



## Efeito de diferentes relações treonina:lisina digestíveis, suplementadas ou não com glicina, sobre a atividade enzimática em pintos de corte

Verônica Maria Pereira Bernardino<sup>1</sup>, Luiz Fernando Teixeira Albino<sup>1</sup>, Horacio Santiago Rostagno<sup>1</sup>, Maria Goreti de Almeida Oliveira<sup>2</sup>, Fabrícia Queiroz Mendes<sup>2</sup>, Cinthia Maria Carlos Pereira<sup>1</sup>, Igor Monteze Ferreira<sup>2</sup>, Rosana Cardoso Maia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Zootecnia.

<sup>2</sup> Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular.

**RESUMO** - O experimento foi conduzido com o objetivo de avaliar o efeito da suplementação de glicina em dietas com diferentes relações treonina:lisina digestíveis sobre a atividade de enzimas que metabolizam a treonina. Foram utilizados 560 pintos de corte machos, linhagem Cobb, durante o período de 8 a 21 dias de idade, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, num arranjo fatorial  $3 \times 2 + 1$ , composto de três relações treonina:lisina digestíveis (55; 65 e 75%), com suplementação ou não de glicina, mais um tratamento adicional, contendo farinha de carne e ossos e com relação treonina:lisina digestíveis de 65%. Utilizaram-se oito repetições por tratamento e 10 aves por unidade experimental alojadas em baterias metálicas. Procedeu-se à coleta total de excretas durante toda a fase experimental. Para determinação da atividade das enzimas treonina aldolase, treonina desidrogenase e treonina desidratase, foram abatidas no final do experimento duas aves por unidade experimental para retirada do fígado. As relações treonina:lisina influenciaram a atividade das três enzimas no fígado: a maior atividade de treonina aldolase foi para a relação de 75%; a de treonina desidrogenase para a relação de 65%, e a de treonina desidratase para a relação de 55%. A suplementação de glicina reduz a atividade de todas as enzimas avaliadas.

Palavras-chave: treonina aldolase, treonina desidratase, treonina desidrogenase

## Effect of different digestible threonine:digestible lysine ratios, with or without glycine supplementation, on the enzymatic activity in broiler chicks

**ABSTRACT** - The experiment was conducted with the objective evaluating the effect of supplementation of glycine in diets with different digestible threonine:digestible lysine ratios on the activity of enzymes that metabolize threonine. Five hundred and sixty male broiler chicks from the Cobb strain were used during the period of 8 to 21 days, distributed in a completely randomized design, in a  $3 \times 2 + 1$  factorial arrangement, with 3 digestible threonine:digestible lysine ratios (55; 65 and 75%), with or without supplementation of glycine, plus an additional treatment, containing meat and bone meal, with a 65% digestible threonine:digestible lysine ratio. Eight repetitions were used per treatment and 10 birds per experimental unit, allotted in metal battery cages. The total excreta collection was performed throughout the whole experimental stage. For the determination of the activity of the threonine aldolase, threonine dehydrogenase and threonine dehydratase enzymes, at the end of the experiment, two birds were slaughtered and had their livers extracted. The threonine:lysine ratios influenced the activity of the three enzymes in the liver; while the greatest activity of the threonine aldolase was for the ratio of 75%, for threonine dehydrogenase it was 65%, and for the threonine dehydratase it was 55%. Supplementation of glycine reduced the activity of all enzymes evaluated.

Key Words: threonine aldolase, threonine dehydratase, threonine dehydrogenase

### Introdução

Uma das respostas bioquímicas de animais alimentados com dietas em desequilíbrio de aminoácidos é a diminuição rápida na concentração do aminoácido limitante no plasma (Leung et al., 1968). Segundo Davis & Austic (1982a; 1994), a redução da concentração do aminoácido

limitante no plasma é ocasionada pelo aumento do seu catabolismo.

A treonina é o terceiro aminoácido limitante em aves alimentadas com dietas à base de milho e farelo de soja. Participa da síntese de proteínas e seu catabolismo gera outros metabólitos importantes no organismo, por exemplo, a glicina (Kidd & Kerr, 1996).

O metabolismo de treonina é realizado pelas enzimas treonina desidratase (classificação da enzima: 4.2.1.16), treonina desidrogenase (classificação da enzima: 1.1.1.103) e treonina aldolase (classificação da enzima: 4.1.2.5) (Figura 1).

O esqueleto de carbono proveniente da L-treonina pela ação da treonina desidratase pode ser utilizado como fonte energética ou para produção de glicose; e a glicina obtida pela ação da treonina desidrogenase e pela treonina aldolase será utilizada para as necessidades metabólicas, como síntese de proteína, serina, ácido úrico, sais biliares e glutatona (Kidd & Kerr, 1996).

Qualquer desvio da treonina para rotas de completa oxidação, produção de glicose ou glicina reduz ainda mais a quantidade de treonina disponível para a síntese proteica (Egan et al., 1983). Quanto maior o nível proteico da dieta, mais visível a deficiência de treonina sobre o crescimento de frangos, confirmando a necessidade de balanço ideal dos níveis de aminoácidos.

Segundo Davis & Austic (1997), o excesso de proteína da dieta promove aumento da atividade da enzima treonina desidrogenase e, conseqüentemente, o aumento do catabolismo da treonina em glicina.

A excreção de nitrogênio das aves ocorre na forma de ácido úrico. A molécula de glicina é importante na formação do ácido úrico e, quando há deficiência desse aminoácido, ocorre o catabolismo de treonina pela ação da treonina desidrogenase e aldolase para obtenção de glicina.

Assim, objetivou-se com este trabalho verificar o efeito da suplementação de glicina em dietas com diferentes relações treonina digestível:lisina digestível sobre a atividade de enzimas que metabolizam a treonina e também verificar se há relação entre a atividade destas enzimas e a quantidade de ácido úrico excretado.

## Material e Métodos

O trabalho foi realizado no setor de Avicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais. Foram utilizados 560 pintos de corte machos, linhagem Cobb, em delineamento inteiramente casualizado, em arranjo fatorial  $3 \times 2 + 1$ , com três relações treonina:lisina digestíveis (55; 65; 75%), suplementação ou não de 0,4% de glicina mais um tratamento adicional com proteína de origem animal (farinha de carne e ossos) com relação treonina:lisina digestíveis de 65%. Dietas com farinha de carne e ossos possuem mais glicina e serina que dietas à base de milho e farelo de soja, por este motivo utilizou-se um tratamento adicional como controle. Foram realizadas oito repetições por tratamento, contendo dez aves por unidade experimental, totalizando 56 unidades experimentais. As aves foram alojadas em baterias metálicas.

As dietas foram formuladas para atender às exigências preconizadas por Rostagno et al. (2005), exceto para treonina e glicina (Tabelas 1 e 2). As demais dietas experimentais foram obtidas por meio da suplementação de L-treonina (98,0%) e de glicina em substituição ao amido.

As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente ao acaso com oito dias de idade recebendo água e as rações experimentais *ad libitum* durante 13 dias.

Procedeu-se à coleta total de excretas, duas vezes ao dia, no período da manhã e à tarde, durante toda a fase experimental (13 dias). Para evitar contaminações e perda de excretas, as bandejas foram revestidas com plástico e colocadas sob o piso de cada unidade experimental.

As excretas foram colocadas em sacos plásticos, devidamente identificados, pesadas e armazenadas a  $-10^{\circ}\text{C}$  até o final do período de coleta. Depois, foram descongeladas

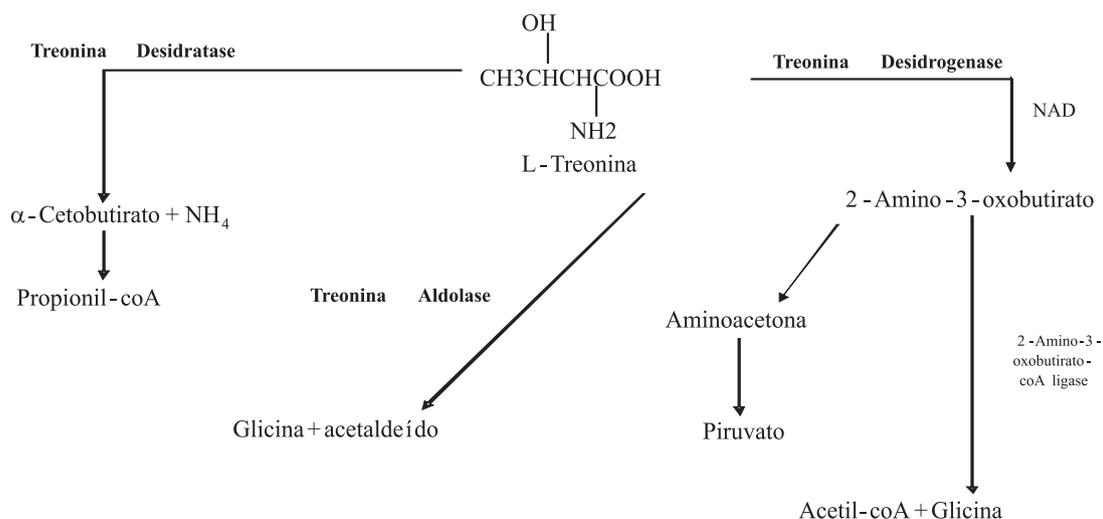


Figura 1 - Catabolismo de treonina (adaptado de Davis & Austic, 1982b).

Tabela 1 - Composição percentual das dietas experimentais

Ingrediente	55%		65%		75%		65%POA
	Suplementação de glicina						
	Sem	Com	Sem	Com	Sem	Com	
Milho	33,477	33,477	33,477	33,477	33,477	33,477	31,946
Sorgo baixo tanino	30,000	30,000	30,000	30,000	30,000	30,000	30,000
Farelo de soja (45%)	29,397	29,397	29,397	29,397	29,397	29,397	28,740
Farinha de carne e sangue (42%)	—	—	—	—	—	—	5,000
Óleo de soja	2,198	2,198	2,198	2,198	2,198	2,198	2,166
Fosfato bicálcico	1,811	1,811	1,811	1,811	1,811	1,811	0,000
Calcário	0,913	0,913	0,913	0,913	0,913	0,913	0,762
Sal comum	0,492	0,492	0,492	0,492	0,492	0,492	0,429
L-lisina-HCl (99%)	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350	0,350	0,270
DL-metionina (98%)	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,300	0,284
L-arginina	0,048	0,048	0,048	0,048	0,048	0,048	—
L-valina	0,049	0,049	0,049	0,049	0,049	0,049	—
L-treonina (98%)	—	—	0,116	0,116	0,233	0,233	0,087
Amido	0,650	0,250	0,534	0,134	0,417	0,017	—
Glicina	—	0,400	—	0,400	—	0,400	—
Cloreto de colina (60%)	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura vitamínica <sup>1</sup>	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100	0,100
Mistura mineral <sup>2</sup>	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Anticoccidiano <sup>3</sup>	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055	0,055
Antioxidante <sup>4</sup>	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010	0,010
Valores calculados							
Proteína bruta, %	19,158	19,158	19,158	19,158	19,158	19,158	20,652
Energia metabolizável (kcal/kg)	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000	3,000
Cálcio, %	0,884	0,884	0,884	0,884	0,884	0,884	0,884
Fósforo disponível, %	0,442	0,442	0,442	0,442	0,442	0,442	0,444
Sódio	0,223	0,223	0,223	0,223	0,223	0,223	0,227
Arginina digestível, %	1,203	1,203	1,203	1,203	1,203	1,203	1,397
Metionina digestível, %	0,559	0,559	0,559	0,559	0,559	0,559	0,559
Metionina + cistina digestível, %	0,814	0,814	0,814	0,814	0,814	0,814	0,814
Triptofano digestível, %	0,209	0,209	0,209	0,209	0,209	0,209	0,209
Valina digestível, %	0,860	0,860	0,860	0,860	0,860	0,860	0,860
Lisina digestível, %	1,146	1,146	1,146	1,146	1,146	1,146	1,146
Treonina digestível, %	0,631	0,631	0,745	0,745	0,860	0,860	0,745
Glicina + serina total, %	1,698	2,100	1,698	2,100	1,698	2,100	2,081

<sup>1</sup> Suplemento mineral (níveis de garantia por quilo de ração): manganês - 80,0 mg; ferro - 50,0 mg; zinco - 50,0 mg; cobre - 10,0 mg; cobalto - 1,0 mg; iodo - 1,0 mg.

<sup>2</sup> Suplemento vitamínico (níveis de garantia por quilo de ração): vitamina A - 10.000 UI; vitamina D3 - 2.000 UI; vitamina E - 30 UI; vitamina B1 - 2,0 mg; vitamina B6 - 4,0 mg; ácido pantotênico - 12,0 mg; biotina - 0,10 mg; vitamina K3 - 3,0 mg; ácido fólico - 1,0 mg; ácido nicotínico - 50,0 mg; vitamina B12 - 15 µg; selênio - 0,25 mg.

<sup>3</sup> Coxistac (salinomicina 12%).

<sup>4</sup> Butil-hidroxi-tolueno.

POA = proteína de origem animal.

à temperatura ambiente e homogêneas. Alíquotas de 400 g foram retiradas e mantidas em estufas ventiladas com temperatura de 65 °C pelo período de 72 horas e posteriormente pesadas. Por fim, as amostras foram moídas para realização das análises laboratoriais.

Para a análise da atividade enzimática das enzimas treonina aldolase, treonina desidrogenase e treonina desidratase no fígado, foram abatidas duas aves por parcela ao final do período experimental. O fígado foi macerado e homogêneo após o congelamento por nitrogênio líquido adicionando-se tampão cloreto de potássio (KCl) 0,14 M na proporção de uma parte de tecido e quatro do tampão (Davis, 1982b).

A análise de proteína do tecido foi realizada pelo método colorimétrico Bradford (1976). Foram misturados

990 µL do homogêneo de fígado preparado e 10 µL de água destilada. Foram pipetados no tubo 50 µL desta mistura e acrescentados 750 µL de água destilada. Para o branco, pipetaram-se 800 µL de água destilada. Por fim, foram acrescentados 200 µL do reativo de Bradford, que foram agitados para determinação da absorbância da amostra em 595 nanômetros, realizada após 10 minutos. A curva-padrão foi construída utilizando-se soro albumina bovina.

A determinação da atividade da treonina aldolase foi feita pelo método de Malkin & Greenberg (1964) modificado por Palekar (1973). A reação ocorreu com a mistura de 0,4 mL de tampão fosfato-potássio (100 µmoles), pH 7,3, 0,1 mL de L-treonina (40 µmoles), 0,1 mL de piridoxal-5-fosfato (10 nmoles), 0,1 mL de dithiothreitol (1 µmol),

Tabela 2 - Valores analisados de aminoácidos e de proteína bruta das dietas experimentais, expressos em %

Aminoácido	55%		65%		75%		65%POA
	SG	CG	SG	CG	SG	CG	
Proteína bruta	20,20	20,70	19,88	20,98	21,16	21,22	22,56
Metionina	0,568	0,540	0,532	0,555	0,586	0,530	0,547
Cistina	0,299	0,356	0,348	0,308	0,319	0,306	0,324
Metionina + cistina	0,867	0,896	0,880	0,863	0,905	0,793	0,871
Lisina	1,200	1,130	1,143	1,162	1,363	1,259	1,328
Arginina	1,173	1,096	1,324	1,020	1,359	1,317	1,416
Treonina	0,701	0,660	0,762	0,750	0,998	0,917	0,882
Glicina	0,750	1,061	0,749	1,107	0,826	1,171	1,112
Serina	0,939	0,921	0,956	0,917	1,062	0,970	1,060
Glicina + serina	1,689	1,982	1,705	1,997	1,888	2,141	2,172
Lisina (%)*	0,313	0,259	0,260	0,307	0,325	0,278	0,224
Treonina (%)*	0,028	0,026	0,125	0,146	0,274	0,240	0,118

SG = sem suplementação de glicina, CG = com suplementação de glicina, POA = proteína de origem animal.

\*Aminoácido industrial adicionado analisado.

0,1 mL de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH, 150 nmoles), e 0,1 mL de álcool desidrogenase (35 unidades), e 0,1 mL do homogeneizado (volume final, 1 mL). Determinou-se a atividade enzimática pela variação da absorbância da amostra em 740 nanômetros, durante 150 segundos.

A determinação da atividade da treonina desidrogenase foi realizada pelo método modificado de Davis (1982b). Foram misturados 0,6 mL do homogeneizado, 1,3 mL de água destilada, 0,6 mL de Tris HCl 0,1M pH 9,5 e 0,7 mL de L-treonina 0,5 M pH 9,5. Incubou-se a mistura em banho-maria, a 37 °C durante três minutos adicionando-se 3,0 mL de nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD 3,3 mg/mL) em pH 9,5 para iniciar a reação. Após 30 minutos a 37 °C, adicionou-se 0,5 mL de ácido tricloroacético 35%, para finalizar a reação. As amostras foram mantidas a 0°C por uma hora. Centrifugou-se a mistura a 23.500 g por 10 minutos. Foram retirados 2,0 mL do sobrenadante. Ao sobrenadante foi adicionado 0,5 mL de hidróxido de sódio (NaOH) e 0,25 mL de uma solução saturada de ácido pícrico. Após homogeneização, a mistura foi mantida a 0°C por mais dez minutos. Em seguida, adicionou-se 0,5 mL de NaOH 0,5M a 5 °C e homogeneizou-se a mistura mantendo a 0 °C por 6 minutos. Adicionou-se 1,75 mL de ácido clorídrico (HCl 4,0M) e homogeneizou-se. A mistura foi mantida a 25 °C e, após dez minutos, determinou-se a absorbância da amostra em 495 nanômetros.

A determinação da atividade da treonina desidratase foi feita pelo método de Nishimura & Greenberg (1961) modificado por Davis (1982b). Foram misturados 0,4 mL do homogeneizado, 1,8 mL de água destilada e 0,4 mL de Tris HCl 0,1 M pH 9,5. Incubou-se a mistura em banho-maria, a 37 °C, durante três minutos. Foi adicionado 0,4 mL de L-treonina pH 9,5 para iniciar a reação. Após 30 minutos a 37 °C, adicionou-se 0,5 mL de ácido tricloroacético 35%

para finalizar a reação. As amostras foram colocadas a 0 °C por uma hora. Em seguida, centrifugou-se a mistura a 23500 g por 10 minutos. Do sobrenadante foram retirados 2,0 mL, que foram misturados com 0,5 mL de ácido 2,4-dinitrofenildrazime e homogeneizados. Após homogeneização, as amostras foram mantidas a 25 °C por dez minutos, acrescidas de 3,0 mL de hidróxido de sódio 2,5 M e homogeneizadas. A mistura foi mantida a 25 °C e, após dez minutos, determinou-se a absorbância da amostra em 515 nanômetros.

Nas amostras de excretas secas e moídas, procedeu-se à análise de ácido úrico utilizando-se *kit* laboratorial (Labtest Diagnóstica). O ácido úrico é oxidado pela uricase à alantoína e peróxido de hidrogênio. O peróxido de hidrogênio, na presença da peroxidase, reage com dihidroxibenzenosulfônico (DHBS) e 4 aminoantipirina, formando o cromogênio de antipirilquinonimina. A intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração de ácido úrico na amostra. Absorbância foi medida em 520 nanômetros.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias das relações treonina digestível:lisina digestível comparadas pelo teste de Student-Newman-keul's, a 5,0% de probabilidade. Adicionalmente, as médias foram comparadas ao tratamento controle por meio da análise de contrastes entre a média de cada tratamento e a média do tratamento controle. As análises estatísticas das variáveis foram realizadas pelo programa estatístico SAEG (UFV, 2000).

## Resultados e Discussão

Para a atividade da treonina aldolase, houve interação entre as relações treonina:lisina digestíveis e a suplementação ou não de glicina (Tabela 3). As aves que receberam

Tabela 3 - Atividade específica enzimática no fígado de pintos de corte no período de 8 a 21 dias de idade alimentados com rações com diferentes relações treonina:lisina digestível

Enzimas	Glicina	Relação treonina:lisina (%)			Média	Farinha de carne	CV (%)
		55	65	75			
Treonina aldolase	Sem	0,78bA*	1,03aA*	1,10aA*	0,97A	1,24*	13,78
	Com	0,54cB*	0,97bA*	1,10aA*	0,87B		
	Média	0,66c	1,00b	1,10a			
Treonina desidrogenase	Sem	2,92bA*	6,03aA*	2,10 bA	3,68A	1,55*	29,22
	Com	2,93aA*	2,10abB	1,55bA	2,19B		
	Média	2,93b	4,07a	1,82c			
Treonina desidratase	Sem	3,01*	2,68*	2,44*	2,71A	1,67*	15,07
	Com	2,34*	2,13*	2,13*	2,20B		
	Média	2,68a	2,41b	2,28b			

<sup>ab</sup> Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma linha são diferentes (P<0,05) pelo teste SNK.

<sup>AB</sup> Médias seguidas por letras minúsculas diferentes na mesma coluna são diferentes (P<0,05) pelo teste SNK.

CV = coeficiente de variação.

\* Contraste *versus* o tratamento com farinha de carne significativo (P<0,05).

Atividade de treonina aldolase:  $\mu\text{M}$  de acetaldeído/ min. mg de proteína.

Atividade de treonina desidrogenase ( $10^{-3}\mu\text{M}$  de aminoacetona/30 min.mg de proteína).

Atividade de treonina desidratase ( $10^{-3}\mu\text{M}$  de  $\alpha$ -cetobutirato/30 min.mg de proteína).

ração com a relação de 55% de treonina:lisina digestíveis, a atividade de treonina aldolase foi menor (P<0,05) quando houve suplementação com glicina, comprovando que, com níveis baixo de treonina, a adição de glicina foi importante para reduzir a conversão de treonina em glicina. Nas aves que receberam ração com a relação de 65 e de 75 % treonina digestível: lisina digestível, não houve diferença significativa (P>0,05) com relação à adição ou não de glicina (Tabela 3).

As relações treonina: lisina digestível influenciaram a atividade da treonina aldolase no fígado (P<0,05), que aumentou com a concentração de treonina na dieta. As aves que consumiram ração contendo relação de 55% treonina:lisina digestíveis tiveram menor atividade da treonina aldolase no fígado e esta atividade aumentou com a relação treonina:lisina digestíveis (Tabela 3). Resultado contrário foi observado por Davis e Austic (1982 a), que suplementaram a dieta basal com 0,2; 0,4; e 1,2% de treonina, e verificaram que a treonina aldolase foi pouco afetada pelos níveis de treonina da dieta.

As aves alimentadas com dietas suplementadas com glicina apresentaram menor atividade da treonina aldolase no fígado (P<0,05) em comparação àquelas alimentadas com dieta sem suplementação de glicina e isso indica que a suplementação de glicina poupa a treonina de ser usada para obtenção de glicina.

As aves submetidas ao tratamento controle, com farinha de carne e ossos, foram as que apresentaram maior atividade (P<0,05) da treonina aldolase no fígado, provavelmente devido ao maior nível proteico da dieta.

Para atividade de treonina desidrogenase, também houve interação entre as relações treonina:lisina digestíveis e a suplementação (P<0,05) de glicina (Tabela 3). Para os tratamentos sem adição de glicina, a atividade foi maior

para a relação de 65% treonina digestível:lisina digestível. Com a adição de glicina e com o aumento da relação treonina digestível:lisina digestível, observou-se diminuição da atividade de treonina desidrogenase.

As relações de treonina:lisina digestíveis proporcionaram atividades diferentes da treonina desidrogenase no fígado (P<0,05), e essa atividade foi maior nas aves alimentadas com dieta formulada com a relação de 65% treonina:lisina digestíveis. A suplementação com glicina induziu a uma redução significativa da atividade da treonina desidrogenase (P<0,05) no fígado. A dieta com farinha de carne e ossos proporcionou às aves menor (P<0,05) atividade da treonina desidrogenase no fígado.

Davis & Austic (1982b), utilizando Leghorn brancos, machos e fêmeas, alimentados com dietas contendo 0,7% de treonina, 1,0% de glicina e 0,8% de serina, avaliaram a atividade das enzimas que catabolizam a treonina e a distribuição destas enzimas no cérebro, no fígado, no pâncreas, no músculo de peito e no coração. Esses autores observaram valores de 6,18  $\mu\text{M}$  de aminoacetona formada em 30 minutos por grama de pâncreas e de 1,17  $\mu\text{M}$  de aminoacetona formada em 30 minutos por grama de fígado para a atividade de treonina desidrogenase. Este estudo comprova que a atividade desta enzima é cerca de cinco vezes maior no pâncreas que no fígado, sugerindo que o metabolismo de treonina pela ação da treonina desidrogenase ocorre em maior importância no pâncreas que no fígado. Portanto, os resultados encontrados para a atividade da treonina desidrogenase no fígado podem ter menor importância fisiológica, uma vez que a atividade desta enzima é maior no pâncreas.

Para a atividade da enzima treonina desidratase, não houve interação entre as relações treonina:lisina digestíveis

e a adição de glicina (Tabela 3). Entretanto, essas relações tiveram efeito ( $P < 0,05$ ) sobre a atividade da treonina desidratase no fígado. A maior atividade foi observada nas aves alimentadas com a dieta com relação de 55% treonina:lisina digestíveis e este valor diminuiu com o aumento da relação treonina:lisina. Este resultado difere daqueles reportados por Davis & Austic (1982 a), que não observaram alteração na atividade da treonina desidratase no fígado de pintinhos alimentados com dieta basal suplementada com treonina.

A suplementação de glicina reduziu ( $P < 0,05$ ) a atividade da treonina desidratase no fígado, indicando que a deficiência de glicina aumenta a atividade de todas as enzimas que catabolizam a treonina. As aves alimentadas com a dieta contendo farinha de carne e ossos apresentaram menor atividade da enzima treonina desidratase em relação aos outros tratamentos ( $P < 0,05$ ), indicando que a dieta com proteína de origem animal ocasionou menor produção de glicina ou piruvato que a dieta contendo proteína de origem vegetal.

A atividade das três enzimas analisadas no fígado foi influenciada pelos níveis de treonina da dieta (Tabela 3), resultado diferente do encontrado por Davis & Austic (1982a), que concluíram que a treonina desidrogenase foi a única enzima influenciada pelo nível de treonina da dieta. Os autores consideraram a atividade da treonina desidrogenase baixa em relação à das demais, contudo, em outro estudo demonstraram que a enzima treonina desidrogenase é amplamente distribuída nos tecidos dos pintinhos (Davis & Austic, 1982b).

Segundo House et al. (2001), a oxidação de treonina pode ser classificada em duas vias distintas: glicina dependente (treonina desidrogenase e treonina aldolase) e glicina independente (treonina desidratase). Entretanto, para todas as enzimas envolvidas no catabolismo de treonina, houve redução da atividade com a adição de glicina à dieta. A redução da atividade foi de 10,31% para treonina aldolase; 40,49% para treonina desidrogenase; e 18,82% para treonina desidratase.

O catabolismo do esqueleto carbônico da glicina leva à produção de piruvato (Nelson & Cox, 2006). Portanto, a oxidação de glicina a  $\text{CO}_2$  ou sua conversão à glicose pode ser uma das causas da diminuição da atividade da treonina desidratase na presença de glicina. A produção de piruvato a partir da glicina torna desnecessária a produção de propionil-CoA a partir da treonina.

A redução da atividade da degradação de treonina pela via dependente de glicina também foi observada por House et al. (2001) em estudo no qual avaliaram a produção de  $^{14}\text{CO}_2$  utilizando treonina com  $^{14}\text{C}$  na posição 1 em

hepatócitos de ratos. Quando os hepatócitos foram incubados com cisteamina (inibidor da clivagem de glicina), houve redução de 24% da produção de  $^{14}\text{CO}_2$ .

A conversão de treonina em glicina pela treonina desidrogenase produz também acetil-CoA. Para a produção de acetil-CoA, é necessária a coenzima A, que é formada a partir de ácido pantotênico (vitamina) e em número limitado na célula. Para que as reações que necessitam de coenzima A possam ter continuidade, no fígado, o acetil-CoA pode ser convertido a corpos cetônicos (acetoacetato,  $\beta$ -hidroxibutirato e acetona) para liberação de coenzima-A para que os processos metabólicos dela dependentes possam continuar ocorrendo. Os corpos cetônicos acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato podem ser oxidados para obtenção de energia por tecidos extra-hepáticos. Entretanto, a acetona produzida segue para a corrente sanguínea e é volatilizada (Nelson & Cox, 2006). Quando a degradação de treonina provoca o aparecimento de corpos cetônicos, em especial a acetona, os carbonos provenientes da treonina não são utilizados para síntese proteica nem para formação de glicose ou glicina ou para obtenção de energia. A adição de glicina às dietas é benéfica, pois diminui a atividade das enzimas do catabolismo de treonina, diminuindo a produção de corpos cetônicos e aumentando a quantidade de treonina disponível para a síntese proteica.

A suplementação ou não de glicina em dietas para pintos de corte não influencia ( $P > 0,05$ ) a excreção de ácido úrico (Tabela 4).

Não houve interação ( $P = 0,45$ ) entre as relações treonina digestível:lisina digestível e a suplementação ou não de glicina para a excreção de ácido úrico, que, nas aves que consumiram a dieta contendo farinha de carne e ossos, não diferiu da observada nas aves que se alimentaram da dieta vegetal, fato que diverge dos resultados encontrados por Hevia & Clifford (1977), que observaram que o metabolismo de ácido úrico é influenciado pela quantidade de proteína

Tabela 4 - Excreção de ácido úrico (g) em pintos de corte alimentados com rações formuladas com diferentes relações treonina:lisina suplementadas ou não com glicina no período de 8 a 21 dias de idade

Glicina	Nível (%)			Média
	55	65	75	
Sem	1,536	1,520	1,488	1,515
com	1,552	1,550	1,315	1,472
Média	1,544	1,535	1,402	CV = 14,07%
Controle (farinha de carne e ossos)	1,593			

ANOVA fatorial, principais efeitos: relação treonina:lisina (ns,  $p = 0,37$ ). Glicina (ns,  $p = 0,85$ ). Nível  $\times$  glicina (ns,  $P = 0,45$ ).

da dieta, de modo que nível maior de proteína ocasiona maior excreção de ácido úrico.

### Conclusões

A suplementação de glicina reduz a atividade de todas as enzimas avaliadas por diminuir a necessidade de obtenção de glicina a partir da treonina, aumentando, assim, a disponibilidade de treonina para síntese proteica. Entre as enzimas avaliadas, a treonina aldolase é a de maior atividade no fígado das aves. A excreção de ácido úrico não é influenciada pela suplementação de glicina nem pelos níveis de proteína e treonina da dieta.

### Referências

- BRADFORD, M.M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein dye binding. **Analytical Biochemistry**, v.72, p.248, 1976.
- DAVIS, A.J.; AUSTIC, R.E. Dietary threonine imbalance alters threonine dehydrogenase activity in isolated hepatic mitochondria of chicks and rats. **The Journal of Nutrition**, v.124, p.1667-1677, 1994.
- DAVIS, A.J.; AUSTIC, R.E. Dietary protein and amino acid levels alter threonine dehydrogenase activity in hepatic mitochondria of *Gallus domesticus*. **The Journal of Nutrition**, v.127, p.738-744, 1997.
- DAVIS, A.T.; AUSTIC, R.E. Threonine metabolism of chicks fed threonine-imbalanced diets. **The Journal of Nutrition**, v.112, p.2177-2186, 1982a.
- DAVIS, A.T.; AUSTIC, R.E. Threonine-degrading enzymes in the chicken. **Poultry Science**, v.61, p.2107-2111, 1982b.
- EGAN, A.R.; MACRAE, J.C.; LAMB, C.S. Threonine metabolism in sheep. **British Journal of Nutrition**, v.49, p.373-383, 1983.
- HEVIA, P.; CLIFFORD, A.J. Protein intake, uric acid metabolism and protein efficiency ratio in growing chicks. **The Journal of Nutrition**, v.107, p.959-964, 1977.
- HOUSE, J.D.; HALL, B.N.; BROSNAN, J.T. Threonine metabolism in isolated rat hepatocytes. **American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism**, v.281, p.300-307, 2001.
- KIDD, M.T.; KERR, B.J. L-Threonine for poultry: a review. **Journal Applied Poultry Research**, v.5, p.358-367, 1996.
- LEUNG, P.M.B.; ROGERS, Q.R.; HARPER, A.E. Effect of amino acid imbalance on plasma and tissue free amino acids in the rat. **The Journal of Nutrition**, v.96, p.303-318, 1968.
- NELSON, D.L.; COX, M.M. **Lehninger: princípios de bioquímica**. São Paulo: Sarvier, 2006. p.1202.
- PALEKAR, A.G.; TATE, S.S.; MEISTER, A. Rate liver aminomalonate descarboxylase. **The Journal of Biological Chemistry**, v.248, n.4, p.1158-1167, 1973.
- ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE, J.L. et.al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2005. 141p.
- UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA - UFV. **SAEG – Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas**. Versão 8.0. Viçosa, MG: 2000. 59p. (Manual do usuário).