



**RELAÇÕES TRIPTOFANO: LISINA EM DIETAS  
PARA LEITÕES SUBMETIDOS À VACINAÇÃO:  
BALANÇO ENERGÉTICO E DE NITROGÊNIO**

**LAVRAS – MG  
2011**

**THIAGO HIROSHI KURIBAYASHI**

RELAÇÕES TRIPTOFANO: LISINA EM DIETAS PARA LEITÕES  
SUBMETIDOS À VACINAÇÃO: BALANÇO ENERGÉTICO E DE  
NITROGÊNIO

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Marcio Gilberto Zangeronimo

Coorientador

Dr. Vinicius de Souza Cantarelli

**LAVRAS - MG  
2011**

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Kuribayashi, Thiago Hiroshi.

Relações triptofano : lisina em dietas para leitões submetidos à  
vacinação : balanço energético e de nitrogênio / Thiago Hiroshi  
Kuribayashi. – Lavras : UFLA, 2011.

69 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2011.

Orientador: Marcio Gilberto Zangeronimo.

Bibliografia.

1. Vacinação. 2. Metabolismo. 3. Desafio imunológico. 4.  
Suínos. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.40896079

**THIAGO HIROSHI KURIBAYASHI**

**RELAÇÕES TRIPTOFANO: LISINA EM DIETAS PARA LEITÕES  
SUBMETIDOS À VACINAÇÃO: BALANÇO ENERGÉTICO E DE  
NITROGÊNIO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 06 de dezembro de 2011.

Dr. Marvio Lobão Teixeira de Abreu	UFLA
Dr. Raimundo Vicente de Sousa	UFLA
Dr. Christian Hirsh	UFLA

Dr. Marcio Gilberto Zangeronimo  
Orientador

**LAVRAS – MG  
2011**

*A Deus por me iluminar e abençoar em mais um passo da minha  
jornada, me dando sabedoria e me guiando durante meu mestrado.  
Aos meus pais, Elsy e Shinobu, por tudo que me ensinaram, pelo apoio  
incondicional e esforços dedicados à  
realização dos meus objetivos.  
As minhas irmãs, Juliana e Lilian, pelo incentivo a busca de novos  
conhecimentos.  
Aos meus amigos e companheiros de NESUI pelo amor, compreensão e  
companheirismo.  
Aos meus amigos e companheiros de república pelo companheirismo,  
amizade e por serem minha família em Lavras.*

**DEDICO**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de pós-graduação em Ciências Veterinárias, pela oportunidade de cursar a pós-graduação.

Aos orientadores, Professores Vinícius de Souza Cantarelli e Márcio Gilberto Zangeronimo, pela orientação, amizade, respeito, confiança e pelos ensinamentos na elaboração deste trabalho.

Aos professores que estiveram presentes na minha vida acadêmica pelos ensinamentos a mim passados.

Aos meus amigos Hebert Silveira, Luis Gustavo dos Santos Cerqueira e Cesar Augusto Pospissil Garabossa, pelo companheirismo e inestimável apoio durante todo o mestrado.

Aos amigos do Núcleo de Estudos em Suinocultura (NESUI), e aqueles que por ele passaram, grandes parceiros, na realização dos trabalhos.

Ao funcionário do DZO, Borginho, pelo apoio incondicional no que foi necessário.

Aos funcionários do Setor de Suinocultura da UFLA, Hélio Rodrigues e Binho, pela amizade e dedicação durante a realização das atividades.

Agradeço a todos que me acompanharam neste período, pois sem vocês a realização deste trabalho não seria possível.

## **BIOGRAFIA**

THIAGO HIROSHI KURIBASHI, filho de Shinobu Kuribayashi e Elsy Marilia de Oliveira Kuribayashi, nasceu em 10 de junho de 1984 em Patos de Minas, no estado de Minas Gerais.

Em fevereiro de 1999 matriculou-se na Escola Técnica de Formação Gerencial – SEBRAE, obtendo o diploma de Técnico em Formação Gerencial em dezembro de 2002.

Em agosto de 2004, ingressou na Universidade Federal de Lavras, graduando-se em Zootecnia em julho de 2009.

Em agosto de 2009, iniciou a pós-graduação em Ciências Veterinárias na Universidade Federal de Lavras, concentrando seus estudos na área de Produção e Nutrição de Monogástricos.

Em 06 de dezembro de 2011, submeteu-se à defesa de dissertação para a obtenção do título de “Mestre”.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de diferentes relações triptofano: lisina sobre o balanço energético e de nitrogênio em leitões na fase inicial, submetidos a um programa vacinal. Foram utilizados 30 suínos machos castrados (peso inicial de  $6,54 \pm 1,0$  kg), alojados individualmente em gaiolas de metabolismo. Foi adotado um delineamento em blocos casualizados com cinco relações triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,22; 0,26 e 0,30) para animais vacinados e um tratamento controle, sem vacinação, recebendo dietas com relação triptofano:lisina de 0,18, totalizando seis tratamentos e cinco repetições, sendo os blocos constituídos pelo peso inicial. As vacinas utilizadas foram a M+Pac contra *Mycoplasma hyopneumoniae* e Porcilis<sup>®</sup> APP contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, seguindo as recomendações dos fabricantes. A relação triptofano:lisina influenciou de forma linear crescente os valores de energia bruta consumida e de energia digestível e metabolizável das rações oferecidas aos animais vacinados. A vacinação não influenciou ( $P>0,05$ ) os valores energéticos das rações. A relação triptofano:lisina influenciou também o balanço de nitrogênio de suínos vacinados. Houve efeito quadrático ( $P<0,05$ ) na excreção de nitrogênio pela urina e nas porcentagens de nitrogênio absorvido e retido e na relação entre o retido e o absorvido. A relação triptofano:lisina que resultou em maior absorção e retenção de nitrogênio e menor excreção deste elemento na urina foi de 0,20. Não houve efeito ( $P>0,05$ ) das diferentes relações entre os aminoácidos sobre o nitrogênio ingerido e a quantidade de nitrogênio eliminado nas fezes. Comparado ao grupo não vacinado, apenas os animais que receberam dietas contendo relação triptofano:lisina de 0,18 é que apresentaram ( $P<0,05$ ) menor excreção de nitrogênio na urina. A relação 0,30 resultou ( $P<0,05$ ) em menor porcentagem de nitrogênio absorvido pelos animais, também comparado ao controle. Conclui-se que o aumento da relação triptofano:lisina melhora o valor energético das rações, porém, a relação que proporciona melhor balanço proteico para animais vacinados é de 0,20, próxima ao recomendado pelas Tabelas Brasileiras. A vacinação dos animais não interfere na relação triptofano:lisina exigida por suínos na fase de creche.

Palavras-chave: Desafio imunológico. Metabolismo. Suínos. Vacinação.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of different tryptophan: lysine ratio, on the energy balance and nitrogen in piglets in the initial phase, subjected to a vaccination program. A total of 30 barrows (initial weight  $6.54 \pm 1.0$  kg), housed individually in metabolism cages. It was used a randomized block design with five tryptophan:lysine ratio (0.14; 0.18; 0.22; 0.26 and 0.30) for vaccinated animals and a treatment control, without vaccination, fed diets with 0.18 tryptophan:lysine ratio, with a total of six treatments and five replications, being blocks consisting of the initial weight. The vaccines used were M+Pac against *Mycoplasma hyopneumoniae* and Porcilis® APP against *Actinobacillus pleuropneumoniae*, following manufacturer's recommendations. The tryptophan:lysine ratio influenced linearly increasing values of gross energy consumption and digestible and metabolizable energy of feed offered to animals vaccinated. Vaccination did not influence ( $P>0.05$ ) energy values of feed. The tryptophan:lysine ratio also influenced the nitrogen balance of pigs vaccinated. There was a quadratic effect ( $P<0.05$ ) in nitrogen excretion by urine and the percentage of nitrogen absorbed and retained and in the ratio between the retained and the absorbed. The tryptophan:lysine ratio resulted in greater absorption and retention of nitrogen and minor excretion of this element in urine was 0.20. There was no effect ( $P>0.05$ ) of the different ratios between the aminoacids on the nitrogen ingested and the amount of nitrogen eliminated in the feces. Compared with the non-vaccinated group, only animals that were fed a diet containing tryptophan:lysine ratio of 0.18 is presented ( $P<0.05$ ) low nitrogen excretion in the urine. The ratio 0.30 resulted ( $P<0.05$ ) in a lower percentage of nitrogen absorbed by animals, also compared to the control. It is concluded that the increase of the tryptophan:lysine ratio improves the energy value of feed, however, the ratio that improves protein balance for vaccinated animals is 0.20, close to the Brazilian's tables recommended. Vaccination of animals does not interfere in the tryptophan:lysine ratio required by pigs in the nursery phase.

Keywords: Immunological challenge. Metabolism. Swines. Vaccination.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1	Metabolismo do Triptofano .....	22
Figura 2	Nitrogênio excretado na urina em gramas por dia (A), porcentagens de nitrogênio absorvido (B), nitrogênio retido (C) e nitrogênio retido em relação ao absorvido (D) de leitões em fase inicial, submetidos à ativação do sistema imune através de vacinação, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano: lisina digestível .....	52
Tabela 1	Composição percentual e bromatológica das rações experimentais .....	48
Tabela 2	Balanço energético e de nitrogênio de suínos na fase inicial recebendo rações com diferentes relações triptofano:lisina submetidos a um programa de vacinação .....	50

## SUMÁRIO

	<b>PRIMEIRA PARTE</b> .....	11
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
<b>2.1</b>	<b>O sistema imune dos suínos</b> .....	14
<b>2.2</b>	<b>Triptofano</b> .....	21
<b>2.3</b>	<b>Interação nutrição e sistema imune</b> .....	25
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	31
	<b>SEGUNDA PARTE</b> .....	40
	<b>ARTIGO 1 Influência de diferentes relações triptofano:lisina sobre o balanço energético e de nitrogênio em leitões na fase inicial submetidos a um programa vacinal</b> .....	41
	<b>ABSTRACT</b> .....	<b>Erro! Indicador não definido.</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	44
<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	46
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	50
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	57
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58
	<b>ANEXOS</b> .....	62

**PRIMEIRA PARTE**

## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas o desenvolvimento da suinocultura no Brasil vem sendo caracterizado pela intensificação dos processos de criação, pelo aumento nos volumes de produção e pela necessidade de maximização da eficiência técnico-econômica do investimento. Esse crescimento, em escala fez com que tornasse necessário o desenvolvimento e a aplicação de técnicas que combatessem com eficácia o crescente desafio sanitário, o qual acompanha os modelos de produção animal intensiva.

Nesse sentido, o uso de produtos biológicos, tais como as vacinas, têm papel fundamental na manutenção do *status* sanitário do rebanho. Estas têm como objetivo promover uma ativação do sistema imune de forma controlada, porém intensa e rápida, para que os indivíduos que receberam as doses das vacinais estejam imunes aos agentes causadores das doenças. Esta ativação do sistema imune dos animais, por sua vez, pode provocar alterações no metabolismo dos mesmos. Como consequência, o desempenho zootécnico é geralmente deprimido. Por isso, é interessante estudar a possível influência da nutrição no sistema imune e na resistência dos animais a doenças infecciosas.

Dessa forma, a manipulação da dieta utilizando aminoácidos industriais pode ser uma alternativa a fim de melhorar sua relação aminoacídica, amenizando os efeitos negativos provocados pela estimulação do sistema imune e ainda melhorando as condições fisiológicas dos animais criados em diferentes situações.

Nos últimos anos, as pesquisas médicas tiveram como foco o triptofano, aminoácido essencial, amplamente utilizado em situações de desafio imunológico do indivíduo. Por se tratar de um aminoácido essencial, acredita-se que o organismo possa mobilizar proteínas corporais quando submetidos a um

desafio imunológico, elevando, conseqüentemente, a degradação de demais aminoácidos e a eliminação de nitrogênio.

Assim, as pesquisas na área de nutrição animal vêm buscando novos conceitos, quanto ao fornecimento adequado de nutrientes aos animais desafiados imunologicamente, para que haja nutrientes disponíveis para o desenvolvimento e para a resposta adequada do animal frente a desafios sanitários.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o balanço de nitrogênio e energia de leitões na fase inicial, submetidos a um programa vacinal, recebendo dietas com diferentes relações triptofano:lisina.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 O sistema imune dos suínos**

A função do sistema imune é a defesa contra os microrganismos infecciosos ou substâncias antigênicas não infecciosas, que podem despertar respostas imunes (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2008). Segundo Tizard (1998), uma das propriedades mais importantes do sistema imune é a capacidade de reconhecer e diferenciar o estímulo a que é submetido, evitando, assim, a elaboração de processos reativos contra componentes do próprio organismo ao qual pertence.

Com relação ao sistema imune, este é um complexo sistema com a responsabilidade de detectar a presença de antígenos, que são substâncias químicas ou qualquer estrutura estranha ao organismo como bactérias, vírus e demais microrganismos, além de substâncias moleculares como proteínas e polissacarídeos, e transmitir a informação ao organismo para que esse possa responder com alterações metabólicas e comportamentais.

Os primeiros estudos imunológicos em suínos, como o de Brambell (1958), mostraram que, quando fetos, os suínos estão protegidos da estimulação antigênica externa, em função da característica do epitélio corial da placenta materna. Essa barreira física de proteção, no entanto, impede a transferência de imunoglobulinas da mãe via placenta, assim o leitão nasce imunologicamente deficiente e, por isso, é dependente da aquisição de imunidade passiva transferida pela fêmea por meio do colostro. Essa imunidade é conferida pela ingestão de imunoglobulinas, porém, leucócitos (neutrófilos, macrófagos e linfócitos) e outros fatores de imunidade, também são passivamente adquiridos e podem contribuir para a imunidade do leitão recém-nascido (ROOKE; BLAND, 2002).

Para o melhor entendimento das respostas imunológicas, elas podem ser divididas em mecanismos inatos e adaptativos de defesa. Vários tipos de células, em particular as do sistema imune inato, expressam receptores, os *pattern recognition receptors* (PRRs), que detectam estruturas moleculares invariáveis, denominadas de *pathogen-associated molecular patterns*, (PAMPs), que se apresentam como estruturas repetitivas nos patógenos (JANEWAY et al., 2007). Evidências recentes indicam que os adipócitos e fibras musculares apresentam PRRs e são capazes de responder diretamente a patógenos e outros correspondentes ligantes do receptor. Assim, estas células participam ativamente na resposta imune inata e, como tal, produzem um elevado número de entidades reguladoras do sistema imune e do metabolismo, incluindo citocinas pró-inflamatórias e adiponectina (GABLER; SPURLOCK, 2008).

Tanto a imunidade inata quanto as respostas imunes adaptativas dependem da atividade das células brancas do sangue, os leucócitos. As ações do sistema imune inato são pré-requisitos para o desenvolvimento da imunidade adaptativa, sendo que as células envolvidas na imunidade inata também participam das respostas imunes adaptativas.

O sistema imunológico apresenta uma ampla diversidade de moléculas, mediadores metabólicos e células que estão envolvidas com a resposta imune. A população leucocitária mais amplamente envolvida nos mecanismos da imunidade é representada pelos linfócitos, componentes da imunidade adaptativa. A medula óssea e o timo representam os órgãos linfoides primários. A medula é capaz de formar pró-lymfócitos, estes não são capazes de realizar uma resposta imune, então se dirigem aos órgãos secundários para se desenvolverem em linfócitos B e T. O timo é essencial para o estabelecimento inicial de um repertório funcional de células T. Esse órgão fornece o ambiente adequado para a diferenciação, seleção e maturação de linfócitos T, a partir de

células-tronco progenitoras migrantes da medula óssea (LIMA; CARNEIRO-SAMPAIO, 2007)

Já nos órgãos linfoides secundários (gânglios linfáticos, baço e tecidos linfoides associados às mucosas), ocorre prioritariamente a estimulação das células linfoides pelos antígenos (ARIAS; SÁNCHEZ-VISCAÍNO, 1999 citado por MACHADO; FONTES, 2005).

Os neutrófilos são granulócitos formando a primeira linha de defesa celular contra infecções microbianas. São produzidos na medula óssea e distribuídos no sangue na forma madura (neutrófilo segmentado). O neutrófilo bastonete é uma forma imatura, estando presente na circulação em pequeno número (JAIN, 1993). Eles constituem a primeira linha de defesa do organismo em razão de três funções básicas desenvolvidas por essas células: aderência, quimiotaxia e fagocitose (LOPES et al., 1996).

Estudos indicam a influência da nutrição na função neutrofílica em grandes animais. Andreasen e Roth (2000) descreveram que em ruminantes a deficiência nutricional, incluindo a de cobre, cobalto, selênio, molibdênio, tiamina e enxofre, está relacionada com o aumento de infecções e diminuição da função dos neutrófilos.

A linfopoiese, ou seja, a produção de linfócitos ocorre na medula óssea (JAIN, 1993). Tais células apresentam ampla variedade de funções no sistema imunitário (ETTINGER; FELDMAN, 2004). De acordo com o mecanismo de ação no processo imunológico, os linfócitos são chamados de “linfócito T” (imunidade celular) e “linfócito B” (imunidade humoral). A diferenciação entre os tipos de linfócitos pode ser feita por diferentes técnicas, dentre as quais estão a imunogenética, a microscopia eletrônica e a citoquímica (LOPES et al., 1996), não sendo diferenciados pela microscopia óptica de rotina, muitos dos linfócitos no sangue podem ser descritos como linfócitos T de memória de vida longa, recirculantes e de pequeno diâmetro (ETTINGER, 1992).

O monócito é uma célula que está envolvida na fagocitose e morte de bactérias, vírus, fungos e protozoários (ETTINGER; FELDMAN, 2004). Os monócitos derivam da medula óssea, circulam por curto período e transformam-se em macrófagos nos tecidos (DUNCAN; PRASSE, 1982).

A produção e a liberação de eosinófilos são reguladas por linfocinas produzidas por linfócitos T-fator estimulador de colônia eosinofílica (Eos-CSF), eosinofiloipoietina e fator de liberação de eosinófilos (JAIN, 1993). Tanto em processos parasitários quanto em alérgicos há interação de linfócitos, mastócitos, basófilos e eosinófilos, sendo que os linfócitos T e os mastócitos produzem eosinofiloipoietina que age na medula óssea, aumentando a formação de eosinófilos (WILLARD; TVEDTEN; TURNWALD, 1994). Embora os eosinófilos possam viver até duas semanas nos tecidos sob a influência das citocinas, permanecem somente algumas horas no sangue (LILLIEHÖÖK; TVEDTEN, 2003), possuem propriedades parasiticidas que dependem de anticorpo ou complemento (DUNCAN; PRASSE, 1982) e são atraídos ao tecido inflamado por produtos de mastócitos e linfocinas.

Mastócitos e linfócitos são capazes de reconhecer alérgenos ou parasitas nos tecidos, agindo como uma sentinela para detectar e responder à suas presenças. Os mastócitos atacam especificamente o parasita ou o alérgeno pela IgE ou IgG, produzidas pelos linfócitos B. Os eosinófilos regulam os efeitos destas células, inibindo a degranulação e neutralizando mediadores.

O eosinófilo destrói o parasita, atacando-o e formando um vacúolo digestivo entre si e o parasita (WILLARD; TVEDTEN; TURNWALD, 1994). A eosinofilia, em geral, se desenvolve em resposta a estímulos específicos, incluindo doenças parasitárias, alergias ou outras reações de hipersensibilidade e vários agressores tissulares. Os eosinófilos contribuem para a defesa do hospedeiro, porque participam da morte de alguns parasitas, melhoram as respostas inflamatórias pela inativação de mediadores químicos e participam das

respostas antitumorais (ETTINGER; FELDMAN, 2004). Assim, os processos alérgicos devem ser considerados na interpretação da eosinofilia (BARGER, 2003). Em algumas áreas, os animais podem apresentar eosinofilia em certas épocas do ano, devido à presença de alérgenos no ambiente e à carga de parasitas (MEINKOTH; CLINKENBEARD, 2000).

Os basófilos, por sua vez, contêm proteoglicanos e histamina e parecem exercer um papel nas reações imunomediadas, em especial na anafilaxia e na indução das reações de hipersensibilidade imediata ou respostas de hipersensibilidade a parasitas ou alérgenos (ETTINGER; FELDMAN, 2004).

A eosinofilia, geralmente acompanha a basofilia como parte do processo mediado por IgE, eosinófilo e basófilo/mastócito (WILLARD; TVEDTEN; TURNWALD, 1994). A formação de basófilos parece ser antígeno-específica e regulada por IL-3 e por uma linfocina basofílica específica (basofilopoietina) produzida por linfócitos T (JAIN, 1993). A basofilia está presente quando essas células excedem 200-300 células/ $\mu$ L (LATIMER et al., 2003; SCOTT; STOCKHAM, 2000).

Suínos mantidos no ambiente em que se presume alto grau de estimulação imunológica apresentam alto nível plasmático de proteínas de fase aguda e  $\alpha$ -glicoproteína ácida (WILLIAMS; STAHLY; ZIMMERMAN, 1993). Em suínos, a haptoglobina (HPT), a amiloide sérica A (SSA) e a proteína C-reativa (CRP) são as principais proteínas de fase aguda de impactos positivos, como tem sido demonstrado após a ativação do sistema imune experimentalmente (HULTEN et al., 2003; CARPINTEIRO et al., 2005).

A haptoglobina é uma proteína plasmática heterogênea, principalmente sintetizada pelo fígado. O monômero de haptoglobina consiste em duas cadeias pesadas (cadeias  $\beta$  com 40 kD) e duas cadeias leves ( $\alpha$ -1 com 9 kD e  $\alpha$ -2 com 16 kD), ligadas por pontes dissulfato. Os três principais tipos de haptoglobina são:

Hp 1-1 que é monomérico (98 kD) e Hp 1-2 (200 kD) e Hp 2-2 (400 kD) que são poliméricas.

Os níveis séricos de haptoglobina sobem rapidamente (24 a 48 horas) após uma lesão aguda do tecido, mas também reduzem rapidamente, assim que o estímulo é removido (ECKERSAL, 2000). Essa molécula exerce uma série de funções durante o estresse imunológico, incluindo efeito antioxidante, antiinflamatório, atividades antibacterianas e modulação da resposta imune (WASSEL, 2000). Devido a sua concentração permanecer alta por vários dias após o desafio ao sistema imune, contrária à típica resposta transitória das citocinas, a haptoglobina demonstra ser um bom indicador da inflamação crônica e infecção em suínos (MELCHIOR; SÈVE; LE FLOC'H, 2004).

Já a proteína C-reativa (CRP), foi nomeada assim, pois possui a capacidade de afetar a precipitação do polissacarídeo somático C, oriundo do *Streptococcus pneumoniae*. Esta proteína é uma  $\alpha$ -globulina com uma massa de 110 a 140 daltons, composta de cinco subunidades idênticas que apresentam uma estrutura não covalente como um pentâmero cíclico. É sintetizada no fígado e normalmente presente como um constituinte traço no soro em níveis menores que 0,3 mg/dL. Os níveis sobem rapidamente após uma lesão tecidual e também decrescem rapidamente com a remoção do estímulo.

Investigações nos últimos anos têm demonstrado que as quantificações de HPT e CRP no plasma ou no soro podem fornecer informações diagnósticas valiosas na detecção, prognóstico e monitoramentos de patologias, não somente em humanos, mas também em animais. Silveira (2011) observou efeito da ativação do sistema imune de leitões, através de vacinação sobre os níveis de HPT e CRP, demonstrando que a utilização da vacina proporcionou a ativação do sistema imune dos animais. Carroll et al. (2004) também verificaram aumento das concentrações de HPT e CRP em leitões com 24 dias de idade

desafiados imunologicamente com *E. coli* K88<sup>+</sup>, observando maior efeito destas proteínas oito horas após inoculação.

As proteínas de fase aguda são muito utilizadas na detecção da ativação do sistema imunológico, mas outras análises podem ser realizadas para verificar o estado do animal.

Em resposta ao estímulo antigênico, variedades de células, incluindo os macrófagos ativados, também secretam uma série de citocinas que são responsáveis por alterar o metabolismo do hospedeiro. Três destas citocinas estão profundamente ligadas ao comportamento neuroendócrino e efeitos metabólicos: o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 1 (IL-1) e interleucina 6 (IL-6) (JOHNSON, 1997).

Essas são as principais indutoras da síntese de proteínas da fase aguda nos hepatócitos, agindo em sinergismo com TNF- $\alpha$ , interleucina-1 (IL-1) e glicorticoides. A interleucina-6 (IL-6) exerce um efeito importante na contra-regulação inflamatória, por inibir a síntese de TNF- $\alpha$  (seu indutor), e age também na indução da febre, em ação conjunta com IL-1 e TNF- $\alpha$  (NESIN; CUNNINGHAM-RUNDLES, 2000). A interleucina-6 tem sido referida como um marcador precoce de infecções e inflamações, uma vez que os níveis séricos da citocina encontram-se mais alterados no início dos sintomas e essa seria a sua grande vantagem como marcador diagnóstico. Porém, ao contrário do comportamento da CRP, os níveis plasmáticos caem rapidamente para a normalidade em 24-48 horas devido à sua meia-vida curta e elas podem não ser mais detectáveis então, gerando resultados falsos-negativos (NG, 2003).

As citocinas IL-1, IL-6 e TNF- $\alpha$  são responsáveis pelo estímulo e síntese de proteínas de fase aguda no fígado *in vivo* e *in vitro*. Durante estresse imunológico, a síntese de proteínas de fase aguda aumenta de forma significativa e estas são consideradas os primeiros indicadores da ativação do sistema imune (RICHARDS; GAULDIE; BAUMANN, 1991).

Deste modo, é importante se ter uma melhor compreensão da interação entre a nutrição e o sistema imune, visando diminuir os impactos negativos na produção devido à ativação imunológica.

## **2.2 Triptofano**

O L-Triptofano é um aminoácido essencial que, além de fazer parte de proteínas, é um precursor de compostos bioativos. Estes compostos são formados em duas rotas ou vias metabólicas específicas: via serotoninérgica e via das quinureninas (Figura 1). A via serotoninérgica, ativa em plaquetas e neurônios, converte o triptofano no neurotransmissor serotonina numa via intermediada por 5-hidroxitriptofano. Alguns tecidos são capazes de utilizar serotonina para a síntese do hormônio melatonina numa via intermediada por N-acetilserotonina. Na via da quinureninas, o triptofano é oxidado a N-formilquinurenina que subsequentemente é deformilada e transforma-se em L-quinurenina. A partir deste último, uma série de compostos com potencial atividade biológica especialmente neurotóxica é formada como, por exemplo, 3-hidroxiquinurenina e o ácido quinolínico (STONE, 2001).

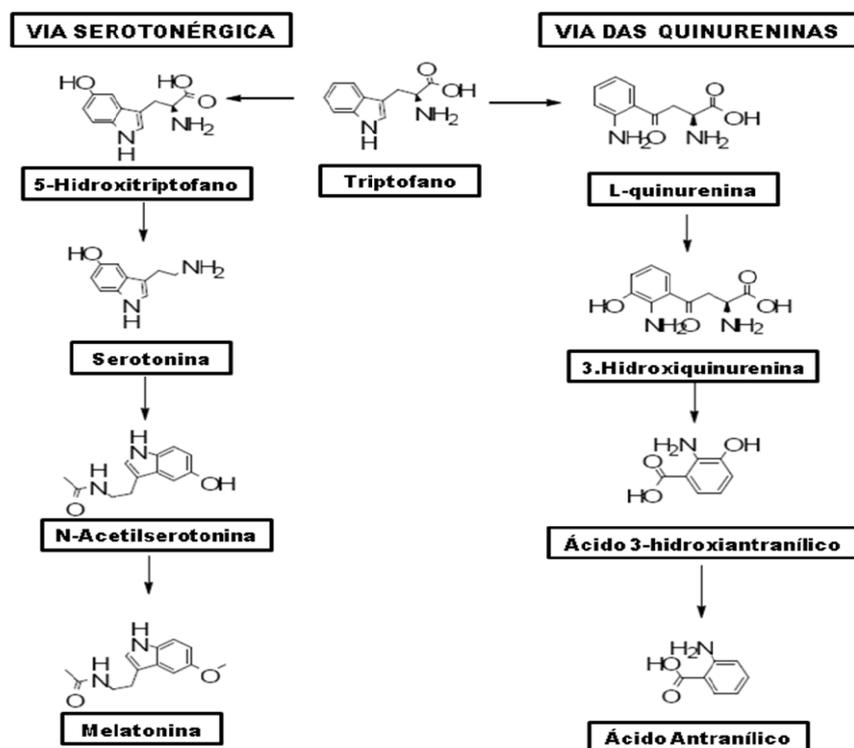


Figura 1 Metabolismo do Triptofano

Fonte: Adaptado de Stone (2001)

Duas enzimas são capazes de catalisar a conversão de triptofano em N-formil-quinurenina: triptofano 2,3-dioxigenase (TDO) e indoleamina 2,3-dioxigenase (IDO). Estas duas enzimas diferem na sua localização tecidual, estrutura, especificidade do substrato, exigência de cofatores e função. Em geral, a IDO é encontrada na maioria dos tecidos e TDO é localizada principalmente no fígado (LE FLOC'H; OTTEN; MERLOT, 2010).

Cerca de 1 a 2% de triptofano da dieta é convertido na via serotoninérgica (BENDER, 1983). A via das quinureninas é a via metabólica que mais consome triptofano, cerca de 95% do aminoácido ingerido é

metabolizado por esta via, que pode resultar na produção de NAD e outros metabólitos, mas a maioria do triptofano é completamente metabolizado para produzir CO<sub>2</sub> e ATP através da via  $\alpha$ -cetogluturato (PETERS, 1991). Em média, de 4 a 6 % do triptofano consumido sofre degradação bacteriana e aproximadamente 0,5% é excretado na urina (BENDER, 1983).

A serotonina é o metabólito mais conhecido e desenvolve papel fundamental na fisiologia animal, a qual tem influência no apetite, no comportamento sexual, na regulação de temperatura, na sensibilidade a dor e na agressividade (MEUNIER-SALAÜN et al., 1991). No entanto, em indivíduos saudáveis, a maior parte da literatura indica que a quantidade de triptofano tem efeitos pequenos ou nenhum sobre o humor (SILBER; SCHIMITT, 2010).

O triptofano é considerado um aminoácido essencial, cuja deficiência é capaz de reduzir significativamente a taxa de crescimento, semelhante ao que ocorre com a lisina, metionina e a valina. Em suínos, o efeito da deficiência de triptofano sobre o crescimento é causado principalmente por uma redução do apetite (EDER; PEGANOVA; KLUGE, 2001; HENRY et al., 1996)

Ettle e Roth (2004) mostraram que, quando podem escolher entre uma dieta deficiente de triptofano e uma dieta rica neste aminoácido, os leitões mostram uma clara preferência pela dieta rica em triptofano. Os mesmos autores demonstraram que uma ingestão deficitária deste aminoácido (0,11 de relação triptofano:lisina), resultou em um decréscimo no crescimento dos leitões e alterações na concentração plasmática deste aminoácido.

O efeito depressivo da deficiência de triptofano sobre a ingestão alimentar foi reduzido através do aumento do nível de proteína na dieta e, em particular, pelo aumento de aminoácidos longos e neutros (LNAA) (HENRY et al., 1996).

Em suínos, Zhang et al. (2007) mostraram que a expressão de RNA mensageiro, do hormônio grelina no intestino e sua secreção no plasma estavam

baixos quando os animais foram alimentados com uma dieta deficiente em triptofano. A correção de triptofano restaurou o consumo de ração, juntamente com uma maior expressão de mRNA para este hormônio, tanto no estômago quanto no duodeno. Acredita-se também que o triptofano poderia estar envolvido na modulação da secreção de insulina e sensibilidade a este hormônio (PONTER et al., 1994a, 1994b).

Na nutrição animal, a exigência de triptofano é definida como a quantidade exigida para maximizar a taxa de crescimento. Segundo o Agricultural Research Council - ARC (1981), o triptofano seria o terceiro aminoácido limitante depois da lisina e da metionina em rações a base de milho e de farelo de soja para suínos em crescimento. O National Research Council - NRC (1998) mostra que a relação ideal de triptofano:lisina é de 18%.

De forma semelhante, Sève et al. (1991) concluíram que o nível necessário de triptofano para leitões é de 0,23%, o que resultou em relação triptofano:lisina total de 0,18. Por outro lado, Gallo e Pond (1966) obtiveram resposta consistente para aumentos no nível de triptofano até aproximadamente 1% da proteína, o que resultou em uma exigência de triptofano total em torno de 0,18%, nível inferior ao obtido no trabalho anterior, o que se justifica pelo fato dos genótipos atuais serem mais magros e, conseqüentemente, mais exigentes em aminoácidos.

A exigência de triptofano total em relação à lisina de 16% foi proposta por Borg, Libal e Wahlstrom (1987), tomando como base as variáveis de desempenho e o teor de ureia no soro de leitões de 6 kg a 22 kg. Burgoon, Knabe e Gregg (1992) observaram aumento no ganho de peso, na ingestão de ração e melhora na conversão alimentar, com o acréscimo de triptofano total na ração de leitões na fase inicial até o nível de 0,19% e relação triptofano:lisina total de 13,5%. Han, Chung e Baker (1993) determinaram que a exigência de triptofano total para maximizar ganho diário de peso em suínos de 10 kg,

recebendo ração à base de milho e farelo de soja com 18% de proteína bruta, foi de 0,16%, resultando em uma relação lisina:triptofano total de 100: 17. Guzik et al. (2002), em experimento com leitões de 6 a 10 kg, obtiveram o melhor resultado de desempenho dos animais com um nível de 0,23% de triptofano total (0,20% triptofano digestível), o que resultou em uma relação lisina:triptofano total de 100:17,5.

Schutte et al. (1990) determinaram exigência de 0,21% de triptofano total para maximizar ganho de peso e de eficiência de utilização do alimento em leitões, o que resultou em uma relação lisina: triptofano total de 100: 19, porém usaram leitões dos 20 kg aos 40 kg.

As diferenças encontradas na literatura entre as exigências nutricionais de triptofano devem-se principalmente pela diferença genética, idade dos animais e ingredientes utilizados nas rações, além do estado imunológico dos animais.

### **2.3 Interação nutrição e sistema imune**

Há consenso de que a ativação imunológica modifica as exigências nutricionais mediada por alterações metabólicas. Estes mecanismos tornam-se acentuados quando associados ao fornecimento de uma dieta desbalanceada, acarretando em uma piora no desempenho de animais imunoestimulados (VAN DE LIGHT et al., 2002; WILLIAMS; STAHLY; ZIMMERMAN, 1997a, 1997b). Dessa forma, fica evidente que o redirecionamento de diversos nutrientes para atender à demanda imunológica pode alterar direta ou indiretamente as exigências nutricionais dos suínos, principalmente a relação aminoacídica da dieta.

Quando expostos a organismos patogênicos, os suínos podem ter uma redução de 10 a 40% na eficiência do ganho muscular, correspondendo entre 5 e

20% do rendimento na carcaça (STAHLEY, 1993). Em condições sanitárias desejáveis, os nutrientes são mais bem utilizados, permitindo maior expressão do desempenho suíno (AFFENTRANGER; GERWIG; SEEWER, 1996; KOLSTAD; VANGER, 1996).

Williams, Stahly e Zimmerman (1997a, 1997b) verificaram que animais não imunoestimulados dos 6 aos 27 kg de peso vivo, ganharam mais peso e tiveram uma melhor eficiência alimentar em torno de 21 e 10% em relação a animais imunoestimulados. Os autores ainda reportam que é sempre esperada uma redução na eficiência de utilização de aminoácidos dietéticos em situações de dieta hiperproteica, uma vez que há gastos de energia na excreção do nitrogênio em excesso, aumento na taxa metabólica e produção de calor, entre outros efeitos, prejudicando o desempenho dos animais.

Alguns estudos indicam que um desafio imunológico pode resultar em algumas alterações fisiológicas, talvez pela liberação de citocinas pró-inflamatórias (JOHNSON et al., 2006; WEBEL et al., 1997; YI et al., 2005). Estas citocinas podem afetar negativamente o crescimento e a eficiência alimentar. Assim, a modulação dessas citocinas pode ter efeitos benéficos para atenuar os efeitos negativos induzidos por um estresse imunológico (CARROLL et al., 2003). Segundo Williams, Stahly e Zimmerman (1997a), a exposição dos suínos a antígenos, patogênicos ou não, desencadeia a liberação de substâncias que ativam o sistema imunológico, alterando o processo metabólico em detrimento à síntese proteica na musculatura esquelética.

Durante a resposta imune, ocorre o redirecionamento de nutrientes para atender a demanda de combate ao estímulo antigênico (DEE, 1999; SHURSON; JOHNSTON, 1998). Vários nutrientes são mobilizados deixando de atender as funções produtivas, como a deposição de proteína muscular para atender à demanda do sistema imune para a síntese aumentada de citocinas,

imunoglobulinas, células de defesa, proteínas de fase aguda e outras demandas proteicas da resposta imune.

Os nutrientes têm papel direto nas condições do sistema imune, por servirem de substrato e cofatores enzimáticos para multiplicação celular durante a resposta imune (fagócitos, linfócitos) e para a síntese de moléculas efetoras (anticorpos, lisozimas, óxido nítrico) ou de comunicação (citocinas, mediadores inflamatórios). Desta forma, a suplementação dietética com determinados nutrientes utilizados na modulação do sistema imune dos animais pode ser considerada um potencial meio para melhorar o desempenho e o estado de saúde dos leitões (LI et al., 2007).

De acordo com Barnes et al. (2002) e Humphrey e Klasing (2004), é sabido que alguns aminoácidos são mais utilizados em relação a outros para síntese de proteínas envolvidas no sistema imune, tais como a treonina, a metionina, a arginina e o triptofano, e que, nesses casos, a lisina torna-se menos limitante. De acordo com Reeds, Fjeld e Jahoor (1994), a necessidade de determinado aminoácido, específico para proteínas do sistema imune faz com que os animais mobilizem as proteínas musculares para atender essas exigências e isso pode ser menos acentuado caso a dieta esteja adequada para essas condições.

Segundo Melchior, Sève e Le Floc'h (2004), a utilização de alguns aminoácidos como o triptofano aumenta durante a inflamação pulmonar crônica em suínos e sugere um papel importante deste aminoácido nas respostas inflamatórias e imunológicas. Melchior et al. (2005) também mostraram que a atividade daIDO é induzida no pulmão e linfonodos de suínos com inflamação pulmonar crônica. Assim, a inflamação pode reduzir a disponibilidade de triptofano, aumentando o catabolismo deste aminoácido. Os mesmos autores citam que, considerando a concentração plasmática do triptofano como indicador da disponibilidade do mesmo para o crescimento e outros processos fisiológicos

normais, este aminoácido pode se tornar limitante se o fornecimento na dieta não for suficiente para suportar um aumento de utilização do mesmo, causada pela inflamação.

A degradação do triptofano pode ser detectada em várias células, incluindo células apresentadoras de antígenos como macrófagos, fibroblastos e trofoblasto placentário. Citocinas inflamatórias lançadas pela ativação de células imunes estimulam a expressão da IDO e atividade da mesma. Embora interferons  $\alpha$  e  $\beta$  (MELLOR et al., 2005) e TNF- $\alpha$  (O'CONNOR et al., 2009) possam iduzir a degradação de triptofano, o IN- $\gamma$  parece ser a citocina mais importante ligada a este catabolismo (POPOV; SCHULTZE, 2008). Mais recentemente, descobriu-se que, além de macrófagos, outro tipo de células apresentadoras de antígenos, chamadas de células dendríticas (DC) também expressam a IDO (LE FLOC'H; OTTEN; MERLOT, 2011).

A depleção de triptofano plasmático ou aumento da relação quinurenina:triptofano foi relatada durante infecções virais, bacterianas e protozoários intracelulares (BOASSO et al., 2007; MOREAU et al., 2005; MURRAY, 2003; SILVA et al., 2002) ou inflamação induzida, experimentalmente (MELCHIOR; SÈVE; LE FLOC'H, 2004). O aumento da utilização de triptofano também é relatado durante outras situações de ativação imune de longa duração, tais como doenças autoimunes (SCOTT et al., 2009), doenças inflamatórias (WOLF et al., 2004) e câncer (DENZ et al., 1993). Na maioria destes relatos, o surgimento de metabólitos como a quinurenina e ácido quinólico, demonstrou o envolvimento das vias de degradação do triptofano. Simultaneamente, maior expressão de IDO é observada (WIDNER; LEDOCHOWSKI; FUCHS, 2000; WOLF et al., 2004), sugerindo que esta enzima é a principal responsável pela degradação do triptofano.

A redução de triptofano induzida pela IDO através da ativação imune do hospedeiro pode ter duas funções: a privação de aminoácido para os

microrganismos e tolerância imunológica. A redução local de triptofano resultante da ativação da IDO em macrófagos seria um mecanismo de controle da proliferação de bactérias, vírus e parasitas (MACKENZIE et al., 2007). Com isso, a depleção de triptofano tem sido considerada como o primeiro mecanismo de defesa induzida em células imunocompetentes durante a ativação imune. No entanto, o aumento na utilização de triptofano durante a ativação imune crônica de origem não patogênica sugere um amplo espectro de ação da IDO (SCHRÖCKSNADDEL et al., 2006).

Finalmente, a indução da IDO durante a ativação imune pode proteger as células dos danos oxidativos. De fato, a atividade desta enzima consome superóxido e, portanto, é provavelmente uma defesa antioxidante, uma vez que os superóxidos são precursores de outras espécies reativas de oxigênio (HAYAISHI, 1996). Tem sido demonstrado que a supraexpressão de IDO diminui o dano oxidativo de ânions superóxidos dependente das proteínas celulares *in vitro*. Além disso, ácido 3-hidroxi-antranílico e 3-hidroxi-quinurenina que são produzidos a partir do triptofano ao longo da via metabólica da IDO-quinurenina parecem ter propriedades antioxidativas (CHRISTEN; PETERHANS; STOCKER, 1990).

Em ratos, Bitzer-Quintero et al. (2010) mostraram que o triptofano fornecido duas vezes a exigência diária reduziu a peroxidação no tecido adiposo, enquanto Forrest et al. (2004) demonstraram que o excesso de triptofano em humanos induz o estresse oxidativo e a peroxidação lipídica. Esses resultados contraditórios mostram a complexidade do metabolismo do triptofano e as diversas propriedades dos metabólitos produzidos a partir deste aminoácido.

Le Floc'h, Melchior e Sève (2008) demonstraram em suínos com inflamação pulmonar induzida, experimentalmente, que os animais alimentados com uma dieta rica em triptofano tiveram menor concentração de proteínas de fase aguda em comparação àqueles alimentados com a dieta basal, indicando que

a resposta inflamatória foi moderada com o maior fornecimento de triptofano. Em um modelo suíno com indução de colite, Kim et al. (2010) mostraram que um pequeno aumento de triptofano reduziu os sintomas da colite, por meio de uma regulação da inflamação e restauração da resposta imune local.

Nas situações em que um pequeno aumento de triptofano é fornecido, o aminoácido em si ou alguns de seus metabólitos com propriedades antioxidantes podem ser produzidos em grandes concentrações e estes podem exercer um efeito antiinflamatório, enquanto um grande excesso deste aminoácido pode ser considerado como risco devido a uma indução de um estresse oxidativo (KIM et al., 2010).

É sabido que o triptofano possui funções importantes na regulação do crescimento, humor, comportamento e respostas imunes. Há evidências sobre as consequências prejudiciais da deficiência de triptofano durante estados inflamatórios e transtornos humorais. Além disso, alguns dados também indicam que altas doses de triptofano podem ter virtudes farmacológicas na redução do estresse e nas respostas inflamatórias. No entanto, os mecanismos, a segurança e a eficiência do aumento de triptofano na dieta ainda são controversos, levando em consideração que alguns de seus metabólitos são tóxicos e/ou por aumentarem o estresse oxidativo.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 6. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 2008. 538 p.
- AFFENTRANGER, P.; GERWIG, C.; SEEWER, G. J. Growth and carcass characteristics as well as meat and fat quality of three types of pigs under different feeding regimens. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 45, n. 2/3, p. 187-196, 1996.
- AGRICULTURAL RESEARCH COUNCIL. **The nutrient requirement to pigs**. Farhan Royal: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1981. 307 p.
- ANDREASEN, C. B.; ROTH, J. A. Neutrophil functional abnormalities. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. (Ed.). **Schalm's veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia: Lippincott, 2000. p. 357-365.
- BARGER, A. M. The complete blood cell count: a powerful diagnostic tool. **Veterinary Clinics of North America, Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 33, n. 6, p. 1207-1222, Nov. 2003.
- BARNES, D. M. et al. Protein metabolism during an acute phase response in chickens. **Amino Acids**, Wien, v. 22, p. 15-26, 2002.
- BENDER, D. A. Biochemistry of tryptophan in health and disease. **Molecular Aspects of Medicine**, Elmsford, v. 6, p. 97-101, 1983.
- BITZER-QUINTERO, O. K. et al. Antioxidant activity of tryptophan in rats under experimental endotoxic shock. **Biomed Pharmacuticals**, Sharon Hill, v. 64, p. 77-81, 2010.
- BOASSO, A. et al. Regulatory T-cell markers, indoleamine 2,3-dioxygenase, and virus levels in spleen and gut during progressive simian immunodeficiency virus infection. **Journal of Virology**, Washington, v. 81, p. 11593-11603, 2007.
- BORG, B. S.; LIBAL, G. .; WAHLSTROM, R. C. Tryptophan and threonine requirements of young pigs and their effects on serum calcium, phosphorus and zinc concentrations. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 64, p. 1070-1078, 1987.
- BRAMBELL, F. W. R. The passive immunity of the young mammal. **Biology Review**, Cambridge, v. 33, n. 4, p. 488-531, 1958.

BURGOON, K. G.; KNABE, D. A.; GREGG, E. J. Digestible tryptophan requirement of starting, growing and finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 70, p. 2493-2500, 1992.

CARPINTEIRO, R. et al. The concentration of apolipoprotein A-I decreases during experimentally induced acute processes in pigs. **Infection and Immunity**, Washington, v. 73, n. 12, p. 3184-3187, Dec. 2005.

CARROLL, J. A. et al. Effect of menhaden fish oil supplementation and lipopolysaccharide exposure on nursery pigs. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 24, n. 2, p. 341-351, June 2003.

CARROLL, J. A. et al. The acute response in pigs experimentally infected with *Escherichia coli* and treated with systemic bactericidal antibiotics. **Livestock production science**, Amsterdam, v. 85, p. 35-44, 2004.

CHRISTEN, S.; PETERHANS, E.; STOCKER, R. Antioxidant activities of some tryptophan metabolites: possible implication for inflammatory diseases. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, Washington, v. 87, p. 2506-2510, 1990.

DEE, S. Weaned pig immunology and stress. **Comparative Educational Veterinary**, New York, v. 21, n. 4, p. 144-147, 1999. Suppl.

DENZ, H. et al. Weight loss in patients with hematological neoplasias is associated with immune system stimulation. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 71, p. 37-41, 1993.

DUNCAN, J. R.; PRASSE, K. W. **Patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 217 p.

EDER, K.; PEGANOVA, S.; KLUGE, H. Studies on the tryptophan requirement of piglets. **Archiv fur tierernahrung**, Berlin, v. 55, p. 281-297, 2001.

ETTINGER, S. J. Afecções das células sangüíneas, linfonodos e baço. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de medicina interna veterinária**. 3. ed. São Paulo: Manole, 1992. p. 2577-2666.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Hematologia e imunologia. In: \_\_\_\_\_. **Tratado de medicina interna veterinária: doenças do cão e do gato**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. v. 2, p. 1881-1957.

ETTLE, T.; ROTH, F. X. Specific dietary selection for tryptophan by the piglet. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 1115-1121, 2004.

FORREST, C. M. et al. Tryptophan loading induces oxidative stress. **Free radical research communications**, New York, v. 38, p. 1167–1171, 2004.

GABLER, N. K.; SPURLOCK, M. E. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 64-74, 2008. Suppl.

GALLO, J. T.; POND, W. G. Tryptophan requirement of early – weaned pigs from three to seven weeks of age. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 25, p. 774-778, 1966.

GUZIK, A. C. et al. The tryptophan requirement of nursery pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 2646-2655, 2002.

HAN, Y.; CHUNG, T. K.; BAKER, D. H. Tryptophan requirement of pigs in the weight category 10 to 20 kilograms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 139-143, 1993.

HAYAISHI, O. Utilization of superoxide anion by indoleamine oxygenase-catalyzed tryptophan and indoleamine oxidation. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 398, p. 285–289, 1996.

HENRY, Y. et al. Growth performance and brain neurotransmitters in pigs as affected by tryptophan, protein, and sex. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 74, p. 2700-2710, 1996.

HULTEN, C. et al. Interleukin 6, serum amyloid A and haptoglobin as markers of treatment efficacy in pigs experimentally infected with *Actinobacillus pleuropneumoniae*. **Veterinary Microbiology**, Amsterdam, v. 95, n. 1/2, p. 75-89, Aug. 2003.

HUMPHREY, B. D, KLASING, K. C. Modulation of nutrient metabolism and homeostasis by the immune system. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v. 60, n. 1, p. 90-100, Mar. 2004.

- JAIN, N. C. **Essentials of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea and Febiger, 1993. 417 p.
- JANEWAY, C. A. et al. **Imunobiologia: o sistema imunológico na saúde e na doença**. 6. ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 2007. 729 p.
- JOHNSON, I. R. et al. Glutamine supplementation influences immune development in the newly weaned piglet. **Developmental and Comparative Immunology**, New York, v. 30, n. 12, p. 1191-1202, Apr. 2006.
- JOHNSON, I. R. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: an integrated view. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1244–1255, 1997.
- KIM, C. J. et al. Tryptophan exhibits therapeutic function in a porcine model of dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis. **Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition**, Mitake-cho, v. 21, p. 468–475, 2010.
- KOLSTAD, K.; VANGEN, O. Breed differences in maintenance requirements of growing pigs when accounting for changes in body composition. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 47, n. 1, p. 23-32, Feb. 1996.
- LAMPREAVE, F. et al. Characterization of the acute phase serum protein response in pigs. **Electrophoresis**, Weinheim, v. 15, n. 1, p. 672-676, Jan. 1994.
- LATIMER, K. S.; MAHAFFEY, E. A.; PRASSE, K. W. **Duncan & Prasse's veterinary laboratory medicine clinical pathology**. 4th ed. Iowa: Iowa State, 2003. 448 p.
- LE FLOC'H, N.; OTTEN, W.; MERLOT, E. Tryptophan metabolism, from nutrition to potential therapeutic applications. **Amino Acids**, Wien, v. 41, p. 1195-1205, Nov. 2011.
- LE FLOC'H, N.; MELCHIOR, D.; SÈVE, B. Dietary tryptophan helps to preserve tryptophan homeostasis in pigs suffering from lung inflammation. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 3473–3479, 2008.
- LI, P. et al. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 98, n. 2, p. 237-252, Aug. 2007.

LILLIEHÖÖK, I.; TVEDTEN, H. Investigation of hypereosinophilia and potential treatments. **Veterinary Clinics of North América, Small Animal Practice**, Philadelphia, v. 33, n. 6, p. 1359-1378, Dec. 2003.

LIMA, F. A.; CARNEIRO-SAMPAIO, M. O papel do timo no desenvolvimento do sistema imune. **Pediatria**, São Paulo, v. 29, p. 33-42, 2007.

LOPES, S. T. A. et al. **Patologia clínica veterinária**. Santa Maria: UFSM, 1996. 166 p.

MACHADO, G. S.; FONTES, D. O. Interações entre sanidade, ativação imunológica, produção e nutrição de suínos: uma nova abordagem. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE SUINOCULTURA, 1., 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2005. p. 130-148.

MACKENZIE, C. R. et al. Role of indoleamine 2,3-dioxygenase in antimicrobial defense and immuno-regulation: tryptophan depletion versus production of toxic kynurenines. **Current Drug Metabolism**, Sharjah, v. 8, p. 237–244, 2007.

MEINKOTH, J. H.; CLINKENBEARD, K. D. Normal hematology of the dog. In: FELDMAN, B. F.; ZINKEL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2000. p. 1055-1063.

MELCHIOR, D. et al. Is tryptophan catabolism increased under indoleamine 2,3 dioxygenase activity during chronic lung inflammation in pigs? **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 45, p. 175–183, 2005.

MELCHIOR, D.; SÈVE, B.; LE FLOC'H, N. Chronic lung inflammation affects plasma amino acid concentrations in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 1091-1099, 2004.

MELLOR, A. L. et al. Cutting edge: CpG oligonucleotides induce splenic CD19<sup>+</sup> dendritic cells to acquire potent indoleamine 2,3- dioxygenase-dependant T cell regulatory functions via IFN type 1 signalling. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 175, p. 5601–5605, 2005.

MEUNIER-SALAÜN, M. C. et al. Impact of dietary tryptophan and behavioral type on behavior, plasma cortisol, and brain metabolites of young pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3689-3698, 1991.

MOREAU, M. et al. Bacille Calmette–Gue´rin inoculation induces chronic activation of peripheral and brain indoleamine 2,3-dioxygenase in mice. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 192, p. 537–544, 2005.

MURRAY, M. F. Tryptophan depletion and HIV infection: a metabolic link to pathogenesis. **Lancet Infectious Diseases**, New York, v. 3, p. 644–652, 2003.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. **Nutrient requirements of swine**. 10th ed. Washington, 1998. 192 p.

NESIN, M.; CUNNINGHAM-RUNDLES, S. Cytokines and neonates. **American Journal of Perinatology**, New York, v. 17, n. 8, p. 393-404, Jan. 2000.

NG, P. C. et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokine responses in preterm with systemic infections. **Archives of Disease in Childhood Fetal and Neonatal Edition**, London, v. 88, n. 3, p. 209-213, May 2003.

O’CONNOR, J. C. et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressivelike behavior in mice in response to bacillus Calmette-Guerin. **Journal of Neuroscience**, Baltimore, v. 29, p. 4200–4209, 2009.

PETERS, J. C. Tryptophan nutrition and metabolism: an overview. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, New York, v. 294, p. 58-345, 1991.

PONTER, A. A. et al. Intra gastric tryptophan reduces glycemia after glucose, possibly via glucose-mediated insulinotropic polypeptide (GIP) in early weaned piglets. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, p. 259–267, 1994a.

PONTER, A. A. et al. The effects of energy source and tryptophan on the rate of protein synthesis and on hormones of the entero-insular axis in the piglet. **British Journal Nutrition**, London, v. 71, p. 661–674, 1994b.

POPOV, A.; SCHULTZE, J. L. IDO-expressing regulatory dendritic cells in cancer and chronic infection. **Journal of Molecular Medicine**, Heidelberg, v. 86, p. 145–160, 2008.

RICHARDS, C.; GAULDIE, J.; BAUMANN, H. Cytokine control of acute phase protein expression. **European cytokine network**, Montrouge, v. 2, p. 89-98, 1991.

REEDS, P. J.; FJELD, C. R.; JAHOOOR, F. Do the differences between the amino acid compositions of acute-phase and muscle proteins have a bearing on nitrogen loss in traumatic states? **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 124, p. 906-910, 1994.

ROOKE, J. A.; BLAND, I. M. The acquisition of passive immunity in the new born piglet. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 78, n. 1, p. 13-23, Nov. 2002.

SCHRÖCKSNADDEL, K. et al. Monitoring tryptophan metabolism in chronic immune activation. **Clinica chimica acta: International journal of clinical chemistry and medical biochemistry**, Amsterdam, v. 364, p. 82-90, 2006.

SCHUTTE, J. B. et al. Amino acid requirements of pigs. 2. Requirement for apparent digestible threonine of young pigs. **Netherlands Journal of Agricultural Science**, Wageningen, v. 38, p. 597-607, 1990.

SCOTT, G. N. et al. The immunoregulatory enzyme IDO paradoxically drives B cell-mediated autoimmunity. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 182, p. 7509-7517, 2009.

SCOTT, M. A.; STOCKHMAN, S. L. Basophils and mast cells. In: FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Schalm's: veterinary hematology**. 5th ed. Baltimore: Lippincott, 2000. chap. 48, p. 308-317.

SÈVE, B. et al. Impact of dietary tryptophan and behavioral type on growth performance and plasma amino acids of young pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 69, p. 3679-3688, 1991

SHURSON, J.; JOHNSON, L. Swine nutrition and health connections. In: ALLEN LEMAN SWINE CONFERENCE, 25., 1998, Saint Paul. **Proceedings...** Saint Paul: University of Minnesota, 1998. p. 77-95.

SILBER, B. Y.; SCHMITT, J. A. J. Effects of tryptophan loading on human cognition, mood, and sleep. **Neuroscience and Biobehavioral Reviews**, New York, v. 34, p. 387-407, 2010.

SILVA, N. M. et al. Expression of indoleamine 2,3-dioxygenase, tryptophan degradation, and kynurenine formation during in vivo infection with *Toxoplasma gondii*: induction by endogenous gamma interferon and requirement of interferon regulatory factor 1. **Infection and Immunity**, Washington, v. 70, p. 859–868, 2002.

SILVEIRA, H. **Níveis de lisina para leitões na fase inicial submetidos ou não a ativação do sistema imune**. Lavras: UFLA, 2011.

STAHLEY, T. Nutrition effects lean growth, carcass composition. **Feedstuffs**, Minnetonka, v. 65, n. 26, p. 12-13, 1993.

STONE, T. W. Endogenous neurotoxins from tryptophan. **Toxicon**, Oxford, v. 39, p. 61-73, 2001.

TIZARD, I. **Imunologia veterinária**. 5. ed. São Paulo: Roca, 1998. 545 p.

VAN DE LIGT, J. L. G. et al. Effect of chromium tripicolinate supplementation on porcine immune response during the post weaning period. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 449–455, 2002.

WASSEL, J. Haptoglobin: function and polymorphism. **Clinical laboratory science**, Washington, v. 46, p. 547-552, 2000.

WEBEL, D. M. et al. Time course of increased cytokines, cortisol, and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1514-1520, 1997.

WIDNER, B.; LEDOCHOWSKI, M.; FUCHS, D. Interferon-gamma-induced tryptophan degradation: neuropsychiatric and immunological consequences. **Current Drug Metabolism**, v. 1, p. 193–204, 2000.

WILLARD, M. D.; TVEDTEN, H.; TURNWALD, G. H. (Ed.). **Small animal clinical diagnosis by laboratory methods**. 2nd ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. 377 p.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on the rate, efficiency and composition of growth and lysine needs of pigs fed from 6 to 27 kg. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2463-2471, 1997a.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention, partial efficiency of lysine utilization and lysine needs of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2472-2480, 1997b.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Impact of immune system activation and dietary amino acid regimen on nitrogen retention of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 171, 1993. Suppl. 1.

WOLF, A.M. et al. Overexpression of indoleamine 2,3-dioxygenase in human inflammatory bowel disease. **Journal of Clinical Immunology**, New York, v. 113, p. 47-55, 2004.

YI, G. F. et al. Effect of glutamine and spray-dried plasma on growth performance, small intestinal morphology and immune responses of Escherichia coli K88+-challenged weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, n. 3, p. 634-643, Mar. 2005.

ZHANG, H. et al. Tryptophan enhances ghrelin expression and secretion associated with increased food intake and weight gain in weanling pigs. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 33, p. 47-61, 2007.

**SEGUNDA PARTE**

**ARTIGO 1** Influência de diferentes relações triptofano:lisina sobre o balanço energético e de nitrogênio em leitões na fase inicial submetidos a um programa vacinal

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi verificar o efeito de diferentes relações triptofano:lisina sobre o balanço energético e de nitrogênio em leitões na fase inicial, submetidos a um programa vacinal. Foram utilizados 30 suínos machos castrados (peso inicial de  $6,54 \pm 1,0$  kg), alojados individualmente em gaiolas de metabolismo. Foi adotado um delineamento em blocos casualizados com cinco relações triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,22; 0,26 e 0,30) para animais vacinados e um tratamento controle, sem vacinação, recebendo dietas com relação triptofano:lisina de 0,18, totalizando seis tratamentos e cinco repetições, sendo os blocos constituídos pelo peso inicial. As vacinas utilizadas foram a M+Pac contra *Mycoplasma hyopneumoniae* e Porcilis<sup>®</sup> APP contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*, seguindo as recomendações dos fabricantes. A relação triptofano:lisina influenciou de forma linear crescente os valores de energia bruta consumida e de energia digestível e metabolizável das rações oferecidas aos animais vacinados. A vacinação não influenciou ( $P>0,05$ ) os valores energéticos das rações. A relação triptofano:lisina influenciou também o balanço de nitrogênio de suínos vacinados. Houve efeito quadrático ( $P<0,05$ ) na excreção de nitrogênio pela urina e nas porcentagens de nitrogênio absorvido e retido e na relação entre o retido e o absorvido. A relação triptofano:lisina, que resultou em maior absorção e retenção de nitrogênio e menor excreção deste elemento na urina foi de 0,20. Não houve efeito ( $P>0,05$ ) das diferentes relações entre os aminoácidos sobre o nitrogênio ingerido e a quantidade de nitrogênio eliminado nas fezes. Comparado ao grupo não vacinado, apenas os animais que receberam dietas contendo relação triptofano:lisina de 0,18 é que apresentaram ( $P<0,05$ ) menor excreção de nitrogênio na urina. A relação 0,30 resultou ( $P<0,05$ ) em menor porcentagem de nitrogênio absorvido pelos animais, também comparado ao controle. Conclui-se que o aumento da relação triptofano:lisina melhora o valor energético das rações, porém, a relação que proporciona melhor balanço proteico para animais vacinados é de 0,20, próxima ao recomendado pelas tabelas brasileiras. A vacinação dos animais não interfere na relação triptofano:lisina exigida por suínos na fase de creche.

Palavras-chave: Desafio imunológico. Metabolismo. Suínos. Vacinação.

### ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effect of different tryptophan: lysine ratio, on the energy balance and nitrogen in piglets in the initial phase, subjected to a vaccination program. A total of 30 barrows (initial weight  $6.54 \pm 1.0$  kg), housed individually in metabolism cages. It was used a randomized block design with five tryptophan:lysine ratio (0.14; 0.18; 0.22; 0.26 and 0.30) for vaccinated animals and a treatment-control, without vaccination, fed diets with 0.18 tryptophan:lysine ratio, with a total of six treatments and five replications, being blocks consisting of the initial weight. The vaccines used were M+Pac against *Mycoplasma hyopneumoniae* and Porcilis<sup>®</sup> APP against *Actinobacillus pleuropneumoniae*, following manufacturer's recommendations. The tryptophan:lysine ratio influenced linearly increasing values of gross energy consumption and digestible and metabolizable energy of feed offered to animals vaccinated. Vaccination did not influence ( $P>0.05$ ) energy values of feed. The tryptophan:lysine ratio also influenced the nitrogen balance of swines vaccinated. There was a quadratic effect ( $P<0.05$ ) in nitrogen excretion by urine and the percentage of nitrogen absorbed and retained and in the ratio between the retained and the absorbed. The tryptophan:lysine ratio resulted in greater absorption and retention of nitrogen and minor excretion of this element in urine was 0.20. There was no effect ( $P>0.05$ ) of the different ratios between the aminoacids on the nitrogen ingested and the amount of nitrogen eliminated in the feces. Compared with the non-vaccinated group, only animals that were fed a diet containing tryptophan:lysine ratio of 0.18 is presented ( $P<0.05$ ) low nitrogen excretion in the urine. The ratio 0.30 resulted ( $P<0.05$ ) in a lower percentage of nitrogen absorbed by animals, also compared to the control. It is concluded that the increase of the tryptophan:lysine ratio improves the energy value of feed, however, the ratio that improves protein balance for vaccinated animals is 0.20, close to the Brazilian's tables recommended. Vaccination of animals does not interfere in the tryptophan:lysine ratio required by swines in the nursery phase.

Keywords: Immunological challenge. Metabolism. Swines. Vaccination.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos suínos em crescimento, o principal destino dos aminoácidos é a síntese de massa muscular (SCHINCKEL; LANGE, 1996). No entanto, de todo nitrogênio que chega ao organismo, parte é destinada à manutenção e parte ao crescimento muscular e outras funções vitais, tais como o sistema imune (MOUGHAN, 1994). Porém, o máximo aproveitamento deste elemento só ocorre em situações de adequado balanço aminoacídico, fundamental para a síntese proteica. Assim, o adequado balanço de aminoácidos na dieta é fundamental para reduzir a excreção de nitrogênio nos dejetos e minimizar o impacto ambiental causado pela suinocultura, além de propiciar o rápido crescimento dos animais.

O triptofano é um aminoácido essencial para suínos, sendo precursor de vários metabólitos importantes, tais como a serotonina, ácido nicotínico e melatonina (JANSMAN, 2001). Na literatura, as recomendações de triptofano total na ração para leitões recém desmamados variam muito, indicando relações triptofano:lisina total de 0,13 a 0,18 (BORG; LIBAL; WAHLSTROM, 1987; BURGOON; KNABE; GREGG, 1992; CHUNG; BAKER, 1992). Han, Chung e Baker (1993) determinaram que a exigência de triptofano total para suínos na fase inicial (10 kg), recebendo ração à base de milho e de farelo de soja com 18% de proteína bruta é de 0,16% da dieta, em uma relação triptofano:lisina total de 0,17.

A imunoprofilaxia, a partir da vacinação dos animais permite o controle eficiente de muitas enfermidades. As vacinas, por sua vez têm como objetivo promover uma ativação do sistema imune de forma controlada, porém intensa e rápida, para que os animais que receberam as doses vacinais estejam imunes aos agentes causadores das doenças. Esta ativação do sistema imune, por sua vez,

pode provocar alterações no metabolismo dos mesmos. Como consequência, o desempenho zootécnico é geralmente deprimido.

Com relação à função metabólica do triptofano, deve-se considerar este aminoácido como um dos principais intermediários utilizados pelo sistema imune. O desafio imunológico, por si só, com ou sem alteração do estado de saúde dos animais, pode resultar em diminuição da quantidade de ração consumida, com efeitos negativos sobre a taxa de crescimento e deposição de proteína na carcaça. Além da redução do consumo, de acordo com Nogueira et al. (2001), a ativação do sistema imune desvia para si os nutrientes que seriam destinados para o crescimento e manutenção, reduzindo o ganho de peso e aumentando a excreção de nitrogênio no ambiente em função do menor aproveitamento de muitos aminoácidos.

Dessa forma, adequar o balanço aminoacídico pode ser mais uma técnica para aperfeiçoar os modelos de produção, garantindo melhor desempenho e uma resposta imune adequada. Sabe-se que a composição em aminoácidos difere entre as proteínas teciduais, podendo, neste caso, ocorrer diversas interações entre as exigências nutricionais, principalmente em relação aos aminoácidos, onde alguns podem ter suas exigências alteradas em função do tecido envolvido (MACHADO; FONTES, 2005).

Neste sentido, o trabalho foi realizado para verificar o efeito de diferentes relações triptofano:lisina sobre o balanço de nitrogênio e balanço energético de leitões na fase inicial, desafiados ou não imunologicamente através da utilização de vacinas.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nas instalações de metabolismo do Centro Experimental de Suínos (CES), do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras, no período de junho a julho de 2011, no município de Lavras, MG, região sul do Estado de Minas Gerais.

Foram utilizados 30 suínos machos castrados, em fase inicial, de linhagem selecionada, para alto desempenho e oriundos de uma granja situada na cidade de Juiz de Fora – MG, distante 240 Km da cidade de Lavras. A granja era considerada de excelente estado sanitário. O peso inicial foi de  $6,54 \pm 0,35$  kg.

Foi utilizado um delineamento em blocos casualizados com cinco relações triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,22; 0,26 e 0,30) para animais vacinados e um tratamento controle, sem vacinação, recebendo dietas com relação triptofano:lisina de 0,18, totalizando seis tratamentos e cinco repetições, sendo os blocos constituídos pelo peso inicial. A parcela experimental foi representada por um animal.

Inicialmente, os animais foram alojados individualmente em galpão de creche em baias suspensas (1,20 x 1,14m) durante 7 dias, onde receberam as dietas experimentais. Posteriormente, foram transferidos para sala de metabolismo onde permaneceram durante 11 dias em gaiolas metabólicas, sendo 7 dias para a adaptação dos animais as gaiolas e dietas experimentais e 4 dias para coleta separada de fezes e urina. O período experimental total foi de 18 dias. A temperatura da sala de metabolismo foi controlada em torno de  $23,0 \pm 1$  °C.

Previamente à entrada dos animais, todas as instalações foram limpas e desinfetadas e permaneceram vazias durante 30 dias. A desinfecção foi realizada através da lavagem de todos os pisos removíveis, grades, cochos, aquecedores e

bebedouros com detergente específico e, após a secagem, foi realizada aplicação do desinfetante comercial Virkon®S<sup>1</sup>.

As vacinas utilizadas foram a M+Pac<sup>2</sup> e Porcilis® APP<sup>3</sup>, seguindo as recomendações dos fabricantes. As doses das vacinas foram aplicadas via intramuscular na região do pescoço no 1º e 14º dias experimentais. O grupo controle recebeu injeção do mesmo volume, porém de uma solução fisiológica não glicosada, nas mesmas datas.

As dietas experimentais foram isocalóricas e isonutritivas, com exceção do triptofano, formuladas à base de milho e farelo de soja e suplementadas com vitaminas e minerais, de forma a atender as exigências nutricionais de leitões em fase inicial segundo as recomendações da empresa de genética (Tabela 1).

Os animais foram pesados no início do experimento e na transferência para a sala de metabolismo. As rações foram fornecidas às 7h e 17 h, sendo a quantidade total diária estabelecida com base no peso metabólico (PV<sup>0,75</sup>). A quantidade de ração foi ajustada pelo consumo do animal de menor ingestão, observado durante o período de adaptação (sete dias), permitindo a todos os animais o consumo de quantidades iguais de nutrientes em relação ao peso metabólico. A ração foi umedecida com água na proporção de 2:1 (água:ração). Após o consumo, todos receberam água à vontade. O óxido de cromo (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) foi utilizado como indicador de digestibilidade fecal, sendo adicionado à ração (0,25%) seguindo a metodologia descrita por Sakomura e Rostagno (2007).

Após o período de adaptação de 7 dias, as fezes foram coletadas diariamente no período da tarde durante quatro dias e armazenadas em

---

<sup>1</sup> Produto a base de compostos peroxigênicos, surfactante, ácidos orgânicos e inorgânicos

<sup>2</sup> Produto contendo *Mycoplasma hyopneumoniae* inativado (0,25 ml/dose de 1,0 ml) com adjuvante à base de óleo mineral, hidróxido de alumínio e conservantes.

<sup>3</sup> Produto contendo, pelo menos, 50 unidades de proteína da membrana externa (OMP), 50 unidades de ApxI, 25 a 78 de ApxII e 50 de ApxIII provenientes de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, suspensos em adjuvante aquoso.

congelador a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ao final do experimento, foram descongeladas em temperatura ambiente e homogeneizadas. Amostras de aproximadamente 100g foram retiradas e secas em estufa de ventilação forçada a  $55\text{ }^{\circ}\text{C}$  para a determinação da matéria pré-seca. Neste momento, foram retirados materiais estranhos como pelos e moídas para a realização das análises laboratoriais.

A urina foi coletada diariamente em baldes plásticos com filtro, contendo 20 ml de ácido clorídrico (HCl) 1:1. Do total coletado de cada animal, foi adicionada água destilada, padronizando o volume coletado para todos os animais. Desse total diário, uma alíquota de 10% do volume padronizado foi retirada e congelada a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para posterior análises laboratoriais.

Tabela 1 Composição percentual e bromatológica das rações experimentais

Ingredientes	Relação Triptofano:Lisina				
	0,14	0,18	0,22	0,26	0,30
Milho	40,13	40,13	40,13	40,13	40,13
Milho Pré Cozido	10,50	10,50	10,50	10,50	10,50
Farelo Soja	13,14	13,14	13,14	13,14	13,14
Soja Micronizada	10,01	10,01	10,01	10,01	10,01
Leite em pó integral	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
Açúcar	2,00	2,00	2,00	2,00	2,00
Nuklospray K51 <sup>4</sup>	6,00	6,00	6,00	6,00	6,00
Fosfato Bicálcico	1,51	1,51	1,51	1,51	1,51
Calcário	0,79	0,79	0,79	0,79	0,79
Sal	0,47	0,47	0,47	0,47	0,47
Premix Mineral <sup>2</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Premix Vitamínico <sup>1</sup>	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
DL-Metionina 98%	0,11	0,11	0,11	0,11	0,11
L-Lisina 78%	0,53	0,53	0,53	0,53	0,53
L-Triptofano 99%	0,000	0,052	0,106	0,160	0,215
L-Treonina 98%	0,22	0,22	0,22	0,22	0,22
Colistina 8%	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13
Oxido de Zinco 72%	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Caulim <sup>3</sup>	4,00	3,95	3,89	3,84	3,78

“continua”

Tabela 1 “conclusão”

Ingredientes	Relação Triptofano:Lisina				
	0,14	0,18	0,22	0,26	0,30
	<b>Valores Calculados</b>				
EM (kcal/kg)	3430	3430	3430	3430	3430
Proteína Bruta (%)	17,0	17,0	17,0	17,0	17,0
Lisina digestível (%)	1,33	1,33	1,33	1,33	1,33
Metionina digestível (%)	0,37	0,37	0,37	0,37	0,37
Treonina digestível (%)	0,84	0,84	0,84	0,84	0,84
Triptofano digestível (%)	0,189	0,239	0,292	0,345	0,399
Cálcio (%)	0,82	0,82	0,82	0,82	0,82
Fósforo disponível (%)	0,45	0,45	0,45	0,45	0,45
Sódio (%)	0,23	0,23	0,23	0,23	0,23

<sup>1</sup> Suplemento vitamínico contendo por kg do produto: 8.000.000 UI de Vitamina A; 1.200.000 UI de vitamina D<sub>3</sub>; 20.000 mg de vitamina E; 2.500 mg de vitamina K<sub>3</sub>; 1.000 mg de vitamina B<sub>1</sub>; 4.000 mg de Riboflavina (B<sub>2</sub>); 2.000 mg Piridoxina (B<sub>6</sub>); 20.000 mcg de vitamina B<sub>12</sub>; 25.000 mg de Niacina; 10.000 mg de Ácido Pantotênico; 600 mg de Ácido Fólico; 50 mg de Biotina; 50.000 mg de vitamina C; 125 mg de Antioxidante.

<sup>2</sup> Suplemento Mineral contendo, por Kg do produto: 500 mg de Selênio; 70.000 mg de Ferro; 20.000 mg de Cobre; 40.000 mg de Manganês; 80.000 mg de Zinco; 800 mg de Iodo; 500 mg de Cobalto.

<sup>3</sup> Material inerte, composto por silicatos hidratados de alumínio.

<sup>4</sup> Produto comercial com 38,5% de lactose.

O teor de nitrogênio das fezes e urina foi realizado pelo método Kjeldhal, seguindo a metodologia descrita por Silva e Queiroz (2002). A energia foi realizada em bomba calorimétrica adiabática (1261 *Automatic Isoperibol Bomb Calorimeter – Parr Instrument Company*).

Foram analisados o nitrogênio ingerido, nitrogênio nas fezes, nitrogênio na urina, a porcentagem de nitrogênio absorvido e retido e a relação retido:absorvido, a energia digestível e a energia metabolizável das rações.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias das diferentes relações triptofano:lisina submetidas à análise de regressão. O teste Dunnett a 5% foi utilizado para comparar o controle com os demais tratamentos. Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o pacote estatístico SISVAR, descrito por Ferreira (2008).

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A relação triptofano:lisina influenciou a energia bruta consumida e o valor energético das rações oferecidas aos animais vacinados (Tabela 2). Houve efeito linear ( $P < 0,05$ ) na energia bruta consumida e na energia digestível e metabolizável, sendo a equação da reta determinada por  $y = 1179,9x + 3073,8$  com  $R^2 = 0,6143$ ;  $y = 1247,1x + 3015,1$  com  $R^2 = 0,6686$  e  $y = 1190x + 2924,9$  com  $R^2 = 0,7256$ , respectivamente. Não houve diferença entre os animais vacinados e o controle.

Tabela 2 Balanço energético e de nitrogênio de suínos na fase inicial recebendo rações com diferentes relações triptofano:lisina submetidos a um programa de vacinação

	Controle <sup>1</sup>	Relação Triptofano:Lisina (Vacinados)					CV(%)
		0,14	0,18	0,22	0,26	0,30	
EB consumida <sup>2</sup>	3421	3297	3221	3284	3443	3422	3,27
EB fezes	48	52	43	42	47	36	14,37
ED <sup>2</sup>	3374	3245	3178	3242	3396	3385	3,30
EB urina	95	105	75	115	127	91	9,50
EM <sup>2</sup>	3279	3140	3103	3127	3269	3295	3,25
N ingerido (g/d)	7,35	6,86	6,92	7,2	6,75	6,68	4,3
N fezes (g/d)	2,08	2,12	2,07	2,05	2,2	2,23	5,96
N urina (g/d) <sup>3</sup>	1,71	1,78	1,27*	1,62	1,74	1,92	12,77
N Abs (%) <sup>3</sup>	71,53	69,09	70,07	71,56	67,32	66,43*	2,81
N Ret (%) <sup>3</sup>	48,61	43,3	51,68	49	41,48	37,66	12,95
N Ret/Abs (%) <sup>3</sup>	68,22	62,69	73,72	68,46	61,47	56,54	12,12

<sup>1</sup> Animais não vacinados, recebendo dieta com relação triptofano:lisina de 0,18

<sup>2</sup> Efeito linear significativo ( $P < 0,05$ )

<sup>3</sup> Efeito quadrático significativo ( $P < 0,05$ )

\* Difere do tratamento controle pelo teste de Dunnett

Kerr e Easter (1995), trabalhando com animais em crescimento, mostraram que a retenção de energia aumentou em animais que receberam dietas

suplementadas com aminoácidos. Neste trabalho, os autores trabalharam também com redução de proteína bruta de 16 para 12%.

Com relação à ativação do sistema imune, não há muitos estudos demonstrando o custo energético desta ativação. Moon et al. (1999) mostraram que leitões recém-desmamados, quando desafiados com um adjuvante completo de *freund* de *Mycobacterium butyricum* não sofrem alterações do metabolismo energético e desempenho, apesar dos animais mostrarem diferença sobre a resposta imunológica, quando comparados ao grupo controle.

Pereira et al. (2011) demonstraram que a ativação do sistema imune por meio de vacinação influencia negativamente o desempenho de leitões no pós-desmame, apenas na semana subsequente a segunda dose da vacina. Os mesmos citam que não há interação entre os níveis de energia metabolizável das dietas com a ativação do sistema imune.

Segundo Gentry et al. (1997), a metabolizabilidade de energia não foi afetada pela imunização de leitões recém-desmamados. O *status* de imunização contra um toxoide tetânico teve muito pouco efeito sobre o metabolismo energético e a produção de calor. Estes resultados corroboram com o presente experimento que não apresentou diferença entre o tratamento controle e os animais vacinados recebendo diferentes relações triptofano:lisina.

A relação triptofano:lisina também influenciou o balanço de nitrogênio de suínos na fase inicial vacinados. Houve efeito quadrático ( $P < 0,05$ ) na excreção de nitrogênio pela urina e nas porcentagens de nitrogênio absorvido, retido e a relação entre o retido e o absorvido (Tabela 2). A relação triptofano:lisina que resultou em maior absorção e retenção de nitrogênio e, conseqüentemente, menor excreção deste elemento na urina foi de 0,20 (Figura 2). Não houve efeito ( $P > 0,05$ ) das diferentes relações entre os aminoácidos sobre o nitrogênio ingerido e a quantidade de nitrogênio eliminado nas fezes.

Comparado ao grupo controle, apenas os animais que receberam dietas contendo relação triptofano:lisina de 0,18 é que apresentaram menor excreção de nitrogênio ( $P<0,05$ ). Embora não tenha sido observado efeito na porcentagem de nitrogênio retido ( $P>0,05$ ), este resultado sugere que a vacina melhorou o aproveitamento deste elemento, já que não houve diferença ( $P>0,05$ ) no nitrogênio ingerido e excretado nas fezes. Além disso, supõe-se que a relação 0,18 triptofano:lisina recomendada pelas tabelas brasileiras está adequada, até mesmo para animais vacinados, já que está próxima de 0,20 obtida pela equação de regressão. Ainda comparado ao controle, a relação 0,30 triptofano:lisina resultou ( $P<0,05$ ) em menor porcentagem de nitrogênio absorvido pelos animais, sugerindo um desbalanço aminoacídico nesta relação utilizada.

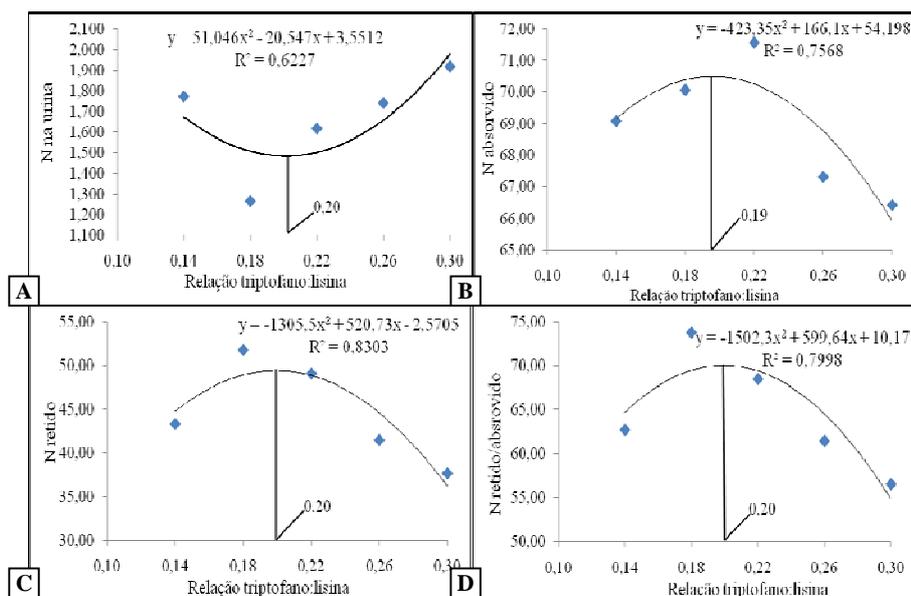


Figura 2 Nitrogênio excretado na urina em gramas por dia (A), porcentagens de nitrogênio absorvido (B), nitrogênio retido (C) e nitrogênio retido em relação ao absorvido (D) de leitões em fase inicial, submetidos à ativação do sistema imune através de vacinação, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano: lisina digestível

Em estudos com humanos, Kurpad et al. (1999) observaram aumento de 6% na excreção de nitrogênio seis horas após a vacinação, efeito oposto ao encontrado no presente trabalho. É importante salientar que o balanço de nitrogênio, neste caso, foi avaliado após a segunda dose da vacina, durante quatro dias consecutivos, podendo haver, neste tempo, retenção compensatória, o que poderia justificar as diferenças nos resultados. Cayol et al. (1995), por sua vez, observaram, também em humanos, aumento de 25% na síntese proteica logo após a vacinação, porém um aumento de 15% na degradação de proteína dois dias após. Segundo os autores, este aumento inicial na síntese proteica está relacionado à síntese de albumina pelo fígado e de proteínas pelos linfócitos, não estando correlacionada à síntese de proteína muscular.

A vacinação pode influenciar a excreção de N, mas esta variação ocorre de acordo com o sistema imune de cada animal, a imunogenicidade da vacina, entre outros fatores. Uma maior excreção de N significa perda de eficiência no metabolismo animal, crescimento muscular e aumento da capacidade poluente dos dejetos produzidos.

O acréscimo de proteína corporal é tido como o saldo líquido entre a síntese proteica e a degradação de proteína. Em animais em crescimento, o aumento da deposição de proteína é normalmente alcançado pelo aumento na taxa de síntese de proteína com pouca ou nenhuma alteração na taxa de degradação proteica. Neste sentido, citocinas inflamatórias têm a capacidade de influenciar tanto a síntese de proteína quanto a degradação, ao mesmo tempo no organismo (LING; SCHWARTZ; BISTRAN, 1997). Segundo os autores, no músculo, as citocinas inflamatórias reduzem a síntese de proteína e aumentam a degradação de proteína. No fígado, no entanto, em situação de estresse imunológico ocorre aumento acentuado da síntese proteica, especialmente de proteínas de fase aguda. No caso do presente trabalho, o fato de os animais estarem no estágio inicial do desenvolvimento, onde a síntese proteica muscular

é intensa, este aumento do catabolismo não pode ser detectado nos quatro dias após a segunda dose da vacina. Além disso, este catabolismo mencionado na literatura pode ter sido mascarado pelo provável ganho compensatório após a aplicação da primeira ou da segunda dose da vacina.

Em trabalho conduzido por Webel et al. (1997), suínos desafiados com LPS tiveram um aumento significativo na circulação das citocinas interleucina-6 e Fator de Necrose Tumoral –  $\alpha$ . Este fato ocorreu antes do aumento em cerca de três vezes o nitrogênio da ureia plasmática. No entanto, como os animais estavam mantidos em jejum, este aumento do nitrogênio da ureia foi interpretado como sendo um aumento na degradação da proteína muscular, potencializado, provavelmente, pela presença dos mediadores do sistema imune.

Além das citocinas, as proteínas de fase aguda produzidas durante uma resposta imune também desfavorecem o balanço de nitrogênio. Barker (1987) demonstrou que as composições em aminoácidos das proteínas de fase aguda diferem das proteínas musculares. Este fato pode levar a um desequilíbrio aminoacídico interno. Como resultado, cerca de 2,0 g de proteína muscular deve ser catabolizada para garantir a síntese de aproximadamente 1,0 g de proteína de fase aguda. Em razão disso, é importante que animais que passam por um processo de ativação do sistema imune tenham maior absorção e retenção de proteína de uma adequada relação aminoacídica, para que não haja uma significativa perda de proteína muscular.

As alterações no catabolismo muscular e anabolismo hepático, decorrentes da ativação do sistema imune estão relacionados com o metabolismo das proteínas que, por sua vez, varia de acordo com o tecido envolvido, com a intensidade de ativação do sistema imune, com as condições fisiológicas do animal (fase do crescimento, por exemplo) e fatores externos como o estresse. Loughmiller et al. (1999), trabalhando com suínos de 29 kg de peso vivo e desafiados com *A. Pleuropneumonia*, mostraram que o metabolismo das

proteínas é afetado negativamente pela ativação imune, resultando em menor retenção de nitrogênio. Da mesma forma, Williams, Stahly e Zimmerman (1997) demonstraram que leitões com ativação crônica do sistema imune tiveram menor retenção deste elemento.

Com relação à eficiência com que os animais retêm o nitrogênio, avaliada pela relação nitrogênio retido:absorvido, sabe-se que, em suínos alimentados com um número reduzido de refeições por dia, os aminoácidos industriais são mais rapidamente absorvidos, porém utilizados de forma menos eficiente do que aminoácidos anteriormente ligados às proteínas (BATTERHAM, 1979; WILLIAMS; DUNKIN, 1980). No caso do triptofano, se absorvido muito rapidamente, o mesmo pode ser catabolizado de forma mais intensa no fígado, como sugerido para a lisina (BATTERHAM; BAYLEY, 1989). Isso poderia explicar o fato de os animais que receberam maior suplementação de triptofano na dieta apresentarem menor retenção de nitrogênio e menor relação retido/absorvido. Além disso, a própria relação aminoacídica pode ter influenciado estes resultados.

Por outro lado, Sawadogo et al. (1997) trabalhando com suínos de 4 kg de peso vivo, observaram que o ganho diário de proteína aumentou linearmente com o aumento do triptofano na ração. A partir da dieta basal (0,14% de triptofano) ao mais alto nível de triptofano (0,26%), o ganho diário de proteína aumentou 43% e a porcentagem de proteína no ganho de peso diário aumentou 24%. Este resultado sugere a importância do triptofano como aminoácido limitante. No caso do presente estudo, a obtenção do nível ótimo de triptofano para retenção de nitrogênio sugere que este aminoácido não foi limitante nas relações mais elevadas com a lisina. Pastuszewska et al. (2007), trabalhando com leitões, também mostraram que a retenção diária de nitrogênio foi aumentada nas duas dietas suplementadas com triptofano (3,0 e 3,83 g/dia versus 1,36 e 0,73 g/dia em comparação com duas dietas não suplementadas).

Os autores também observaram tendência semelhante para a utilização de nitrogênio absorvido (Nret/Nabs).

Com relação a animais que tiveram o sistema imune ativado, Li et al. (2007) mostraram que a exigência da relação triptofano:lisina aumenta de 0,21 para 0,29 em leitões de 10 kg desafiados com lipopolissacarídeo de *E. coli*. No presente estudo, observou-se que a relação triptofano:lisina deve ser aumentada na dieta de 0,18 para 0,20 para obtenção de melhores resultados em animais submetidos a um programa de vacinação.

Um organismo previamente saudável responde à infecção mediada principalmente por citocinas, com alterações que podem ocorrer proporcionalmente à altura do desafio infeccioso e risco de morte. Por ser uma ocorrência generalizada, essas alterações metabólicas podem ser um meio de sobrevivência (POWANDA; BEISEL, 2003). Neste sentido, Gabler e Spurlock (2008) citam que a perda de estímulos anabólicos, juntamente com a mobilização e o reparticionamento de energia e aminoácidos de tecido adiposo e músculo esquelético resultam em uma diminuição do crescimento em favor de funções imunológicas de maior prioridade.

É importante ressaltar que há na literatura poucos trabalhos mostrando o balanço proteico e energético de animais desafiados imunologicamente recebendo diferentes relações triptofano:lisina. As diversidades encontradas nos resultados deste experimento e da literatura podem estar relacionadas a diversos fatores como as linhagens dos animais utilizados nos experimentos, idade, modelo de desafio utilizado e outras variáveis ambientais, sendo necessários mais estudos para determinar a resposta de animais desafiados com relação à utilização do triptofano.

#### **4 CONCLUSÃO**

O aumento da relação triptofano:lisina melhora o valor energético das rações, porém, a relação que proporciona melhor balanço proteico para animais vacinados é de 0,20, próxima ao recomendado pelas tabelas brasileiras. A vacinação dos animais não interfere na relação triptofano:lisina exigida por suínos na fase de creche.

## REFERÊNCIAS

- BARKER, W. C. Primary sequence of plasma proteins. In: PUTMAN, F.W. (Ed.). **The plasma proteins**. New York: Academic, 1987. v. 5, p. 365-402.
- BATTERHAM, E. S. Amino acid availability in pig diets with special reference to natural proteins and synthetic amino acids. In: HARESIGN, W.; Lewis, D. (Ed.). **Recent advances in animal nutrition**. London: Butterworths, 1979. p. 11-22.
- BATTERHAM, E. S.; BAYLEY, H. S. Effect of frequency of feeding of diets containing free or protein-bound lysine on the oxidation of [14C] lysine or phenylalanine by growing pigs. **British Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 62, p. 647, 1989.
- BORG, B. S.; LIBAL, G. W.; WAHLSTROM, R. C. Tryptophan and threonine requirements of young pigs and their effects on serum calcium, phosphorus and zinc concentrations. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 64, p. 1070-1078, 1987.
- BURGOON, K. G.; KNABE, D. A.; GREGG, E. J. Digestible tryptophan requirement of starting, growing and finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, p. 2493-2500, 1992.
- CAYOL, M. et al. Whole-body protein turnover and hepatic protein synthesis are increased by vaccination in man. **Clinical Science**, London, v. 89, p. 389-396, 1995.
- CHUNG, T. K.; BAKER, D. H. Ideal aminoacid pattern for 10 kilogram pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 10, p. 3102-3111, 1992.
- FERREIRA, D. F. SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística. **Revista Symposium**, Lavras, v. 6, p. 36-41, 2008.
- GABLER, N. K.; SPURLOCK, M. E. Integrating the immune system with the regulation of growth and efficiency. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 86, p. 64-74, 2008.
- GENTRY, J. L. et al. Effect of hemoglobin and immunization status on energy metabolism of weanling pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1032-1040, 1997.

HAN, Y.; CHUNG, T. K.; BAKER, D. H. Tryptophan requirement of pigs in the weight category 10 to 20 kilograms. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 139-143, 1993.

JANSMAN, A. J. M. Necesidades y utilización del triptófano en animales monogástricos. **ID TNO Animal Nutrition**, The Netherlands, 2001. Disponível em: < [http://www.wpsa-aeca.es/aeca\\_imgs\\_docs/25\\_09\\_49\\_00CAP2%5B1%5D.pdf](http://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/25_09_49_00CAP2%5B1%5D.pdf)>. Acesso em: 23 set. 2011.

KERR, B. J.; EASTER, R. A. Effect of feeding reduced protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen and energy balance in grower pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 73, p. 3000-3008, 1995.

KURPAD, A. V. et al. A minimally invasive tracer protocol is effective for assessing the response of leucine kinetics and oxidation to vaccination in chronically energy-deficient adult males and children. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, p. 1537-1544, 1999.

LI, P. et al. Amino acids and immune function. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 98, n. 2, p. 237-252, Aug. 2007.

LING, P. R.; SCHWARTZ, J. H.; BISTRIAN, B. R. Mechanisms of host wasting induced by administration of cytokines in rats. **The American Journal of Physiology**, Baltimore, v. 272, p. 333-339, 1997.

LOUGHMILLER, J. A. et al. Effect of a respiratory disease challenge on nitrogen retention, IGF-I, organ weight and carcass characteristics in growing pigs. In: SWINE DAY, 1., 1999, Manhattan. **Paper...** Manhattan: [s. n.], 1999. p. 23-32

MACHADO, G. S.; FONTES, D. O. Interações entre sanidade, ativação imunológica, produção e nutrição de suínos: uma nova abordagem. In: SIMPÓSIO MINEIRO DE SUINOCULTURA, 1., 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2005. p. 130-148.

MOON, H. K. et al. Effects of chronic inflammation on energy metabolism and growth performance in weanling piglets. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 12 p. 174-179, 1999.

MOUGHAN, P. J. Modelling amino acid absorption and metabolism in the growing pigs. In: D'MELLO, J. P. F. **Amino acids in farm animal nutrition**. Wallingford: CAB International, 1994. p. 133-154.

NOGUEIRA, E. T. et al. Manejo nutricional e alimentação nas fases de recria e terminação de suínos. In: ENCONTRO TÉCNICO ABRAVES, 1., 2001, Concórdia. 2001. **Memórias...** Concórdia: Embrapa suínos e aves, 2001. p. 35-54.

PASTUSZEWSKA, B. et al. Effects of supplementing pig diets with tryptophan and acidifier on protein digestion and deposition, and on brain serotonin concentration in young pigs. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 132, p. 49–65, 2007.

PEREIRA, L. M. et al. Metabolizable energy for piglets in the nursery phase submitted at activation of immune system **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 8, p. 1732-1737, 2011

POWANDA, M. C.; BEISEL, W. R. Metabolic Effects of Infection on Protein and Energy Status. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 133, p. 322-327, 2003.

SAKOMURA, N. K.; ROSTAGNO, H. S. **Métodos de pesquisa em nutrição de monogástricos**. Jaboticabal: Funep, 2007. 283 p.

SAWADOGO, M. L. et al. Marginal efficiency of free or protected crystalline L-tryptophan for tryptophan and protein accretion in early-weaned pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1561-1568, 1997.

SCHINCKEL, A. P.; LANGE, C. F. M. Characterization of growth parameters needed as inputs for pig growth modes. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 74, n. 8, p. 2021-2036, 1996.

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. **Determinação do nitrogênio total e da proteína bruta**: análise de alimentos: métodos químicos e biológicos. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2002. p. 57-75. 2002

WEBEL, D. M. et al. Time course of increased plasma cytokines , cortisol and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 1514-1520, 1997.

WILLIAMS, K. C.; DUNKIN, A. C. Utilization of synthetic lysine by the growing pig. **Proceedings of the Australian Society of Animal Production**, Armidaile, v. 13, p. 149, 1980.

WILLIAMS, N. H.; STAHLY, T. S.; ZIMMERMAN, D. R. Effect of chronic immune system activation on body nitrogen retention, partial efficiency of lysine utilization and lysine needs of pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 75, p. 2472-2480, 1997.

**ANEXOS**

**ANEXO A**

Tabela 1A	Análise de variância para quantidade de N consumido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal. ....	65
Tabela 2A	Análise de variância para quantidade de N excretado na urina, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal. ....	65
Tabela 3A	Análise de variância para quantidade de N excretado nas fezes, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal.....	65
Tabela 4A	Análise de variância para porcentagem de N absorvido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal. ....	66
Tabela 5A	Análise de variância para porcentagem de N retido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal. ....	66
Tabela 6A	Análise de variância para porcentagem de N retido em relação ao absorvido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal.....	67

Tabela 7A	Análise de variância para quantidade de Energia Bruta consumida, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal.....	67
Tabela 8A	Análise de variância (opção transformação raiz quadrada) para quantidade de Energia Bruta das fezes de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal. ....	68
Tabela 9A	Análise de variância para Energia Digestível das rações fornecidas a leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal.....	68
Tabela 10A	Análise de variância (opção transformação raiz quadrada) para quantidade de Energia Bruta da urina de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal. ....	68
Tabela 11A	Análise de variância para Energia Metabolizável das rações fornecidas a leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal.....	69

Tabela 1A Análise de variância para quantidade de N consumido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	1.728057	0.345611	3.863	0.1165
BLOCO	4	4.843679	1.210920	13.533	0.0000
erro	20	1.789561	0.089478		
Total corrigido	29	8.361297			
CV (%)=	4.30				
Média geral:	6.9603333			Número de observações:	30

TABELA 2A Análise de variância para quantidade de N excretado na urina, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	0.191440	0.038288	1.431	0.0007
Linear	1	0.294912	0.294912	8.265	0.011
Quadrática	1	0.464143	0.464143	13.007	0.002
Cúbica	1	0.324818	0.324818	9.103	0.008
BLOCO	4	0.228929	0.057232	2.138	0.1136
erro	17	0.535285	0.026764		
Total corrigido	29	0.955655			
CV (%)=	12.77				
Média geral:	1.2812018			Número de observações:	30

Tabela 3 A Análise de variância para quantidade de N excretado nas fezes, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	0.141217	0.028243	1.764	0.1662
BLOCO	4	0.114738	0.028684	1.792	0.1701
erro	20	0.320182	0.016009		
Total corrigido	29	0.576137			
CV (%)=	5.96				
Média geral:	2.1243333			Número de observações:	30

Tabela 4A Análise de variância para porcentagem de N absorvido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	114.318937	22.863787	6.011	0.0015
Linear	1	32.562450	32.562450	9.592	0.007
Quadrática	1	32.110116	32.110116	9.458	0.007
Cúbica	1	4.004450	4.004450	1.180	0.294
BLOCO	4	25.035175	6.258794	1.645	0.2021
erro	17	76.076985	3.803849		
Total corrigido	29	215.431097			
CV (%)=	2.81				
Média geral:	69.3336667		Número de observações:	30	

Tabela 5A Análise de variância para porcentagem de N retido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	712.036360	142.40727	4.142	0.0096
Linear	1	230.652242	230.65224	13.969	0.002
Quadrática	1	305.390916	305.39091	18.496	0.001
Cúbica	1	109.312898	109.31289	6.621	0.020
BLOCO	4	152.8431	38.210775	1.111	0.3788
erro	17	687.664140	34.383207		
Total corrigido	29	1552.543600			
CV (%)=	12.95				
Média geral:	45.2900000		Número de observações:	30	

Tabela 6A Análise de variância para porcentagem de N retido em relação ao absorvido, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	937.375067	187.475013	3.004	0.0350
Linear	1	301.0567	301.05672	12.631	0.003
Quadrática	1	404.400893	404.400892	16.966	0.001
Cúbica	1	168.471368	168.471363	7.068	0.017
BLOCO	4	357.706334	89.426583	1.433	0.2597
erro	17	1248.200546	62.410027		
Total corrigido	29	2543.281947			
CV (%)=	12.12				
Média geral:	65.1813333			Número de observações:	30

Tabela 7A Análise de variância para quantidade de Energia Bruta consumida, de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	213782.566667	42756.513333	3.570	0.0181
Linear	1	111675.380000	111675.380000	9.077	0.008
Quadrática	1	15126.300000	15126.300000	1.230	0.284
Cúbica	1	50944.320000	50944.320000	4.141	0.059
BLOCO	4	1052753.052381	263188.263095	21.97	0.0000
erro	17	239517.347619	11975.867381		
Total corrigido	29	1506052.966667			
CV (%)=	3.27				
Média geral:	3347.9666667			Número de observações:	30

Tabela 8 A Análise de variância (opção transformação raiz quadrada) para quantidade de Energia Bruta das fezes de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	22.023134	4.404627	2.150	0.1010
BLOCO	4	2.139374	0.534843	0.261	0.8994
erro	20	40.964544	2.048227		
Total corrigido	29	65.127052			
CV (%)=	14.37				
Média geral:	9.9597071				Número de observações: 30

Tabela 9A Análise de variância para Energia Digestível das rações fornecidas a leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	215553.891457	43110.778291	3.631	0.1165
Linear	1	124500.500000	124500.500000	10.460	0.005
Quadrática	1	14659.55714	14659.557143	1.232	0.283
Cúbica	1	43808.000000	43808.000000	3.681	0.073
BLOCO	4	1050516.716917	262629.179229	22.122	0.0000
erro	17	237441.414923	11872.070746		
Total corrigido	29	1503512.023297			
CV (%)=	3.30				
Média geral:	3303.4496667				Número de observações: 30

Tabela 10A Análise de variância (opção transformação raiz quadrada) para quantidade de Energia Bruta da urina de leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	22.023134	4.404627	2.150	0.1010
BLOCO	4	2.139374	0.534843	0.261	0.8994
erro	20	40.964544	2.048227		
Total corrigido	29	65.127052			
CV (%)=	14.37				
Média geral:	9.9597071				Número de observações: 30

Tabela 11A Análise de variância para Energia Metabolizável das rações fornecidas a leitões em fase inicial, recebendo dietas com diferentes relações de triptofano:lisina (0,14; 0,18; 0,20; 0,22 e 0,30) e submetidos a um programa vacinal

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
TRATAMENTO	5	191460.070587	38292.014117	3.553	0.0184
Linear	1	113383.220000	113383.22000	10.37	0.005
			0	8	
Quadrática	1	21228.014286	21228.014286	1.943	0.182
Cúbica	1	15558.480000	15558.480000	1.424	0.250
BLOCO	4	1001695.498441	250423.87461	23.23	0.0000
			0	9	
erro	17	215521.700319	10776.085016		
Total corrigido	29	1408677.269347			
CV (%)=	3.24				
Média geral:	3202.0886667		Número de observações:		30