestinal adentra as vilosidades e entra em contato com as placas de Peyer, as células microdigitadas, microfenestradas ou M desta estrutura tem a função de capturar este antígeno e transportar para o interior da placa de Peyer para serem ligados as células de defesa, como Linfócitos T, B e células dendríticas, e iniciarem a resposta imune (Abbas et al., 2015). As placas de Peyer das aves apresentam estruturas conhecidas como Coroa e núcleo folicular que contém linfócitos B, e a região interfolicular em que estão montante de linfócitos T (Muir, 1998).

Estas células de defesa adentraram a lâmina própria desta estrutura através de veias de capilares sanguíneos que irrigam a região pela ação de citocinas nesta região estimulando receptores conhecidos como CCR7 e L-selectina dos linfócitos (Abbas et al., 2015). Assim, com o antígeno no interior da lâmina própria, as células dendríticas captam esse antígeno e apresentam para os linfócitos T-CD8 e T-CD4 encontrados na região interfolicular que, por sua vez, transmitem a informação do antígeno para os linfócitos B imaturos (*Naive-B-Cells*) encontrados nos folículos. Deste modo, estas células iniciam a produção de imunoglobulinas M e adquirem a capacidade de saírem dos folículos e das células dendríticas, linfócitos T-CD4 e T-CD8, já ativados, retornam a corrente sanguínea até encontrarem órgãos com áreas linfoides aferentes, no caso a bolsa cloacal, divertículo de Meckel e tonsilas cecais (Muir, 1998).

No interior destes órgãos linfoides os linfócitos B imaturos que são nativos dos folículos da bolsa cloacal, divertículo de Meckel e tonsilas cecais podem ser diferenciados em células plasmáticas ou plasmócitos. Este evento ocorre com a apresentação de antígenos das células dendríticas através da reação do retinol em ácido retinoico para células imaturas T locais, ativando-as em linfócitos T-CD4 e T-CD8 que apresentam os antígenos aos linfócitos B imaturos dos folículos, ocorrendo a diferenciação destes linfócitos B em plasmócitos. Essa diferenciação é importante pela exclusividade destes plasmócitos em produzir a IgA, sendo que os linfócitos B localizados na lâmina própria das placas de Peyer produzirem especificamente IgM (Abbas et al., 2015). Nos epitélios dos tecidos, células Th2 atuam liberando interleucinas, como por exemplo a interleucina 5 (IL-5) e interleucina 6 (IL-6) dentre as células de defesa contribuindo na transformação de imunoglobulinas M (IgM), encontradas em células plasmáticas. Nos mamíferos esta diferenciação ocorre no linfonodo mesentérico (Abbas et al., 2015).

Deste modo, após existir a diferenciação de células B imaturas em plasmócitos, e a ativação dos linfócitos T-CD4 e T-CD8, estas células de defesas e imunoglobulinas sintetizadas neste processo adentram ao ducto linfático torácico e, em seguida, na circulação sanguínea. Até este ponto, todas estas etapas compõem a via aferente de produção de IgA (Muir, 1998). Da circulação sanguínea, não somente para o trato intestinal, estas imunoglobulinas A e as células de defesas preparadas para a imunidade de mucosas também podem migrar para outros sítios de mucosa localizados no trato respiratório e urogenital (Abbas et al., 2015).

No sistema digestório, a IgA pode chegar ao lúmen intestinal pela via eferente, através de plasmócitos localizados na lâmina própria, e ainda pelos ductos biliares (Muir, 1998). Quando os linfócitos B imaturos ou linfoblastos com IgA, células T-CD4, T-CD8 e IgA estão na corrente sanguínea, após retornarem via ductos linfáticos torácicos, estes ultrapassam os capilares ao se conectarem com receptores das células endoteliais chamados MADCAM-1 e CCL25 (Miles et al., 2007). Ao adentrarem na lâmina própria das células intestinais, os linfócitos T-CD4, T-CD8 e plasmócitos ficam dispostos para atuarem com estímulo de liberação de IgA, no caso dos plasmócitos e, numa situação de nova entrada de antígenos via células M, a possibilidade de propiciar continuidade a via aferente de produção de IgA captando o antígeno das células dendríticas (Abbas et al., 2015). A liberação de IgA pode ocorrer no interior da lâmina própria pelas células plasmáticas, em situação que antígenos são sequestrados pelas células M e no momento que adentram, as IgAs na forma dimétrica ou (fixas através da ligação *J-chain* produzida através de interleucinas 2 e 5 pelos linfócitos B aumentando a atividade da imunoglobulina A), ligam-se ao antígeno e adentram a célula epitelial, expulsando das vilosidades intestinais o patógeno (Johansen et al., 2000). Esta mesma forma dimétrica tem a capacidade de se ligar as estruturas encontradas nas células epiteliais, com funções de transportadores específicos de imunoglobulinas para a superfície desta célula intestinal, através de um componente de secreção à base de glicoproteínas e é expresso nas células epiteliais a partir de níveis de citocinas como por exemplo a IL-4, TNF- α e INF- γ (Abbas et al., 2015).

A liberação de IgA através dos ductos biliares ocorre porque as imunoglobulinas A são produzidas na lâmina própria intestinal e ao circularem na corrente sanguínea invadem os hepatócitos através de um transporte seletivo feito entre polímeros de IgA e um componente de secreção específico das células hepáticas, e conseqüentemente caem na vesícula biliar e ducto (Rose et al., 1981). A utilização de nucleotídeos dietéticos (AMP e GMP) podem proporcionar aumento na liberação de IgA na mucosa intestinal de frangos de corte na fase inicial, promovendo proteção ao sistema imune mucosal no intestino delgado (Daneshmand et al., 2017).

9. Nucleotídeos na nutrição animal

Atualmente, existe a necessidade de encontrar produtos que substituam antibióticos e promotores de crescimento na produção animal, com o intuito de diminuir a resistência bacteriana, tanto para o animal como consumidor dos produtos de origem animal (Mateo, 2005; Khan, 2014). Existem estudos sobre a utilização de nucleotídeos na nutrição animal. *Blends* de nucleotídeos contendo adenosina-monofosfato (AMP), guanosina-monofosfato (GMP), inosina-5-monofosfato (IMP), uridina-monofosfato (UMP) à base de leveduras (Jung e Batal, 2012), alimentos (Alizadeh et al., 2016) e estes mesmos nucleotídeos purificados (Sauer et al., 2012; Weaver e Kim, 2014; Daneshmand et al., 2017; Yan et al., 2018) foram suplementados em dietas em experimentação animal.

Cabe ressaltar que diferentemente dos mamíferos que podem obter os nucleotídeos a partir da amamentação, anabolismo endógeno através da via de salvamento e ingestão de alimentos, em aves os nutrientes são consumidos através de anabolismo pela via de salvamento e ingestão de alimentos (Wu et al., 2018).

9.1.1. Nucleotídeos para aves

A atuação como imunoestimulante, saúde e desenvolvimento intestinal e melhoria de parâmetros de desempenho são focos das pesquisas com a utilização de nucleotídeos como aditivos em dietas na avicultura industrial. Considerando os parâmetros de desempenho, a utilização de nucleotídeos purificados como AMP como aditivo em dieta de frangos de corte na fase inicial quando comparado ao GMP apresentaram melhora no ganho de peso (Daneshmand et al., 2017). Segundo os autores como o AMP é importante para suprir as células intestinais e conseqüentemente melhorar a qualidade e quantidade dos vilos para garantir os melhores parâmetros de desempenho e a disponibilidade de nucleosídeos no pool de nucleotídeos contribui para disponibilizar substâncias precursoras de material genético para o desenvolvimento destas estruturas (Sato et al., 1999).

Em relação a saúde animal, existem poucos experimentos realizados que avaliam parâmetros imunológicos e/ou com desafios sanitários na avicultura. Daneshmand et al.

(2017) avaliaram parâmetros imunológicos em frangos de corte na fase inicial utilizando AMP e GMP, observando aumento dos títulos de IgA de muco intestinal com a suplementação do AMP como aditivo pela ação de estimular citocinas e células leucocitárias a nível de órgãos linfoides, facilitando a maturação de linfócitos B e células plasmáticas que produzem esta imunoglobulina.

Wu et al., 2018 relatam que nucleotídeos suplementados em dieta de aves SPF proporcionam melhora nos parâmetros de desenvolvimento histológico de intestino, apresentando índices de altura de vilos e profundidade de criptas superiores, como também, contribuem para a presença e diversidade de microrganismos benéficos, propiciando a proliferação de bactérias do gênero *Lactobacillus* spp. Não foram encontrados estudos referentes a utilização de IMP purificado avaliando parâmetros imunológicos em frangos de corte, porém, trabalhos relacionados a qualidade de carnes e sabor são mais comuns com frangos de corte (Yan et al., 2018).

A IMP tem a capacidade de proporcionar sabor aos alimentos. Segundo Yan et al. (2018), a IMP tem a capacidade de *umami taste* de 50 vezes superior ao do glutamato monossódico. Além disso, este mesmo estudo conclui que mesmo sem afetar o desempenho dos animais, em relação ao ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar, este nucleotídeo como aditivo na dieta de frangos de corte pode ser depositado em cortes de peito e proporcionar aumento das enzimas que sintetizam a IMP, assim como reduzir as enzimas que degradam este nucleotídeo. Porém, em aves mais rústicas como as *Taihei Silkies* a quantidade de IMP na musculatura pode reduzir durante o período de produção, apresentando maiores níveis nos primeiros dias (Chen et al., 2002b).

Diferentes cortes de carne de frangos podem ter diferentes teores de IMP estocados em fibra muscular. Comparando a quantidade de IMP entre peito e coxa de galinhas da linhagem *Indian Country*, foi observado maior quantidade na carne de peito. No mesmo estudo, demonstrou que quanto menor o pH, maior é a degradação do IMP na musculatura do peito e quanto maior o pH, a degradação é maior em coxa de frangos de corte. Além disso, quanto maior a temperatura de cocção maior é a quantidade de IMP disponível na musculatura e conferindo maior sabor para a carne (Vani et al., 2006).

10. Referências bibliográficas

- Abbas, A. K., A. H. Lichtman, and S. Pillai. 2015. Cellular and molecular immunology. p 1195. Elsevier Inc.
- Alagawany, M., S. S. Elnesr, and M. R. Farag. 2018. The role of enzymes in promoting growth and improving nutrient digestibility in poultry. *Iranian Journal of Veterinary Research* 19(3):157-164.
- Alizadeh, M., J. C. Rodriguez-Lecompte, A. Rogiewicz, R. Patterson, and B. A. Slominski. 2016. Effect of yeast-derived products and distillers dried grains with solubles (DDGS) on growth performance, gut morphology, and gene expression of pattern recognition receptors and cytokines in broiler chickens. *Poultry science* 95(3):507-517. doi: 10.3382/ps/pev362
- Bacha, U., M. Nasir, M. Ali, J. Muhammad, and A. A. Sheikh. 2013. Nucleotides Supplementation Improves Various Function of the Body. *Journal of Animal Health and Production* 1(1):1-5.
- Carver, J. D. 1994. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system. *Journal of Nutrition* 124:144S-148S.
- Carver, J. D. 1999. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Pædiatrica Suppl.* 430:83-88.
- Chadd, S. 2007. Future trends and developments in poultry nutrition. Poultry in the 21st century avian influenza and beyond. International Poultry Conference. Bangkok, November 2007.
- Chen, G. H., H. F. Li, X. S. Wu, B. C. Li, K. Z. Xie, G. J. Dai, K. W. Chen, X. Y. Zhang, and K. H. Wang. 2002. Factors affecting the Inosine Monophosphate content of muscles in Taihe Silkies chickens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 15(9):1359-1363.
- Daneshmand, A., H. Kermanshahi, M. Danesh Mesgaran, A. J. King, and S. A. Ibrahim. 2017. Effect of purine nucleosides on growth performance, gut morphology, digestive enzymes, serum profile and immune response in broiler chickens. *British Poultry Science* 58(5):536-543. doi: 10.1080/00071668.2017.1335859
- Gil, A. 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. *European Journal of Clinical Nutrition* 56(Suppl 3):S1-S4.
- Grimble, G. K., and O. M. Westwood. 2001. Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 4:57-64.
- Hesketh, A., M. Vergnano, and S. G. Oliver. 2019. Determination of the Global Pattern of Gene Expression in Yeast Cells by Intracellular Levels of Guanine Nucleotides. *MBio* 10(1)doi: 10.1128/mBio.02500-18
- Hess, J. R., and N. A. Greenberg. 2012. The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal systems: potential clinical applications. *Nutrition in Clinical Practice* 27(2):281-294. doi: 10.1177/0884533611434933
- Ho, C. Y., K. V. Miller, D. A. Savaiano, R. T. Crane, K. A. Ericson, and A. J. Clifford. 1979. Absorption and metabolism of orally administered purines in fed and fasted rats. *Journal of Nutrition* 109(8):1377-1382.
- Hung, I. F. 2015. The effect of dietary nucleotides in sow and nursery piglet diets on reproduction, growth, and immune response.
- Jeurissen, S. H. M., L. Vervelde, and E. M. Janse. 1994. Structure and function of lymphoid tissues of the chicken. *Poultry Science Reviews* 5:183.
- Johansen, F. E., R. Braathen, and B. P. 2000. Role of J Chain in Secretory Immunoglobulin Formation. *Scandinavian Journal of Immunology* 52:240-248.

- Khan, S. H. 2014. The use of green tea (*Camellia sinensis*) as a phytogetic substance in poultry diets. . Onderstepoort Journal of Veterinary Research 81(1):1-8. doi: 10.4102/ojvr.v81i2.706
- Krüger, D., and M. Van Der Werf. 2018b. Benefits of Nucleotide Supplementation in Poultry. Ohly Application Note:1-3.
- Li, B., H. Zhou, X. Wu, Z. Chen, J. Yao, and Y. Yin. 2016. Effects of dietary supplementation with uridine monophosphate on performance and intestinal morphology of weanling piglets. Journal of Animal Science 94:82-86. doi: 10.2527/jas2015-9440
- Lu, S. C., C. H. Shih, and T. H. Liao. 2003. Expression of Dnase i in rat parotid gland and small intestine is regulated by starvation and refeeding. American Society for Nutritional Sciences 133(1):71-74.
- Mateo, C. D. 2005. Aspects of Nucleotide Nutrition in Pigs. PhD Dissertation South Dakota State University., Brookings, SD.
- Meng, Y., R. Ma, J. Ma, D. Han, W. Xu, W. Zhang, and K. Mai. 2017. Dietary nucleotides improve the growth performance, antioxidative capacity and intestinal morphology of turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture Nutrition 23(3):585-593. doi: 10.1111/anu.12425
- Miles, A., E. Liaskou, B. Eksteen, P. F. Lalor, and D. H. Adams. 2007. CCL25 and CCL28 promote $\alpha 4\beta 7$ -integrin-dependent adhesion of lymphocytes to MAdCAM-1 under shear flow. American Journal of Physiology-Gastrointestinal Liver Physiology 294(5):1257-1267. doi: 10.1152/ajpgi.00266.2007.-Inflammatory
- Muir, W. I. 1998. Avian Intestinal Immunity: Basic Mechanisms and Vaccine. Poultry and Avian Biology Reviews 9(3):87-106.
- Muir, W. I., W. L. Bryden, and A. J. Husband. 2000. Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. Developmental and Comparative Immunology 24:325-342.
- Nelson, D. L., and M. M. Cox. 2013. Lehninger principles of biochemistry. 6 ed, New York.
- Paul, F., S. Pellegrini, and G. Uze. 2015. IFNA2: The prototypic human alpha interferon. Gene 567(2):132-137. doi: 10.1016/j.gene.2015.04.087
- Pelícia, V. C., K. C. Zavarize, C. Ducatti, A. C. Stradiotti, A. C. Pezzato, P. C. Araujo, M. A. O. Mituo, L. A. Madeira, and J. R. Sartori. 2011. Nucleotídeos na dieta de frangos de corte e seus efeitos sobre a taxa de turnover da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose. Ciência Rural 41(9):1652-1659.
- Quan, R., L. A. Barness, and R. Uauy. 1990. Do infants need nucleotide supplemented formula for optimal nutrition? Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition 11(4):429-433.
- Rodwell, V. W., D. A. Bender, K. M. Botham, P. J. Kennelly, and P. A. Weil. 2017. Livro Bioquímica Ilustrada de Harper. 30 ed.
- Rose, M. E., E. Orleans, A. W. R. Payne, and P. Hesketh. 1981. The origin of IgA in chicken bile: its rapid active transport from blood. European Journal of Immunology 11:561-564.
- Rudolph, F. B. 1994. The Biochemistry and Physiology of Nucleotides. The Journal of Nutrition 124 (suppl_1):124S–127S. doi: doi:10.1093/jn/124.suppl_1.124s
- Rudolph, F. B., W. C. Fanslow, a. D. Kulkarni, and C. T. Van Buren. 1985. Effect of dietary nucleotides on lymphocyte maturation. Pediatric Research 19:773.
- Sabat, R., W. Ouyang, and K. Wolk. 2014. Therapeutic opportunities of the IL-22-IL-22R1 system. Nature Reviews Drug Discovery 13(1):21-38. doi: 10.1038/nrd4176

- Salobir, J., V. Rezar, T. Pajk, and A. Levart. 2007. Effect of nucleotide supplementation on lymphocyte DNA damage induced by dietary oxidative stress in pigs. *Animal Science* 81(1):135-140. doi: 10.1079/asc42290135
- Sanderson, I. R., and Y. He. 1994. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. *The Journal of Nutrition* 124(1):131S-134S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_1.131S.
- Sato, N., T. Nakano, H. Kawakami, and T. Idota. 1999. *In vitro* and *in vivo* effects of exogenous nucleotides on the proliferation and maturation of intestinal epithelial cells. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* 45(1):107-118.
- Sauer, N., M. Eklund, E. Bauer, M. G. Gänzle, C. J. Field, R. T. Zijlstra, and R. Mosenthin. 2012. The effects of pure nucleotides on performance, humoral immunity, gut structure and numbers of intestinal bacteria of newly weaned pigs. *Journal of Animal Science* 90:3126-3134. doi: 10.2527/jas2011-4417
- Savaiano, D. A., and A. J. Clifford. 1981. Adenine, the precursor of nucleic acids in intestinal cells unable to synthesize purines *de novo*. *Journal of Nutrition* 111(10):1816-1822.
- Schloerb, P. R. 2001. Immune-enhancing diets: products, components, and their rationales. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 25(2 Suppl):S3-7. doi: 10.1177/014860710102500202
- Selvaraj, R. K. 2012. Maximum immunity effectors: Mechanisms and animal performance limitations. *The Journal of Applied Poultry Research* 21(1):185-192. doi: 10.3382/japr.2011-00479
- Shurson, G. C. 2018. Yeast and yeast derivatives in feed additives and ingredients: Sources, characteristics, animal responses, and quantification methods. *Animal Feed Science and Technology* 235:60-76. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2017.11.010
- Singhal, A., K. Kennedy, J. Lanigan, H. Clough, W. Jenkins, A. Elias-Jones, T. Stephenson, P. Dudek, and A. Lucas. 2010. Dietary nucleotides and early growth in formula-fed infants: a randomized controlled trial. *Pediatrics* 126(4):e946-953. doi: 10.1542/peds.2009-2609
- Singhal, A., G. Macfarlane, S. Macfarlane, J. Lanigan, K. Kennedy, T. Stephenson, P. Dudek, and A. Lucas. 2008. Dietary nucleotides and fecal microbiota in formula-fed infants: a randomized controlled trial. *American Journal of Clinical Nutrition* 87:1785-1792.
- Straub, R. H., M. Cutolo, F. Buttgerit, and G. Pongratz. 2010. Energy regulation and neuroendocrine-immune control in chronic inflammatory diseases. *Journal of Internal Medicine* 267:543-560. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02218.x
- Superchi, P., R. Saleri, P. Borghetti, E. De Angelis, L. Ferrari, V. Cavalli, P. Amicucci, M. C. Ossiprandi, and A. Sabbioni. 2011. Effects of dietary nucleotide supplementation on growth performance and hormonal and immune responses of piglets. *Animal* 6(6):902-908. doi: 10.1017/s1751731111002473
- Swiatkiewicz, S., A. Arczewska-Wlosek, and D. Józefiak. 2014. Immunomodulatory efficacy of yeast cell products in poultry: a current review. *World's Poultry Science Journal* 70(1):57-68. doi: 10.1017/s0043933914000051
- Uauy, R., R. Quan, and A. Gil. 1994. Role of Nucleotides in Intestinal Development and Repair: Implications for Infant Nutrition. *The Journal of Nutrition* 124(8):1436S-1441S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_8.1436s
- Uauy, R., G. Stringel, R. Thomas, and R. Quan. 1990. Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 10:497-503.

- Wang, L., J. Liu, H. Lv, X. Zhang, and L. Shen. 2015. Effects of Nucleotides Supplementation of Infant Formulas on Plasma and Erythrocyte Fatty Acid Composition: A Meta-Analysis. *PloS One* 10(6):e0127758. doi: 10.1371/journal.pone.0127758
- Weaver, A. C., and S. W. Kim. 2014. Supplemental nucleotides high in inosine 5'-monophosphate to improve the growth. *Journal of Animal Science* 92:645-651. doi: 10.2527/jas.2013-6564
- Wu, C., Z. Yang, C. Song, C. Liang, H. Li, W. Chen, W. Lin, and Q. Xie. 2018. Effects of dietary yeast nucleotides supplementation on intestinal barrier function, intestinal microbiota, and humoral immunity in specific pathogen-free chickens. *Poultry Science* 97(11):3837-3846. doi: 10.3382/ps/pey268
- Yan, J., P. Liu, L. Xu, H. Huan, W. Zhou, X. Xu, and Z. Shi. 2018. Effects of exogenous inosine monophosphate on growth performance, flavor compounds, enzyme activity, and gene expression of muscle tissues in chicken. *Poultry Science* 97(4):1229-1237. doi: 10.3382/ps/pex415
- Zhang, G. Q., Q. G. Ma, and C. Ji. 2008. Effects of dietary inosinic acid on carcass characteristics, meat quality, and deposition of inosinic acid in broilers. *Poultry Science* 87(7):1364-1369. doi: 10.3382/ps.2007-00193

OBJETIVOS GERAIS

Avaliar os efeitos dos nucleotídeos inosina-5- monofosfato (IMP), a adenosina-5- monofosfato (AMP) e guanosina-5-monofosfato (GMP) como fonte de energia na dieta de frangos de corte.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Estudar a resposta de frangos de corte aos nucleotídeos purificados AMP, GMP e IMP como fonte energética na dieta sobre o desempenho animal, sistema imunológico e perfil bioquímico (Experimento I, II e III).

Avaliar o efeito da suplementação de nucleotídeos (AMP, GMP e IMP) em dietas com redução de energia sobre as características de qualidade, pH, capacidade de retenção de água, cor instrumental e rendimento de carcaça de peito e coxa de frangos de corte (Experimento I e II).

Estimar a creatinina muscular no peito de frangos de corte na fase inicial e crescimento de aves suplementadas com IMP em dietas com redução de energia (Experimento II).

Mensurar a resposta do nucleotídeo IMP na dieta de frangos de corte desafiados com vacina contra coccidiose aviárias sobre desempenho animal, saúde intestinal com histologia intestinal (Experimento III), sistema imunológico com contagem de células leucocitárias (Experimento I, II e III) e perfil bioquímico (Experimento I, II e III).

Determinar teores de amônia volatilizada e matéria seca na cama de frangos alimentados com dietas suplementadas com IMP como fonte de energia e redução da energia metabolizável (Experimento II).

II. Efeitos dos nucleotídeos adenosina-5-monofosfato (AMP) e guanosina-5-monofosfato (GMP) como fonte energética em dieta com redução de energia de frangos de corte na fase de crescimento

Resumo

O estudo objetivou avaliar a suplementação de AMP e GMP como fonte de energética no desempenho, perfil bioquímico, sistema imune, rendimento e qualidade de carcaça de frangos de corte na fase de crescimento. Foram utilizados 896 pintos de corte machos, Cobb-Vantress®. O delineamento experimental foi inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial (2 x 3) + 1 + 1 (AMP e GMP 3 níveis de suplementação, + controle positivo (CP), + controle negativo (CN)), totalizando 8 tratamentos, sendo o CP uma dieta convencional; CN com redução de 100 kcal da dieta convencional, e 3 níveis de inclusão para AMP e GMP (0,07%, 0,14% e 0,21%) suplementados em CN, 7 repetições com 16 aves por unidade experimental. Não houve efeito para desempenho animal, rendimento de carcaças e qualidade de carnes. Houve efeito crescente de níveis ($P < 0,05$) para AMP e quanto maior a suplementação de AMP, maiores foram os títulos de anticorpos. Assim, a suplementação de AMP em 0,21% em dietas de frangos de corte é efetiva no sistema imunológico humoral, sem comprometer o desempenho animal, perfil bioquímico, rendimento de carcaça e cortes e pH de peito e coxa em dietas que apresentam redução de energia até 100 kcal.

Palavra-chave: Avicultura, Nucleotídeos, Nutrição, Qualidade de carnes

III. Effects of the adenosine-5-monophosphate (AMP) and guanosine-5-monophosphate (GMP) nucleotides as an energy source in a diet with reduced energy in broilers during the growth phase

Abstract

The study aimed to evaluate AMP and GMP supplementation as a source of energy on performance, biochemical profile, immune system, yield and carcass quality of broiler chickens in the growing phase. 896 male Cobb-Vantress® broiler chicks were used. The experimental design was completely randomized, in a factorial arrangement (2 x 3) +1+1 (two nucleotides vs. 3 levels of supplementation + positive control (PC), + negative control (NC)), totaling 8 treatments, being the PC a conventional diet; NC with a reduction of 100 kcal from the conventional diet, and 3 inclusion levels of inclusion for AMP and GMP (0.07%, 0.14% and 0.21%) supplemented in NC, 7 replicates with 16 birds per experimental unit. There was no effect on animal performance, carcass yield and meat quality. There was an increasing effect of levels ($P < 0.05$) for AMP where the highest is the AMP supplementation, the highest is the antibody titers. Thus, AMP supplementation of 0.21% in broiler diets is effective in the humoral immune system, without compromising animal performance, biochemical profile, carcass and cuts yield and breast and thigh pH in diets that show reduced energy up to 100 kcal.

Keyword: Meat quality, Nucleotides, Nutrition, Poultry.

Introdução

Os nucleotídeos são moléculas de baixo peso molecular, compostas de bases nitrogenadas, podendo ser divididas em pirimidinas (citosina, uridina ou tiamina) e purinas (adenosina, guanosina, inosina, hypoxantina), ligadas a uma pentose (ribose ou desoxirribose), açúcar e a dois ou três grupos de fosfato que transitam livremente pelas barreiras celulares de diversos tecidos [1]. São importantes moléculas no metabolismo dos organismos vivos atuando como precursores de ácidos nucleicos, metabolismo energético, mediadores fisiológicos e componentes estruturais de coenzimas [2] e ações no sistema digestório [3] e imunológico [4].

Mesmo sendo substâncias consideradas condicionalmente essenciais na dieta de seres humanos e animais [5], os nucleotídeos são necessários em situações de rápido *turnover* celular que ocorrem em animais nas fases de desenvolvimento, em tecidos do trato gastrointestinal [6] e linfóides [7]. Tecidos que se desenvolvem rapidamente como o linfóide e o digestório não têm capacidade energética significativa para promover a síntese pela via *de novo*, disponibilizando novos nucleotídeos para o metabolismo celular e necessita de fontes exógenas de bases nitrogenadas, purinas e pirimidinas [5]. Deste modo, a via de salvamento pode aproveitar estes nucleotídeos e bases nitrogenadas exógenos e disponibilizar nucleotídeos para as células destes tecidos, com economia e eficiência de energia quando comparada a *via de novo* [2].

Na avicultura atual, com as aves apresentando índices zootécnicos de desempenho elevados, a busca de tecnologias para melhor eficiência alimentar é necessária para a produção e a utilização de nucleotídeos exógenos na dieta de frangos de corte pode ser uma alternativa [8]. Estudos apontam que a utilização de nucleotídeos na dieta de frangos de corte pode apresentar melhor desempenho animal, evidenciado pela ação positiva no desenvolvimento intestinal [9,10]. Além da ação na porção intestinal, estas substâncias podem influenciar na qualidade de carnes, promovendo estímulo a atividade enzimática da fosfatase alcalina e da adenosina trifosfato do músculo *Pectoralis mayor* [11], assim como acúmulo destes nucleotídeos na musculatura, podendo proporcionar maior sabor a carne [11, 12].

Os nucleotídeos exógenos podem ajudar a reduzir o estresse de animais na fase inicial de animais de produção [13], promovendo maior produção de imunoglobulinas no intestino [9] e proporcionam benefícios contra desafios vacinais virais [10]. Como a ação do sistema imunológico tem alto custo energético para as aves e naturalmente existem

desafios patogênicos no sistema de produção [14], a utilização de nucleotídeos pode contribuir com o aporte energético no metabolismo destas aves.

Deste modo, a adenosina-5-monofosfato (AMP) e a guanosina-5-monofosfato (GMP) são nucleotídeos purínicos, relacionados ao RNA, que podem ser utilizados como aditivos na dieta de frangos de corte [9]. Assim, objetivou-se neste trabalho, avaliar o desempenho, perfil bioquímico sérico, resposta imune humoral, rendimento e qualidade de carne de frangos de corte na fase de crescimento, suplementadas com os nucleotídeos AMP e GMP como fonte de energia em dietas com redução da energia metabolizável.

Material e métodos

O experimento foi realizado no aviário experimental do Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá – UEM, com aprovação do Comitê de Ética e Uso de Animais, desta mesma instituição (CEUA N° 2295271119). Foram utilizados 896 pintos de corte machos, da linhagem Cobb-Vantress®, distribuídas em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, em um arranjo fatorial $2 \times 3 + 1 + 1$, com 8 tratamentos e 7 repetições de 16 aves, compondo 56 unidades experimentais. As dietas foram compostas por dieta controle positivo (CP);- dieta convencional à base de milho e farelo de soja; dieta controle negativo (CN) - dieta com 100 kcal abaixo dos valores médios da dieta convencional; dieta AMP – dieta com inclusão de nucleotídeo adenosina-5-monofosfato em níveis de 0,07%, 0,14% e 0,21% e dieta GMP- dieta com inclusão de guanosina-5-monofosfato em níveis de 0,07%, 0,14% e 0,21%, totalizando 8 tratamentos. As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos de desempenho médio [15].

No sétimo dia de idade e aos 28 dias de idade, para aumentar o desafio sanitário, as aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle, via ocular, utilizando vacina industrializada (liofilizada) com vírus vivo, tipo B1-LaSota (New-Vacin, Biovet®).

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de frangos de corte em fase crescimento (21 a 42 dias).

Ingredientes	Quantidade (kg)	
	Dietas	
	Controle positivo	Controle Negativo
Milho grão	62,40	62,40
Soja farelo 45%	30,32	30,32
Óleo de soja	3,50	2,36
Fosfato bicálcico	1,97	1,97
Calcário	0,33	0,33
Sal comum	0,44	0,44
Suplemento vitamínico mineral ¹	0,40	0,40
DL-metionina 99%	0,29	0,29
L-lisina 78%	0,24	0,24
L-treonina 99%	0,10	0,10
Inerte* (Caulim)	0,00	1,14
Total	100	100
Composição calculada		
Energia metabolizável (kcal/kg)	3150	3050
Proteína bruta (%)	19,50	19,50
Met.+cist. Digestível (%)	0,830	0,830
Lisina digestível (%)	1,092	1,092
Treonina digestível (%)	0,738	0,738
Cálcio (%)	0,700	0,700
Fósforo disponível (%)	0,481	0,481
Potássio (%)	0,742	0,742
Cloro (%)	0,310	0,310
Sódio (%)	0,200	0,200
Número de Mogin (mEq/kg)	189	189

¹ (21-42 dias de idade) Suplemento vitamínico (conteúdo por kg de ração): Vit. A 9000 UI; Vit. D3 1800 UI; Vit. E 28 UI; Vit. K3 1,67 mg/kg; Vit. B1 1,2 mg/kg; Vit. B2 4 mg/kg, Vit. B12 12 mcg/kg; Niacina 28 mg/kg; Pantotenato de Cálcio 10 mg/kg; Ácido Fólico 0,56 mg/kg; Biotina 0,056 mg/kg. Suplemento mineral (conteúdo por kg de premix): Ferro 0,05 g/kg; Cobre 12 mg/kg; Iodo 1 mg/kg; Zinco 0,05 g/kg; Manganês 0,06 g/kg; Selênio 0,3 mg/kg; Cobalto 0,2 mg/kg.

*Os nucleotídeos utilizados como fonte energética foram adicionadas as rações controle negativo (CN) em substituição ao inerte.

Desempenho

Para a obtenção dos parâmetros de desempenho, foram realizadas pesagens semanais das aves e das rações experimentais no intuito de determinar o ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e a conversão alimentar (CA) das aves.

Perfil bioquímico

Aos 42 dias de idade, foram coletadas amostras de sangue através de punção pela veia jugular, de 3 mL, utilizando uma ave por unidade experimental, a fim de determinar as concentrações séricas de glicose, triglicédeos, colesterol, ácido úrico, proteínas totais, albumina e fosfatase alcalina mediante um processo enzimático-colorimétrico realizado por kits comerciais (Gold Analisa®). As aves foram submetidas ao jejum de oito horas antes da colheita das amostras de sangue.

Análise de anticorpos (ELISA)

O soro proveniente do sangue coletados de uma ave por repetição foi avaliado através do teste de ELISA indireto para a detecção de IgY da doença de Newcastle (kit comercial Idexx®, Westbrook, Maine, EUA) para quantificar a resposta humoral das aves.

Rendimento de carcaça

Aos 42 dias de idade, uma ave de cada unidade experimental foi abatida após jejum de oito horas. Os frangos de corte passaram por eutanásia com Tiopental, endovenosa 10 mg/kg, seguida de sangria por incisão de veia jugular (dia de rendimento de carcaças) após constata a eutanásia. Posteriormente, foram depenadas, evisceradas, e as carcaças pesadas em balança digital. Para o cálculo de rendimento de carcaça foi utilizado o peso da carcaça sem pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo.

Em relação aos cortes, foram determinados os rendimentos de peito, coxa e sobrecoxa (com pele e ossos), asas e dorso, sendo calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal considerada foi a existente ao redor da cloaca, bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes, [16], pesada e calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Coloração e pH dos cortes de peito e coxa

O músculo do lado direito e esquerdo do peito (*Pectoralis major*) e da coxa foram coletados de uma ave por repetição para a avaliação da qualidade de carne. O pH foi medido com auxílio de um pHmetro da marca Testo® (modelo 205) aplicado no filé do peito e da coxa, 15 minutos após o abate, conforme descrito por Boulianne e King (1995) [17]. A coloração expressa com os componentes L* (luminosidade), a* (componente vermelho ao verde) e b* (componente amarelo ao azul), foi mensurada após o abate, com um colorímetro (modelo CR-400 Konica Minolta) em três pontos diferentes da superfície da coxa e peito [18].

Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados e submetidos a análise de variância (ANOVA) utilizando o procedimento General Linear Model (GLM) do *software* (SAS Institute, 2009) ao nível de significância de 5%. Caso houvesse interação, procedeu-se a análise de interação entre os nucleotídeos e os níveis através do teste de múltiplas comparações por Tukey a 5%. Sem interação significativa, foi realizado o teste de regressão (REG) considerando o CN o nível zero e os 3 níveis de AMP e GMP.

Resultados e discussão

Não houve interação ($P > 0,05$) entre os níveis de suplementação dos nucleotídeos e os nucleotídeos AMP e GMP (Tabela 2) para o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Ao comparar os tratamentos e os controles positivo (CP) e negativo (CN), para conversão alimentar, o CP apresentou melhor conversão alimentar ($P < 0,05$). Este resultado aponta que a redução de energia em 100 kcal na dieta do grupo CN diminuiu a capacidade da ave em converter a dieta em musculatura quando comparada a dieta CP.

Estes resultados obtidos corroboram com os estudos de Jung e Batal (2012), em que, aves foram criadas sem condições de estresse e sem redução de energia nas dietas

suplementadas com leveduras *Torula* RNA (*Cyberlindnera jadinii*) [19]. Alizadeh *et al.* (2016), ao utilizarem frangos de corte na fase inicial consumindo nucleotídeos comerciais não observaram efeitos dos nucleotídeos comerciais para o desempenho das aves [20].

Considerando que os nucleotídeos são nutrientes condicionalmente essenciais, pode ser observado que em condições sem estresse térmico, com baixa pressão de infecção de microrganismos no ambiente de produção de frangos de corte Uauy *et al.*, (1994) e Jung e Batal (2012) relatam que animais não desafiados podem não apresentar melhora dos índices zootécnicos [5, 19]. Assim, apenas em condições de catabolismo através de situações de estresse térmico, desmame de leitões [13, 21] e enfermidades [9] pode existir efeito dos nucleotídeos pela necessidade de reposição destas substâncias e assim, garantir energia e reposição de nucleotídeos para reparação do animal.

Em condições experimentais, dificilmente as aves sofrem influência de bruscas variações de temperatura, reutilizações de camas diversas vezes e superlotação, o que implica num anabolismo menor do animal [20]. A redução de 100 kcal, quando comparada a dieta convencional CP, o CN não conseguiu equivaler aos resultados de conversão alimentar, como também a suplementação dos nucleotídeos AMP e GMP, independentemente do nível de suplementação. Assim, estes resultados indicam que estas purinas não foram eficientes em suprir as necessidades energéticas destes frangos de corte com a redução de energia na dieta.

Tabela 2. Desempenho de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP, no período de 21-42 dias de idade.

Tratamentos	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar (g/g)
CP ¹	1975,31	3344,19	1,693
CN ²	1941,50	3423,64	1,763
AMP ³ 0,07%	1936,00	3444,00	1,771
AMP 0,14%	1915,56	3362,58	1,756
AMP 0,21%	1968,18	3420,18	1,738
GMP ⁴ 0,07%	1947,56	3410,67	1,751
GMP 0,14%	1932,62	3350,93	1,745
GMP 0,21%	1960,00	3433,33	1,759
Média Geral	1943,82	3393,82	1,745
CV⁵ (%)	2,25	2,29	1,63
EPM⁶ (%)	7,00	12,47	0,005
Nucleotídeos			
AMP	1939,91	3408,92	1,755
GMP	1946,73	3398,31	1,752
Níveis (%)			
0,07%	1941,78	3427,34	1,761
0,14%	1924,09	3356,76	1,750
0,21%	1964,09	3426,76	1,748
ANOVA		p-valor	
Nucleotídeos	0,8902	0,7876	0,2398
Níveis	0,1691	0,1717	0,1131
Nucleotídeos vs. Níveis	0,8239	0,7995	0,0740
Regressão			
AMP	0,5622	0,6730	0,0628
GMP	0,8233	0,7406	0,6023
Contrastes		p-valor	
CP vs. CN	0,2186	0,2546	<0,0001

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). ¹Controle positivo; ²Controle negativo; ³Adenosina monofosfato; ⁴Guanosina monofosfato; ⁵Coefficiente de variação; ⁶Erro padrão da média.

Não houve interação (P>0,05) entre os nucleotídeos e os níveis de suplementação para glicose, colesterol total, ácido úrico, proteínas totais, albumina e fosfatase alcalina no soro sanguíneo (Tabela 3). Com exceção (P<0,05) dos valores de triglicerídeos e, desdobrando a interação (Tabela 4), pode ser observado que os tratamentos com a suplementação do GMP apresentaram maiores índices séricos de triglicerídeos que os tratamentos com AMP, com exceção do nível 0,21% (P<0,05).

Os frangos de corte que receberam as dietas CN apresentaram menores valores de triglicerídeos sérico (P<0,05) quando comparados aos animais que consumiram a dieta

CP, e os nucleotídeos AMP e GMP. Estes resultados, demonstram que as dietas com redução de energia, com exceção do GMP, demonstrando que os nucleotídeos não conseguiram atingir uma economia de energia. os nucleotídeos AMP tendo maior capacidade de absorção pelo trato gastrointestinal [22], o nucleotídeo GMP pode poupar energia e proporcionar a lipogênese [23]. Estudos não apresentaram efeitos referentes ao aumento de triglicerídeos séricos em dietas com nucleotídeos na forma de aditivo [9].

Pode ser observado que os frangos de corte que receberam a dieta CP apresentaram maiores valores de glicose sérica quando comparado ao tratamento CN ($P < 0,05$) e as aves suplementadas com GMP ($P < 0,05$). Este resultado pode demonstrar que o nucleotídeo AMP quando fornecido na dieta de frangos de corte na fase crescimento, podem poupar energia pelo melhor *turnover* celular e ação imunológica a nível intestinal [3, 4, 9, 24, 25, 26]. Além disso, este nucleotídeo quando em abundância a nível intestinal pela suplementação, proporciona maior absorção de nucleosídeos pelas vilosidades intestinais [22].

Para o ácido úrico sérico, as aves que consumiram AMP apresentaram maiores valores quando comparados ao CP e CN ($P < 0,05$). Isso pode ser explicado pela capacidade de nucleotídeos purínicos como por exemplo AMP, GMP e IMP serem convertidos em ácido úrico e conseqüentemente, através da corrente sanguínea adentrarem os rins para serem excretados [27].

Para os níveis séricos de albumina, pode ser observado efeito linear crescente ($P < 0,05$) do AMP na dieta de frangos de corte. A albumina sérica pode atuar transportando de substâncias como aminoácidos, minerais e hormônios, promover manutenção da pressão osmótica sanguínea, está relacionado a imunidade, a ação tampão, regulação das enzimas, relacionado com a imunidade humoral [28] e transporte de fármacos [29]. A capacidade dos nucleotídeos, através da via de salvamento, pode promover melhor aproveitamento energético [3] associada a melhor absorção do nucleotídeo AMP pelas vilosidades intestinais [22] podem ter influenciado no aumento dos níveis de albumina sérica.

Tabela 3. Perfil bioquímico de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.

Tratamentos	Glicose (mg/L)	Triglicerídeos (mg/ dL)	Colesterol total (mg/ dL)	Ácido Úrico (mg/ dL)	Proteínas totais (g/dL)	Albumina (g/dL)	Fosfatase Alcalina (U/L)
CP ¹	249,50	112,06	103,24	4,29	3,16	1,20	5217
CN ²	231,14	72,46	107,51	4,04	2,99	1,21	4132
AMP ³ 0,07%	241,00	82,12	107,15	4,60	3,09	1,17	4325
AMP 0,14%	238,70	86,56	103,09	6,28	2,92	1,20	4240
AMP 0,21%	235,07	106,20	105,27	5,71	3,22	1,25	4552
GMP ⁴ 0,07%	231,93	104,25	98,51	5,61	2,99	1,12	4820
GMP 0,14%	237,93	110,52	105,61	4,90	3,17	1,16	4130
GMP 0,21%	233,08	106,43	107,52	4,17	3,09	1,20	4500
CV⁵ (%)	5,37	16,10	9,92	24,37	8,56	7,61	51,87
EPM⁶ (%)	1,18	2,40	1,47	0,19	0,04	0,01	399,46
Nucleotídeos							
AMP	238,26	91,62	105,17	5,53	3,08	1,21	4372,33
GMP	234,31	107,07	103,88	4,89	3,08	1,16	4483,33
Níveis (%)							
0,07	236,46	93,18	102,83	5,11	3,04	1,15	4572,50
0,14	238,31	98,54	104,35	5,59	3,04	1,18	4185,00
0,21	234,08	106,32	106,39	4,94	3,16	1,22	4526,00
ANOVA							
Nucleotídeos	0,3359	<0,0001	0,7099	<i>p-valor</i> 0,1234	0,8668	0,7553	0,9171
Níveis	0,6894	0,0032	0,7018	0,4122	0,3988	0,5268	0,9439
Nucleotídeos vs. Níveis	0,6732	0,0043	0,3398	0,1338	0,1669	0,2705	0,9662
Regressão							
AMP	0,8368	0,2543	0,8196	<i>p-valor</i> 0,8460	0,5728	0,0153 L ¹	0,3806
GMP	0,7764	0,7610	0,8565	0,6576	0,2420	0,0564	0,8116
Contrastes							
CP vs. CN	0,0158	<0,0001	0,4962	<i>p-valor</i> 0,6778	0,2679	0,8556	0,5134

^{abc} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05). ¹Controle positivo; ²Controle negativo; ³Adenosina monofosfato; ⁴Guanosina monofosfato; ⁵ Coeficiente de variação; ⁶Erro padrão da média. Regressão: L¹ = 0,45+0,16x; R²=0,97.

Tabela 4. Desdobramento dos valores de triglicerídeos de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.

Nucleotídeos	0,07%		0,14%		0,21%		Médias
AMP	82,12	Bb	86,56	Bb	106,20	Aa	91,63
GMP	104,25	Aa	110,52	Aa	106,43	Aa	107,07
Médias	93,19		98,54		106,32		

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não houve interação (P>0,05) para os títulos de anticorpos para doença de Newcastle (DNC) entre os nucleotídeos (AMP e GMP) e os níveis de suplementação (Tabela 5). Porém, houve efeito crescente dos níveis (P<0,05) de AMP. As aves que consumiram a dieta CP apresentaram maiores títulos de anticorpos quando comparado ao grupo que consumiu a dieta CN (P<0,05). O tratamento CN apresentou também menores títulos de anticorpos contra o vírus da DNC (P<0,05) quando comparado aos grupos que receberam a suplementação de AMP e GMP na dieta. O alto custo de manutenção do sistema imunológico humoral ao ser ativado implica em maior necessidade energética e, assim pode ser observado que as aves que consumiram a dieta CN demonstraram menor produção de anticorpos. Estes resultados apontam que os nucleotídeos puderam suprir o aporte energético dos animais que o consumiram e, conseqüentemente estimularam as aves a produzir quantidades proporcionais de anticorpos das aves que receberam a CP (P>0,05).

As aves que consumiram a dieta CN apresentaram menores títulos de anticorpos contra a DNC (P<0,05) quando comparado aos tratamentos CP, AMP e GMP. Os nucleotídeos, quando fornecidos via dieta, podem ter a capacidade de promover aumento dos títulos de anticorpos de patógenos virais como de bronquite infecciosa aviária (IBD) [10] e para vírus da doença de Newcastle [30] a nível sérico. Alimentos com alta quantidade de nucleotídeos como produtos à base de leveduras, aumentam a produção de lisozimas, substâncias que são secretadas por fagócitos e neutralizar microrganismos na corrente sanguínea [30].

Culturas de extratos de leveduras *in vitro* demonstraram proporcionar em sangue de humanos redução em citocinas pró-inflamatórias, ação antioxidante com redução de espécies de oxigênio reativo, aumento na expressão de antígenos CD69 e CD25 em células Natural Killers (NK), aumento de resposta citotóxica de células tumorais K562 e ativação de linfócitos B por indução do antígeno CD86 em 7 dias pós indução e essas

ações podem proporcionar maiores respostas para o sistema imune humoral e assim, melhores respostas para prevenir contra estes patógenos [31]. Estes benefícios podem ser explicados através de estímulos a maturação das células linfoides e a resposta linfoproliferativa a aloantígenos e mitógenos [32] e conseqüentemente promover aumento de imunoglobulinas séricas para neutralizar antígenos específicos produzidos pelos linfócitos B [10, 30].

Tabela 5. Títulos de IgY (Log10) para doença de Newcastle de frangos de corte machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementados com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.

Tratamentos	Log10
CP ¹	3,142
CN ²	2,920
AMP ³ 0,07%	2,940
AMP 0,14%	3,063
AMP 0,21%	3,204*
GMP ⁴ 0,07%	2,937
GMP 0,14%	3,115
GMP 0,21%	3,191
CV⁵ (%)	4,06
EPM⁶ (%)	0,02
Nucleotídeos	
AMP	3,069
GMP	3,081
Níveis (%)	
0,07%	2,939
0,14%	3,089
0,21%	3,198
ANOVA	
Nucleotídeos	0,6986
Níveis	<0,0001
Nucleotídeos vs. Níveis	0,6339
Regressão	
AMP	0,0001 L ¹
GMP	0,1854
Contrastes	
CP vs. CN	0,0003

¹Controle positivo. ²Controle negativo. ³Adenosina monofosfato. ⁴Guanosina monofosfato. ⁵Coefficiente de variação; ⁶Erro Padrão da Média. Regressão: $L^1 = 2,695 + 0,098x$, $R^2 = 0,92$.

Não houve interação ($P > 0,05$) entre os aditivos e os níveis de suplementação para o peso de carcaça, peito, coxa, asa, dorso e gordura abdominal (Tabela 6). Em estudos realizados com outros nucleotídeos, como a inosina-5-monofostato (IMP), pode ser observado maior rendimento de peito e coxa de frangos de corte pela maior expressão gênica da enzima adenosina-monofostato deaminase 1 (AMPD1), que contribui para o crescimento muscular de fibras de cortes de peito e a ciclohidrolase (ATIC) em cortes de coxa [11]. Além disso, estudos utilizando AMP apresentaram capacidade de deposição e dissociação de actinmiosina diretamente pelo AMP, conversão do AMP muscular em IMP e formação de amônia e restrição do encolhimento da fibra muscular [18].

Não houve interação ($P < 0,05$) entre os nucleotídeos e níveis de AMP e GMP para L^* , a^* e b^* dos cortes de peito, 15 minutos e 24 horas *post mortem* e para pH, 15 minutos e 24 horas *post mortem* (Tabela 7). Para L^* 15 minutos pode ser observado efeito entre os nucleotídeos ($P < 0,05$), com AMP apresentando os maiores valores para este parâmetro. As aves que consumiram o CP, AMP e GMP apresentaram maiores valores de a^* 15 minutos *post mortem* ($P < 0,05$) quando comparados ao tratamento CN. Para L^* 24 horas e a^* 24 horas *post mortem*, os frangos de corte que consumiram o CN apresentaram maiores valores deste parâmetro ($P < 0,05$) quando comparados ao CP, e os nucleotídeos AMP e GMP.

Mesmo que a deposição de AMP na musculatura proporcione a dissociação de actinmiosina diretamente pelo AMP, a conversão do AMP muscular em IMP e formação de amônia e restrição do encolhimento da fibra muscular [33], o valor de GMP foi superior podendo sugerir que este nucleotídeo pode também ser depositado na musculatura e modificar a intensidade de L^* do corte de peito. Independentemente dos resultados apresentados, os valores de cores referentes aos tratamentos CP, CN, níveis de suplementação de AMP e GMP estão entre os limiares de 48-53 de luminosidade (L^*), demonstrando que tanto com a diminuição de energia da dieta quanto com a inclusão dos aditivos purínicos, as amostras não apresentaram alterações anormais das características implicadas a esta espécie animal [34].

Tabela 6. Rendimento de carcaça, cortes e gordura abdominal de frangos de corte machos alimentados com dietas com redução energia (-100 kcal) suplementadas com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.

Níveis de inclusão (%)	Carcaça (%)	Peito (%)	Coxa (%)	Asa (%)	Dorso (%)	Gord. Abdominal (%)
CP ¹	71,49	30,23	23,47	7,17	10,46	1,56
CN ²	72,25	30,35	23,51	7,13	11,12	1,39
AMP ³ 0,07%	71,91	31,03	23,26	7,07	10,42	1,38
AMP 0,17%	71,69	30,17	23,29	7,28	10,99	1,50
AMP 0,21%	72,26	31,10	23,06	7,16	10,72	1,43
GMP ⁴ 0,07%	71,43	29,98	23,09	7,24	10,97	1,4
GMP 0,17%	71,66	30,06	23,18	7,11	11,15	1,5
GMP 0,21%	71,68	30,97	23,11	6,96	10,51	1,45
CV ⁵ (%)	1,95	5,24	3,47	5,10	5,17	19,84
EPM ⁶ (%)	0,19	0,22	0,11	0,05	0,78	0,05
Aditivos						
AMP	71,95	30,77	23,20	7,17	10,71	1,44
GMP	71,59	30,34	23,13	7,10	10,88	1,45
Níveis (%)						
0,07%	71,67	30,51	23,18	7,16	10,70	1,39
0,14%	71,68	30,12	23,24	7,20	11,07	1,50
0,21%	71,97	31,04	23,09	7,06	10,62	1,44
ANOVA			p-valor			
Aditivos	0,4500	0,4825	0,8032	0,5971	0,3236	0,8761
Níveis	0,8534	0,3347	0,9201	0,6493	0,0693	0,7110
Aditivos vs. Níveis	0,8774	0,6522	0,9489	0,3810	0,2006	0,9978
Regressão						
AMP	0,9117	0,6193	0,0749	0,7378	0,4311	0,7585
GMP	0,4525	0,4423	0,2671	0,2827	0,2796	0,2865
Contrastes						
CP vs. CN	0,3504	0,8941	0,9187	0,8427	0,2740	0,4523

¹Controle positivo; ²Controle negativo; ³Adenosina monofosfato; ⁴Guanosina monofosfato; ⁵Coefficiente de variação; ⁶Erro padrão da média.

Tabela 7. Coloração e pH de peito de frangos de corte de 21 a 42 dias, machos alimentados com dietas com redução energia (-100 kcal), suplementadas com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.

Tratamentos	L*15min	a*15min	b*15min	L*24h	a*24h	b*24h	pH15min	pH24h
¹ CP ¹	51,31	16,05	8,04	54,43	16,57	10,27	6,55	6,06
² CN ²	55,07	12,69	9,32	59,80	13,35	11,21	6,53	6,01
³ AMP ³ 0,07%	51,78	15,82	8,11	55,01	16,45	9,78	6,57	5,94
AMP 0,14%	54,73	14,12	9,73	56,15	15,96	10,98	6,59	6,09
AMP 0,21%	52,99	15,24	9,21	57,79	16,45	10,85	6,52	5,88
GMP ⁴ 0,07%	51,08	15,26	8,41	56,55	16,73	10,19	6,57	6,02
GMP 0,14%	51,96	15,32	9,23	57,19	16,26	11,24	6,57	6,09
GMP 0,21%	50,60	15,68	8,20	56,68	16,03	10,74	6,50	5,91
CV⁵ (%)	5,05	11,29	16,55	6,18	13,54	17,05	2,71	3,29
EPM⁶ (%)	0,35	0,23	0,21	0,47	0,29	0,24	0,02	0,03
Nucleotídeos								
AMP	53,17	15,06	9,02	56,32	16,29	10,54	6,56	5,97
GMP	51,21	15,42	8,61	56,81	16,34	10,72	6,55	6,01
Níveis (%)								
0,07%	51,43	15,54	8,26	55,78	16,59	9,99	6,57	5,98
0,14%	53,35	14,72	9,48	56,67	16,11	11,11	6,58	6,09
0,21%	51,80	15,46	8,71	57,24	16,24	10,80	6,51	5,90
ANOVA					p-valor			
Nucleotídeos	0,0245	0,4133	0,4516	0,7536	0,9344	0,4096	0,4143	0,7021
Níveis	0,0577	0,2565	0,1576	0,0590	0,7966	0,0698	0,7168	0,1262
Nucleotídeos vs. Níveis	0,2961	0,2690	0,3094	0,7777	0,8558	0,7250	0,8424	0,9630
Regressão								
AMP	0,7242	0,4430	0,7594	0,6968	0,2348	0,9756	0,9609	0,6578
GMP	0,1948	0,1537	0,4224	0,2603	0,3584	0,9057	0,6586	0,5993
Contrastes					p-valor			
CP vs. CN	0,0031	<0,0001	0,1215	0,0030	0,0049	0,3197	0,9546	0,7606

¹Controle positivo; ²Controle negativo; ³Adenosina monofosfato; ⁴Guanosina monofosfato; ⁵Coefficiente de variação; ⁶Erro padrão da média.

Tabela 8. Coloração e pH de coxa de frangos de corte de 21 a 42 dias, machos alimentados com dietas com baixa energia (-100 kcal), suplementadas com AMP e GMP em diferentes níveis, avaliados aos 42 dias de idade.

Tratamentos	L*15min	a*15min	b*15min	pH24h
CP ¹	54,63	16,05	9,00	6,27
CN ²	56,88	14,13	8,29	6,34
AMP ³ 0,07%	56,37	15,33	9,23	6,40
AMP 0,17%	54,54	16,21	8,35	6,33
AMP 0,21%	53,91	16,11	9,22	6,51
GMP ⁴ 0,07%	53,30	16,37	8,38	6,31
GMP 0,17%	56,46	14,96	8,85	6,33
GMP 0,21%	52,49	17,73	9,26	6,33
CV⁵ (%)	4,82	12,96	14,98	2,83
EPM⁶ (%)	0,39	0,29	0,18	0,02
Nucleotídeos				
AMP	54,94	15,88	8,93	6,41
GMP	54,08	16,35	8,83	6,32
Níveis (%)				
0,07%	54,84	15,85	8,81	6,36
0,14%	55,50	15,59	8,60	6,33
0,21%	53,20	16,92	9,24	6,42
ANOVA		p-valor		
Nucleotídeos	0,3310	0,4812	0,8332	0,1142
Níveis	0,0998	0,2322	0,4848	0,4219
Nucleotídeos vs. Níveis	0,0718	0,1873	0,4860	0,4317
Regressão				
AMP	0,7242	0,4430	0,7594	0,6968
GMP	0,1948	0,1537	0,4224	0,2603
Contrastes		p-valor		
CP vs. CN	0,1192	0,0863	0,3601	0,5171

¹Controle positivo. ²Controle negativo. ³Adenosina monofosfato. ⁴Guanosina monofosfato. ⁵Coefficiente de variação; ⁶Erro Padrão da Média.

Mesmo não demonstrando maior intensidade de coloração vermelha (a*) em peito dos frangos tratados com AMP como suplementação, [35] utilizando *blend* com AMP, GMP, CMP e UMP a 0,1% de suplementação, apresentaram valores significativos com a utilização dos nucleotídeos na coloração a* [35]. Em frangos de corte, pode-se considerar que um aumento de a* um resultado de sangria não adequada durante o processo de abate [36].

Não houve interações entre os aditivos e níveis de suplementação para a coloração e pH de coxa (P>0,05) (Tabela 8). Estudos demonstram que a inclusão de AMP em carnes de patos *Cherry Valley* proporcionam aumento de pH e capacidade de retenção de água conforme aumentou a inclusão de AMP, e segundo os autores do experimento relatam

que o AMP pode aumentar o pH e restringir o encolhimento muscular levando ao aumento do espaço disponível para a água no interior da miofibrila [33]. Porém, os resultados não corroboram com estes achados.

Conclusão

A suplementação de AMP em 0,21% em dietas de frangos de corte é efetiva no sistema imunológico humoral, sem comprometer o desempenho animal, perfil bioquímico, rendimento de carcaça e cortes e pH de peito e coxa em dietas que apresentam redução de energia até 100 kcal.

Referências

1. Carver, J. D. 1999. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Pædiatrica*, Suppl. 430:83-88.
2. Hess, J. R., and N. A. Greenberg. 2012. The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal systems: potential clinical applications. *Nutrition in Clinical Practice* 27(2):281-294. doi: 10.1177/0884533611434933
3. Quan, R., L. A. Barnes, and R. Uauy. 1990. Do infants need nucleotide supplemented formula for optimal nutrition? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 11(4):429-433.
4. Muir, W. I. 1998. Avian Intestinal Immunity: Basic Mechanisms and Vaccine. *Poultry and Avian Biology Reviews* 9(3):87-106.
5. Uauy, R., R. Quan, and A. Gil. 1994. Role of Nucleotides in Intestinal Development and Repair: Implications for Infant Nutrition. *The Journal of Nutrition* 124(8):1436S-1441S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_8.1436s
6. Carver, J. D. 1994. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system. *Journal of Nutrition* 124:144S-148S.
7. Gil, A. 2002. Modulation of the immune response mediated by dietary nucleotides. *European Journal of Clinical Nutrition*, 56 (Suppl 3):S1-S4.
8. Wang, X. F., G. H. Liu, H. Y. Cai, W. H. Chang, J. S. Ma, A. J. Zheng, and S. Zhang. 2014. Attempts to increase inosinic acid in broiler meat by using feed additives. *Poultry Science* 93(11):2802-2808. doi: 10.3382/ps.2013-03815
9. Daneshmand, A., H. Kermanshahi, M. Danesh Mesgaran, A. J. King, and S. A. Ibrahim. 2017. Effect of purine nucleosides on growth performance, gut morphology, digestive enzymes, serum profile and immune response in broiler chickens.
10. Wu, C., Z. Yang, C. Song, C. Liang, H. Li, W. Chen, W. Lin, and Q. Xie. 2018. Effects of dietary yeast nucleotides supplementation on intestinal barrier function, intestinal microbiota, and humoral immunity in specific pathogen-free chickens. *Poultry Science* 97(11):3837-3846. doi: 10.3382/ps/pey268
11. Yan, J., P. Liu, L. Xu, H. Huan, W. Zhou, X. Xu, and Z. Shi. 2018. Effects of exogenous inosine monophosphate on growth performance, flavor compounds,

- enzyme activity, and gene expression of muscle tissues in chicken. *Poultry Science* 97(4):1229-1237. doi: 10.3382/ps/pex415
12. Zhang, G. Q., Q. G. Ma, and C. Ji. 2008. Effects of dietary inosinic acid on carcass characteristics, meat quality, and deposition of inosinic acid in broilers. *Poultry Science* 87(7):1364-1369. doi: 10.3382/ps.2007-00193
 13. Weaver, A. C., and S. W. Kim. 2014. Supplemental nucleotides high in inosine 5'-monophosphate to improve the growth. *Journal of Animal Science* 92:645-651. doi: 10.2527/jas.2013-6564
 14. Selvaraj, R. K. 2012. Maximum immunity effectors: Mechanisms and animal performance limitations. *The Journal of Applied Poultry Research* 21(1):185-192. doi: 10.3382/japr.2011-00479
 15. Rostagno 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos.4. Ed.-Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV, 2017.
 16. Smith, M.O. 1993. Parts Yield of Broilers Reared Under Cycling High Temperatures *Poultry Science* 79 72:1146-1150.
 17. Olivo, R., A. L. Soares, E. I. Ida, and M. Shimokomaki. 2001. Dietary vitamin e inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry* 25:271-283.
 18. Van Laack, R. L. J. M., C.-H. M. Liu, O. Smith, and H. D. Loveday. 2000. Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poultry Science* 79:1057-1061.
 19. Jung, B., and A. B. Batal. 2012. Effect of dietary nucleotide supplementation on performance and development of the gastrointestinal tract of broilers. *British Poultry Science* 53(1):98-105. doi: 10.1080/00071668.2012.659654
 20. Alizadeh, M., J. C. Rodriguez-Lecompte, A. Rogiewicz, R. Patterson, and B. A. Slominski. 2016. Effect of yeast-derived products and distillers dried grains with solubles (DDGS) on growth performance, gut morphology, and gene expression of pattern recognition receptors and cytokines in broiler chickens. *Poultry Science* 95(3):507-517. doi: 10.3382/ps/pev362
 21. Mateo, C. D. 2005. Aspects of Nucleotide Nutrition in Pigs. PhD Dissertation South Dakota State University., Brookings, SD.
 22. Ho, C. Y., K. V. Miller, D. A. Savaiano, R. T. Crane, K. A. Ericson, and A. J. Clifford. 1979. Absorption and metabolism of orally administered purines in fed and fasted rats. *Journal of Nutrition* 109(8):1377-1382.
 23. Back, D. W., M. J. Goldman, J. E. Fischl, R. S. Ochsll, and A. G. Goodridge. 1986. The fatty acid synthase gene in avian liver. *Journal of Biological Chemistry* 261(9):4190-4197
 24. Kamiike, W., M. Burdelski, G. Steinhoff, B. Ringe, W. Lauchart, and R. Pichlmayr. 1988. Adenine nucleotide metabolism and its relation to organ viability in human liver transplantation. *Transplantation* 45(1):138-143.
 25. Sanderson, I. R., and Y. He. 1994. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. *The Journal of Nutrition* 124(1):131S-134S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_1.131S
 26. Muir, W. I., W. L. Bryden, and A. J. Husband. 2000. Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Developmental and Comparative Immunology* 24:325-342.
 27. Grimble, G. K., and O. M. Westwood. 2001. Nucleotides as immunomodulators in clinical nutrition. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 4:57-64.

28. Moshage, H. J., J. A. Janssen, J. H. Franssen, J. C. Hafkenschied, and S. H. Yap. 1987. Study of the molecular mechanism of decreased liver synthesis of albumin in inflammation. *Journal of Clinical Investigation* 79(6):1635-1641. doi: 10.1172/JCI113000
29. Nicholson, J. P., M. R. Wolmarans, and G. R. Park. 2000. The role of albumin in critical illness. *British Journal of Anaesthesia* 85(4):599-610.
30. Gao, J., H. J. Zhang, S. H. Yu, S. G. Wu, I. Yoon, J. Quigley, Y. P. Gao, and G. H. Qi. 2008. Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. *Poultry Science* 87(7):1377-1384. doi: 10.3382/ps.2007-00418
31. Jensen, G. S., K. M. Patterson, and I. Yoon. 2008. Yeast culture has anti-inflammatory effects and specifically activates NK cells. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 31(6):487-500. doi: 10.1016/j.cimid.2007.08.005
32. Maldonado, J., J. Navarro, E. Narbona, and A. Gilc. 2001. The influence of dietary nucleotides on humoral and cell immunity in the neonate and lactating infant. *Early Human Development* 65 65:S69-S74.
33. Wang, D., S. Deng, M. Zhang, Z. Geng, C. Sun, H. Bian, W. Xu, Y. Zhu, F. Liu, and H. Wu. 2016. The effect of adenosine 5'-monophosphate (AMP) on tenderness, microstructure and chemical-physical index of duck breast meat. *Journal of the science of food and agriculture* 96(5):1467-1473. doi: 10.1002/jsfa.7243
34. Qiao, M., D. L. Fletcher, J. K. Northcutt, and D. P. Smith. 2001. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poultry Science* 80(5):676-680. doi: 10.1093/ps/80.5.676
35. Chiofalo, B., V. Lo Presti, E. D' Alessandro, V. Chiofalo, And L. Lotta. 2011. Nucleotides in broiler chicken diet: effect on breast muscles quality. *Czech Journal food Science* 29(4):308-317.
36. Bridi, A. M., N. A. N. Fonseca, C. A. d. Silva, M. R. S. Balarin, K. K. M. d. C. Flaiban, C. Costantino, M. A. Tarsitano, and T. d. A. B. Cardoso. 2012. Indicadores de estresse e qualidade da carne em frangos abatidos pelo método "Halal". *Semina: Ciências Agrárias* 33(6):2451-2460. doi: 10.5433/1679-0359.2012v33n6p245

III. Efeitos da inosina-5-monofosfato (IMP) como fonte energética sobre a performance animal, sistema imunológico, perfil bioquímico, rendimento e qualidade de carcaças de frangos de corte

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar a suplementação de inosina-5-monofosfato (IMP) como fonte energética em dietas de frangos de corte. Foram utilizados 960 pintos de um dia de idade em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e oito repetições de 20 aves por unidade experimental. As dietas foram uma convencional controle positivo (CP), uma dieta controle negativo (CN) com redução de 100 kcal/kg em relação ao CP e os níveis de suplementação do nucleotídeo inosina-5-monofosfato (IMP) na dieta CN de 0,07; 0,12; 0,17 e 0,22% de 1 a 42 dias. Aos 21 dias houve efeito linear decrescente ($P < 0,05$) para a conversão alimentar e aos 42 dias efeito linear crescente ($P < 0,05$) para o CR e GP. Houve aos 21 dias de idade efeito linear crescente ($P < 0,05$) para contagem de linfócitos e anticorpos. A suplementação de IMP pode suprir a necessidade energética de dietas com energia reduzida melhorando os parâmetros de desempenho no nível de suplementação de 0,22% para fase inicial e 0,17% e melhorando sistema imune a partir de 0,12% de suplementação.

Palavra-chave: Avicultura, Energia, Imunidade, Nucleotídeos, Nutrição

IV. Effects of inosine-5-monophosphate (IMP) as an energy source on animal performance, immune system, blood biochemical profile, yield and quality of broiler carcasses

Abstract

The aim of the study was to evaluate the supplementation of inosine-5-monophosphate (IMP) as an energy source in broiler diets. 960 one-day-old chicks were used in a completely randomized design, with six treatments and eight replicates of 20 birds per experimental unit. The diets were a conventional positive control (CP), a negative control (NC) diet with a reduction of 100 kcal/kg in relation to CP and the supplementation levels of the nucleotide inosine-5-monophosphate (IMP) in the CN diet of 0.07; 0.12; 0.17 and 0.22% from 1 to 42 days. At 21 days there was a decreasing linear effect ($P < 0.05$) for feed conversion and at 42 days an increasing linear effect ($P < 0.05$) for CR and GP. At 21 days of age there was an increasing linear effect ($P < 0.05$) for lymphocyte and antibody counts. IMP supplementation can meet the energy requirement of reduced energy diets by improving performance parameters at the supplementation level of 0.22% for the initial phase and 0.17% for the growth phase and improving the immune system from 0.12% of supplementation.

Keyword: Energy, Immunity, Nucleotides, Nutrition, Poultry

Introdução

A inosina-5-monofosfato é um nucleotídeo purínico que contém potencial imunológico para melhorar a saúde intestinal das aves [1]. Devido a sua ação promovendo a síntese *de novo* e de salvamento este nucleotídeo recompõe a demanda de nucleotídeos e nucleosídeos necessários para o *turnover* celular de animais em desenvolvimento [2, 3, 4].

O *turnover* celular ocorre em diversos tecidos de crescimento rápido, como os do intestino e linfoides, porém em situação de injúria e enfermidade, a síntese *de novo* é insuficiente para suprir esta demanda [5] e a síntese pela via de salvamento é necessária para poupar energia e aproveitar substâncias presentes no citoplasma celular, como bases purínicas e pirimidinas para produzir novos nucleotídeos [6].

Assim, a necessidade de suplementação de nucleotídeos pode promover suporte para o *turnover* celular para o sistema imunológico [7, 8]. Como o sistema imunológico demanda alta quantidade de energia para ser ativado em situações de enfermidades [9], estes nucleotídeos podem se tornar uma alternativa para melhorar estes requisitos [10]. Deste modo, nucleotídeos como o IMP, apesar de não essenciais na nutrição animal ou condicionalmente essenciais [4], contêm características importantes para promover melhoria no desempenho e saúde dos animais de produção [12, 13].

Em frangos de corte, a utilização de nucleotídeos purínicos como a adenosina-5-monofosfato (AMP), sem redução de energia na dieta, pode melhorar o ganho de peso diário e conversão alimentar pela eficiência de absorção e melhora da qualidade de vilosidades intestinais [14]. Ainda relacionado a saúde intestinal e sistema imunológico, produtos derivados de leveduras ricos em nucleotídeos [15] e nucleotídeos purificados à base de leveduras [16] promovem aumento de imunoglobulinas importantes para neutralizar patógenos intestinais e virais sistêmicos.

Além disso, a IMP pode se acumular entre as fibras musculares podendo ser utilizada em dietas de frangos de corte como flavorizantes em cortes de peito [17, 18, 19]. Este nucleotídeo pode ainda aumentar a atividade enzimática de fibras musculares de peito de frangos como a enzima 5-nucleotidase, adenosina-trifosfatase e fosfatase alcalina [19].

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar a IMP como fonte energética em dietas com redução de energia metabolizável sobre os parâmetros de desempenho, perfil

bioquímico sérico, parâmetros do sistema imunológico celular e humoral, rendimento e qualidade de carcaças e cortes, creatinina muscular e amônia volatilizada de cama de frangos de corte no período de 1 a 42 dias de idade.

Materiais e métodos

O experimento foi conduzido no aviário experimental de produção de frango de corte do Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá – UEM, sob a aprovação do Comitê de Ética em Uso Animal, desta mesma instituição CEUA N° 2295271119.

O período experimental foi de 1 a 42 dias de idade, e foram utilizados 960 frangos de corte de um dia de idade, machos, da linhagem comercial Cobb-Vantress®, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente ao acaso, com seis tratamentos e oito repetições de 20 aves por unidade experimental.

Os tratamentos consistiram em: uma dieta controle positivo (CP) formulada convencional para aves de desempenho médio formuladas segundo Rostagno et al. (2017), uma dieta com redução de energia metabolizável (100 kcal/kg) demandadas, controle negativo (CN), e quatro níveis de suplementação do nucleotídeo inosina-5-monofosfato na forma pura (IMP) (0; 0,07; 0,12; 0,17 e 0,22%).

As aves foram alojadas em boxes (1,0 x 2,0 metros), cama de casca de arroz, em galpão climatizado com *pad cooling* e pressão negativa, utilizando um programa de luz correspondente a 23 horas de luz diária e fornecimento de água e ração *ad libitum*. As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos de desempenho médio propostas por Rostagno et al. (2017) [20]. No sétimo dia de idade, para aumentar o desafio sanitário, as aves foram vacinadas contra a doença de Newcastle, via ocular, utilizando vacina industrializada (liofilizada) com vírus vivo, tipo B1-LaSota (New-Vacin, Biovet®).

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de frangos de corte de 1 a 42 dias na fase inicial (1 a 21 dias) e crescimento (21-42 dias).

Ingredientes	Quantidade (kg)			
	1-21 dias		21-42 dias	
	(CP)	(CN)	(CP)	(CN)
Milho grão	53,74	53,74	62,40	62,40
Soja farelo 45%	39,39	39,39	30,32	30,32
Óleo de soja	2,67	1,53	3,50	2,36
Fosfato bicálcico	1,86	1,86	1,97	1,97
Calcário	0,88	0,88	0,33	0,33
Sal comum	0,50	0,50	0,44	0,44
Suplemento vitamínico mineral ^{1, 2}	0,40	0,40	0,40	0,40
DL-metionina 99%	0,34	0,34	0,29	0,29
L-lisina 78%	0,17	0,17	0,24	0,24
L-treonina 99%	0,06	0,06	0,10	0,10
Inerte*	0,00	1,14	0,00	1,14
Total	100	100	100	100
Composição calculada				
Energia metabolizável (kcal/kg)	3012,5	2912,5	3150	3050
Proteína bruta (%)	23,00	23,00	19,50	19,50
Met.+ Cist. Digestível (%)	0,948	0,948	0,830	0,830
Lisina digestível (%)	1,282	1,282	1,092	1,092
Treonina digestível (%)	0,846	0,846	0,738	0,738
Cálcio (%)	0,700	0,700	0,700	0,700
Fósforo disponível (%)	0,441	0,441	0,481	0,481
Potássio (%)	0,897	0,897	0,742	0,742
Cloro (%)	0,363	0,363	0,310	0,310
Sódio (%)	0,210	0,210	0,200	0,200
Número de Mogin (mEq/kg)	218,18	218,18	189,25	189,25

¹ Suplemento vitamínico inicial (conteúdo por kg de ração): Vit. A 11667 UI/kg; Vit. D3 2333 UI/kg; Vit. E 35 UI/kg; Vit. K3 1,73 mg/kg; Vit. B1 1,63 mg/kg; Vit. B2 5 mg/kg; Vit. B12 17 mcg/kg; Niacina 36 mg/kg; Pantotenato de cálcio 13 mg/kg; Ácido Fólico 0,8 mg/kg; Biotina 0,1 mg/kg. Suplemento mineral inicial (conteúdo/kg de premix): Ferro 12,6 g/kg; Cobre 3,072 mg/kg; Iodo 248 mg/kg; Zinco 12,6 g/kg; Manganês 15 g/kg; Selênio 61,20 mg/kg; Cobalto 50,40 mg/kg.

²(21-42 dias de idade) Suplemento vitamínico (conteúdo por kg de ração): Vit. A 9000 UI; Vit. D3 1800 UI; Vit. E 28 UI; Vit. K3 1,67 mg/kg; Vit. B1 1,2 mg/kg; Vit. B2 4 mg/kg; Vit. B12 12 mcg/kg; Niacina 28 mg/kg; Pantotenato de Cálcio 10 mg/kg; Ácido Fólico 0,56 mg/kg; Biotina 0,056 mg/kg. Suplemento mineral (conteúdo por kg de premix): Ferro 0,05 g/kg; Cobre 12 mg/kg; Iodo 1 mg/kg; Zinco 0,05 g/kg; Manganês 0,06 g/kg; Selênio 0,3 mg/kg; Cobalto 0,2 mg/kg.

* Os nucleotídeos utilizados como aditivo foram adicionadas as rações controle negativo (CN) em substituição ao inerte (Caulim).

Desempenho

As pesagens das aves e das rações foram realizadas semanalmente, assim calculados os ganhos de peso (GP), consumo de ração (CR) e a conversão alimentar (CA) das aves. A mortalidade diária foi registrada e o procedimento adotado foi por meio da

pesagem das aves mortas e das rações experimentais para correção das variáveis referentes ao desempenho das aves.

Perfil bioquímico

Aos 21 dias e aos 42 dias de idade, foram coletadas amostras de sangue da veia jugular, de 3 mL, utilizando uma ave por unidade experimental, a fim de determinar as concentrações séricas de glicose, triglicerídeos, colesterol, ácido úrico, ureia, albumina, proteínas totais e fosfatase alcalina mediante um processo enzimático-colorimétrico (kits comerciais Gold Analisa®).

Análise de anticorpos (ELISA)

Os soros coletados das aves selecionadas aos 21 e 42 dias foram testados por meio do teste de ELISA indireto para a detecção de IgY da doença de Newcastle (kit comercial Idexx®, Westbrook, Maine, EUA), para quantificar a resposta humoral das aves.

Contagem de células leucocitárias

Outra ave de cada unidade experimental, foi realizado aos 21 dias de idade e aos 42 dias, a coleta de sangue com seringas contendo heparina, via veia jugular, para confecção do esfregaço sanguíneo em lâminas foscas de vidro para microscopia. As lâminas foram coradas com kit Panótipo e depois os esfregaços foram avaliados em microscopia óptica em aumento de 1000× utilizando óleo de imersão. Foi avaliada a morfologia de todos os tipos celulares de leucócitos. Os tipos de leucócitos que foram descritos estão de acordo com a morfologia e a classificação proposta por Hawkey & Dennet (1994) [21], que os classificaram em células mononucleadas (linfócitos, monócitos) e granulócitos (heterófilos, eosinófilos e basófilos).

Creatinina muscular

Aos 21 e aos 42 dias de idade, uma ave por repetição foram utilizadas para a quantificação de creatinina muscular contida no músculo *Pectoralis major*, adaptada da metodologia de Willian et al. (1927) [22], e a leitura foi realizada pelo kit comercial (Goldanalisa®, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Rendimento de carcaça

Aos 42 dias de idade, uma ave de cada unidade experimental foi abatida após jejum de oito horas. Os frangos de corte passaram por eutanásia com Tiopental, endovenosa 10 mg/kg, seguida de sangria por incisão de veia jugular (dia de rendimento de carcaças) após constata a eutanásia. Posteriormente, foram depenadas, evisceradas e as carcaças pesadas em balança digital. Para o cálculo de rendimento de carcaça foi utilizado o peso da carcaça eviscerada sem pés, cabeça e gordura abdominal, em relação ao peso vivo.

Em relação aos cortes, foram determinados os rendimentos de peito, coxa e sobrecoxa (com pele e ossos), asas e dorso, sendo calculado em relação ao peso da carcaça eviscerada. A gordura abdominal considerada foi a existente ao redor da cloaca, bolsa cloacal, moela, proventrículo e dos músculos abdominais adjacentes, descrita por Smith (1993) [23], pesada e calculada em relação ao peso da carcaça eviscerada.

Coloração e pH dos cortes de peito e coxa

O músculo do lado direito e esquerdo do peito (*Pectoralis major*) e da coxa foram coletados de uma ave por repetição para a avaliação da qualidade de carne nas aves aos 42 dias de idade. O pH foi medido com auxílio de um pHmetro da marca Testo® (modelo 205) aplicado no filé do peito e da coxa, 15 minutos após o abate, conforme descrito por Boulianne e King (1995) e adaptado por Olivo et al. (2001) [24]. A coloração expressa com os componentes L* (luminosidade), a* (componente vermelho ao verde) e b* (componente amarelo ao azul), foi mensurada após o abate, com um colorímetro (modelo

CR-400 Konica Minolta) em três pontos diferentes da superfície da coxa e peito, segundo metodologia descrita por Van Laack et al. (2000) [25].

Amônia volatilizada de cama de aviário

O método utilizado para quantificar a amônia volatilizada de cama de aviário foi proposto por Hernandez and Cazetta (2001) [26]. As camas de aviário foram coletadas de 24 unidades experimentais, totalizando 4 amostras por tratamento, aos 21 e aos 42 dias de idade das aves. Estas foram coletadas de 5 pontos diferentes dos boxes de cada unidade experimental e homogeneizadas, e 100 g foram inseridas em frascos de vidro de 1000 mL. Em seguida, em um becker de 50 mL foram colocados 10 mL de solução de ácido bórico (20 g/100 mL) e colocado dentro do frasco de 1000 mL com as 100g de cama de aviário, vedado com a tampa e, colocadas em estufa a 30°C pelo período de 20 horas. Após este período de incubação, as amostras foram tituladas com ácido sulfúrico 0,05N. Os resultados foram expressos em miligramas de amônia liberada, calculados pela fórmula:

$$A = \frac{Vt \cdot N \cdot 1,7}{P}$$

em que A é mg NH₃; Vt é o volume da solução de H₂SO₄ gasto na titulação (mL); N é a normalidade do ácido usado e P é a quantidade incubada (g).

Análises estatísticas

Os dados obtidos referentes aos níveis de IMP foram desdobrados em polinômios ortogonais de forma a permitir a análise de variância (ANOVA) e regressão (REG), de acordo com suas distribuições, utilizando o *software* (SAS Institute, 2009) ao nível de significância de 5%. Foi realizado o teste de Dunnett, no intuito de comparar o tratamento controle negativo (CN) com os níveis de suplementação de IMP.

Resultados e discussão

De 1 a 21 dias de idade, o ganho de peso (GP) e o consumo de ração (CR) não apresentaram influência dos níveis ($P>0,05$) (Tabela 2), no entanto, pode ser observado efeito linear decrescente ($P<0,05$) para a conversão alimentar (CA), quanto maior a suplementação do IMP na dieta melhor é a CA, e com 0,22% de suplementação as aves apresentaram melhores CA ($P<0,05$) a suplementação com IMP proporcionou pior CA que a dieta CP. ($P<0,05$). Estudos utilizando fontes de nucleotídeos na dieta de frangos de corte não apresentaram resultados para o desempenho animal [1, 19, 27].

Porém, a redução de energia metabolizável na dieta pode levar ao aumento do consumo de ração [28] corroborando com os resultados encontrados nas dietas com redução de energia e inclusão de IMP. Como os nucleotídeos têm a capacidade de maior potencial para *turnover* celular em tecidos como intestinal e imunológico associado a economia de energia, promovido pela formação de novos nucleotídeos pela via de salvamento em animais em desenvolvimento [7, 29]. O IMP proporcionou maior CR, e melhor CA otimizando o desenvolvimento e o aproveitamento de nutrientes da dieta destes animais. Contribuindo para melhor desenvolvimento das aves na fase inicial.

Considerando o período de 1 a 42 dias de idade, pode ser observado efeito linear crescente ($P<0,05$) para o CR e o GP, sendo que a partir de 0,17% de suplementação foram observados valores destes parâmetros superiores quando comparados ao CN e CP, porém não influenciou na CA. Segundo Mateo (2005) [30], a suplementação de IMP em dietas de animais em crescimento ou estresse pode agir melhorando o desempenho em função do IMP atuar na síntese *de novo* [31].

Esta capacidade de fornecer moeda energética para células como enterócitos [5] e para os microrganismos benéficos [16], proporciona melhor desenvolvimento do intestino e estimula produção de IgA em mucosas intestinais, que contribui para melhoria do sistema imune no sistema gastrointestinal [14]. Mesmo sendo relatado que os nucleotídeos não são essenciais na nutrição [29], mas apresentam melhores resultados em animais desafiados sanitariamente no trato gastrointestinal [31] podendo observar resultados positivos no desempenho animal com a redução de energia metabolizável com a suplementação do IMP.

Tabela 2. Desempenho de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) de 1 a 21 e de 1 a 42 dias de idade.

Tratamentos	Ganho de peso (g)	Consumo de ração (g)	Conversão alimentar (g/g)
1-21 dias			
CP ¹	589	875	1,490
CN ²	561	938	1,672
CN + IMP ³ 0,07%	558	926	1,661
CN + IMP 0,12%	568	928	1,636
CN + IMP 0,17%	618	971	1,572
CN + IMP 0,22%	624	960	1,538*
CV ⁴ (%)	8,25	6,68	5,66
EPM ⁵ (%)	9,43	12,18	0,02
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,0733	0,3718	0,0066 L ¹
1-42 dias			
CP	2687	4227	1,574
CN	2653	4219	1,592
CN + IMP 0,07%	2670	4272	1,599
CN + IMP 0,12%	2742	4397	1,604
CN + IMP 0,17%	2772*	4465*	1,611
CN + IMP 0,22%	2755*	4473*	1,623
CV (%)	4,125	4,390	2,360
EPM (%)	19,41	33,09	0,01
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,0249 L ²	0,0125 L ³	0,1416

¹Controle negativo; ²Controle Positivo; ³Inosina-5-monofosfato; ⁴Coefficiente de Variação; ⁵EPM - Erro Padrão da Média. *- Teste de Dunnett (P<0,05). Regressão: L; L¹=1,722-0,0357x, R²=0,94; L²=2617,00+30,60x, R²=0,85; L³=4135,10+70,09, R²=0,91.

Aos 21 e aos 42 dias de idade, não houve efeito (P>0,05) para os níveis séricos de triglicerídeos, colesterol totais, ácido úrico, proteínas totais, albumina e fosfatase alcalina (Tabela 3). As aves que receberam as dietas CN apresentaram valores de glicose sérica inferiores (P<0,05) quando comparadas com as aves que consumiram a dieta CP e as dietas suplementadas com IMP aos 21 dias de idade. Porém, aos 42 dias de idade, pode ser observado efeito linear decrescente (P<0,05), e quanto maior a suplementação de IMP, menor foi os níveis séricos de glicose. Estes resultados podem sugerir que a utilização de IMP na dieta de frangos de corte pode igualar os níveis séricos de glicose das aves que consumiram a dieta CP na fase inicial, não ocorrendo na fase de crescimento, pois os nucleotídeos podem proporcionar menor gasto de energia do organismo em desenvolvimento devido a estas substâncias facilitarem o aproveitamento de nucleotídeos

pela via de salvamento ao invés da via de síntese *de novo* que demanda maior gasto energético principalmente em tecidos intestinais [2, 3, 5, 7, 32]. Não apenas em aves, mas em ratos, a utilização de nucleotídeos pirimídicos, como a adenosina monofosfato de forma exógena demonstraram aumento na glicose sérica [35].

Tabela 3. Perfil bioquímico de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.

Tratamentos	Glicose (mg/L)	Triglicerídeos (mg/ dL)	Colesterol total (mg/ dL)	Ácido Úrico (mg/ dL)	Proteínas totais (g/dL)	Albumina (g/dL)	Fosfatase Alcalina (U/L)
21 dias							
CP ¹	243,06	123,54	82,84	7,392	3,045	1,072	17622
CN ²	231,25	109,07	79,05	7,335	3,098	1,062	15633
CN + IMP ³ (0,07%)	247,10	118,67	79,68	8,209	3,146	0,965	16569
CN + IMP (0,12%)	243,58	119,23	84,77	8,655	3,233	1,047	17749
CN + IMP (0,17%)	241,92	108,35	77,73	8,882	3,100	1,060	16681
CN + IMP (0,22%)	243,91	111,70	79,18	8,234	2,966	1,046	16969
CV ⁴ (%)	4,39	19,90	10,91	21,80	8,97	10,06	41,409
EPM ⁵ (%)	4,13	10,08	3,21	0,78	0,11	0,04	2733,87
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,4971	0,5881	0,1695	0,7660	0,6682	0,3318	0,9875
42 dias							
CP ¹	92,25	120,78	84,45	4,975	3,226	1,261	12534
CN ²	98,33	117,61	84,28	6,187	2,88	1,162	8461
CN + IMP ³ (0,07%)	96,63	142,98	81,69	7,506	3,017	1,318	11503
CN + IMP (0,12%)	95,50	134,44	93,39	5,831	3,056	1,213	12447
CN + IMP (0,17%)	87,56*	116,81	89,99	4,768	2,685	1,274	9679
CN + IMP (0,22%)	84,32*	128,12	88,01	5,818	3,012	1,241	8967
CV ⁴ (%)	15,252	30,283	15,3173	38,957	21,709	13,8073	74,441
EPM ⁵ (%)	3,273	9,22	1,944	0,3288	0,0933	0,0248	2074,12
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,0120 L ¹	0,766	0,3051	0,1607	0,4508	0,9986	0,6347

¹Controle negativo; ²Controle Positivo; ³Inosina-5-monofosfato; ⁴Coefficiente de Variação; ⁵EPM - Erro Padrão da Média. *- Teste de Dunnett (P < 0,05).
Regressão L¹=103,6-3,70X, R²=0,91.

Na contagem de células leucocitárias dos frangos de corte aos 21 e aos 42 dias de idade, houve efeito linear decrescente ($P < 0,05$) na contagem dos heterófilos e houve efeito linear crescente ($P < 0,05$) para a contagem de linfócitos (Tabela 4). A contagem diferencial de heterófilos foi menor para os níveis 0,17% e 0,22% de IMP aos 21 dias de idade, e 0,12%, 0,17% e 0,22% aos 42 dias de idade quando se compara cada nível com o CN. Por outro lado, a contagem diferencial de linfócitos foi maior para os níveis 0,12%, 0,17% e 0,22% aos 21 e aos 42 dias de idade das aves quando comparados cada níveis com o tratamento CN. A quantidade de heterófilos pode aumentar conforme em função um animal esteja com sinal clínico de infecção ou processo inflamatório [36]. Porém, esse valor foi aumentado pela menor quantidade de linfócitos e a manutenção da ação do sistema imune celular [37].

No caso dos linfócitos, sugere que este aumento pode ter ocorrido pela capacidade dos nucleotídeos de promover maior estímulo para produção e ativação de linfócitos T pois, com menor aporte de purinas pode existir diminuição de células T-helper (Th) e diminuição da maturação destas células [38]. O mecanismo de ação dos nucleotídeos na dieta em relação ao sistema imunológico para as aves não é totalmente esclarecido, porém em desafio sanitário a demanda de grande quantidade de energia [39] associada com a necessidade de nucleotídeos para os tecidos de proliferação rápida do sistema imunológico, podem não ser supridas pela síntese *de novo* e salvamento, e essa situação faz com que a utilização de nucleotídeos e nucleobases provenientes do sangue e dieta sejam aproveitados para suprir a necessidade da ave [7].

Para a contagem diferencial de monócitos e basófilos aos 21 dias de idade pode ser observado efeito linear decrescente ($P < 0,05$), quanto maior é a suplementação de IMP, menores são as quantidades destes leucócitos na corrente sanguínea das aves. A contagem diferencial de monócitos foi menor nos níveis de suplementação 0,17% e 0,22% quando comparados cada nível com o CN. Enquanto, para os basófilos foi menor nos níveis 0,12%, 0,17% e 0,22% quando comparados ao tratamento CN. Além disso, o tratamento CN apresentou maiores valores de contagem de monócitos e basófilos do que as aves que consumiram a dieta CP e as dietas suplementadas com o nucleotídeo IMP ($P < 0,05$) aos 21 dias de idade. Aos 42 dias de idade, a contagem diferencial de monócitos apresentou maiores valores ($P < 0,05$) para as aves que consumiram a dieta CN quando comparado ao tratamento CP.

A capacidade dos basófilos de liberação de histamina e estímulo celular como a dos linfócitos T-CD4, associada a rápida geração de IL-4 e IL-13 contribui para o

recrutamento adicional de leucócitos nos tecidos e suporta respostas imunes a Th2, levando a melhor síntese de imunoglobulinas E (IgE) [40]. Assim, a utilização de IMP pode ter reduzido esta população de basófilos e conseqüentemente a de outros leucócitos do sistema imune inato como os monócitos, disponibilizando energia para a produção de linfócitos específicos para a produção de IgY da vacina de Newcastle.

Tabela 4. Contagem de células leucocitárias de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.

Tratamentos	Heterofilos (%)	Linfócitos (%)	Monócitos (%)	Eosinófilos (%)	Basófilos (%)
21 dias					
CP ¹	35,68	63,37	0,687	0,125	0,125
CN ²	45,43	50,18	2,500	0,562	1,312
CN + IMP ³ (0,07%)	44,81	51,37	2,125	0,688	1,000
CN + IMP (0,12%)	41,57	55,92*	1,357	0,357	0,785*
CN + IMP (0,17%)	39,46*	58,80*	0,933*	0,401	0,401*
CN + IMP (0,22%)	34,31*	63,75*	1,187*	0,370	0,381*
CV ⁴ (%)	18,89	14,08	103,33	183,78	158,45
EPM ⁵ (%)	1,59	1,51	0,35	0,18	0,24
Regressão	0,0001 L ¹	0,0001 L ²	0,0038 L ³	0,6018	0,0160 L ⁴
42 dias					
CP	38,53	58,26	1,533	0,800	0,866
CN	55,13	40,01	2,933	1,066	0,866
CN + IMP ³ (0,07%)	52,66	44,13	2,133	0,533	0,5333
CN + IMP (0,12%)	44,61*	51,46*	2,307	1,000	0,7692
CN + IMP (0,17%)	42,33*	54,06*	2,333	0,866	0,400
CN + IMP (0,22%)	37,92*	58,57*	2,285	0,500	0,714
CV (%)	18,89	14,084	103,33	183,78	158,45
EPM (%)	1,905	1,907	0,442	0,247	0,249
Regressão	0,0001 L ⁵	0,0001 L ⁶	0,4367	0,3373	0,5758

¹Controle negativo; ²Controle Positivo; ³Inosina-5-monofosfato; ⁴Coefficiente de Variação; ⁵EPM - Erro Padrão da Média. *- Teste de Dunnett (P<0,05); L= Regressão Linear; L¹= 9,39-2,75x, R²=0,93; L²=45,63+3,46x, R²=0,97; L³=2,76-0,38x, R²=0,83; L⁴=1,51-0,25x, R²=0,96; L⁵=59,95-4,48x, R²=0,97; L⁶=35,52+4,70x, R²=0,98.

Houve efeito linear crescente ($P < 0,05$) para os títulos de anticorpos de frangos de corte mensurados através do teste Elisa para doença de Newcastle para fase de 1 a 21 dias de idade (Tabela 5). Os níveis de suplementação 0,12%, 0,17% e 0,22% de IMP apresentaram maior titulação de anticorpos quando comparado cada nível de suplementação com o tratamento CN ($P < 0,05$).

Nucleotídeos originados de leveduras podem influenciar na formação de anticorpos pelos linfócitos B com maior velocidade, aumentando a resposta de protocolos vacinais em frangos de corte [41]. Associado ao maior peso relativo de Bolsa Cloacal, maior quantidade de linfócitos na contagem diferencial de células leucocitárias aos 21 dias, pode-se observar que a adição de IMP na dieta das aves pode promover resposta imunológica para garantir a maior produção de imunoglobulinas contra o vírus da doença de Newcastle. Estudos também corroboram com o aumento de títulos de anticorpos em aves vacinadas contra patógenos virais [16, 42].

Em aves desafiadas com vacina contra o vírus da bronquite infecciosa das aves (IBDV) suplementadas com nucleotídeos na dieta pode ser observado aumento nos títulos de anticorpos tanto nas imunoglobulinas séricas contra estes vírus vacinal como também para IgA e IgM a nível de mucosa intestinal ação anti-inflamatória [16]. Gao et al. (2008), suplementando nucleotídeos como aditivo em dieta de frangos de corte e desafiando com vacina de Newcastle, observaram aumento nos títulos de anticorpos corroboram os dados encontrados neste estudo [42]. Segundo os autores deste estudo a ação anti-inflamatória que produtos à base de leveduras podem modular leucócitos tanto do sistema imune inato, como leucócitos do sistema imune humoral a exemplo dos linfócitos B [44]. A economia de energia causada pela via de salvamento quando comparada a via de síntese de novo com a suplementação dos nucleotídeos [3, 7], promove maior energia e bases purínicas para produção células e anticorpos [37, 39].

Tabela 5. Teste Elisa para doença de Newcastle em soro de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.

Tratamentos	Log ¹⁰ (21 dias)	Log ¹⁰ (42 dias)
CP ¹	3,839	3,099
CN ²	3,550	2,876
CN + IMP ³ (0,07%)	3,574	2,877
CN + IMP (0,12%)	3,640*	3,012
CN + IMP (0,17%)	3,747*	3,002
CN + IMP (0,22%)	3,769*	3,001
CV ⁴ (%)	3,17	4,45
EPM ⁵ (%)	0,02	0,03
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,0001 L ¹	0,1326

¹Controle negativo; ² Controle Positivo; ³ Inosina-5-monofosfato; ⁴ Coeficiente de Variação; ⁵ EPM - Erro Padrão da Média. *- Teste de Dunnett (P< 0,05). Regressão linear: L; L¹=3,413+0,0611x, R²=0,82.

A creatinina muscular em carnes de peito dos frangos de corte suplementados com IMP, não apresentaram efeitos (P>0,05) (Tabela 6). A creatinina é o produto da degradação da fosfocreatina muscular e não pode ser reaproveitada pelo organismo, após ser formada é comumente excretada pela urina nos mamíferos e na excreta de aves e répteis [45]. Além disso, quanto maior é a quantidade de creatina endógena em frangos de corte no início do desenvolvimento embrionário, menor é a quantidade de creatinina e, inversamente proporcional ocorre no final do período de incubação [46]. Na célula, a creatina (Cr) funciona como um tampão de fosfato com armazenamento de alta energia através de sua conversão em fosfocreatina e subsequente restauração do ATP pela enzima creatina quinase [47]. Como o IMP pode doar grupamentos fosfato para promover a regeneração de adenosina difosfato (ADP) para adenosina trifosfato (ATP), avaliar a quantidade de creatinina muscular poderia mostrar se os nucleotídeos via exógena poderia poupar energia celular da musculatura, entretanto não foi observado efeito entre os níveis de IMP suplementados na dieta. O aumento do consumo de ração e ganho de peso podem ter favorecido e suprido a energia muscular e o IMP ter contribuído no *turnover* celular [7] do desenvolvimento das células musculares.

Tabela 6. Creatinina muscular (mg/dL) do músculo *pectoralis major* de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.

Tratamentos	Creatinina (mg/dL)	
	21 dias	42 dias
CP ¹	4,027	3,926
CN ²	3,493	4,318
CN + IMP ³ (0,07%)	3,646	4,297
CN + IMP (0,12%)	3,571	3,954
CN + IMP (0,17%)	3,817	4,219
CN + IMP (0,22%)	3,791	4,089
CV ⁴ (%)	16,70	11,67
EPM ⁵ (%)	0,22	0,18
Regressão (<i>p</i> -valor)	0,8583	0,5307

¹Controle negativo; ²Controle Positivo; ³Inosina-5-monofosfato; ⁴Coefficiente de Variação; ⁵EPM - Erro Padrão da Média.

Para o rendimento de carcaça e cortes (Tabela 7), não houve efeitos ($P>0,05$) para nenhum dos parâmetros avaliados. Estes resultados corroboram com estudos referentes a utilização de IMP na dieta de frangos de corte em fase semelhante, sendo que mesmo existindo a deposição do IMP nas fibras musculares e aumento do sabor da carne, não houve resultados positivos para o rendimento de carcaças e cortes [18,19].

Tabela 7. Rendimento de carcaça e cortes (%) de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 42 dias de idade.

Tratamentos	Carcaça (%)	Peito (%)	Coxa (%)	Asa (%)	Dorso (%)	Gordura Abdominal (%)
CP ¹	72,61	31,49	22,84	7,09	11,03	1,76
CN ²	71,08	30,51	22,64	7,26	10,59	1,45
CN + IMP ³ (0,07%)	70,82	30,38	22,54	6,88	10,95	1,45
CN + IMP (0,12%)	69,9	28,63	22,9	7,47	10,86	1,56
CN + IMP (0,17%)	70,64	30,86	22,31	7,26	10,12	1,69
CN + IMP (0,22%)	70,09	29,97	22,82	6,93	10,25	1,60
CV ⁴ (%)	3,40	6,99	4,49	5,88	8,16	21,60
EPM ⁵ (%)	0,67	0,77	0,41	0,14	0,29	0,16
Regressão (<i>p</i> -valor)	0,4074	0,8196	0,9171	0,4728	0,1915	0,1953

¹Controle negativo; ²Controle Positivo; ³Inosina-5-monofosfato; ⁴Coefficiente de Variação; ⁵EPM - Erro Padrão da Média.

Para os parâmetros de qualidade de peito e de coxa (Tabelas 8 e 9), não houve efeito para luminosidade (L^*), coloração de carne de peito vermelha (a^*) e amarela (b^*) tanto em 15 minutos pós abate quanto para 24 horas pós abate. Em estudos com nucleotídeos não purificados na dieta de frangos de corte, pesquisadores apresentaram maior coloração b^* no músculo *Pectoralis major* pela maior absorção de íons de ferro da dieta e assim se depositando na musculatura [48] e menor intensidade de coloração a^* , que podem ser bom indicativo de coloração na qualidade do produto final [49]. Estes resultados do presente estudo para coloração podem propor que a suplementação de IMP em dietas com redução de energia metabolizável não influenciam negativamente proporcionando alteração de cor e ter aceitabilidade do consumidor final do produto [1].

Não houve efeito ($P>0,05$) para pH de peito e coxa 15 minutos e 24 horas pós abate das aves suplementadas com IMP na fase de crescimento ($P>0,05$). As aves que receberam dietas suplementadas com IMP apresentaram maiores valores de pH 24 horas *post mortem* quando comparadas as aves que receberam as dietas CN sem a suplementação do nucleotídeo ($P<0,05$). Com o consumo de todo glicogênio muscular e aumento do ácido láctico evidenciado no processo de *rigor mortis*, o IMP por ter a capacidade de se acumular nas células musculares [19] pode ter retardado este consumo de glicogênio, mantendo o pH dos cortes de peito com pH semelhantes aos da dieta convencional e superiores aos das aves que consumiram a dieta CN.

A capacidade de retenção de água (CRA) para peito não apresentou efeito ($P>0,05$) com a suplementação de IMP em dieta hipocalórica de frangos de corte para 21 e 42 dias, no entanto ao comparar as aves que consumiram a dieta CP e as que receberam as dietas CN e as suplementadas com IMP, pode ser observado maiores valores de CRA ($P<0,05$). A capacidade de retenção de água é a capacidade de retenção da água ou umidade existente na carne quando submetida em situações de corte, mastigação, trituração, centrifugação, prensa ou aquecimento [50]. Pode indicar também que algumas proteínas, como as sarcoplasmáticas e colágeno presentes na carne, estão com a capacidade de gelatinizar e reter água, melhorando a qualidade desta carne [51]. Com isso, mesmo suplementando com IMP, as dietas hipocalóricas não foram capazes de promover aporte energético para manter as proteínas pelo *rigor mortis* [50] equivalendo aos valores da dieta convencional.

Tabela 8. Coloração, pH e capacidade de retenção de água (%) de peito de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.

Níveis de inclusão (%)	L* 15 min	a* 15 min	b* 15min	L* 24 h	a* 24 h	b* 24 h	pH peito 15 min.	pH peito 24h	CRA (%)
CP ¹	51,87	15,53	9,52	56,23	17,28	12,70	6,49	6,42	72,98
CN ²	50,20	16,21	9,39	54,81	18,00	12,05	6,47	6,35	62,12
CN + IMP ³ (0,07%)	52,41	16,49	9,49	55,58	17,87	12,05	6,63	6,35	60,66
CN + IMP (0,12%)	50,32	15,95	8,28	54,54	17,94	11,28	6,57	6,47	65,48
CN + IMP (0,17%)	53,13	15,84	11,18	57,11	16,62	13,70	6,53	6,45	64,06
CN + IMP (0,22%)	51,76	15,73	10,00	55,43	17,49	12,76	6,51	6,46	59,16
CV ⁴ (%)	5,80	11,17	23,08	5,76	11,65	17,25	1,64	2,40	12,01
EPM ⁵ (%)	0,46	0,27	0,34	0,49	0,31	0,33	0,02	0,02	1,24
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,8135	0,9238	0,7013	0,9203	0,8033	0,8225	0,1778	0,4303	0,6519

¹Controle negativo; ²Controle Positivo; ³Inosina-5-monofosfato; ⁴Coeficiente de Variação; ⁵EPM - Erro Padrão da Média; L* - Luminosidade; a* - Coloração vermelha; b* - Coloração amarela; CRA – Capacidade de retenção de água; *- Teste de Dunnett (P < 0,05).

Tabela 9. Coloração e pH de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.

Tratamentos	L* 15 min	a* 15 min	b* 15min	pH coxa 15 min.
CP ¹	54,50	16,77	10,45	6,13
CN ²	54,13	17,00	9,26	6,25
CN + IMP ³ (0,07%)	53,58	17,93	9,05	6,15
CN + IMP (0,12%)	53,32	17,76	9,31	6,28
CN + IMP (0,17%)	54,27	17,12	10,57	6,23
CN + IMP (0,22%)	53,50	17,17	9,01	6,15
CV ⁴ (%)	3,17	7,31	14,55	2,75
EPM ⁵ (%)	0,26	0,19	0,21	0,03
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,8135	0,9238	0,7013	0,9238

¹Controle negativo; ² Controle Positivo; ³ Inosina-5-monofosfato; ⁴ Coeficiente de Variação; ⁵ EPM - Erro Padrão da Média; L* - Luminosidade; a* -Coloração vermelha; b* - Coloração amarela; CRA – Capacidade de retenção de água; *- Teste de Dunnett (P < 0,05).

Nas amostras de cama dos frangos, o IMP não causou efeito (P>0,05) na matéria seca (MS) e na quantidade de amônia (NH₃) mg/g volátil aos 21 e aos 42 dias de idade das aves suplementadas com IMP (Tabela 10). Pode ser observado aos 21 dias que a dieta CN sem suplementação do nucleotídeo apresentou menores valores de NH₃ em cama de frangos quando comparados com as dietas suplementadas com IMP como fonte de energia (P<0,05). Ao entrar em contato com a umidade do ambiente de produção, o ácido úrico pode gerar formação de NH₃ por volatilização e conseqüentemente causar aumento deste gás considerado prejudicial para o animal e para o produtor [52]. O IMP, através de ação de nucleotidasas é convertido em xantina e, conseqüentemente em ácido úrico através da enzima xantina oxidase [53;54], e este é excretado junto das fezes dos frangos de corte. Assim, a redução de energia na dieta produziu menor quantidade deste gás na cama de frangos, porém não diferenciando da dieta CP. Portanto, estes resultados mostram que mesmo com a utilização do IMP nas dietas de frangos de corte, não apresentou aumento de gás NH₃ volatilizado, demonstrando que a suplementação não influencia negativamente nas aves durante a produção.

Tabela 10. Matéria seca (%) e emissão de amônia (mg/100g) de cama de frangos de corte suplementados com diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) em dietas com redução de energia metabolizável (-100 kcal) aos 21 e 42 dias de idade.

Tratamentos	MS	NH ₃	MS	NH ₃
	(%)	(mg/100g)	(%)	(mg/100g)
	21 dias		42 dias	
CP ¹	85,62	2,338	68,11	10,379
CN ²	88,27	1,985	67,98	11,139
CN + IMP ³ (0,07%)	89,13	2,696	70,86	7,627
CN + IMP (0,12%)	90,64	2,973	69,67	10,267
CN + IMP (0,17%)	87,73	2,801	69,9	10,789
CN + IMP (0,22%)	86,5	2,847	69,1	10,796
CV ⁴ (%)	4,06	24,56	3,99	29,44
EPM ⁵ (%)	1,65	0,27	0,59	0,69
Regressão (<i>p-valor</i>)	0,2281	0,0650	0,8135	0,9238

¹Controle negativo; ² Controle Positivo; ³ Inosina-5-monofosfato; ⁴ Coeficiente de Variação; ⁵ EPM - Erro Padrão da Média.

Conclusão

A suplementação de IMP pode suprir a necessidade energética de dietas com redução de energia melhorando os parâmetros de desempenho no nível de suplementação de 0,22% para fase inicial e a partir de 0,17% para fase crescimento, e contribuindo na modulação de células leucocitárias e produção de anticorpos a partir de 0,12% de suplementação sem influenciar negativamente no rendimento de carcaças e cortes, na qualidade da carne e na eliminação de amônia pelas excretas.

Referências

1. Zhang, G. Q., Q. G. Ma, and C. Ji. 2008. Effects of dietary inosinic acid on carcass characteristics, meat quality, and deposition of inosinic acid in broilers. *Poultry Science* 87(7):1364-1369. doi: 10.3382/ps.2007-00193
2. Quan, R., L. A. Barness, and R. Uauy. 1990. Do infants need nucleotide supplemented formula for optimal nutrition? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 11(4):429-433
3. Sanderson, I. R., and Y. He. 1994. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. *The Journal of Nutrition* 124(1):131S-134S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_1.131S

4. Uauy, R., R. Quan, and A. Gil. 1994. Role of Nucleotides in Intestinal Development and Repair: Implications for Infant Nutrition. *The Journal of Nutrition* 124(8):1436S-1441S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_8.1436s
5. Carver, J. D. 1994a. Dietary Nucleotides: Cellular immune, intestinal and hepatic system. *The Journal of Nutrition* 124(1):144S-148S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_1.144s
6. Carver, J. D. 1999. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Pædiatrica Suppl.* 430:83-88.
7. Savaiano, D. A., and A. J. Clifford. 1981. Adenine, the precursor of nucleic acids in intestinal cells unable to synthesize purines *de novo*. *Journal of Nutrition* 111(10):1816-1822.
8. Carver, J. D. 1994b. Dietary nucleotides: cellular immune, intestinal and hepatic system. *Journal of Nutrition* 124:144S-148S.
9. Lerner, A., and S. Raanan. 2000. Nucleotides in infant nutrition: a must or an option. *Israel Medical Association Journal (IMAJ)* 2(10):772-774
10. Selvaraj, R. K. 2012. Maximum immunity effectors: Mechanisms and animal performance limitations. *The Journal of Applied Poultry Research* 21(1):185-192. doi: 10.3382/japr.2011-00479
11. Hess, J. R., and N. A. Greenberg. 2012. The role of nucleotides in the immune and gastrointestinal systems: potential clinical applications. *Nutrition in Clinical Practice* 27(2):281-294. doi: 10.1177/0884533611434933
12. Uauy, R., R. Quan, and A. Gil. 1994. Role of Nucleotides in Intestinal Development and Repair: Implications for Infant Nutrition. *The Journal of Nutrition* 124(8):1436S-1441S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_8.1436s
13. Sauer, N., M. Eklund, E. Bauer, M. G. Gänzle, C. J. Field, R. T. Zijlstra, and R. Mosenthin. 2012. The effects of pure nucleotides on performance, humoral immunity, gut structure and numbers of intestinal bacteria of newly weaned pigs. *Journal of Animal Science* 90:3126-3134. doi: 10.2527/jas2011-4417
14. Weaver, A. C., and S. W. Kim. 2014. Supplemental nucleotides high in inosine 5'-monophosphate to improve the growth. *Journal of animal science* 92:645-651. doi: 10.2527/jas.2013-6564
15. Daneshmand, A., H. Kermanshahi, M. Danesh Mesgaran, A. J. King, and S. A. Ibrahim. 2017. Effect of purine nucleosides on growth performance, gut morphology, digestive enzymes, serum profile and immune response in broiler chickens. *British Poultry Science* 58(5):536-543. doi: 10.1080/00071668.2017.1335859
16. Alizadeh, M., J. C. Rodriguez-Lecompte, A. Rogiewicz, R. Patterson, and B. A. Slominski. 2016. Effect of yeast-derived products and distillers dried grains with solubles (DDGS) on growth performance, gut morphology, and gene expression of pattern recognition receptors and cytokines in broiler chickens. *Poultry Science* 95(3):507-517. doi: 10.3382/ps/pev362
17. Wu, C., Z. Yang, C. Song, C. Liang, H. Li, W. Chen, W. Lin, and Q. Xie. 2018. Effects of dietary yeast nucleotides supplementation on intestinal barrier function, intestinal microbiota, and humoral immunity in specific pathogen-free chickens. *Poultry Science* 97(11):3837-3846. doi: 10.3382/ps/pey268
18. Chen, G. H., H. F. Li, X. S. Wu, B. C. Li, K. Z. Xie, G. J. Dai, K. W. Chen, X. Y. Zhang, and K. H. Wang. 2002. Factors affecting the inosine monophosphate content of muscles in Taihe Silkies chickens. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 15(9):1359-1363

18. Wang, X. F., G. H. Liu, H. Y. Cai, W. H. Chang, J. S. Ma, A. J. Zheng, and S. Zhang. 2014. Attempts to increase inosinic acid in broiler meat by using feed additives. *Poultry Science* 93(11):2802-2808. doi: 10.3382/ps.2013-03815
19. Yan, J., P. Liu, L. Xu, H. Huan, W. Zhou, X. Xu, and Z. Shi. 2018. Effects of exogenous inosine monophosphate on growth performance, flavor compounds, enzyme activity, and gene expression of muscle tissues in chicken. *Poultry Science* 97(4):1229-1237. doi: 10.3382/ps/pex415
20. Rostagno 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos.4. Ed.-Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV, 2017
21. Hawkey C M. & Dennet T.B.1994. A color Atlas of Comparative Hematology. Wolfe, Medical Publications, Ipswich, England.
22. Willian et al. (1927),
23. Smith, M. O. 1993. Parts Yield of Broilers Reared Under Cycling High Temperatures *Poultry Science* 79 72:1146-1150
24. Olivo, R., A. L. Soares, E. I. Ida, and M. Shimokomaki. 2001. Deietary Vitamin E inhibits poultry PSE and improves meat functional properties. *Journal of Food Biochemistry* 25:271-283.
25. Van Laack, R. L. J. M., C. H. Liu, M. O. Smith, and H. D. Loveday. 2000. Characteristics of Pale, Soft, Exudative Broiler Breast Meat. *Poultry Science* 79 79:1057–1061.
26. Hernandez, R., and J. O. Cazetta. 2001. Método simples e acessível para determinar amônia liberada pela cama aviária. *Revista Brasileira Zootecnia* 30(3):824-829.
27. Deng, K., C. W. Wong, and J. V. Nolan. 2005. Carry-over effects of dietary yeast RNA as a source of nucleotides on lymphoid organs and immune responses in Leghorn-type chickens. *British Poultry Science* 46(6):673-678. doi: 10.1080/00071660500395426
28. Richards, M. P. 2003. Genetic regulation of feed intake and energy balance in poultry. *Poultry Science* 82:907-916.
29. Uauy, R., G. Stringel, R. Thomas, and R. Quan. 1990. Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 10:497-503
30. Mateo, C. D. 2005. Aspects of Nucleotide Nutrition in Pigs. PhD Dissertation South Dakota State University., Brookings, SD.
31. Jung, B., and A. B. Batal. 2012. Effect of dietary nucleotide supplementation on performance and development of the gastrointestinal tract of broilers. *British Poultry Science* 53(1):98-105. doi: 10.1080/00071668.2012.659654
32. Muir, W. I. 1998. Avian Intestinal Immunity: Basic Mechanisms and Vaccine. *Poultry and Avian Biology Reviews* 9(3):87-106.
33. Muir, W. I., W. L. Bryden, and A. J. Husband. 2000. Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Developmental and Comparative Immunology* 24:325-342.
34. Ho, C. Y., K. V. Miller, D. A. Savaiano, R. T. Crane, K. A. Ericson, and A. J. Clifford. 1979. Absorption and metabolism of orally administered purines in fed and fasted rats. *Journal of Nutrition* 109(8):1377-1382.
35. Buxton, D.B., Robertson, S.M. & Olson, M.S (1986) Stimulation of Gglygenolysis by adennine nucleotides in the perfused ratliver. *Biochem. J.* 237:780.
36. Campbell, I.L.; Hobbs M. V.;Oldstone, M.B.;J. Allison. Islet Inflammation And Hyperplasia Induced by the pancreatc Islet-Specific overexpression of

- interleukin-6 in transgenic mice. *American Journal of Pathology*, 145(1), p. 157-166.
37. Selvaraj, R. K. 2012. Maximum immunity effectors: Mechanisms and animal performance limitations. *The Journal of Applied Poultry Research* 21(1):185-192. doi: 10.3382/japr.2011-00479
 38. Rudolph, F. B., W. C. Fanslow, a. D. Kulkarni, and C. T. Van Buren. 1985. Effect of dietary nucleotides on lymphocyte maturation. *Pediatric Research* 19:773
 39. Straub, R. H., M. Cutolo, F. Buttgereit, and G. Pongratz. 2010. Energy regulation and neuroendocrine-immune control in chronic inflammatory diseases. *Journal of Internal Medicine* 267:543-560. doi: 10.1111/j.1365-2796.2010.02218.x
10.1111/j.13652796.2010.02218.x
 40. Falcone, F. H., D. Zillikens, and B. F. Gibbs. 2006. The 21st century renaissance of the basophil? Current insights into its role in allergic responses and innate immunity. *Expimental Dermatology* 15(11):855-864. doi: 10.1111/j.1600-0625.2006.00477.x
 41. Krüger, D., and M. Van Der Werf. 2018b. Benefits of Nucleotide Supplementation in Poultry. Ohly Application Note:1-3
 42. Gao, J., H. J. Zhang, S. H. Yu, S. G. Wu, I. Yoon, J. Quigley, Y. P. Gao, and G. H. Qi. 2008. Effects of yeast culture in broiler diets on performance and immunomodulatory functions. *Poultry Science* 87(7):1377-1384. doi: 10.3382/ps.2007-00418
 43. Wu, C., Z. Yang, C. Song, C. Liang, H. Li, W. Chen, W. Lin, and Q. Xie. 2018. Effects of dietary yeast nucleotides supplementation on intestinal barrier function, intestinal microbiota, and humoral immunity in specific pathogen-free chickens. *Poultry Science* 97(11):3837-3846. doi: 10.3382/ps/pey268
 44. Jensen, G. S., K. M. Patterson, and I. Yoon. 2008. Yeast culture has anti-inflammatory effects and specifically activates NK cells. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases* 31(6):487-500. doi: 10.1016/j.cimid.2007.08.005
 45. Nelson, D. L., and M. M. Cox. 2013. *Lehninger principles of biochemistry*. 6 ed, New York.
 46. Radha, E., and R. V. Krishnamoorthy. 1973. Nucleotides and organophosphates of cardiac fast and slow muscles of the chicks during development. *Comparative Biochemistry and Physiology* 45B:847-865.
 47. McBreairty, L. E., J. L. Robinson, K. R. Furlong, J. A. Brunton, and R. F. Bertolo. 2015. Guanidinoacetate is more effective than creatine at enhancing tissue creatine stores while consequently limiting methionine availability in Yucatan miniature pigs. *PloS One* 10(6):1-11. doi: 10.1371/journal.pone.0131563
 48. Chiofalo, B., V. Lo Presti, G. Savoini, E. D'Alessandro, V. Chiofalo, and L. Liotta. 2011. Nucleotides in broiler chicken diet: effect on breast muscles quality. *Czech Journal Food Science* 29(4):308-317
 49. Qiao, M., D. L. Fletcher, J. K. Northcutt, and D. P. Smith. 2001. The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poultry Science* 80(5):676-680. doi: 10.1093/ps/80.5.676
 50. Cheng, Q., and D. W. Sun. 2008. Factors affecting the water holding capacity of red meat products: a review of recent research advances. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 48(2):137-159. doi: 10.1080/10408390601177647
 51. Warner, R. D. 2017. The Eating Quality of Meat—IV Water-Holding Capacity and Juiciness. In: E. Ltd (ed.) *Lawrie's Meat Science*. p 419-45

52. Naseem, S., and A. J. King. 2018. Ammonia production in poultry houses can affect health of humans, birds, and the environment-techniques for its reduction during poultry production. *Environmental Science and Pollution Research International* 25(16):15269-15293. doi: 10.1007/s11356-018-2018-y
53. Cantu-Medellin, N., and E. E. Kelley. 2013. Xanthine oxidoreductase-catalyzed reactive species generation: A process in critical need of reevaluation. *Redox biology* 1:353-358. doi: 10.1016/j.redox.2013.05.002
54. Maiuolo, J., F. Oppedisano, S. Gratteri, C. Muscoli, and V. Mollace. 2016. Regulation of uric acid metabolism and excretion. *International Journal of Cardiology* 213:8-14. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.08.109

IV. Inosina-5-monofosfato (IMP) em dieta de frangos de corte na fase inicial desafiados com *Eimeria* spp.

Resumo

O objetivo do estudo foi avaliar a suplementação do nucleotídeo inosina-5-monofosfato (IMP) na dieta de frangos de corte de 1 a 21 dias desafiados com *Eimeria* spp. avaliando os parâmetros de desempenho, análises imunológicas, contagem de oocistos por grama de fezes (OPG). Foram utilizados 1000 frangos de corte, machos, em delineamento experimental inteiramente ao acaso, em um esquema fatorial 5 x 2 (IMP x desafiados ou não com a vacina contra coccidiose) com cinco tratamentos e dez repetições de 20 aves por unidade experimental. Uma dieta controle e quatro níveis de IMP (0,12; 0,17; 0,24 e 0,32%). Houve interação ($P < 0,05$) entre os níveis e o desafio para GP e a CA. No OPG, os dias pós-infecção 11 e 14 pode ser observado efeito para níveis de IMP ($P < 0,05$) com menor quantidade de oocistos conforme houve aumento dos níveis de suplementação. Houve efeito isolado para imunoglobulina A, e pode-se observar aumento dos anticorpos com o aumento IMP na dieta. A suplementação de IMP em dietas de frangos de corte influenciou positivamente no desempenho de aves desafiadas a partir de 0,24% para o GP e 0,12% para a CA e redução de oocistos a partir de 0,12% de suplementação, melhorando o sistema imune independente do desafio sanitário.

Palavras-chave: Avicultura, *Eimeria* spp., Nucleotídeos, Nutrição, Vacina

V. Inosine-5-monophosphate (IMP) in a diet of broilers in the initial phase challenged with *Eimeria* spp.

Abstract

The aim of the study was to evaluate the supplementation of nucleotide inosine-5-monophosphate (IMP) in the diet of broiler chickens from 1 to 21 days challenged with *Eimeria* spp. evaluating performance parameters, immunological analyses, oocyst count per gram of feces (OPG). One thousand male broilers were used in a completely randomized experimental design, in a 5 x 2 factorial scheme (IMP x challenged or not with the coccidiosis vaccine) with five treatments and ten replicates of 20 birds per experimental unit. A control diet and four IMP levels (0.12, 0.17, 0.24 and 0.32%) were used. There was interaction ($P < 0.05$) between levels and challenge for WG and FC. In OPG at days 11 and 14 post-infection, an effect can be observed for IMP levels ($P < 0.05$) with a smaller number of oocysts as there was an increase in supplementation levels. There was an isolated effect for immunoglobulin A, and an increase in antibodies can be observed with the IMP increase in diet. IMP supplementation in broiler diets positively influenced the performance of challenged birds from 0.24% for WG and 0.12% for FC and oocyst reduction from 0.12% of supplementation, improving the immune system independent of the challenge.

Keyword: *Eimeria* spp., Nucleotides, Nutrition, Poultry, Vaccine

Introdução

A inosina-5-monofosfato (IMP) é um nucleotídeo purínico extraído de leveduras que participa da síntese *de novo* nos organismos vivos para a disponibilidade de novos nucleotídeos para o metabolismo celular [1], sendo muito estudado como flavorizante em produtos cárneos de aves [2, 3, 4]. Os nucleotídeos são substâncias que podem influenciar no metabolismo energético, pela capacidade de proporcionar a disponibilidade de bases e nucleotídeos para serem aproveitados pela via de salvamento, que é mais eficiente energeticamente quando comparada a via *de novo* para a síntese de novos nucleotídeos [5, 6, 7].

Estudos apontam que dietas contendo nucleotídeos apresentam efeitos positivos no desenvolvimento e saúde intestinal em frangos de cortes suplementados com estas substâncias [8, 9]. Ao serem absorvidos pelos enterócitos, estes nucleotídeos são aproveitados pela via *de novo* e salvamento para o *turnover* celular e desenvolvimento destas células [10] podendo ser observado maior altura de vilo e profundidade de criptas intestinais, contribuindo para maior eficiência na absorção de nutrientes [9]. Na saúde intestinal, os nucleotídeos podem promover maior quantidade de imunoglobulinas A (IgA), com função de neutralizar patógenos causadores de enfermidades em aves [9, 11]. Além disso, estudos apontam aumento de imunoglobulinas para patógenos virais em doenças em sistema respiratório, podendo prevenir contra doenças que comumente desafiam as aves no sistema de produção [11], como também de interleucinas importantes no sistema imunológico [12].

No sistema de produção avícola, mesmo com os protocolos de biossegurança e tecnologias voltadas para prevenção contra patógenos, as aves podem estar expostas a desafios que as levam a enfermidades de caráter clínico ou subclínico e, conseqüentemente a perdas econômicas [12]. O patógeno ativa o sistema imunológico inato e humoral dos animais, e esta ativação demanda de alto aporte energético e proteico [13, 14]. Contudo, a preocupação referente a resistência de patógenos infecciosos [15] e a possibilidade de existir resíduos em solos e água de moléculas de antibióticos e coccidiostáticos [16] induz a necessidade de alternativas para a substituição destes produtos [17].

Na avicultura, patógenos causadores de enfermidades como os protozoários do gênero *Eimeria* spp. são comumente encontrados e podem provocar enterites como

também situações subclínicas de coccidiose reduzindo os índices de desempenho animal [18]. Este protozoário é comumente utilizado em pesquisas como desafio sanitário com intuito de avaliar efeitos de aditivos substitutos aos promotores de crescimento [19]. Assim, por estes benefícios positivo para saúde intestinal e sistema imunológico [20] e podendo ser uma alternativa para a avicultura [21], o objetivo do estudo foi avaliar os efeitos da IMP como fonte energética em dieta de frangos de corte na fase inicial de 1 a 21 dias avaliando os parâmetros de desempenho, histologia intestinal, sistema imunológico e OPG em aves submetidas a desafio vacinal contendo *Eimeria* spp.

Material e métodos

O experimento foi conduzido no aviário experimental de produção de frango de corte do Setor de Avicultura da Fazenda Experimental de Iguatemi, da Universidade Estadual de Maringá, sob aprovação do Comitê de Ética em Uso Animal, desta mesma instituição CEUA N° 2295271119. Nesta fase inicial de 1 a 21 dias de idade das aves, foram utilizados 1000 frangos de corte de um dia de idade, machos, da linhagem comercial Cobb-Vantress®, distribuídos em um delineamento experimental inteiramente ao acaso em esquema fatorial 5 x 2 (IMP x desafiados ou não com a vacina contra coccidiose), com cinco tratamentos e dez repetições de 20 aves por unidade experimental. Os tratamentos consistiram em uma dieta controle e quatro níveis de suplementação do nucleotídeo inosina-5-monofosfato na forma pura (IMP) (0,12; 0,17; 0,24 e 0,32%).

As dietas experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja, de acordo com os valores de composição química dos alimentos e as exigências nutricionais para frangos de corte machos de desempenho médio propostas por Rostagno et al. (2017) [22]. No aviário onde as aves foram alojadas, os boxes são de 1,0 x 2,0 metros, cama de casca de arroz, climatizado com *pad cooling* e pressão negativa. O período experimental foi de 1 a 21 dias, utilizando um programa de luz correspondente a 23 horas de luz diária e fornecimento de água e ração *ad libitum*. No terceiro dia de idade, foi realizado um desafio sanitário com vacina viva atenuada 20 vezes a dose preconizada para imunização (Bio-coccivet R, Biovet®), com oocistos esporulados contra coccidiose contendo as seguintes espécies do protozoário do gênero *Eimeria*: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella* e *E. mitis*.

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações experimentais de frangos de corte em fase inicial (1 a 21 dias).

INGREDIENTES	QUANTIDADE (kg)
Milho grão	52,752
Soja farelo 45%	39,216
Óleo de soja	2,800
Fosfato bicálcico	1,867
Calcário	0,879
Sal comum	0,496
Suplemento vitamínico mineral ¹	0,400
DL-metionina 99%	0,410
L-lisina 78%	0,280
L-treonina 99%	0,100
Inerte*	0,800
Total	100
Composição calculada	
Energia metabolizável (kcal/kg)	3000
Ácido linoleico (%)	2,694
Proteína bruta (%)	23,000
Met.+ Cist. Digestível (%)	1,015
Lisina digestível (%)	1,382
Treonina digestível (%)	0,883
Arginina digestível (%)	1,426
Triptofano digestível (%)	0,259
Cálcio (%)	0,925
Fósforo disponível (%)	0,441
Potássio (%)	0,890
Cloro (%)	0,363
Sódio (%)	0,210
Número de Mogin (mEq/kg)	218,180

Suplemento vitamínico inicial (conteúdo por kg de ração): Vit. A 11667 UI/kg; Vit. D3 2333 UI/kg; Vit. E 35 UI/kg; Vit. K3 1,73 mg/kg; Vit. B1 1,63 mg/kg; Vit. B2 5 mg/kg, Vit. B12 17 mcg/kg; Niacina 36 mg/kg; Pantotenato de cálcio 13 mg/kg; Ácido Fólico 0,8 mg/kg; Biotina 0,1 mg/kg. Suplemento mineral inicial (conteúdo/kg de premix): Ferro 12,6 g/kg; Cobre 3,072 mg/kg; Iodo 248 mg/kg; Zinco 12,6 g/kg; Manganês 15 g/kg; Selênio 61,20 mg/kg; Cobalto 50,40 mg/kg.

*Caulim. Os nucleotídeos utilizados como aditivo foram adicionadas as rações controle negativo (CN) em substituição ao inerte.

Desempenho

As pesagens das aves e das rações foram realizadas semanalmente, para a determinação dos parâmetros de desempenho animal, sendo eles o ganho de peso (GP), consumo de ração (CR) e a conversão alimentar (CA) das aves.

Contagem de células leucocitárias

Foram realizados aos 14 e 21 dias de idade em uma outra ave por unidade experimental, a coleta de sangue com seringas com adição de heparina, via veia jugular, para confecção do esfregaço sanguíneo em lâminas foscas de vidro para microscopia. As lâminas foram coradas com kit Panótipo e depois de corados, os esfregaços foram lidos em microscopia óptica (Modelo, Marca®) em aumento de 1000× utilizando óleo de imersão. Foi avaliada a morfologia de todos os tipos celulares de leucócitos e 100 células foram contadas por ave. Os tipos de leucócitos que foram descritos estão de acordo com a morfologia e a classificação proposta por Hawkey & Dennet (1994) que os classificaram em células mononucleadas (linfócitos, monócitos) e granulócitos (heterófilos, eosinófilos e basófilos) [23].

Histologia intestinal

Aos 21 dias, uma ave de cada unidade experimental foi abatida e passaram por eutanásia com Tiopental, endovenosa 10 mg/kg, seguida de sangria por incisão de veia jugular (dia de rendimento de carcaças) após constata a eutanásia. Foram coletados fragmentos de 2 cm do duodeno e jejuno de uma ave por repetição, para a confecção de lâminas histológicas. Foi considerado o duodeno como sendo a partir do piloro até a porção distal da alça duodenal e o jejuno a partir da porção distal da alça duodenal até o divertículo vitelínicos. As amostras foram lavadas com solução salina e então armazenadas imersas em formol tamponado a 10%, e posteriormente, os fragmentos passaram por processo de desidratação em uma série de concentrações crescentes de álcoois, em seguida foram diafinizados em xilol para então serem incluídos em parafina. Os cortes histológicos das amostras foram realizados em micrótomo rotativo (Leica-RM 2245), a uma espessura de 5 micrômetros, em cortes semisseriados e transversais, até que fossem obtidos três cortes por lâmina. As lâminas histológicas foram coradas pelo método Hematoxilina-Eosina. A captura de imagem das lâminas foi realizada com o auxílio da câmera digital de alta resolução PRO SERIES (Mídia Cibertecnicos), acoplada ao microscópio Olympus Bx 40 e ao analisador de imagem computadorizado IMAGE PROPLUS 4.1 (Mídia Cibertecnicos). A morfometria intestinal foi realizada em 30 vilos para obter a altura de vilo e profundidade de cripta por segmento de cada lâmina.

Tomando-se em consideração a altura dos vilos como sendo a partir da região basal, que é coincidente com a porção superior da cripta, até o seu ápice. Para as criptas, suas medidas foram realizadas tomando em consideração de sua base até a região de transição entre cripta e vilo [24].

Contagem de ovos por grama de fezes (OPG)

A coleta das excretas foi realizada em sacos plásticos limpos e devidamente identificados, de 4 repetições de cada tratamento sendo as mesmas efetuadas nos dias 5, 7, 8, 11, 14 e 18 e armazenadas em isopor com gelo reciclável até a chegada no laboratório onde foram realizados os exames de contagem de ovos por grama de fezes (OPG). Foram utilizadas 4 gramas de fezes para 60 ml de solução saturada de sal em um Becker. O conteúdo foi filtrado com gaze com auxílio de uma peneira, para outro Becker e em seguida o filtrado foi homogeneizado, pipetado para completar as duas áreas da câmara de McMaster. Após 5 minutos de repouso, a contagem dos ovos em ambas as áreas da câmara foram executadas e a média aritmética da contagem de oocistos em câmara McMaster foi calculada a partir do número de oocistos contados nos dois compartimentos da câmara das excretas colhidas e processadas de acordo com a metodologia descrita por Gordon and Whitlock (1939) [25].

Elisa de Imunoglobulina A (IgA) de mucosa intestinal

A quantificação de IgA de mucosa intestinal dos frangos de corte foi realizada a partir de uma ave por unidade experimental. O raspado de mucosa intestinal foi coletado do íleo das aves, inserido em eppendorfs de 2 mL e armazenado em freezer a -80 °C. Foi utilizado 0,250 g de amostra de cada ave e este material foi diluído em 1 mL de PBS 0,01 M. Este conteúdo diluído em PBS foi homogeneizado em vórtice e deixado em repouso a 4°C por 10 min antes de ser centrifugado a 5.590 g por 5 min. O sobrenadante da amostra foi diluído na proporção de 1: 2 em PBS 0,01 M glicerol 40%, e as alíquotas obtidas foram armazenadas a -20° C em freezer. Para quantificar IgA, foi realizado um ELISA de imunocaptura. As alíquotas foram descongeladas à temperatura ambiente e diluídas em leite PBS a 1% 1: 5000 para IgA. Placas de ELISA de alta afinidade (655061. Greiner

Bio-One, Frickenhausen, Alemanha) foram sensibilizadas com 0,25 L de anticorpo de captura de IgA Goat Anti-Chicken (A30103A. Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, EUA) e incubado a 4°C. Em seguida, as placas foram bloqueadas com PBS leite 5% por 2 horas 25°C e incubadas com amostras diluídas e uma curva padrão por 1 hora a 25°C. Posteriormente, os anticorpos secundários anti-IgA (A30103A. Bethyl Laboratories, Montgomery, TX, EUA) conjugado com peroxidase foram adicionados em diluições de 1: 25.000. A reação foi realizada com substrato (tetrametilbenzidina — TMB 0,01% e H₂O₂ 3%) por 15 min, seguido por solução 2N de H₂SO₄. As placas foram lidas em espectrofotômetro a 450 nm. Para o cálculo dos resultados, as densidades ópticas obtidas foram comparadas com as curvas padrão de cada placa, e estas curvas padrão foram construídas usando o programa CurveExpert 1.4 (Hyams Development, Starkville, MS, EUA, 2009) [26].

Análises estatísticas

Os dados obtidos foram analisados mediante o procedimento GLM do software SAS (SAS Institute, versão 9.4, 2016). Foi estudado o efeito dos diferentes níveis de IMP como aditivo, o desafio vacinal por *Eimeria* spp. e a interação entre esses fatores e quando significativo ($P < 0,05$), o desdobramento da interação foi efetuado. Com interação não significativa, um teste de regressão foi realizado.

Resultados e discussão

Houve interação ($P < 0,05$) entre os níveis de IMP e o desafio vacinal para GP e CA aos 21 dias para os frangos de corte (Tabela 2). Desdobrando a interação para o GP (Tabela 3), verifica-se que suplementando o IMP na dieta as aves desafiadas com 0,24% e 0,32% não foram observadas diferenças de GP quando comparada as aves não desafiadas. Desdobrando a interação para a CA (Tabela 4), as aves não desafiadas e as desafiadas com suplementação de IMP na dieta (0,12%, 0,17%, 0,24% e 0,32%) apresentaram melhores CA quando comparada as aves não desafiadas sem suplementação de IMP. Além disso, dentre as aves não desafiadas, as suplementadas com 0,32% apresentaram melhores CA quando comparadas aos demais níveis de suplementação,

como também, dentre as desafiadas, as aves sem suplementação de IMP apresentaram a piores CA quando comparada as aves suplementadas na mesma condição sanitária. Para o CR das aves de 1 aos 21 dias de idade, não houve interação ($P < 0,05$). Os tratamentos controle, tratamentos com a suplementação de IMP e a condição de desafio ou não apresentaram resultados inferiores para as aves desafiadas ($P < 0,05$) para o CR, GP e CA.

Os animais desafiados, ao comparar o tratamento controle com os tratamentos suplementados com IMP, pode ser observado melhora no GP e na CA, demonstrando que o nucleotídeo apresentou ação benéfica nas aves. Sem a situação de desafio sanitário em aves, estudos utilizando o nucleotídeo IMP [4], outras fontes purificadas como a guanosina-5-monofosfato GMP [9] ou fontes com alto teor de nucleotídeos [8] não apresentaram resposta significativa para os parâmetros de desempenho. Por não serem essenciais na dieta, os nucleotídeos são importantes em situações com necessidade de promover rápido crescimento celular ou até mesmo com lesões e traumas devido ao estímulo de rápido *turnover* celular [19, 27].

Como os protozoários do gênero *Eimeria* são parasitas intestinais obrigatórios e promovem lesões e sinais clínicos de enterite [18], associada a fase inicial e existe uma demanda de alto *turnover* celular pela necessidade de desenvolvimento das aves, os nucleotídeos via dieta podem ter suprido as necessidades dos enterócitos para promover a síntese *de novo* [19, 27]. A mucosa intestinal produz IgA em situação de exposição a patógenos para neutralizá-los [6] e como o estímulo ao sistema imune demanda energia [14] o IMP podem ter contribuído no *turnover* celular e ativação do sistema imunológico amenizando a ação dos parasitas melhorando o GP e a CA.

Tabela 2. Desempenho de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade, alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) e desafiados ou não com vacina de *Eimeria* spp.

Tratamento	Desafio	Consumo de ração (g)	Ganho de peso (g)	Conversão alimentar (g/g)
				1-21 dias
Controle		1153	936	1,232
IMP 0,12%	SEM	1146	941	1,217
IMP 0,17%		1178	967	1,218
IMP 0,24%		1174	938	1,253
IMP 0,32%		1137	950	1,196
Controle			999	694
IMP 0,12%	COM	981	793	1,240
IMP 0,17%		990	774	1,285
IMP 0,24%		1068	831	1,284
IMP 0,32%		1086	872	1,248
CV (%)			6,00	7,15
EPM (%)		13,37	12,46	0,01
Níveis				
0,12%		1063,40	867,00	1,228
0,17%		1083,70	870,30	1,252
0,24%		1120,60	884,50	1,269
0,32%		1111,18	910,75	1,222
Desafio				
SEM		1157,28	946,44	1,223
COM		1024,68	792,63	1,299
Interação				
Níveis		0,2620	0,0240	0,0023
Desafio		<0,0001	<0,0001	<0,0001
Níveis vs. Desafio		0,1611	0,0159	0,0078
Regressão				
SEM		0,4828	0,7036	0,7364
COM		0,0680	0,0052 L ¹	0,0107 L ²

IMP – Inosina-5-monofosfato; CV – Coeficiente de variação; EPM - Erro Padrão da Média. Regressão: L¹=674+39,40x, R²=0,87; L²=1,400+0,33x, R²=0,43.

Tabela 3. Desdobramento da interação para o ganho de peso de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com *Eimeria* spp.

	0%	0,12%	0,17%	0,24%	0,32%
SEM	936 Aa	941 Aa	967 Aa	938 Aa	950 Aa
COM	694 Bb	793 Ba	774 Ba	831 Aa	872 Aa

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 4. Desdobramento da interação para a conversão alimentar de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com *Eimeria* spp.

	0%	0,12%	0,17%	0,24%	0,32%
SEM	1,232 Ba	1,217 Ba	1,218 Ba	1,253 Ba	1,196 Bb
COM	1,439 Aa	1,240 Bb	1,285 Bb	1,284 Bb	1,248 Bb

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Aos 21 dias de idade das aves, não houve interação (P>0,05) para os parâmetros histológicos de duodeno (Tabela 5). Pode ser observado um efeito isolado para desafio (P<0,05) para a altura de vilos e relação vilos:cripta de duodeno com menores valores para as aves desafiadas quando comparadas as aves não desafiadas com os coccídios. Houve interação (P<0,05) para os parâmetros histológicos de jejuno para altura de vilos e relação vilos:cripta para os frangos de corte aos 21 dias de idade. Desdobrando a interação (Tabela 6), podendo observar que as aves desafiadas apresentaram maiores valores de altura de vilos nos níveis de suplementação 0%, 0,24% e 0,32% de IMP. Desdobrando a interação da relação vilos:cripta de jejuno aos 21 dias de idade (Tabela 7) pode ser observado que as aves desafiadas apresentaram menores relações as aves não desafiadas nos níveis 0%, 0,17%, 0,24% e 0,32% de suplementação de IMP.

Estes resultados mostram que os nucleotídeos, independente do desafio ou não podem promover aumento de vilos nestes dois segmentos estudados, porém as aves desafiadas que consumiram o IMP na dieta não atingem os valores dos parâmetros das aves que não foram submetidos ao desafio. Os nucleotídeos de maneira geral podem promover maiores alturas de vilos [8, 9, 11, 12, 28] pela disponibilidade de nucleotídeos para a utilização nos enterócitos pela via de salvamento, por serem mais eficiente energeticamente que a via de novo e assim, contribuindo massivamente na proliferação celular já que as células intestinais demandam de alto *turnover* celular [7, 10] promovendo assim maiores alturas de vilos pela melhor utilização energética por conta da via de salvamento. Em teoria, estes aumentos das vilosidades intestinais podem ter sido proporcionados também pela formação de IgA através do sistema imunológico [9, 29], neutralizando em partes os protozoários e conseqüentemente melhorando os parâmetros de altura de vilos do duodeno e jejuno com a suplementação de IMP.

A relação vilo:cripta indica melhor capacidade absorptiva do intestino quando os valores são maiores [30] aos 21 dias de idade pode ser observado maior relação vilo:cripta e conseqüentemente melhor capacidade absorptiva das aves que consumiram IMP na dieta [7, 19, 27].

A maior profundidade de cripta é reflexo de maior *turnover* celular devido a renovação das células que podem ocorrer em desenvolvimento do órgão em questão ou em situações de enfermidades que acometem essa região por descamações e inflamações intestinais [31]. Provavelmente, pelo fato do intestino estar em ação do maior aporte de nucleotídeos na dieta, pode ser observado menores valores, pois o aporte energético suprido pela via de salvamento proporcionou melhor ação imunológica local prevenindo alta demanda de *turnover* de células e utilização para formação de imunoglobulinas de ação local na mucosa intestinal [29, 32].

Tabela 5. Altura de vilo, profundidade de cripta e relação vilo:cripta de duodeno e jejuno aos 21 dias de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados ou não com vacina de *Eimeria* spp.

Tratamentos	Duodeno			Jejuno			
	Desafio	Altura de vilo (µm)	Profundidade de cripta (µm)	Vilo:Crypta	Altura de vilo (µm)	Profundidade de cripta (µm)	Vilo:Crypta
Controle		1533,73	134,04	11,45	759,11	155,84	11,44
IMP 0,12%		1570,46	145,46	10,81	628,46	135,42	10,80
IMP 0,17%	SEM	1586,72	155,54	10,58	670,62	147,28	10,21
IMP 0,24%		1568,77	141,83	11,40	733,67	122,08	11,06
IMP 0,32%		1622,06	157,42	10,57	738,23	165,56	10,29
Controle		1248,80	187,42	6,66	1070,83	168,68	6,66
IMP 0,12%		1221,46	141,59	8,77	775,71	153,01	8,63
IMP 0,17%	COM	1231,46	174,38	7,27	814,87	145,40	7,06
IMP 0,24%		1295,72	165,24	7,87	1045,70	143,00	7,84
IMP 0,32%		1224,02	198,82	6,74	1110,00	139,45	6,16
CV (%)		14,11	21,49	27,34	61,05	30,89	53,79
EPM (%)		40,77	7,25	0,51	29,69	0,58	0,98
Níveis							
0,12%		1395,96	143,53	9,79	702,08	144,22	9,71
0,17%		1409,09	164,96	8,93	742,75	146,34	8,63
0,24%		1432,25	153,53	9,64	889,69	132,54	9,45
0,32%		1423,04	178,12	8,66	924,12	152,50	8,22
Desafio							
SEM		1576,35	146,86	10,96	706,02	145,24	10,76
COM		1244,29	173,49	7,46	963,42	149,91	7,27
Interação							
Níveis		0,9839	0,6508	0,8055	0,0041	0,6002	0,2734
Desafio		<0,0001	0,1014	0,0016	<0,0001	0,0018	<0,0001
Níveis vs. Desafio		0,9297	0,7857	0,8997	0,0045	0,7866	0,0146
Regressão							
SEM		0,4237	0,4239	0,7978	0,1917	0,2094	0,8463
COM		0,9477	0,3870	0,6334	0,1256	0,1924	0,1173

IMP – Inosina-5-monofosfato; CV – Coeficiente de variação; EPM - Erro Padrão da Média.

Tabela 6. Desdobramento da interação para altura de vilo de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com *Eimeria* spp.

	0%	0,12%	0,17%	0,24%	0,32%
SEM	759,11 Ba	628,46 Ba	670,62 Ba	733,67 Ba	738,23 Ba
COM	1070,83 Aa	775,71 Bb	814,87 Bb	1045,70 Aa	1110,00 Aa

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 7. Desdobramento da interação para a relação vilo:cripta de frangos de corte aos 21 dias de idade, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com *Eimeria* spp.

	0%	0,12%	0,17%	0,24%	0,32%
SEM	11,44 Aa	10,80 Aa	10,21 Aa	11,06 Aa	10,29 Aa
COM	6,66 Bb	8,63 Aa	7,06 Bb	7,84 Bb	6,16 Bb

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não houve interação (P>0,05) para contagem de heterofilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos e a relação entre heterofilo: linfócito (H:L) aos 21 dias de idade para os frangos alimentados com IMP na dieta das aves desafiadas ou não por *Eimeria* spp. (Tabela 8). Porém, pode ser observado efeito isolado de níveis (P<0,05) para a contagem de heterofilo, e quanto maior a suplementação de IMP, maior é a população desta célula. Isso pode ter ocorrido pelo estímulo da maturação de linfócitos pelo sistema imunológico e pela maior disponibilidade de energia para a manutenção desta ação imunológica contra a agressão do protozoário no intestino das aves para a produção de resposta celular e IgA de mucosa [29, 32].

Foi observado efeito isolado (P<0,05) para o desafio sanitário para a contagem de heterofilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos, basófilos e H:L dos frangos de corte suplementados com IMP e o aumento de contagem de heterofilos, eosinófilos, basófilos e H:L e a diminuição de linfócitos e monócitos indicam que as aves desafiadas apresentaram sinais imunológicos de inflamação aguda contra os protozoários utilizados no desafio. Para as aves desafiadas com *Eimeria* spp., a monocitose, eosinofilia e basofilia apresentada pela contagem de células leucocitárias são indicativo de inflamação aguda, ação parasitária [33]

Mesmo com a ação dos nucleotídeos no estímulo do sistema imunológico, aumentando a quantidade de linfócitos através da capacidade de ativar a via de

salvamento e conseguir de maneira efetiva a disponibilidade de mais nucleotídeos para o *turnover* celular sem gastos excessivos de energia [29, 32] e nos enterócitos [7,10] o IMP não se aproximou de resultados semelhantes as aves não desafiadas por *Eimeria* spp.

Tabela 8. Contagem de células leucocitárias aos 21 dias de idade de frangos de corte alimentados com dietas níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados ou não com *Eimeria* spp.

Tratamentos	Desafio	Heterofilos (%)	Linfócitos (%)	Monócito (%)	Eosinófilo (%)	Basófilo (%)	H:L (%)
Controle positivo		33,50	65,10	0,90	0,30	0,20	0,52
IMP 0,12%		29,70	66,90	1,40	1,30*	0,70	0,45
IMP 0,17%	SEM	32,50	65,90	0,90	0,60	0,10	0,51
IMP 0,24%		30,10	66,20	1,90	0,90	0,90	0,46
IMP 0,32%		29,20	68,70	1,20	0,50	0,40	0,43
Controle positivo		37,60	60,30	0,50	0,70	0,90	0,64
IMP 0,12%		34,70	62,40	0,50	1,00	1,40	0,57
IMP 0,17%	COM	32,70	63,00	1,40	1,60	1,30	0,53
IMP 0,24%		32,20	64,50	0,30	1,40	1,60	0,51
IMP 0,32%		31,80	65,10	0,60	1,20	1,30	0,50
CV (%)		11,87	7,76	83,27	66,66	77,71	20,86
EPM (%)		11,92	5,64	103,01	78,31	96,42	17,00
Regressão	SEM	0,0462	0,1304	0,4724	0,4340	0,5064	0,0799
	COM	0,065	0,0085	0,9192	0,4062	0,2355	0,0475
Níveis							
0,12%		32,20	64,65	0,95	1,15	1,05	0,51
0,17%		32,60	64,45	1,15	1,10	0,70	0,52
0,24%		31,15	65,35	1,10	1,15	1,25	0,48
0,32%		30,50	66,90	0,90	0,85	0,85	0,47
Desafio							
Não desafiados		31,00	66,56	1,26	0,72	0,46	0,48
Desafiados		33,80	63,06	0,66	1,18	1,30	0,55
Interação							
Níveis		0,0175	0,0703	0,8426	0,1788	0,2702	0,0146
Desafio		0,0051	0,0003	0,0317	0,0233	0,0003	0,0011
Níveis vs. Desafio		0,5490	0,8076	0,1902	0,3150	0,9316	0,4617
Regressão							
SEM		0,0462 L ¹	0,1304	0,4724	0,4340	0,5064	0,0799
COM		0,0650	0,0085 L ²	0,9192	0,4062	0,2355	0,0475 L ³

IMP – Inosina-5-monofosfato; CV – Coeficiente de variação; EPM - Erro Padrão da Média. L¹=34,97-1,12x, R²=0,91; L²=59,19+1,24x, R²=0,98; L³=0,662-0,036x, R²=0,90.

Houve interação ($P < 0,05$) entre os níveis de IMP e o desafio vacinal nos dias pós-infecção (DPI's) 5, 7 e 8 para a contagem de oocistos por grama de excreta (OPG) (Tabela 9). Desdobrando a interação (Tabela 10, 11 e 12), pode ser observado nos DPI's 5, 7 e 8 que as aves desafiadas apresentaram maiores valores de oocistos e, independente do desafio sanitário ou não, o aumento dos níveis de suplementação de IMP na dieta dos frangos de corte reduz os valores de OPG no DPI 5, DPI 7 e DPI 8, nos níveis de suplementação 0,17%, 0,24% e 0,32%, respectivamente.

No DPI 11, pode ser observado um efeito isolado ($P < 0,05$) para o desafio sanitário e as aves desafiadas apresentaram maiores valores de OPG quando comparadas as aves não desafiadas e para todos os níveis ($P < 0,05$). No DPI 14 houve efeito ($P < 0,05$) isolado para o desafio e as aves desafiadas apresentavam maiores valores de OPG quando comparadas as não desafiadas e no DPI 18 houve apenas efeito isolado ($P < 0,05$) para níveis.

O grupo controle de aves desafiadas apresentou maiores valores de OPG quando comparado ao controle das aves não desafiadas ($P < 0,05$) para todos os DPI. Entre as aves desafiadas, o controle desafiado quando comparado aos níveis de IMP suplementados na dieta das aves, apresentou maiores valores de OPG ($P < 0,05$) para todos os DPI. E, entre os níveis de IMP entre as aves desafiadas ou não e dentre as aves desafiadas ou não independente de suplementação, pode ser observado maiores valores de OPG quando comparadas as não desafiadas do DPI 5 até DPI 14 ($P < 0,05$). Na existência de dose infectante para o protozoário *Eimeria spp.*, por ser um patógeno agressor de células intestinais, os enterócitos proporcionam liberação IgA dimétricos na forma secretada [29;32;34] para ação contra estes oocistos neutralizando-os [34].

Pode ser observado oocistos a partir dos 11 DPI pela proliferação dos oocistos no ambiente, uma vez que estes oocistos são liberados ao ambiente via excretas e pode ter migração destes de uma repartição para outra através de cascudinhos (*Alphitobius diaperinus*) que são vetores destes coccídeos em ambientes de produção avícola [35;36]. Comumente o grau de lesões consideradas leves, diminuição de oocistos através do exame de OPG associados aos melhores índices dos parâmetros de desempenho [37] demonstram que a suplementação de IMP como aditivo na dieta de frangos de corte na fase inicial pode ter proporcionado efeitos benéficos na saúde intestinal associada com a redução da carga parasitológica.

Tabela 9. Contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados com vacina de *Eimeria* spp.

Tratamentos	Desafio	5	7	8	11	14	18
Controle positivo		0	0	0	140	260	200
IMP 0,12%	SEM	0	0	0	60	180	100
IMP 0,17%		0	0	0	80	140	100
IMP 0,24%		0	0	0	60	60	20
IMP 0,32%		0	0	0	20	40	85
Controle positivo			1000	1200	1400	1160	860
IMP 0,12%	COM	800	1180	1180	1060	720	140
IMP 0,17%		780	1020	1120	920	580	40
IMP 0,24%		660	980	1180	960	820	140
IMP 0,32%		680	920	1040	760	600	60
CV (%)			11,00	17,65	15,55	94,36	68,90
EPM (%)		17,24	18,71	18,41	32,40	37,25	22,80
Níveis							
0,12%		400	590	590	560	450	120 a
0,17%		390	510	560	500	360	70 b
0,24%		330	490	590	510	440	80 b
0,32%		340	460	520	390	320	73 b
Desafio							
Não desafiados		0	0	0	72	136	101
Desafiados		784	1060	1184	972	716	140
Interação							
Níveis		0,0017	0,0340	0,0089	0,0060	0,0542	<0,0001
Desafio		<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,1172
Níveis vs. Desafio		0,0017	0,0340	0,0089	0,1983	0,3844	0,0968
Regressão							
SEM		NS	NS	NS	0,0577	0,0022 L ¹	0,1356
COM		0,0308 L ²	0,0067 L ³	0,0672	0,0157 L ⁴	0,3615	0,1491

IMP – Inosina-5-monofosfato; DPI – Dias pós-infecção; CV – Coeficiente de variação; EPM - Erro Padrão da Média. Regressão: L¹=304-56x, R²=0,97; L²=1018-78x, R²=0,83; L³=1288-76x, R²=0,94; L⁴=1242-90x, R²=0,89.

Tabela 10. Desdobramento da interação do dia pós-infecção (DPI) 5 da contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com *Eimeria* spp.

	0%	0,12%	0,17%	0,24%	0,32%
SEM	0 Ba	0 Ba	0 Ba	0 Ba	0 Ba
COM	1000Aa	800Ab	780Ab	660Ab	680Ab

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 11. Desdobramento da interação do dia pós-infecção (DPI) 7 da contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com *Eimeria* spp.

	0%	0,12%	0,17%	0,24%	0,32%
SEM	0 Ba	0 Ba	0 Ba	0Ba	0Ba
COM	1200Aa	1180Aa	1020Aa	980Aa	920Ab

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Tabela 12. Desdobramento da interação do dia pós-infecção (DPI) 8 da contagem de oocistos por grama de excretas (OPG) de frangos de corte, alimentados com níveis de IMP e desafiados ou não com *Eimeria* spp.

	0%	0,12%	0,17%	0,24%	0,32%
SEM	0Ba	0Ba	0Ba	0Ba	0Ba
COM	1400Aa	1180Aa	1120Ab	1180Aa	1040Ab

^{abc} Médias seguidas de letras minúsculas na mesma linha e ^{ABC} Médias seguidas de letras maiúsculas na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Não houve interação (P>0,05) entre os níveis de IMP e o desafio vacinal para o Elisa de imunoglobulina A (IgA) aos 21 dias de idade dos frangos de corte (Tabela 13). Para os níveis de suplementação vacinal pode ser observado efeito isolado (P<0,05) e quanto maior a suplementação do nucleotídeo, independente do status sanitário, maior é a produção de IgA de mucosa intestinal pelas aves. Pode ser observado que as aves que foram desafiadas apresentaram maior quantidade de IgA (P<0,05) quando comparadas as aves que não foram desafiadas pela vacina atenuada contra coccidiose.

A produção de IgA aumentada se deve a presença dos protozoários no intestino na tentativa de combater este patógeno realizado pelo sistema imunológico de mucosa intestinal, em que são mobilizados os linfócitos T-helper e B precursoras de IgA em GALT [38]. O aumento de IgA pelas aves que receberam os maiores níveis de suplementação pode ter ocorrido pelo fato de os nucleotídeos contribuírem para a

produção deste anticorpo, uma vez que estas substâncias podem poupar energia da ave para ativação do sistema imunológico e assim, contribuir para combater patógenos existentes no trato intestinal [6;32]. Estes resultados demonstram que a suplementação de IMP pode aumentar a produção de IgA da mucosa intestinal podendo prevenir as aves de danos à saúde intestinal.

Tabela 13. Imunoglobulina A (IgA) de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes níveis de inosina-5-monofosfato (IMP) durante a fase inicial de 1 a 21 dias de idade, desafiados com vacina de *Eimeria* spp.

Tratamentos	Desafio	IgA (µg/g)
Controle		2,72
IMP 0,12%	SEM	3,01
IMP 0,17%		2,94
IMP 0,24%		3,18
IMP 0,32%		3,24
Controle		3,89
IMP 0,12%	COM	3,95
IMP 0,17%		4,09
IMP 0,24%		4,37
IMP 0,32%		4,45
CV (%)		18,65
EPM (%)	0,009	
Níveis		
0,12%		3,48
0,17%		3,52
0,24%		3,77
0,32%		3,85
Desafio		
SEM		3,02
COM		4,15
Interação		
Níveis		0,0017
Desafio		<0,0001
Níveis vs. Desafio		0,8711
Regressão		
SEM		0,0235 L ¹
COM		0,0048 L ²

IMP – Inosina-5-monofosfato; CV– Coeficiente de variação; EPM - Erro Padrão da Média. Regressão: L¹= 0,265+0,0121x, R²=0,86; L²= 0,291+0,0154x, R²=0,95.

Conclusão

A suplementação de IMP em dietas de frangos de corte influenciou positivamente no desempenho de aves desafiadas a partir de 0,24% para o GP e 0,12% para a CA e redução de oocistos a partir de 0,12% de suplementação, melhorando o sistema imune de mucosa independente do desafio sanitário.

Referências

1. Mateo, C. D. 2005. Aspects of Nucleotide Nutrition in Pigs. PhD Dissertation South Dakota State University., Brookings, SD.
2. Chen, G. H., H. F. Li, X. S. Wu, B. C. Li, K. Z. Xie, G. J. Dai, K. W. Chen, X. Y. Zhang, and K. H. Wang. 2002b. Factors affecting the inosine monophosphate content of muscles in Taihe Silkies chickens. *Asian-Australian Journal of Animal Science* 15(9):1359-1363
3. Zhang, G. Q., Q. G. Ma, and C. Ji. 2008. Effects of dietary inosinic acid on carcass characteristics, meat quality, and deposition of inosinic acid in broilers. *Poultry Science* 87(7):1364-1369. doi: 10.3382/ps.2007-00193
4. Yan, J., P. Liu, L. Xu, H. Huan, W. Zhou, X. Xu, and Z. Shi. 2018. Effects of exogenous inosine monophosphate on growth performance, flavor compounds, enzyme activity, and gene expression of muscle tissues in chicken. *Poultry science* 97(4):1229-1237. doi: 10.3382/ps/pex415
5. Uauy, R., G. Stringel, R. Thomas, and R. Quan. 1990. Effect of dietary nucleosides on growth and maturation of the developing gut in the rat. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 10:497-503.
6. Uauy, R., R. Quan, and A. Gil. 1994. Role of Nucleotides in Intestinal Development and Repair: Implications for Infant Nutrition. *The Journal of Nutrition* 124(8):1436S-1441S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_8.1436s
7. Carver, J. D. 1999. Dietary nucleotides: effects on the immune and gastrointestinal systems. *Acta Pædiatrica Suppl.* 430:83-88.
8. Jung, B., and A. B. Batal. 2012. Effect of dietary nucleotide supplementation on performance and development of the gastrointestinal tract of broilers. *British poultry science* 53(1):98-105. doi: 10.1080/00071668.2012.659654
9. Daneshmand, A., H. Kermanshahi, M. Danesh Mesgaran, A. J. King, and S. A. Ibrahim. 2017. Effect of purine nucleosides on growth performance, gut morphology, digestive enzymes, serum profile and immune response in broiler chickens. *British Poultry Science* 58(5):536-543. doi: 10.1080/00071668.2017.1335859
10. Quan, R., L. A. Barness, and R. Uauy. 1990. Do infants need nucleotide supplemented formula for optimal nutrition? *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 11(4):429-433

11. Wu, C., Z. Yang, C. Song, C. Liang, H. Li, W. Chen, W. Lin, and Q. Xie. 2018. Effects of dietary yeast nucleotides supplementation on intestinal barrier function, intestinal microbiota, and humoral immunity in specific pathogen-free chickens. *Poultry science* 97(11):3837-3846. doi: 10.3382/ps/pey268
12. Alizadeh, M., J. C. Rodriguez-Lecompte, A. Rogiewicz, R. Patterson, and B. A. Slominski. 2016. Effect of yeast-derived products and distillers dried grains with solubles (DDGS) on growth performance, gut morphology, and gene expression of pattern recognition receptors and cytokines in broiler chickens. *Poultry science* 95(3):507-517. doi: 10.3382/ps/pev362
13. Schloerb, P. R. 2001. Immune-enhancing diets: products, components, and their rationales. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition* 25(2 Suppl):S3-7. doi: 10.1177/014860710102500202
14. Selvaraj, R. K. 2012. Maximum immunity effectors: Mechanisms and animal performance limitations. *The Journal of Applied Poultry Research* 21(1):185-192. doi: 10.3382/japr.2011-00479
15. Leung, H., A. Yitbarek, R. Snyder, R. Patterson, J. R. Barta, N. Karrow, and E. Kiarie. 2019. Responses of broiler chickens to *Eimeria* challenge when fed a nucleotide-rich yeast extract. *Poultry science* 98(4):1622-1633. doi: 10.3382/ps/pey533
16. Yopasa-Arenas, A., and A. H. Fostier. 2018. Exposure of Brazilian soil and groundwater to pollution by coccidiostats and antimicrobial agents used as growth promoters. *The Science of the total environment* 644:112-121. doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.06.338
17. Swiatkiewicz, S., A. Arczewska-Wlosek, and D. Józefiak. 2014. Immunomodulatory efficacy of yeast cell products in poultry: a current review. *World's Poultry Science Journal* 70(1):57-68. doi: 10.1017/s004393391400005
18. Chapman, H. D. 2014. Milestones in avian coccidiosis research: a review. *Poultry science* 93(3):501-511. doi: 10.3382/ps.2013-03634
19. Pelícia, V. C., K. C. Zavarize, C. Ducatti, A. C. Stradiotti, A. C. Pezzato, P. C. Araujo, M. A. O. Mituo, L. A. Madeira, and J. R. Sartori. 2011. Nucleotídeos na dieta de frangos de corte e seus efeitos sobre a taxa de turnover da mucosa intestinal antes e após lesões causadas por coccidiose. *Ciência Rural* 41(9):1652-1659.
20. Weaver, A. C., and S. W. Kim. 2014. Supplemental nucleotides high in inosine 5'-monophosphate to improve the growth. *Journal of animal science* 92:645-651. doi: 10.2527/jas.2013-6564
21. Krüger, D., and M. Van Der Werf. 2018b. Benefits of Nucleotide Supplementation in Poultry. *Ohly Application Note*:1-3.
22. Rostagno 2017. Tabelas brasileiras para aves e suínos.4. Ed.-Viçosa: Departamento de Zootecnia, UFV, 2017
23. Hawkey C M. & Dennet T.B.1994. A color Atlas of Comparative Hematology.Wolfe, Medical Publications, Ipswich, England
24. Tian, E., B. Zhou, , X. Wang, J. Zhao, W. Deng and H. Wang. 2014. Effect of diclazuril on intestinal morphology and SIgA expression in chicken infected with *Eimeria tenella*. *Parasitology Research*, 113:4057–4064. doi 10.1007/s00436-014-4074-7

25. Gordon, H., and A. V. Whitlock. 1939. A new technique for counting nematode eggs in sheep feces. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research* 12:50-52.
26. Ricci, F. G. , L. R. Terkelli, E. J. Venancio, L. Justino, B. Q. Santos, A. A. S. Baptista, A. Oba, B. D. O. Souza, A. P. F. R. L. Bracarense, E. Y. Hirooka and E. N. Itano. 2021. Tryptophan attenuates the effects of OTA on intestina morphology and local IgA/IgY production in broiler chicks
27. Sanderson, I. R., and Y. He. 1994. Nucleotide uptake and metabolism by intestinal epithelial cells. *The Journal of Nutrition* 124(1):131S-134S. doi: 10.1093/jn/124.suppl_1.131S.
28. Abbas, A. K., A. H. Lichtman, and S. Pillai. 2015. Cellular and molecular immunology. p 1195. Elsevier Inc
29. Muir, W. I. 1998. Avian Intestinal Immunity: Basic Mechanisms and Vaccine. *Poultry and Avian Biology Reviews* 9(3):87-106
30. Agyekum, A. K., and C. M. Nyachoti. 2017. Nutritional and Metabolic Consequences of Feeding High-Fiber Diets to Swine: A Review. *Engineering* 3(5):716-725. doi: 10.1016/j.eng.2017.03.010
31. Santos, I. I., A. M. Kessler, J. F. Mendes, and R. V. Labres. 2019. Additives in the diet of broiler chickens under infectious stress by coccidian. *Archives of Veterinary Science* 24(3):60-67.
32. Muir, W. I., W. L. Bryden, and A. J. Husband. 2000. Immunity, vaccination and the avian intestinal tract. *Developmental and Comparative Immunology* 24:325-342.
33. Bounous, D. I.; N. L. Stedman. (2000). Normal Avian Hematology: Chicken and Turkey. In: Feldman, B.F.; J. G. Zinkl, N. C. Jain. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th ed, Philadelphia, Lippincot, Williams & Wilkins, p.1147-1154.
34. Davis, P. J., H. Parry, and P. Porter. 1978. The role secretory IgA in anti-coccidial immunity in the chicken. *Immunology* 34:879-888.
35. Arends, J. J. 1987. Control, management of the litter beetle. *Poultry Digest* 46:172-176.
36. Goodwin, M. A., and W. D. Waltman. 1996. Transmission of Eimeria, Viruses, and Bacteria to Chicks: Darkling Beetles (*Alphitobius diaperinus*) as Vectors of Pathogens. *Journal of Applied Poultry Research* 5(1):51-55. doi: 10.1093/japr/5.1.51
37. Barbour, E. K., D. B. Ayyash, A. Iyer, S. Harakeh, and T. Kumosani. 2015. A Review of Approaches Targeting the Replacement of Coccidiostat Application in Poultry Production. *Brazilian Journal of Poultry Science* 17(4):405-418. doi: 10.1590/1516-635x1704405-418
38. Lillehoj, H. S. and J. M. Trout. 1996. Avian Gut-Associated Lymphoid Tissues and Intestinal Immune Responses to Eimeria Parasites. *Clinical Microbiology Reviews*. 9:349–360.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A utilização de nucleotídeos na dieta de frangos de corte pode promover melhores resultados de desempenho, perfil bioquímico e sistema imunológico para as aves que receberam dietas com redução de energia na dieta, como também para os animais desafiados sanitariamente com *Eimeria* spp. Apesar dos nucleotídeos adenosina-5-monofosfato (AMP) e guanosina-5-monofosfato (GMP) não apresentarem resultados positivos significativos para os parâmetros de desempenho, a inosina-5-monofosfato (IMP) pode melhorar o ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar das aves que receberam o nucleotídeo em dietas com redução de energia, mostrando a capacidade de suprir energeticamente as aves com redução de 100 kcal na dieta destes frangos de corte.

Avaliando as análises séricas, o AMP proporcionou aumento na glicose sérica e o nucleotídeo IMP aumento no triglicerídeo sérico nas aves com redução de energia na dieta demonstrando o potencial energético que esta substância pode ter suprido a deficiência energética. Uma evidência para estes resultados seriam a capacidade destes nucleotídeos promoverem a síntese de nucleotídeos através da via de salvamento considerada mais eficiente energeticamente por aproveitar bases nitrogenadas, nucleosídeos e nucleotídeos do citoplasma celular sem a necessidade de ativar a via *de novo*, que exige maior aporte de energia.

Os nucleotídeos utilizados no estudo (AMP, GMP, IMP) apresentaram efeitos no sistema imunológico celular e humoral, demonstrando maior estímulo a células

leucocitárias como linfócitos e monócitos e reduzindo heterófilos como também melhores relações linfócito: heterófilo, indicando que a modulação de células para as situações de redução de energia com a vacina de Newcastle e o desafio sanitário com *Eimeria* spp. As imunoglobulinas G (IgG) apresentaram aumento com a suplementação de AMP, GMP e IMP em dietas com redução de energia, demonstrando que o sistema imunológico humoral pode ser influenciado pela suplementação destes nucleotídeos promovendo melhor resposta de memória para os frangos de corte. Pode ser observado que a IMP influenciou no desenvolvimento intestinal das aves que foram acometidos pelo desafio sanitário e redução na população de oocistos do protozoário, que promoveu melhora quando comparada as aves que não receberam este nucleotídeo na dieta.

Como consideração para novas pesquisas, avaliações com enzimas referentes ao metabolismo energético como ATPases e nucleotidasas em órgãos imunológicos e musculatura, como também citometria de fluxo para maior conhecimento de que tipo de linfócitos podem estar influenciando o aumento do estímulo do sistema imunológico podem contribuir para mais respostas sobre os efeitos encontrados neste estudo.