

P 30524

11 129333

EUSTÁQUIO RESENDE BITTAR

**ESTUDOS METABÓLICOS EM FRANGOS DE CORTE COM SÍNDROME
ASCÍTICA: ASPECTOS BIOQUÍMICOS E ULTRAESTRUTURAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição Animal, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador
Prof. Custódio Donizete dos Santos



LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1997

Ficha Catalográfica preparada pela Seção de Classificação e Catalogação da
Biblioteca Central da UFLA

Bittar, Eustáquio Resende

Estudos metabólicos em frangos de corte com síndrome ascítica: aspectos bioquímicos e ultraestruturais / Eustáquio Resende Bittar. -- Lavras : UFLA, 1997.

45p. : il.

Orientadora: Custódio Donizete dos Santos.

Dissertação (Mestrado) - UFLA.

Bibliografia.

1. Frango de corte - Doença - Ascite.
desidrogenase.

nato

4. Miocárdio. 5. Ultraestrutura. 6. Insuficiência ventricular direita.

I. Universidade Federal de Lavras. II. Título

CDD-636.513

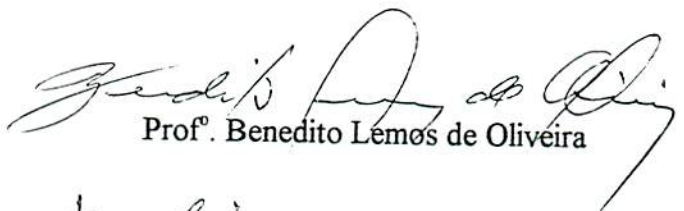
EUSTÁQUIO RESENDE BITTAR

**ESTUDOS METABÓLICOS EM FRANGOS DE CORTE COM SÍNDROME
ASCÍTICA: ASPECTOS BIOQUÍMICOS E ULTRAESTRUTURAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Curso de Mestrado em Zootecnia, área de concentração em Nutrição Animal, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA EM 29 / 08 / 1997


Prof. Antônio Gilberto Bertechini


Prof. Benedito Lemos de Oliveira


Prof. Nilson Penha Silva


Prof. Custódio Donizete dos Santos

Orientador

“A imaginação é mais importante que o saber”

Albert Einstein

DEDICATÓRIA

**Aos meus pais e aos meus irmãos, pelo apoio e incentivo.
A vocês dedico.**

**A Joely, por fazer parte da minha vida, incentivar-me na busca de novas conquistas com
compreensão e amor. Ofereço.**

AGRADECIMENTOS

A Deus por sempre me proporcionar muito mais do que mereço.

Ao professor Custódio Donizete dos Santos, pela confiança, orientação e ensinamentos.

“O que caminha à sombra do tempo rodeado de discípulos, não dá de sua sabedoria, mas sim de sua fé e de sua ternura. Se ele for verdadeiramente sábio, não nos convidará a entrar na mansão de seu saber, mas nos conduzirá antes ao limiar de vossa própria mente.” Khalil Gibran

Aos professores Antônio Gilberto Bertechini e Benedito Lemos de Oliveira, pela orientação e a inestimável colaboração.

Aos professores e funcionários dos Departamentos de Química, Zootecnia e Medicina Veterinária da UFLA.

Aos professores da Universidade Federal de Uberlândia, que me ensinaram a amar cada vez mais a Veterinária, pelo apoio e amizade.

A pesquisadora Maria das Graças, responsável pelo microscópio eletrônico da UFLA.

Aos amigos, Aquiles, José Ortêncio, Victor e Edson Gomes, pelos excelentes momentos de convivência, e amizade.

Aos amigos Antônio Marcos, Alberto, Solano, Ismael, Ademir Conte, Ademir Maciel, Célia, Júlio, Maurílio, Patrícia, Cláudio, José Henrique, Marcelo, Edson Fasani, Luciana Geraseev, José, Flávio e Andrei, pela amizade e agradável convívio.

Aos amigos Rodrigo e Inês, pela amizade nos momentos mais difíceis.

Aos amigos Leonardo e Patrícia, pelo acolhimento nos primeiros dias em Lavras.

A Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pela bolsa de estudos concedida e a FAPEMIG pelo financiamento do projeto.

SUMÁRIO

	Pág
LISTA DE FIGURAS.....	vii
RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1 Síndrome ascítica.....	3
2.2 Outros fatores desencadeadores da síndrome ascítica.....	6
2.3 Prevenção da ascite.....	8
2.4 Lesão celular por hipóxia.....	8
2.5 Alterações ultraestruturais.....	10
2.6 Metabolismo oxidativo.....	11
2.6.1 Fermentação láctica.....	11
2.6.2 Ciclo do ácido cítrico.....	12
2.6.3 Transporte de elétrons e fosforilação oxidativa.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	13
3.1 Obtenção das aves.....	13
3.2 Sacrifício das aves e coleta do material.....	13
3.3 Homogeneização dos corações.....	14
3.4 Determinação das atividades enzimáticas e de proteínas.....	14
3.5 Determinação de íons.....	15
3.6 Microscopia eletrônica.....	16
3.7 Instalação e análise dos dados.....	16
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	17
4.1 Crescimento das aves.....	17
4.2 Succinato desidrogenase e Lactato desidrogenase.....	22

4.3	Concentrações plasmáticas de sódio e potássio.....	31
4.4	Ultraestrutura.....	35
5	CONCLUSÕES.....	38
6	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	39
7	APÊNDICE.....	43

LISTA DE FIGURAS

		Pág
Figura 1	Crescimento absoluto (peso x idade) das aves normais.....	19
Figura 2	Crescimento relativo [(peso idade maior)/(peso idade menor) x idade]das aves normais.....	20
Figura 3	Peso dos corações das aves nas diferentes idades.....	21
Figura 4	Atividade de succinato desidrogenase por coração inteiro nas diferentes idades.....	24
Figura 5	Atividade da enzima succinato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades.....	25
Figura 6	Atividade de lactato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades.....	26
Figura 7	Atividade específica da enzima succinato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades.....	27
Figura 8	Atividade específica da enzima lactato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades.....	28
Figura 9	Porcentagem do peso dos corações nas várias idades.....	30
Figura 10	Concentrações plasmáticas de sódio em aves normais e ascíticas nas várias idades.....	33
Figura 11	Concentrações plasmáticas de potássio em aves normais e ascíticas nas várias idades.....	34
Figura 12	Fotomicrografia de miocárdio de aves ascíticas	36
Figura 13	Fotomicrografia de miocárdio de aves normais.....	37
Tabela 1	Peso das aves normais e ascíticas em diferentes idades.....	17

Tabela 2	Peso dos corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades..	17
Tabela 3	Atividade de succinato desidrogenase.....	23
Tabela 4	Atividade de lactato desidrogenase.....	23

RESUMO

BITTAR, Eustáquio Resende. **Estudos metabólicos em frangos de corte com síndrome ascítica: aspectos bioquímicos e ultraestruturais.** Lavras: UFLA, 1997. 46p. (Dissertação-Mestrado em Zootecnia¹).

Com o crescente desenvolvimento da avicultura surgiram, alterações metabólicas importantes no frango de corte moderno. Uma dessas alterações refere-se à síndrome ascítica, que consiste no acúmulo de líquido na cavidade celômica, popularmente conhecida como “barriga d’água”. Atualmente, essa síndrome representa um fator de perdas econômicas para avicultura de corte, pois os custos anuais com a mortalidade causados por esta enfermidade chegam a 500 milhões de dólares em todo o mundo. As aves com melhor desempenho, aparentemente, são mais sensíveis ao aparecimento dessa síndrome, uma vez que crescem mais rapidamente implicando maior demanda de oxigênio. Esse aumento da demanda de oxigênio associado com a rigidez dos pulmões das aves, constitui a causa principal dessa síndrome. Observa-se que o pequeno volume do pulmão, comparado com o peso corporal da ave, contribui para limitar o espaço para o sangue fluir normalmente, sendo inevitável a hipertensão pulmonar. Conseqüentemente, uma maior exigência do lado

¹Orientador Prof. Dr. Custódio Donizete dos Santos, Membros da banca: Prof. Dr. Antônio Gilberto Bertechini, Prof. Benedito Lemos de Oliveira, Prof. Dr. Nilson Penha Silva.

direito do coração para bombear o sangue para os pulmões promovendo, assim, uma hipertrofia cardíaca direita seguida de dilatação. As aves ascíticas foram criadas segundo os critérios da Empresa de Integração Frango Mineiro S.A.. As amostras de corações de aves sem ascite foram obtidas de aves normais, aos 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias de idade, e de aves com ascite aos 28, 35 e 42 dias. As atividades enzimáticas de succinato desidrogenase e de lactato desidrogenase e o teor de proteínas das amostras foram determinados por espectrofotometria. Os teores de sódio e de potássio foram determinados por fotometria de chama. A microscopia eletrônica foi realizada segundo Reynolds (1963). O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado entre aves normais e um arranjo fatorial 3 x 2 (3 idades x 2 aves ascíticas e normais). Os resultados encontrados mostraram que as aves normais apresentam um crescimento corporal muito maior que o crescimento do coração. A determinação das atividades e das atividades específicas de lactato e succinato desidrogenase, sugeriu que ocorre uma adaptação fisiológica a partir do 21^o dia, através do aumento da síntese protéica em uma proporção diferente daquela ocorrida dos 7 aos 21 dias. As aves ascíticas apresentam uma menor atividade de succinato desidrogenase e uma maior atividade de lactato desidrogenase. A determinação de Na⁺ e K⁺ no plasma das aves normais e ascíticas, sugeriu que existe lesão celular nas aves ascíticas, devido a um aumento da quantidade plasmática de K⁺ e a uma diminuição na quantidade de Na⁺. As fotomicrografias do coração das aves ascíticas confirmam os resultados encontrados nos níveis de Na⁺ e K⁺, mostrando células com citoplasma rarefeito e mitocôndrias vacuolisadas.

ABSTRACT

Important metabolic disturbs have been arisen with development of the broiler chicken breeding. One of this alterations is referred as ascites syndrome, which is characterized by fluid increase in celomic cavity. The ascites syndrome is the primary cause of death in rapidly growing broiler resulting in severe economic loss at the world. The incidence of ascites syndrome has been reported in fast growing broilers due to the rapid growth rate and increase in oxygen requirement. Association of this factor with low heart-lung capacity probably might be the cause of this disease. In ascites syndrome occur a pulmonary hypertension and right-side cardiac failure. This study was conducted under the procedures of the Frango Mineiro company using broiler chickens (Hubbard) exhibiting ascites and healthy ones. The samples were obtained from healthy broiler on 7, 14, 21, 28, 35 and 42 days of age, and on days 28, 35 and 42 in ascites broiler. The succinate dehydrogenase and lactate dehydrogenase enzymatic activities, and protein contents were determined by spectrophotometry. Potassium and sodium were determined by spectrophotometry. Electron microscopy was used under Reynolds technique (1969). The experiment was analysed as factorial designed 3 x 2 with 3 being ages and 2 as healthy and unhealthy chicken. The results obtained demonstrated that healthy chicken presented body growth greater than that grown. The determination of activity and specific enzyme activity of lactate and succinate dehydrogenase, suggested that occur a physiologic adaptation after the 21st day, through the increase protein synthesis in a different

that occurred occur the 7th to the 21st day. Chicks exhibiting ascites present a smaller succinate dehydrogenase activity and a large lactate dehydrogenase activity. The determination of the Na^+ and K^+ in the plasma, indicated that exist cell lesion in the ascites chickens on unhealthy chicks due the increased plasmatic K^+ and the depletion on Na^+ . The halt photoelectromicroscopies from ascites chicks confirm the results on the Na^+ and K^+ levels, demonstrating that cells have altered cytoplasm and mitochondrion vacuolized.

1 INTRODUÇÃO

Com o desenvolvimento da avicultura, os programas de melhoramento genético estão voltados basicamente para características produtivas, surgiram alterações metabólicas no frango de corte. A síndrome ascítica, uma destas alterações, causa crescentes prejuízos econômicos para esse setor, pois os custos anuais com a mortalidade causada por essa enfermidade chegam a 500 milhões de dólares em todo o mundo (Maxwell e Robertson, 1997).

Os avanços nas áreas de melhoramento genético e nutrição possibilitam o abate cada vez mais precoce, com melhor peso e eficiência alimentar, o que acaba induzindo custos metabólicos elevados e para a obtenção de tais índices, as reações metabólicas ocorrem próximas ou até ultrapassam seus limites críticos. Quando isso ocorre, as aves podem apresentar várias alterações metabólicas, entre as quais, podemos destacar a síndrome ascítica.

As aves com melhor desempenho, aparentemente, são mais sensíveis ao aparecimento desta síndrome, uma vez que crescem mais rapidamente, implicando a maior demanda de oxigênio. O aumento da demanda de oxigênio, associado à rigidez dos pulmões das aves, constitui provavelmente a causa dessa síndrome, que é primariamente uma hipertensão pulmonar, ou seja, o pequeno volume do pulmão comparado com o peso corporal da ave limita o espaço para o sangue fluir. Este espaço reduzido faz com que ocorra hipertensão pulmonar e, conseqüentemente, uma

maior exigência do lado direito do coração para bombear o sangue para os pulmões, promovendo, assim, uma hipertrofia cardíaca seguida de dilatação (Julian, 1993).

Atualmente, a indústria tenta de várias maneiras reduzir a incidência desta síndrome através de restrição alimentar, programas de luz, rações menos energéticas, entre outros. Apesar de todos os esforços, na maioria das vezes, os resultados não são satisfatórios, e, quando são, acabam comprometendo a conversão alimentar e o ganho de peso das aves. A prática dessas formas de controle implica, portanto, a subutilização dos potenciais da nutrição e da genética.

O fato da síndrome ascítica ser de origem metabólica e estar relacionada com a baixa pressão parcial de oxigênio (Maxwell e Robertson, 1997) ressalta a importância de estudá-la sob o enfoque bioquímico, no intuito de se conhecer os processos metabólicos desencadeadores.

Esses fatos acima citados sugerem que o ponto de partida para o estudo da síndrome ascítica seja o metabolismo oxidativo dos tecidos, mais especificamente, as enzimas succinato desidrogenase (enzima do metabolismo aeróbico) e lactato desidrogenase (enzima do metabolismo anaeróbico).

Baseando-se nessas observações, o trabalho teve como objetivo estudar as alterações metabólicas relacionadas à síndrome ascítica, no nível ultra-estrutural e bioquímico/fisiológico que ocorre em corações, no intuito de fornecer subsídios para esclarecer os mecanismos envolvidos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Síndrome ascítica

A síndrome ascítica, a partir da década de 60, tornou-se um dos fatores responsáveis por significativas perdas econômicas na produção de frangos de corte, principalmente quando os criatórios estavam localizados em regiões de altitudes elevadas (aproximadamente 3500 metros). Essas perdas passaram a ter uma maior importância principalmente na década de 80, quando a síndrome ascítica começou a aparecer também em criatórios de regiões de média e baixas altitudes, provavelmente, devido a um melhor desempenho na conversão alimentar das aves em função do melhoramento genético (Julian, 1993).

A característica da síndrome ascítica consiste no acúmulo de líquido na cavidade celômica do frango, popularmente conhecida como "barriga d'água", podendo ocorrer por diversos mecanismos :

- (1) Aumento da pressão hidrostática causado por uma congestão passiva crônica, e por insuficiência cardíaca direita, provocando um aumento da pressão hidrostática venosa em órgãos abdominais, especialmente o fígado. A maior parte do líquido permeia através da cápsula do fígado para a cavidade abdominal. A congestão, da mesma forma, pode ser causada por uma obstrução do fluxo na veia cava por uma lesão, por intoxicações e

outras doenças hepáticas crônicas (especialmente lesões obstrutivas fibróticas). Em tais casos, o fluxo venoso portal não passará facilmente pelo fígado e haverá aumento da pressão hidrostática venosa no sistema porta hepático. Ocorre então edema nos intestinos, no mesentério e na cavidade abdominal.

- (2) Hipoproteinemias causadas por insuficiência renal (aumento da excreção) e dietas deficientes, resultando em edema generalizado. Os líquidos permanecem nos tecidos em função de uma diminuição da pressão coloidosmótica, que é de responsabilidade das proteínas plasmáticas.
- (3) Tumores que se implantam na cavidade abdominal e vasos linfáticos do diafragma ventral, através dos quais a linfa normalmente circula para o tórax. As células tumorais, crescendo dentro desses vasos linfáticos, bloqueiam-nos, impedindo a drenagem do fluxo abdominal.
- (4) Aumento da permeabilidade vascular resultante de danos diretos, como traumas e anóxia (semelhante a insuficiência cardíaca). O endotélio vascular é permeável à água e aos cristalóides. Lesões dos vasos permitem que as proteínas plasmáticas passem do plasma para a cavidade celômica, aumentando, desta maneira, as pressões hidrostática e osmótica, e a retenção de fluido no celoma. (Thomson, 1983).

Essas alterações fisiológicas podem ser provocadas por muitos fatores e, por isso, essa síndrome constitui um desafio para a avicultura industrial de corte.

Entre os fatores que podem influenciar a síndrome ascítica encontram-se: agentes tóxicos (micotoxinas, excesso de cloreto de sódio, furazolidona); infecciosos (aspergilose, broncopneumonias); mecânicos (frio, excesso de gás carbônico, grandes altitudes); genéticos

(crescimento rápido) e nutricionais (densidade energética e forma física do alimento) (Julian et al., 1987; Silva, Dale e Luchest, 1988; Lopez-Coelho et al., 1990).

As aves com melhor desempenho, aparentemente, são mais sensíveis ao aparecimento da síndrome ascítica, uma vez que crescem mais rapidamente implicando uma maior demanda de oxigênio. Os frangos machos e fêmeas mostram diferentes comportamentos quanto ao desempenho e características de carcaça. Os machos apresentam maiores taxas de crescimento e fêmeas maior acúmulo de tecido adiposo (Leenstra, 1986), o qual tem uma menor demanda de oxigênio, fazendo com que a incidência de ascite seja maior nos machos (em torno de 70% dos casos), ocorrendo, principalmente, a partir da 4ª semana de idade (Walker, 1993).

No metabolismo energético, as cadeias de carbono são oxidadas para a produção de energia e dióxido de carbono. No frango moderno, o alto consumo alimentar e a utilização de rações de alta densidade energética determinam uma maior demanda de oxigênio. Da mesma forma, as situações que predisõem à síndrome ascítica criam um déficit desse elemento, ocasionando aumento adicional da demanda. Esse processo acarreta hipertensão pulmonar e aumento do trabalho cardíaco, com conseqüente hipertrofia e falha do ventrículo direito, havendo aumento da pressão sanguínea na veia cava, resultando em congestão hepática. Ocorre, então, extravasamento de fluidos do fígado, que se acumulam na cavidade abdominal produzindo a ascite (Hoerr, 1988; Julian, 1990).

O aumento da demanda de oxigênio associado com a rigidez dos pulmões das aves consiste, provavelmente, na principal causa da síndrome ascítica, que é primariamente uma hipertensão pulmonar. Os pulmões das aves são rígidos e fixos na cavidade torácica; os capilares sanguíneos e aéreos formam uma malha rígida, que permite apenas uma expansão mínima, quando um maior fluxo sanguíneo é necessário. Além disso, a baixa estatura do frango de corte moderno, o músculo

peitoral largo e pesado, a pressão do conteúdo abdominal nos sacos aéreos e o pequeno volume do pulmão comparado com o peso corporal, contribuem para limitar o espaço para o sangue fluir através dos pulmões das aves (Julian, 1993).

Estudos recentes têm mostrado que a patogênese da ascite em altitudes moderadas e baixas é similar àquela em altitudes elevadas. A hipertensão pulmonar causada pelo aumento de fluxo sanguíneo ou o aumento da resistência ao fluxo sanguíneo nos pulmões resultam na hipertrofia ventricular direita, seguida de dilatação e insuficiência valvular, aumento da pressão venosa e ascite. A estrutura do coração das aves com o ventrículo direito de parede fina, válvula átrio-ventricular direita muscular e hipertensão pulmonar leva à falência cardíaca rapidamente (Julian, 1993).

2.2 Outros fatores desencadeadores da síndrome ascítica.

Aves que consomem ração granulada têm apresentado maior incidência de ascite do que as que consomem a mesma ração na forma farelada. Arce et al. (1985), citados por Silva, Dale e Luchest, (1988), confirmaram essa observação, ao encontrar uma incidência de 15% de ascite em aves que consumiram ração granulada e 4% naquelas que receberam a mesma ração na forma farelada. Avaliações sobre os efeitos de rações granuladas sobre a ocorrência de ascite em frangos criados em região de baixa altitude mostraram que aves que receberam ração granulada mostraram melhor ganho de peso e conversão alimentar, porém, os índices de mortalidade e condenação de carcaças por ascite foram maiores para esse grupo. Essa observação leva a concluir que o alimento na forma granulada contribui acentuadamente para a ocorrência de ascite (Silva, Dale e Luchest, 1988)

Estudos sobre o peso corporal de frangos com duas semanas de idade foram utilizados como indicador do potencial genético para crescimento rápido. Aves que exibiram maior capacidade de crescimento apresentaram maior incidência de ascite, mas essa diferença não foi significativa, ao passo que, no mesmo estudo, aves que receberam dietas com maior densidade energética apresentaram uma taxa mais elevada de mortalidade por ascite em relação àquelas que receberam baixa energia na dieta (Dale e Villacre, 1988).

Baixa temperatura e umidade relativa contribuem para o aumento da incidência de ascite em frangos. Havendo um incremento da taxa metabólica da ave, ocasionando aumento da demanda de oxigênio (Lopez-Coelho e Wideman, 1986). Amorim Filho (1989) detectou ao nível de campo nítida elevação no nível de condenação de carcaças por ascite nas épocas mais frias do ano. Nesse período, a ave aumenta o consumo de alimento determinando aumento da demanda de oxigênio.

A maior incidência de ascite ocorre nas linhagens com maior potencial genético para rápido crescimento, bem como naquelas alimentadas com ração contendo maior teor energético e mantidas sob condições de baixa temperatura (Julian, McMillian e Quinto, 1989).

Níveis elevados de níquel e magnésio provocam aumento na produção de hemoglobina, o que colabora para o aparecimento da hipertensão pulmonar e conseqüente aparecimento da síndrome ascítica em frangos de corte (Martinez e Diaz, 1996).

Schleifer (1995) relatou casos de síndrome ascítica associados a infecções por vírus da família alfaviridae.

2.3. Prevenção da Ascite

Apesar de parecer um contra-senso propor à dinâmica indústria avícola programas de restrição alimentar para prevenir ascite, essa prática tem sido bastante difundida em granjas onde sua ocorrência é elevada. Em países como o México, onde a ascite é responsável por elevadas perdas econômicas, a restrição alimentar assim como a redução do valor energético da dieta têm sido recursos aplicados para baixar sua incidência (Lopez-Coelho et al., 1990). A avaliação da restrição alimentar como controle parcial da ascite não apresentou diferenças significativas para peso corporal e conversão alimentar, indicando que o crescimento compensatório das aves foi suficiente ao compará-las, em termos de desempenho, àquelas não submetidas à restrição, sendo que o índice de mortalidade por ascite foi superior neste último grupo (Oporta e Rubio, 1989).

Julian (1990) defende que uma forma de prevenir ascite seria atrasar o crescimento da ave através da redução da ingestão de energia. Outro método sugerido pelo autor seria limitar o número de horas de luz, reduzindo as atividades que requerem oxigênio adicional e melhorando a conversão alimentar. Um exemplo seria o programa de iluminação de três horas de luz para cada nove horas de escuro.

2.4 Lesão celular por hipóxia

A hipóxia provoca perturbação da respiração oxidativa aeróbica da célula, sendo uma causa comum e de extrema importância nos processos de lesão e morte celular. A perda do suprimento de sangue (isquemia), oxigenação inadequada do mesmo devido a uma insuficiência cardiorespiratória e a perda de parte da sua capacidade de transportar oxigênio são fatores que

podem levar à falta de oxigênio para os tecidos. Dependendo do grau de hipóxia, as células podem se adaptar, sofrer lesões ou morrer. Outra importante alteração refere-se à redução da massa celular, que alcança um equilíbrio entre as necessidades metabólicas e a disponibilidade de oxigênio. A hipóxia mais intensa induz lesão e morte celular (Robbins, Kumar e Contran, 1994).

A hipóxia atinge inicialmente a respiração aeróbica da célula, isto é, a fosforilação oxidativa pelas mitocôndrias. À medida que a tensão de oxigênio dentro da célula diminui, ocorre diminuição da fosforilação oxidativa aeróbica (diminuição ou interrupção da síntese de adenosina trifosfato-ATP).

Uma das manifestações mais precoces e mais comuns da lesão é a tumefação celular aguda (edema celular), determinada por um distúrbio na regulação do volume celular pela membrana plasmática. As células possuem uma pressão coloidosmótica alta, determinada por uma maior concentração de proteína intracelular do que extracelular. Para que ocorra o equilíbrio, o sódio é mantido em menor concentração intracelular do que extracelular através da bomba de sódio e potássio dependente de energia ($\text{Na}^+ \text{K}^+ - \text{ATPase}$), o que faz com que a concentração de potássio mantenha-se significativamente mais alta no meio intracelular do que no extracelular. A falha desse transporte ativo, devido à diminuição de ATP, faz com que o sódio se acumule dentro da célula com difusão de potássio para fora da célula. O ganho líquido de soluto é acompanhado de um ganho isosmótico de água e, conseqüentemente, edema celular. O movimento de fluidos e de íons para dentro da célula é seguido de uma dilatação precoce do retículo endoplasmático. O próximo fenômeno a ocorrer é o desprendimento dos ribossomos do retículo endoplasmático granular e a dissociação dos polissomos em monossomos. A persistência da hipóxia provoca outras alterações, novamente, refletindo-se na maior permeabilidade da membrana (podendo haver a formação de bolhas na superfície celular) e diminuição da função mitocondrial, e as células que possuem

microvilosidades (como as células epiteliais tubulares proximais) começam a perder essa estrutura normal (Robbins, Kumar e Contran, 1994).

Na isquemia, ocorre um outro mecanismo de edema celular, que consiste no aumento da carga osmótica intracelular desencadeada pelo acúmulo de catabólitos, tais como fosfatos inorgânicos, lactato e nucleosídeos purínicos (Rubin e Farber, 1990).

2.5 Alterações ultra-estruturais

As alterações nas ultra-estruturas das organelas celulares ocorrem de forma reversível ou não, dependendo da persistência e frequência do estresse.

Reticulo endoplasmático: Com a tumefação celular, a cisterna do retículo endoplasmático fica dilatada, provavelmente em função de deslocamento de íons e água. Os polissomos ligados à membrana podem sofrer desagregação e destacar-se da superfície do retículo endoplasmático rugoso (Rubin e Farber, 1990).

Mitocôndria: Em lesões por isquemia ocorre uma tumefação de mitocôndrias. Esse aumento é, possivelmente, causado pela dissipação do gradiente de energia com consequente comprometimento do controle de volume mitocondrial, podendo, também, surgir densidades amorfas ricas em fosfolípidos (Rubin e Farber, 1990).

Membrana plasmática: É possível observar vesículas da membrana plasmática sob a forma de extrusões focais do citoplasma (Rubin e Farber, 1990).

Maxwell, Robertson e Spence (1986) relataram que a análise ultra-estrutural de miocárdio de aves que apresentavam síndrome ascítica mostrou degeneração de fibras musculares, irregularidades na espessura das fibras e redução acentuada do glicogênio muscular. As

mitocôndrias apresentavam cristas irregulares com inclusões amorfas ou agregações de partículas de glicogênio.

2.6 Metabolismo oxidativo

A glicólise é a via central do catabolismo da glicose, processo através do qual a molécula de glicose, com seis átomos de carbono, é degradada por uma seqüência de dez reações catalisadas por enzimas, a duas moléculas de piruvato, cada uma com três átomos de carbono. Existem dois caminhos possíveis para o piruvato nos animais, o ciclo do ácido cítrico (respiração aeróbica), ou a fermentação láctica (degradação anaeróbica) (Lehninger, Nelson e Cox, 1995a).

2.6.1 Fermentação láctica

O lactato é normalmente formado a partir do piruvato em vários microorganismos. A reação também ocorre nas células de organismos superiores, quando a quantidade de oxigênio é limitante, como nos músculos, durante atividade intensa. A redução de piruvato por NADH formando lactato é catalisada pela lactato desidrogenase.

O lactato não é metabolizado na forma em que se encontra, sendo novamente convertido a piruvato antes de ser metabolizado. O objetivo da redução de piruvato a lactato é a regeneração do NAD^+ , para que a glicólise possa continuar nos músculos esqueléticos ativos e nas hemácias. A formação de lactato desloca parte do encargo metabólico do músculo para o fígado (Stryer, 1992a).

2.6.2 Ciclo do ácido cítrico

O ciclo do ácido cítrico é a fase aeróbica do catabolismo, chamada de respiração, na qual grupos acetil provenientes do catabolismo de carboidratos, lipídeos e também de alguns aminoácidos são degradados enzimaticamente, produzindo coenzimas reduzidas ricas em energia ($\text{NADH} + \text{H}^+$ e FADH_2) e também moléculas de CO_2 , produto final da oxidação dos combustíveis orgânicos (Lehninger, Nelson e Cox, 1995b).

Em uma das reações do ciclo do ácido cítrico, o succinato é oxidado a fumarato pela succinato desidrogenase, sendo o FAD^+ o aceptor de hidrogênio ao invés do NAD^+ . A succinato desidrogenase é uma proteína ferro-enxofre também denominada ferro proteína não hêmica e, ao contrário de outras enzimas do ciclo do ácido cítrico, é parte integrante da membrana interna da mitocôndria (Stryer, 1992b).

2.6.3 Transporte de elétrons e fosforilação oxidativa.

O transporte de elétrons e a fosforilação oxidativa são os eventos mais importantes da respiração celular. Todas as etapas enzimáticas do catabolismo de carboidratos, lipídeos e alguns aminoácidos nas células aeróbicas convergem para esse estágio final da respiração celular, no qual os elétrons desses substratos orgânicos fluem para o oxigênio, através de uma série de carreadores que se encontram na membrana interna da mitocôndria. Associada com o transporte de elétrons, ocorre a fosforilação oxidativa, responsável pela síntese de ATP a partir de ADP e fosfato inorgânico (Lehninger, Nelson e Cox, 1995b).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Obtenção das aves

No experimento, foram utilizados machos da linhagem Hubbard cedidos pela integração Frango Mineiro S.A., localizada no município de Pitangui - MG, com idades de 7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias, e aves ascíticas com idades de 28, 35 e 42 dias. Sendo usadas nove aves para cada idade.

As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química da UFLA.

3.2 Sacrifício das aves e coleta do material

O sangue foi coletado através de punção cardíaca com auxílio de agulha e seringa contendo anticoagulante. Posteriormente, o sangue foi centrifugado a 2000 g por 15 minutos à temperatura ambiente. O soro foi congelado a -20°C para as análises de íons.

Após a sangria, as articulações coxo femural direita e esquerda foram deslocadas, deixando a ave em decúbito dorsal, em seguida, a pele da parte inferior do abdômen foi cortada e deslocada no sentido da cabeça, expondo, desta forma, o peito da ave. A parede do abdômen e as costelas foram cortadas, deslocando o peito no sentido da cabeça, expondo as vísceras. O coração foi

retirado, pesado e congelado a -20°C . Para as análises, foram utilizadas um total de nove amostras agrupadas em três repetições de cada material (coração, soro) colhidos das aves ascíticas e normais.

3.3 Homogeneização dos corações

A homogeneização dos corações foi realizada utilizando alíquotas contendo dois gramas do órgão, que foram colocados em bequer de 50 ml juntamente com 10 ml de tampão de homogeneização (tampão tris 0.01 M pH = 7.5, sacarose 0.25 M). O bequer foi colocado em um homogeneizador mecânico politron (TECNAL modelo MARCONI-MA 102) por cinco períodos de 20 segundos, em sua rotação máxima, tomando-se o cuidado de manter a temperatura em torno de 0°C . O homogeneizado foi filtrado em quatro camadas de gaze colocadas em funil de Buchner, sob pressão reduzida. O volume foi elevado para 20 ml, a fim de se obter uma proporção final de uma grama de coração para 10 ml de meio de homogeneização. Essas amostras foram armazenadas em freezer a -20°C .

3.4 Determinação das atividades enzimáticas e de proteínas

As proteínas das amostras foram determinadas através da reação com Brilhante Blue G (Comassie Blue G) de acordo com Bradford (1976), utilizando albumina de soro bovino (BSA) como padrão.

As atividades enzimáticas de succinato desidrogenase e lactato desidrogenase foram determinadas como descrito por Santos e Terra (1984). Em todos os ensaios, a reação da

succinato desidrogenase foi realizada em 1,2 ml de meio contendo tampão Tris-HCl 50 mM pH 7,5, succinato de sódio 20 mM, triton x-100 1,4% (p/v), KCN 1 mM, fenazina metosulfato (PMS) 0,64 mM e iodonitrotetrazolium (INT) 0,2 mM. A ativação da enzima foi feita com uma pré-incubação da mistura da reação sem o corante (PMS e INT), por 10 minutos a 30°C, Em seguida, adicionou-se o corante para iniciar a reação, a mesma foi interrompida através da adição de 0,2 ml de HCl 0,5 N, e leu-se absorvância a 500 nanômetros (nm).

Para medir a atividade da lactato desidrogenase, utilizou-se 1,2 ml de meio de incubação contendo tampão Tris-HCl 50 mM PH = 7.5, lactato de sódio 50 mM, NAD 1,5 mM, triton x - 100 1,4% (p/v), fenazina metosulfato (PMS) 0,32 mM e iodonitrotetrazolium (INT) 0,2 mM. A reação foi interrompida através da adição de 0,2ml de HCl 0,5N, e a absorvância obtida em espectrofotômetro a 500 nanômetros (nm).

Cada mistura da reação foi incubada por pelo menos quatro diferentes períodos de tempo. Controles sem enzima (branco de substrato) e sem substrato (branco de enzima) foram realizados da mesma maneira que os ensaios experimentais. A atividade calculada foi expressa em nanomoles de substrato hidrolisado por minuto (mU).

3.5 Determinação de íons

O sódio e o potássio foram determinados no soro de aves normais e ascíticas por fotometria, utilizando um fotômetro de chama Micronal Modelo B262 segundo Malavolta, Vitti e Oliveira (1989).

3.6 Microscopia eletrônica

A análise ultra-estrutural dos corações das aves sadias e doentes foi realizada no laboratório de microscopia eletrônica da UFLA.

Os miocárdios foram fixados com glutaraldeído/paraformaldeído em tampão cacodilato de sódio e, posteriormente, fixados com tetróxido de ósmio. Os cortes ultra-finos dos tecidos foram obtidos através de um ultramicrotomo e corados com acetato de uranila e citrato de chumbo, segundo Reynolds (1963). Após a coloração, os cortes foram submetidos ao exame em microscópio eletrônico (Zeiss EM109) para detectar as possíveis diferenças ultra-estruturais entre os tecidos sadios (controle) e doentes (ascítico).

3.7 Instalação e análise dos dados

O experimento foi instalado utilizando-se um delineamento experimental inteiramente casualizado. Foram utilizadas 6 idades (7, 14, 21, 28, 35 e 42 dias) com 3 repetições, sendo que cada parcela experimental foi composta por 9 aves. Utilizou-se também um esquema fatorial 3×2 com 3 idades (28, 35 e 42 dias).

Os valores observados de cada variável foram submetidos a análise de variância de acordo com Gomes (1987). As comparações múltiplas entre as médias dos tratamentos foram realizadas, utilizando-se o teste de Tukey em nível de 5 % de probabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Crescimento das aves.

Os pesos das aves da linhagem Hubbard, nas várias idades, estão apresentados na tabela 1 e os pesos dos corações na tabela 2.

Tabela 1 Pesos das aves normais e ascíticas em diferentes idades

Idades (dias)	Pesos das aves (g)	
	Normais	Ascíticos
7	66.78	---
14	226.78	---
21	540.78	---
28	975.66	558.89
35	1561.78	1078.89
42	1975.56	1503.33

Tabela 2 Pesos dos corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades

Idades (dias)	Pesos dos corações (g)	
	Normais	Ascíticos
7	2.33	---
14	3.7	---
21	6.11	---
28	9.69	9.5
35	11.4	15
42	13.47	17.85

Na época do abate (42 dias), as aves normais apresentaram um peso aproximadamente 30 vezes superior ao das aves aos sete dias de idade.

A curva de crescimento absoluto (peso x idade) dos frangos da linhagem Hubbard (Figura 1) ajustam-se bem aos modelos estatísticos de Brody e Gompertz (Amaral, Muniz, Bertechini, 1992). Essas aves apresentaram um crescimento mais intenso nas primeiras semanas de vida, que pode ser melhor evidenciado através do crescimento relativo $[(\text{peso idade maior})/(\text{peso idade menor}) \times \text{idade}]$ (Figura 2). As aves aos 14 dias, por exemplo, apresentaram um peso de aproximadamente 3,3 vezes o peso das aves com 7 dias. Da mesma forma que ocorre um aumento do peso corporal, ocorre também um aumento do coração, porém, em menor proporção, chegando à época do abate com peso aproximadamente seis vezes maior que o peso aos sete dias de vida das aves (Figura 3). Tal desproporção no crescimento do corpo da ave, quando comparada com o crescimento do coração, leva a adaptações fisiológicas importantes, para que esse órgão consiga bombear o sangue para todo o corpo do animal.

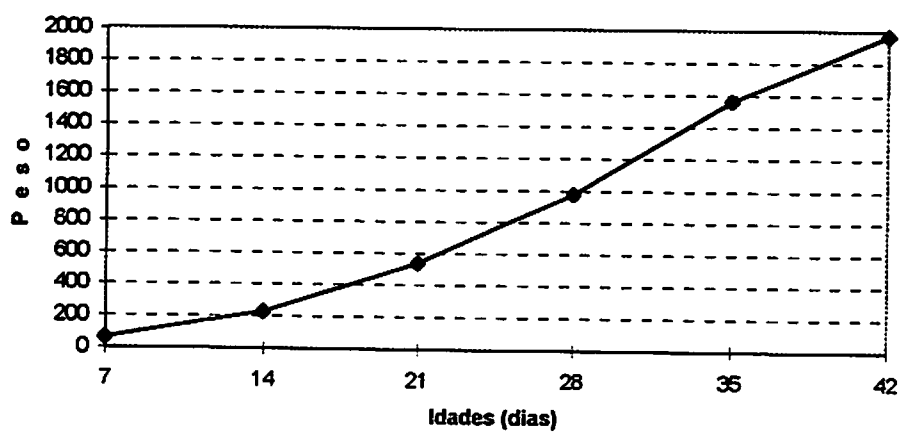


Figura 1 Crescimento absoluto (peso x idade) das aves normais.

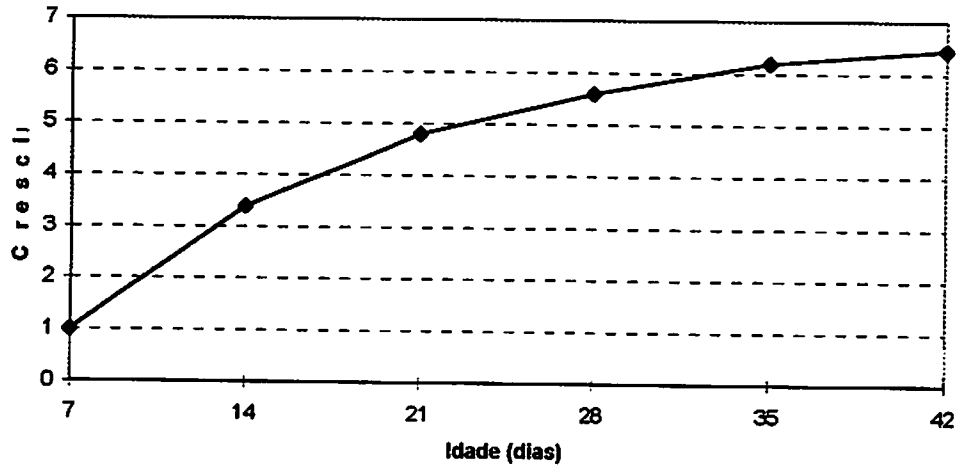


Figura 2 Crescimento relativo $[(\text{peso idade maior})/(\text{peso idade menor}) \times \text{idade}]$ das aves normais.

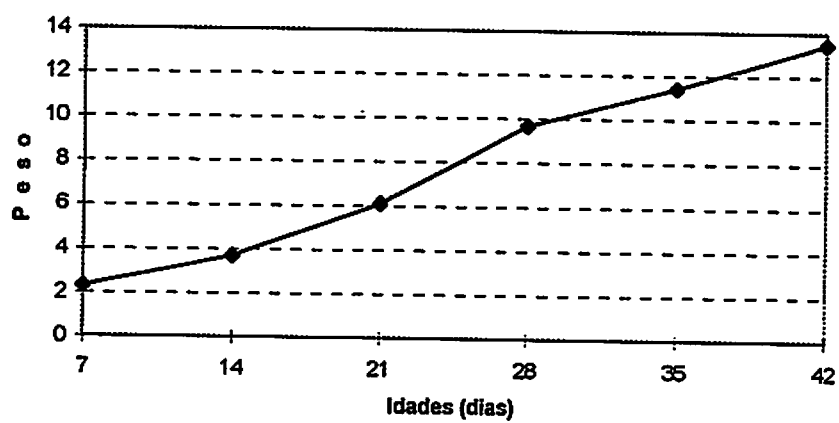


Figura 3 Peso dos corações das aves nas diferentes idades.

4.2 Succinato desidrogenase e Lactato desidrogenase

A atividade da succinato desidrogenase, expressa em mU por coração das aves em cada idade, também apresenta um comportamento semelhante ao peso do coração, ou seja, aumenta aproximadamente seis vezes até a idade de abate (Figura 4).

Quando a atividade da succinato desidrogenase foi expressa em mU por grama de tecido de coração, nas várias idades, apresentou-se como uma curva de terceiro grau, como pode ser observado na figura 5.

A atividade aumenta até o 14º dia, mantém-se aproximadamente estável até o 21º dia e depois diminui até o 28º dia. No metabolismo, a diminuição da atividade respiratória (aeróbica) quer pelo alto consumo de oxigênio ou por sua baixa disponibilidade, está associada a um aumento da atividade anaeróbica. Os dados sugerem então que, com a diminuição da atividade da succinato desidrogenase, deveria haver um aumento compensatório na atividade de lactato desidrogenase. A atividade dessa enzima em corações de aves de várias idades apresentou um comportamento inesperado e semelhante àquele encontrado para a succinato desidrogenase, ou seja, ocorre a diminuição da atividade lactato desidrogenase (do metabolismo anaeróbico) a partir de 21 dias, da mesma maneira que ocorre com a succinato desidrogenase (do metabolismo aeróbico)

A diminuição do metabolismo aeróbico é acompanhada naturalmente do aumento do metabolismo anaeróbico, e as aves ascíticas apresentam, caracteristicamente maior atividade de lactato desidrogenase quando comparado com aves normais (Figura 6)

4.2 Succinato desidrogenase e Lactato desidrogenase

A atividade da succinato desidrogenase, expressa em mU por coração das aves em cada idade, também apresenta um comportamento semelhante ao peso do coração, ou seja, aumenta aproximadamente seis vezes até a idade de abate (Figura 4).

Quando a atividade da succinato desidrogenase foi expressa em mU por grama de tecido de coração, nas várias idades, apresentou-se como uma curva de terceiro grau, como pode ser observado na figura 5.

A atividade aumenta até o 14º dia, mantém-se aproximadamente estável até o 21º dia e depois diminui até o 28º dia. No metabolismo, a diminuição da atividade respiratória (aeróbica) quer pelo alto consumo de oxigênio ou por sua baixa disponibilidade, está associada a um aumento da atividade anaeróbica. Os dados sugerem então que, com a diminuição da atividade da succinato desidrogenase, deveria haver um aumento compensatório na atividade de lactato desidrogenase. A atividade dessa enzima em corações de aves de várias idades apresentou um comportamento inesperado e semelhante àquele encontrado para a succinato desidrogenase, ou seja, ocorre a diminuição da atividade lactato desidrogenase (do metabolismo anaeróbico) a partir de 21 dias, da mesma maneira que ocorre com a succinato desidrogenase (do metabolismo aeróbico)

A diminuição do metabolismo aeróbico é acompanhada naturalmente do aumento do metabolismo anaeróbico, e as aves ascíticas apresentam, caracteristicamente maior atividade de lactato desidrogenase quando comparado com aves normais (Figura 6)

A determinação da atividade específica (atividade por miligrama de proteína) dessas enzimas (Figuras 7 e 8) sugeriu uma provável hipótese para explicar a diminuição da atividade a partir dos 21 dias.

Tabela 3 - Atividade de succinato desidrogenase

Idades (dias)	Ascíticas (mU/g)	Normais (mU/g)
28	2660.6	3737.4
35	2616.3	3491.3
42	2482.3	3996.0
Médias	2582.3a	3741.6b

Tabela 4 - Atividade de lactato desidrogenase

Idades (dias)	Ascíticas (mU/g)	Normais (mU/g)
28	58178.7	22334.9
35	47654.8	23702.0
42	47117.5	30149.3
Médias	50983.7a	25395.4b

Médias seguidas pelas mesmas letras nas linhas não diferem entre si pelo teste de F ao nível de 5 % de probabilidade.

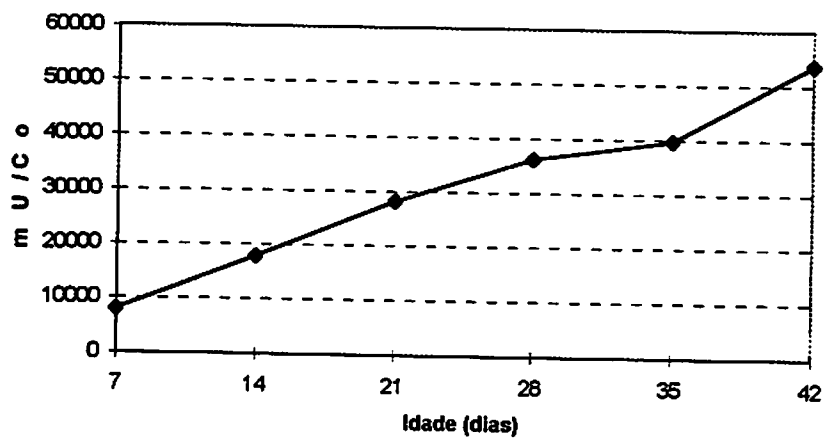


Figura 4 Atividade de succinato desidrogenase por coração inteiro nas diferentes idades.

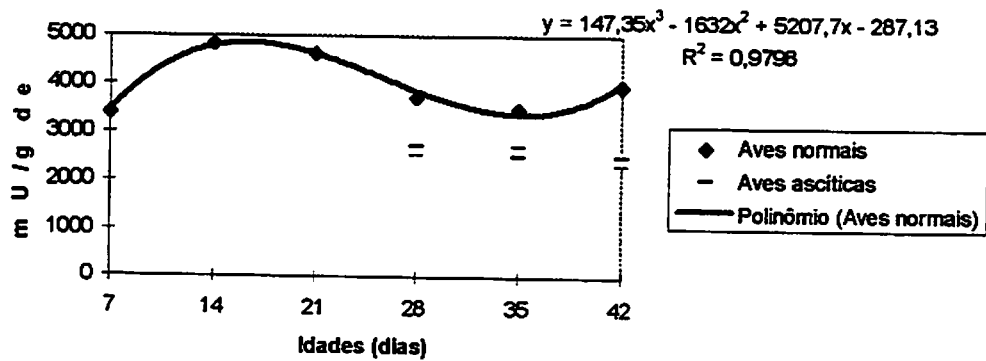


Figura 5 Atividade da enzima succinato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades.

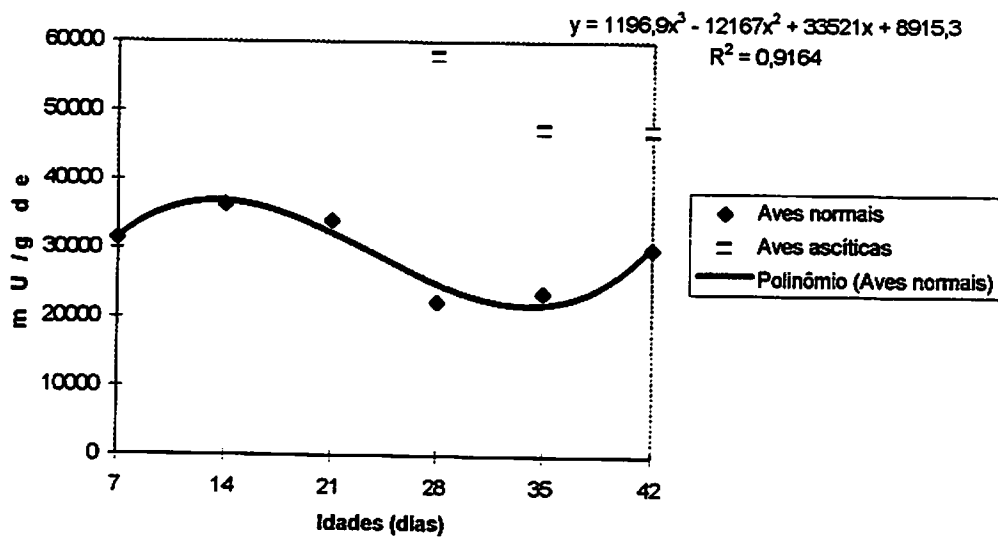


Figura 6 Atividade de lactato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades.

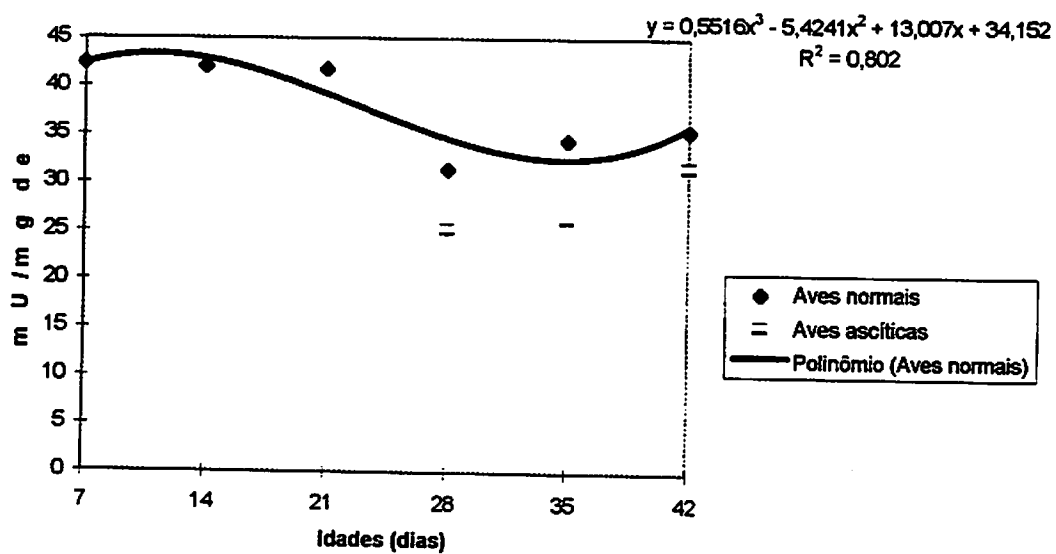


Figura 7 Atividade específica da enzima succinato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades

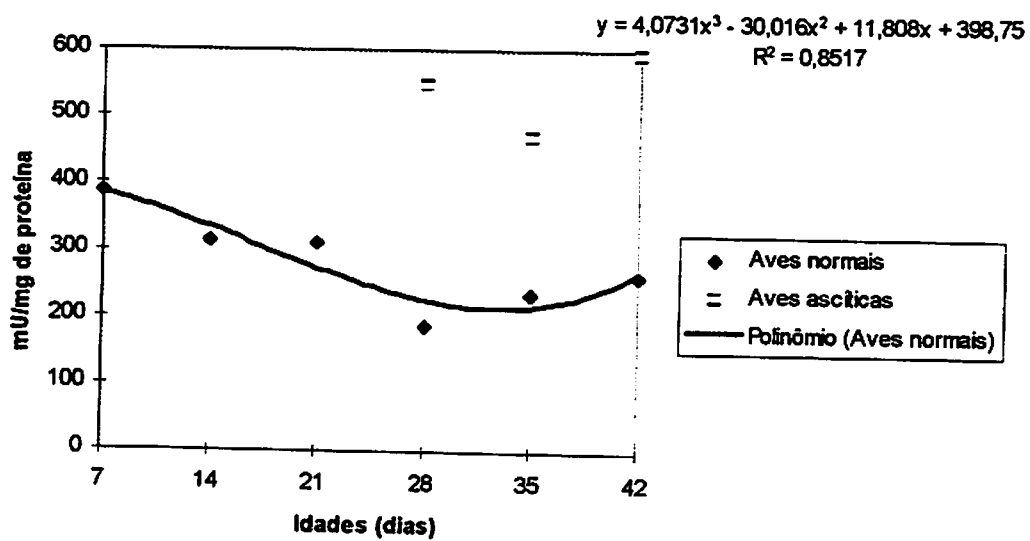


Figura 8 Atividade específica da enzima lactato desidrogenase em corações de aves normais e ascíticas em diferentes idades

A atividade específica de succinato desidrogenase apresentou uma tendência a manter-se constante até o 21º dia, sugerindo que o crescimento do coração ocorre proporcionalmente igual para todas as proteínas (Figura 7). O mesmo comportamento é observado para a lactato desidrogenase (figura 8), com exceção das aves com sete dias de vida, visto que, nessa idade, às aves apresentam uma atividade enzimática específica de lactato desidrogenase muito superior as demais idades. Isso, provavelmente, ocorre em função da arritmia e da elevada frequência cardíaca presentes nos animais jovens.

Na primeira metade de vida das aves, com exceção da primeira semana, a atividade específica da succinato desidrogenase e lactato desidrogenase tem comportamentos semelhantes, indicando que o aumento de tamanho do coração ocorre com igual velocidade de síntese protéica para todas as proteínas. A partir dos 21 dias, a atividade específica diminui, sugerindo que o crescimento do coração não ocorre de uma forma proporcional, ou seja, deve estar havendo a síntese preferencial de outras proteínas que não a succinato e lactato desidrogenase. Entretanto, a partir do 28º dia, parece ocorrer uma recuperação na síntese dessas enzimas, que é observada através de um aumento na atividade específica (Figura 7 e 8).

A explicação para a curva de terceiro grau mostrada pela succinato e lactato desidrogenase (Figuras 5 e 6), com a diminuição de atividade a partir de 21 dias, pode ser devido apenas ao crescimento do coração de forma específica para outras proteínas, diminuindo a atividade das enzimas por grama de tecido.

Aparentemente, o coração do frango de corte está em continuamente adaptando-se em função da desproporção com o peso do corpo durante o crescimento (extremamente rápido) (Figura 9). A síntese de outras proteínas, a partir de 21 dias, parece ser um mecanismo essencial para a ave conseguir adaptar-se a esse crescimento e não apresentar os sintomas de ascite.

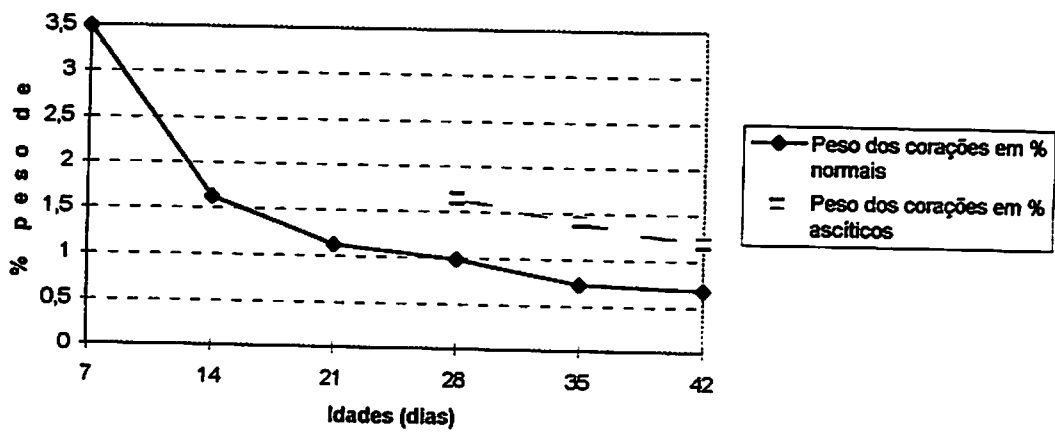


Figura 9 Porcentagem de peso dos corações nas várias idades.

A atividade de succinato desidrogenase é menor, enquanto a atividade de lactato desidrogenase é maior nas aves ascíticas (Tabelas 3 e 4). A diminuição do metabolismo aeróbico é acompanhada naturalmente do aumento do metabolismo anaeróbico (Figura 5 e 6). A alteração na atividade dessas duas enzimas ocorre, provavelmente, porque o tecido do coração não conseguiu adaptar-se ao crescimento rápido das aves e dilatou-se para compensar a maior exigência de débito cardíaco (Dukes, 1988). Essa dilatação provoca lesões no músculo cardíaco com conseqüente síntese de tecido conjuntivo sem atividade metabólica. Por isso, os corações de aves ascíticas apresentam proporcionalmente um maior peso (Figura 9) e menor atividade de succinato desidrogenase (Figura 5), com mitocôndrias danificadas (Figura 12), talvez por serem incapazes de produzir energia por fosforilação oxidativa.

4.3 Concentrações plasmáticas de sódio e potássio

As aves ascíticas apresentaram maiores concentrações plasmáticas de potássio e menores concentrações plasmáticas de sódio, quando comparadas com as aves normais (Figuras 10 e 11).

Em situações de normalidade, a membrana plasmática impõe uma barreira ao fluxo de sódio a favor de um gradiente de concentração para o interior da célula, e previne um efluxo semelhante de potássio da célula. A barreira é imperfeita, e a relativa permeabilidade para esses íons permite a entrada passiva de sódio na célula e a saída de potássio da mesma forma. Para compensar essa intrusão, a bomba de sódio e potássio, energia dependente da membrana plasmática (Na^+ , K^+ , -ATPase), faz a expulsão do sódio e a captação de potássio. A oxigenação inadequada (hipóxia) do sangue devido à insuficiência cardiorespiratória, torna difícil para o organismo manter a integridade da membrana plasmática, a bomba de sódio e potássio e o suprimento de ATP,

alterando as concentrações plasmáticas de sódio e potássio. Dessa forma, pode-se sugerir que um provável elo desencadeador da síndrome ascítica e da síndrome de morte súbita seja a incapacidade do coração em atender às exigências do metabolismo oxidativo (Robbins, Kumar e Cotran, 1994, Macari, Furlan e Gonzales, 1994).

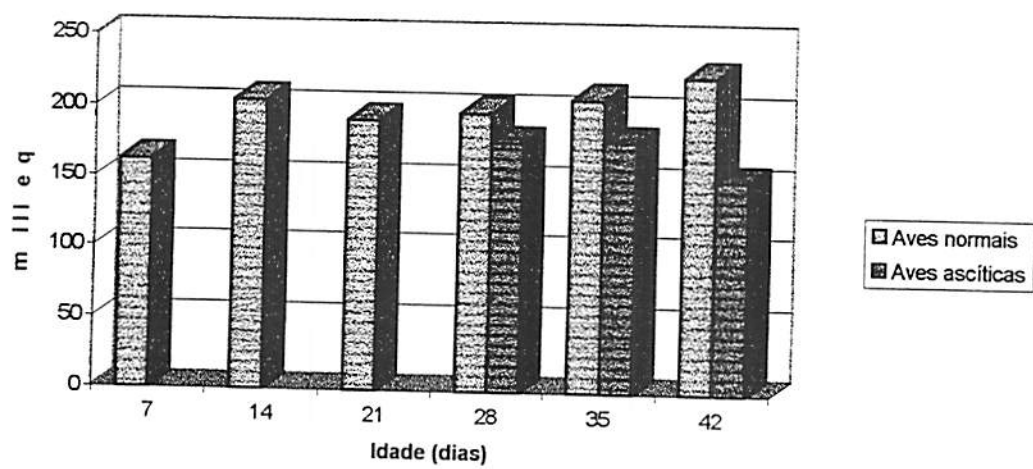


Figura 10 Concentrações plasmáticas de sódio em aves normais e ascíticas nas várias idades.

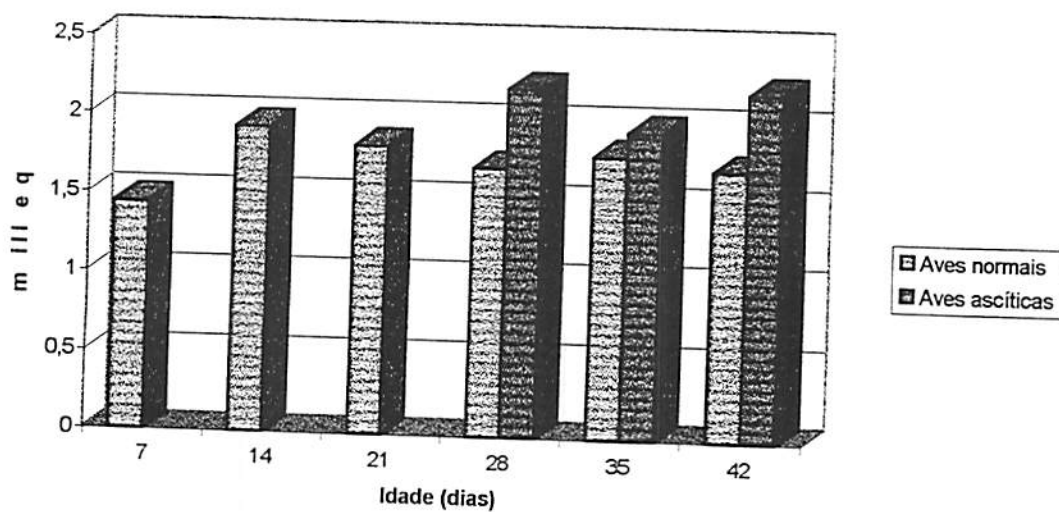


Figura 11 Concentrações plasmáticas de potássio em aves normais e ascíticas nas várias idades.

4.4 Ultraestrutura

Na análise das fotomicrografias de miocárdio dos frangos de corte com síndrome ascítica (Figura 12), constatou-se que o citoplasma aparece rarefeito, apresentando espaços entre as organelas que não são observados nas fotomicrografias de miocárdio de aves normais. Observaram-se, também, mitocôndrias vacuolisadas apresentando cristas irregulares (Figura 13). As alterações observadas no miocárdio de frangos de corte com síndrome ascítica possivelmente são lesões causadas por uma oxigenação inadequada do miocárdio deficiente (hipóxia), que tem a mesma explicação para concentrações plasmáticas de sódio e potássio. Quando a célula é incapaz de controlar as concentração iônicas em seu interior, esta perde o controle da quantidade de líquido em seu interior, o que é conhecido como degeneração hidrópica (Robbins, Kumar e Cotran, 1994; Maxwell, Robertson e Spence, 1986), resultando num comprometimento da atividade celular e conseqüente agravamento do quadro ascítico.

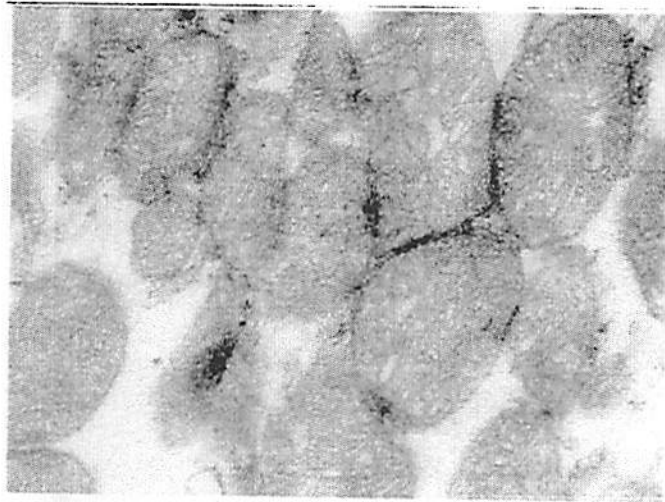


Figura 12 Fotomicrografia de miocárdio de aves ascíticas. (20000x)

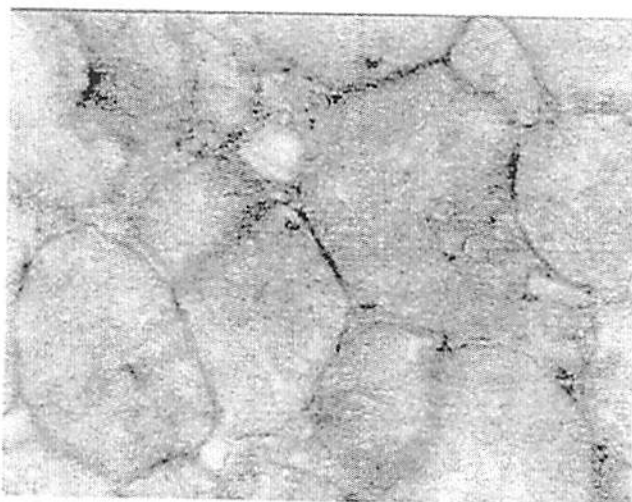


Figura 13 Fotomicrografia de miocárdio de aves normais. (20000x)

5 CONCLUSÕES

A atividade enzimática de succinato desidrogenase é menor nas aves ascíticas, quando comparada com aves normais.

A atividade enzimática de lactato desidrogenase é maior nas aves ascíticas, quando comparada com aves normais.

A atividade específica da succinato e lactato desidrogenase diminui a partir do 21º dia de vida das aves, e sugere a síntese de proteínas como um mecanismo de adaptação fisiológica.

A concentração plasmática de potássio nas aves ascíticas é mais elevada que nas aves normais.

A concentração plasmática de sódio é menor nas aves ascíticas que nas aves normais.

A eletromicrografia de miocárdio de aves ascíticas mostra mitocôndrias vacuolisadas em um citoplasma rarefeito.

Com o melhoramento genético, a incidência de ascite tende a aumentar e novos estudos precisam urgentemente serem realizados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMARAL, A. M.; MUNIZ, J. A.; BERTECHINI, A. G. Estudo comparativo de curvas de crescimento em frangos de corte. **Ciência e Prática**, Lavras, v.16, n.1, p.147-150, 1992.
- AMORIM FILHO, A. S. Aspectos econômicos da ascite em frangos de corte no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE AVICULTURA, 11, Brasília, 1989. **Anais...** Brasília: 1989, p.111-120.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, New York, v.72, p.248-254, 1976.
- DALE, N.; VILLACRE, A. Relationship of two-week body weight to the incidence of ascites in broilers. **Avian Diseases**, New Bolton Center, v.32, n.3, p.556-560, 1988.
- DUKES, M. J.S. **Fisiologia dos animais domésticos**. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 799p.
- GOMES, F.P. Experimentos fatoriais. In: _____. **Curso de estatística experimental**. 12.ed. São Paulo: Nobel, 1987. p.96-125.
- HOERR, F. J. Pathogenesis of ascites. **Poultry Digest**, Sea Isle City, v.46, n.550, p.8-12, 1988.

- JULIAN, R. J. Pulmonary hypertension : a cause of right heart failure, ascites in meat-type chickens. **Feedstuffs**, Mineapolis, v.29, p.19-22, 1990.
- JULIAN, R. J. Ascites in poultry. **Avian Pathology**, Oxon, v.22, p.419 -454, 1993.
- JULIAN, R. J; FRIARS, G. W; FRENCH, H. et al. The relationship of right ventricular hypertrophy, right ventricular failure and ascites to weight gain in broiler and roaster chickens. **Avian Diseases**, New Bolton Center, v.31, n.1, p.130-135, 1987.
- JULIAN, R. J; MCMILLAN, I; QUINTO, M. The effect of cold and dietary energy on right ventricular failure and ascites in meat-type chickens. **Avian Pathology**, Oxon, v.18, n.4, p.675-684, 1989.
- LEENSTRA, F. R. Effect of age, sex, genotype and enviroment on fat deposition in broilers chickens-A review. **World's Poultry Science Journal**, Ithaca, v.42, n.1, p.12-25, 1986.
- LEHNINGER, A, L.; NELSON, D, L.; COX, M. M. Glicólise e o catabolismo das hexoses. In: _____. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995a. p.297-330.
- LEHNINGER, A, L.; NELSON, D, L.; COX, M. M. O ciclo do ácido cítrico. In: _____. **Princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 1995b. p.331-354.
- LOPEZ-COELHO, C.; ARCE, J. M; AVILA, E. G. et al. El síndrome ascítico. In: SEMINARIO INTERNACIONAL DE PATOLOGIA AVIAR, 7, Athens, 1990. **Anais...** Athens: AMEYEA, 1990. p.138-157.
- LOPEZ-COELHO, C.; WIDEMAN, R. F. Ascitis:un importante factor en la mortalidad de asaderos. **Industria Avícola**, Mount Morris, v.33, n.2, p.12-17, 1986.

- MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, 1994. 296p.
- MALAVOLTA, E.; VITTI, G. C.; OLIVEIRA, S. A. **Avaliação do estado nutricional das plantas**. Piracicaba: POTAFOS, 1989. 201p.
- MARTINEZ, D. A.; DIAZ, G. J. Effect of graded levels of dietary nickel and manganese on blood haemoglobin content and pulmonary hypertension in broiler chickens. **Avian Pathology**, Oxon, v.25, p.537-549, 1996.
- MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G.W. Visión panorámica de la ascitis en pollos en el mundo: 1996. **Indústria Avícola**, Mount Mourris, v.44, n.5, p.14-25, 1997. .
- MAXWELL, M.H.; ROBERTSON, G.W.; SPENCE, S. Studies on an ascitic syndrome in young broilers, 2. Ultrastructure. **Avian Pathology**, Oxon, v.15, n.3, p. 525-538, 1986.
- OPORTA, M. E.; RUBIO, M. R. Uso de restricción alimenticia como control parcial del síndrome ascítico. **Veterinária México**, México, v.20, p.193-195, 1989.
- REYNOLDS, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v.17, p.208-212, 1963.
- ROBBINS, S, L.; KUMAR, V.; COTRAN, R, S. Celular injury and cellular death .In: _____. **Pathologic basic of disease**. USA, 1994. p.1-34
- RUBIN, E.; FARBER, J. L. Lesão celular. In: _____. **Patologia Rubin Farber**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1990. p. 2-30.

- SANTOS, C. D.; TERRA, W. R. Plasma membrane-associated amylase and trypsin. Intracellular distribution of digestive enzymes in the midgut of the cassava hornworm, *Erinnyis ello*. **Insect Biochemistry**, Elmsford, v.14, n.5, p.587-594, 1984.
- SCHLEIFER, J. Vírus raros causan enfermedades comunes. **Indústria Avícola**, Mount Morris, v.1, p.12-18, 1995.
- SILVA, J. M. L; DALE, N; LUCHEST, J. B. Effect of pelleted feed on the incidence of ascites in broilers reared at low altitudes. **Avian Diseases**, New Bolton Center, v.32, n.2, p.367-378, 1988.
- STRYER, L. Glicólise .In:____. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992a. p. 290-308.
- STRYER, L. Ciclo do ácido cítrico . In:____. **Bioquímica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992b. p.309-328.
- THOMSON, R.G. **Patologia geral veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 412p.
- WALKER, R. Un nuevo concepto en la fisiología de ascitis. **Indústria Avícola**, Mount Morris, v.40, n.2, p.8-10, 1993.

APÊNDICE

Tabela 1A Quadrados médios e níveis de significancia de Atividade Especifica de Succinato Desidrogenase (AESD), Atividade Especifica de Lactato Desidrogenase (AELD) nas várias idades.

Causas de variação	GL	AESD		AELD	
		QM	Signif.	QM	Signif.
Idade	5	66.04	0.006	14731.10	0.00144
Resíduo	12	11.44		1694.31	

Tabela 2A Quadrados médios e níveis de significancia de Atividade de Succinato Desidrogenase (ASD), Atividade de Lactato Desidrogenase (ALD) nas várias idades.

Causas de variação	GL	ASD		ALD	
		QM	Signif.	QM	Signif.
Idade	5	1067435.89	0.00022	94546610.53	0.004
Resíduo	12	72111.02		14508844.11	

Tabela 3A Quadrados médios e níveis de significancia de Atividade de Succinato Desidrogenase (ASD), Atividade de Lactato Desidrogenase (ALD) nas várias idades.

Causas de variação	GL	ASD		ALD	
		QM	Signif.	QM	Signif.
Ascite	1	6006491.12	0.00003	2946410067.54	0.00001
Idade	5	57003.78	0.5443	32329055.55	0.21289
Asc x Id	2	159842.26	0.2036	136613862.68	0.00807
Resíduo	12	87978.22		18372350.16	

Tabela 4A Quadrados médios e níveis de significancia das concentrações de Sódio e Potássio plasmáticos.

Causas de variação	GL	Na ⁺		K ⁺	
		QM	Signif.	QM	Signif.
Idade	2	0.0000605	0.84233	0.0001834	0.935
Ascite	1	0.0074786	0.00081	0.0230052	0.01328
Asc x Id	2	0.0023431	0.06747	0.0034756	0.32016
Resíduo	12	0.0041583		0.0027681	