



BIANCA SACRAMENTO BARROS

**INTERAÇÃO RACTOPAMINA E HORMÔNIO
DO CRESCIMENTO NO METABOLISMO DE
RATAS HIPOFISECTOMIZADAS**

**LAVRAS - MG
2013**

BIANCA SACRAMENTO BARROS

**INTERAÇÃO RACTOPAMINA E HORMÔNIO DO CRESCIMENTO
NO METABOLISMO DE RATAS HIPOFISECTOMIZADAS**

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 obtenção de título de “Mestre”.

Orientador

Dr. Raimundo Vicente de Sousa

Coorientadores

Dr. Márcio Gilberto Zangerônimo

Dr. Luciano José Pereira

**LAVRAS - MG
2013**

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

Barros, Bianca Sacramento.

Interação ractopamina e hormônio do crescimento no
metabolismo de ratas hipofisectomizadas / Bianca Sacramento
Barros. – Lavras : UFLA, 2013.

63 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Raimundo Vicente de Sousa.

Bibliografia.

1. Hipofisectomia. 2. Agonista beta adrenérgico. 3. Hormônio do
crescimento. 4. Endocrinologia. 5. Modificadores de carcaça. I.
Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.089239

BIANCA SACRAMENTO BARROS

**INTERAÇÃO RACTOPAMINA E HORMÔNIO DO CRESCIMENTO
NO METABOLISMO DE RATAS HIPOFISECTOMIZADAS**

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 obtenção de título de Mestre.

APROVADA em 28 de fevereiro de 2013

Dr. Márcio Gilberto Zangerônimo	UFLA
Dr. Luciano José Pereira	UFLA
Dr. Marcelo Eustáquio Silva	UFOP

Dr. Raimundo Vicente de Sousa

Orientador

**LAVRAS
2013**

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela força para superar diversos obstáculos, por me dar calma e sabedoria para atravessar dificuldades e por me ajudar a sempre dar tudo certo no fim!

Agradeço a minha mamãe Luciene, meu pai Adão e minha irmã Jéssica, pelo carinho, compreensão, amor incondicional e por me acalmar sempre nas horas difíceis;

Agradeço ao professor Raimundo, o qual considero como meu segundo pai, que sempre esteve presente nos meus estudos e no meu caminho profissional, sempre me orientando, apoiando, ajudando e me salvando de enrascadas experimentais! Obrigada pela confiança e pelo exemplo de caráter e profissionalismo!

Agradeço à Ourofino Agronegócios pela oportunidade da realização da hipofisectomia nos animais do experimento.

Agradeço aos professores Márcio e Vinicius por me ajudarem na parte “complexa” de resultados e discussão do meu mestrado e me acalmarem com palavras de conforto nas horas que batia a aflição.

Agradeço ao professor Marcelo pela doação dos animais para o experimento.

Agradeço também ao Willian, a Tauany, Leonardo, Raquel, Vivian, César, Karen, Rafael, por me ajudarem ao longo do projeto por horas e horas, mesmo tendo seus próprios experimentos e compromissos.

Agradeço à Minnie por sempre querer brincar nas horas em que eu precisava estudar.

Agradeço em especial ao meu amor Filipe, sem o qual não teria conseguido chegar até aqui com calma e tranquilidade. Obrigada pelas palavras, pela compreensão (principalmente no final do experimento, quando nem eu estava me aguentando mais...), pela dedicação, pelo carinho, pelo companheirismo até mesmo no laboratório durante a madrugada ressuscitando ratinhos... Obrigada por me trazer conforto nas horas mais difíceis e por ser o amor da minha vida, com quem eu quero passar o resto dos meus dias! Te amo!

“Dizem que a vida é para quem sabe viver, mas ninguém nasce pronto. A vida é para quem é corajoso o suficiente para se arriscar e humilde bastante para aprender”

Autor desconhecido

“O êxito da vida não se mede pelos caminhos que você conquistou, mas sim pelas dificuldades que você superou!”

Abraham Lincon

RESUMO

Na produção animal o uso de promotores de crescimento como, por exemplo, a ractopamina e o hormônio de crescimento, no intuito de aumentar a massa muscular e melhorar a composição da carcaça vêm aumentando com o passar dos anos. O objetivo deste estudo foi analisar a interação dessas duas substâncias no metabolismo de ratas hipofisectomizadas. Foram utilizadas 30 ratas *Fisher* fêmeas jovens por 14 dias, com peso médio inicial de 200 ± 40 g, as quais foram distribuídas de acordo com um delineamento experimental inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 2 + 1$, sendo 4 tratamentos formados por 24 animais hipofisectomizados (um grupo formado por animais que não receberam tratamento com ractopamina e/ou GH (Hormônio de Crescimento); um grupo experimental contendo animais tratados com ractopamina na dose de 80mg/kg/dia por gavagem; um grupo experimental contendo animais tratados com GH na dose de 4 mg/kg/dia via subcutânea e um grupo experimental contendo animais tratados com ractopamina e GH nas doses de 80mg/kg/dia por gavagem e 4mg/kg/dia via subcutânea respectivamente, sendo que a ractopamina foi dividida em duas doses diárias e o GH foi administrado em dose única pela manhã, e um tratamento formado por 6 animais não hipofisectomizados e não tratados com ractopamina e/ou GH. O uso da ractopamina associada ao GH resultou em maior ganho de peso ($p < 0,05$), tendo aumento no consumo de ração, água, eficiência alimentar e produção urinária ($p < 0,05$), mas o rendimento de carcaça foi menor com o uso da ractopamina. O peso do coração e dos rins diminuiu nos grupos tratados com ractopamina e/ou GH em comparação com o grupo controle ($p < 0,05$), o peso do fígado e do baço diminuiu quando comparado aos animais não hipofisectomizados ($p < 0,05$), o peso do pulmão e do intestino aumentou nos grupos tratados somente com ractopamina ($p < 0,05$). A associação da ractopamina com o GH modificou a carcaça do animal proporcionando aumento na proteína bruta e umidade ($p < 0,05$) e redução do extrato etéreo ($p < 0,05$). O uso da ractopamina proporcionou um aumento no colesterol total e uma diminuição no peptídeo C ($p < 0,05$). O nível de triacilgliceróis foi menor nos animais tratados com ractopamina e com GH ($p < 0,05$). Os níveis de glicose foram maiores nos animais tratados com GH e sem ractopamina ($p < 0,05$), ao contrário do IGF-1 que apresentou níveis maiores nos animais tratados sem GH e com ractopamina ($p < 0,05$). Conclui-se que a associação das duas substâncias altera a composição corporal e as características da carcaça dos animais.

Palavras-Chave: Hipofisectomia. Modificador de carcaça. Ratos.

ABSTRACT

In animal production the use of growth promoters such as, for example, ractopamine and growth hormone in order to increase muscle mass and improve carcass composition have been increasing over the years. The objective of this study was to analyze the interaction of these two substances in the metabolism of hypophysectomized mice. Thirty young female mice Fisher were used for 14 days, with an average initial weight of 200 ± 40 g, which were distributed according to a completely randomized design in a factorial $2 \times 2 + 1$, 4 treatments consisting of 24 hypophysectomized animals (a group consists of animals that received no treatment with ractopamine and/or GH, an experimental group containing treated animals with ractopamine at the dosage of 80mg/kg/day by gavage, an experimental group containing treated animals with GH at the dosage of 4 mg/kg/day via subcutaneous and experimental group containing treated animals with ractopamine and GH at the dosage of 80mg/kg/day by gavage and 4mg/kg/day via subcutaneous respectively, and ractopamine was divided into two daily dosage and GH was administered as a single dosage in the morning, and a treatment consisted of 6 animals non hypophysectomized and non treated with ractopamine and/or GH. The ractopamine use associated to GH resulted in greater weight gain ($p < 0.05$) with increase in feed intake, water, feed efficiency and urinary production ($p < 0.05$), but the carcass yield was lower with the ractopamine use. The weight of heart and kidney decreased in the groups treated with ractopamine and/or GH as compared with the control group ($p < 0.05$), the weight of liver and spleen was reduced when compared to non hypophysectomized animals ($p < 0.05$), the weight of the lung and gut increased in groups treated only with ractopamine ($p < 0.05$). The ractopamine association with GH modified the animal carcass providing an increase in crude protein and moisture ($p < 0.05$) and reduction of the ether extract ($p < 0.05$). The ractopamine use provided an increase in total cholesterol and a decrease in peptide C ($p < 0.05$). The triglyceride level was lower in animals treated with ractopamine and with GH ($p < 0.05$). Glucose levels were higher in animals treated with GH and without ractopamine ($p < 0.05$), as opposed to IGF-1 that showed higher levels in treated animals without GH and with ractopamine ($p < 0.05$). It is conclude that the combination of the two substances alters body composition and carcass characteristics of the animals.

Keywords: Hypophysectomy. Carcass modifier. Mice.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mecanismo de ação dos agonistas β -adrenérgicos, em que: ABA: agonista β -adrenérgico, βAR: receptor β -adrenérgico, Gs: proteína estimulatória, AC: enzima adenilato ciclase, ATP: trifosfato de adenosina, AMPc: monofosfato cíclico de adenosina, PKA: proteína quinase A, E: enzima, EPO4: enzima fosforilada 17
Figura 2	Aparelho para a realização da hipofisectomia transauricular 25
Figura 3	Rato em posição correta para a realização da hipofisectomia transauricular 26
Figura 4	Método da hipofisectomia transauricular 26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Variação de peso, consumo de ração, consumo de águas e volume urinário de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e GH.....	32
Tabela 2	Peso relativo de órgãos de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e hormônio de crescimento (GH)	34
Tabela 3	Composição da carcaça de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e hormônio do crescimento (GH).....	36
Tabela 4	Colesterol total, triacilgliceróis, glicose, IGF-1 e peptídeo C de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e hormônio do crescimento (GH).....	37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Ractopamina	15
2.2	Eixo somatotrófico (GH/IGF-1)	19
2.3	Ações do GH mediadas ou não pelo IGF-1	23
2.4	Hipofisectomia	25
3	MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1	Animais e instalações	28
3.2	Delineamento experimental	28
3.3	Procedimento experimental	28
3.4	Metodologia e análise do sangue	31
3.5	Análise estatística	31
4	RESULTADOS	32
4.1	Variação de peso, consumo de ração, consumo de água e volume urinário	32
4.2	Peso relativo de órgãos	33
4.3	Composição da carcaça	35
4.4	Parâmetros bioquímicos sanguíneos	36
4.5	Histopatologia	38
5	DISCUSSÃO	39
5.1	Variação de peso, consumo de ração, consumo de água e volume urinário	39
5.2	Peso relativo de órgãos	41
5.3	Composição da carcaça	42
5.4	Parâmetros bioquímicos sanguíneos	43
6	CONCLUSÃO	46

REFERÊNCIAS	47
ANEXOS	56

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos um grande progresso foi alcançado no entendimento dos mecanismos de ação dos modificadores metabólicos que aumentam o desempenho produtivo e melhoram as características de carcaça dos animais de produção. Hoje esses estudos são importantes devido à necessidade constante de aprimorar o desempenho dos animais e levar ao consumidor um produto final mais saudável.

O IGF-1 (hormônio de crescimento semelhante à insulina), principal somatomedina mediadora do GH, está relacionado com a captação de aminoácidos, síntese de proteínas, inibição de proteólise, além de estimular o crescimento animal gerando um efeito anabolizante.

A ractopamina, análoga das catecolaminas, também atua como promotor de crescimento através do aumento da massa muscular, gerando um maior rendimento da carne magra da carcaça.

Um grande número de experimentos envolvendo o uso de alguns hormônios e agonistas β -adrenérgicos sintéticos, tais como o GH (hormônio de crescimento) e a ractopamina respectivamente, tem possibilitado expandir os conhecimentos acerca da capacidade genética de crescimento, bem como da deposição de nutrientes nos tecidos dos animais. Esses compostos são capazes de interferir no metabolismo animal direcionando as vias metabólicas no sentido de privilegiar determinadas funções, como o desenvolvimento do tecido muscular em detrimento do tecido adiposo. Essas alterações são de grande importância no comércio nacional e internacional de carnes brasileiras, sendo assim há a necessidade de se estudar a interação de diferentes promotores de crescimento visando maior qualidade e quantidade de carne para o comércio.

A maioria dos experimentos com hormônios utiliza animais de laboratório (ratos) por serem de fácil manipulação, além de serem práticos em relação à obtenção, manejo e alojamento.

Com este trabalho, objetivou-se verificar os efeitos da interação da ractopamina e do GH no metabolismo de ratas hipofisectomizadas, bem como verificar o efeito da ractopamina e do GH individualmente sobre a composição corporal desses animais.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Ractopamina

A ractopamina (RAC) é um agonista beta-adrenérgico que pertence à família das fenetanolaminas. Análoga estrutural de hormônios coletivamente denominados catecolaminas (epinefrina e norepinefrina) e conhecida como agente de partição, a RAC apresenta em sua estrutura um anel aromático substituível, uma cadeia lateral com o grupo etanolamina e um nitrogênio alifático (MERSMANN, 2002; MILLS et al., 2003; SMITH, 1998; WATKINS et al., 1990). Esse agonista de receptor beta-adrenérgico é também classificado como promotor de crescimento por ser capaz de aumentar a eficiência alimentar dos animais suplementados associado a uma melhor partição de nutrientes do tecido adiposo em favor do crescimento muscular (APPLE et al., 2007; ARMSTRONG et al., 2004; BRIDI et al., 2006; CARR et al., 2005; SILVEIRA, 2007; WATANABE et al., 2011).

Três subtipos de receptores beta-adrenérgicos (β -AR) são conhecidos: β 1-AR, β 2-AR e β 3-AR, e estão presentes em praticamente todas as células dos mamíferos, mas a distribuição e a proporção de cada um desses pode variar tanto entre os tecidos quanto de acordo com idade, sexo, genética dentre outros fatores (DEUPI; STANDFUSS, 2011; DROR et al., 2011; MERSMANN, 2002; ROSENBAUM et al., 2009; SMITHAND; PAULSON, 1994).

Os receptores beta-adrenérgicos pertencem a uma família de receptores do tipo hepta-helicoidal que apresentam sete domínios transmembrana, uma cauda externa n-terminal e uma porção interna c-terminal onde se encontram sítios de fosforilação (COMAN et al., 2009; MERSMANN, 2002; WARNE et al., 2008). Esse receptor se encontra acoplado na membrana celular a uma proteína G do tipo S (estimulatória) que possui três subunidades distintas: alfa,

beta e gama (ANJOS NETO; RASCADO; BENDHACK, 2006; BIOLO et al., 2006). Quando na forma desativada, a subunidade α_s encontra-se acoplada à guanosina difosfato (GDP) (LEHNINGER et al., 2007). Após a ação da RAC, atuando como primeiro mensageiro sobre o receptor β , a subunidade α_s converte o guanosina difosfato (GDP) em guanosina trifosfato (GTP) e se desliga das subunidades beta e gama, e conseqüentemente, o complexo α_s -GTP leva a modificação na fluidez da membrana, permitindo seu deslocamento lateral até o seu contato com a adenilato ciclase (Figura 1) (BARROS; OKOSHI; CICOGNA, 1999). Essa participa da formação do AMPc (Monofosfato Cíclico de Adenosina) a partir do ATP (Adenosina Trifosfato), passando a atuar como segundo mensageiro (MCGRAW; LIGGETT, 2005). O AMPc, ativa a proteína quinase A (PKA) (LINHART et al., 2001), a qual se encontra na forma inativa e organizada na forma de tetrâmeros com duas subunidades regulatórias (R) e duas subunidades catalíticas (C) (MERSMANN, 1998). Dessa forma, o AMPc interage com a PKA (Proteína Quinase A) inativa, ligando-se as subunidades R liberando assim as subunidades C, tornando-a ativa, a qual gera a fosforilação de enzimas levando a resposta biológica da célula (MCGRAW; LIGGETT, 2005). Além disso, a PKA leva a um *feedback* negativo alterando a conformação do receptor e sua afinidade pela Gs (MILLS, 2002).

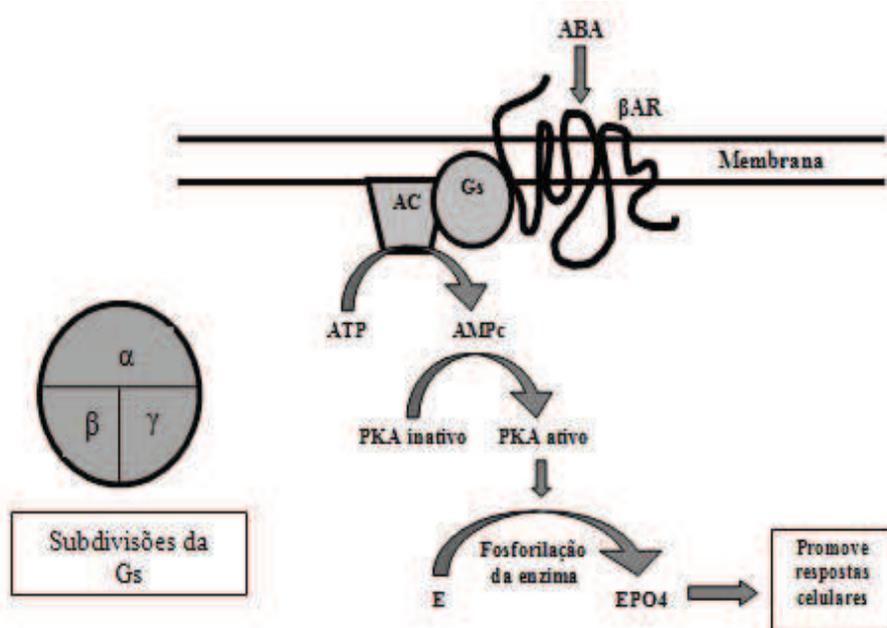


Figura 1 Mecanismo de ação dos agonistas β -adrenérgicos, em que: **ABA**: agonista β -adrenérgico, **β AR**: receptor β -adrenérgico, **Gs**: proteína estimulatória, **AC**: enzima adenilato ciclase, **ATP**: trifosfato de adenosina, **AMPc**: monofosfato cíclico de adenosina, **PKA**: proteína quinase A, **E**: enzima, **EPO4**: enzima fosforilada

Fonte: Adaptado de Moody, Hancock e Anderson (2000 citado por CANTARELLI, 2007).

Com a utilização contínua (28 dias) do agonista em suínos, o AMPc ativa uma proteína quinase, a beta-adreno-receptor quinase (beta-ARK) que, ao fosforilar o receptor, o torna inativo, e desacopla o complexo receptor-Gs-adenilato ciclase através do aumento da sua afinidade pela beta-arrestina (LEEB-LUNDBERG et al., 1987; MILLS, 2002). O efetor não acoplado migra para o espaço intracitoplasmático, levando à diminuição de receptores disponíveis na membrana. Essa redução na quantidade de receptores é denominada dessensibilização, causando diminuição da resposta à estimulação

beta-adrenérgica da RAC, por exemplo, quando ocorre uma exposição crônica a esses agonistas (MILLS, 2002; SPURLOCK et al., 1993). Também no espaço intracitoplasmático, o receptor beta-adrenérgico pode ser consumido, processo conhecido como “sequestro”, o que acarreta na diminuição de receptores celulares (BENOVIC et al., 1988). Essa variação no número de receptores é denominada “*down-regulation*” (BARROS; OKOSHI; CICOGNA, 1999). Receptores β_1 e β_2 -adrenérgicos podem sofrer o processo de dessensibilização e “*down-regulation*”, porém esses fenômenos são mais frequentemente observados em receptores do tipo β_2 (MILLS, 2002).

Mesmo tendo a mesma afinidade para receptores β_1 e β_2 -adrenérgicos, a ractopamina atua principalmente em receptores β_2 (GUNAWAN et al., 2007). Um dos efeitos mais conhecidos da ractopamina em suínos e também em bovinos é o incremento da musculatura esquelética pelo aumento da síntese proteica e/ou decréscimo de sua degradação (BARK et al., 1992; GONZALEZ; SILVA, 2006; SEE; ARMSTRONG; WELDON, 2004). O aumento na síntese de proteína muscular é resultado do aumento na expressão gênica das miofibrilas, pois o incremento na concentração de RNAm da alfa-actina e miosina foi observado no músculo de suínos alimentados com esse agonista beta-adrenérgico (BEERMANN, 2002; BERGEN et al., 1989; WATKINS et al., 1990). O aumento da expressão do gene de miofibrila e a hipertrofia muscular também podem ser mediadas por IGF-1, pois para o aumento de massa muscular há a necessidade de síntese local de IGF-1 que pode atuar na síntese de proteínas (GRANT et al., 1993).

Por outro lado, as atividades de enzimas associadas com a degradação proteica, catepsina e proteases dependentes de cálcio, não são alteradas quando suínos são suplementados com ractopamina (BEERMANN, 2002).

Em bovinos foi verificado que a ractopamina é capaz de aumentar a área e diâmetro das fibras musculares tipo 1. Além disso, o tratamento com

ractopamina parece não ser eficaz em alterar as diferentes isoformas de miosina tampouco as fibras associadas e o número de células satélites (GONZALEZ; SILVA, 2006). Em suínos ocorre alteração na composição das fibras musculares em direção a um fenótipo de fibras de rápida contração através de receptores beta 2 além de aumentar a transcrição de glicogênio sintetase no fígado para disponibilizar energia para os músculos (GUNAWAN et al., 2007).

Em suínos suplementados com RAC também é observado a diminuição de deposição de gordura na carcaça (MARINHO et al., 2007). A RAC reduz a sensibilidade à insulina nos adipócitos, além disso, causa uma diminuição desses reduzindo assim sua capacidade de armazenamento de gordura (DUBROVIN; LIU; MILLS, 1990; HAUSMAN et al., 1989; LIU et al., 1994; LIU; MILLS, 1990; MERSMANN, 2002; MILLS, 2002). No entanto, estudos *in vitro*, evidenciam que os agonistas beta-adrenérgicos aumentam a produção de AMPc, levando a ativação de quinases que fosforilam a lipase hormônio sensível estimulando assim a lipólise (HAUSMAN et al., 1989; LIU et al., 1994; LIU; MILLS, 1990; MOODY; HANCOCK; ANDERSON, 2000). Uma vez ativa, a enzima leva a quebra os triacilgliceróis armazenados em glicerol e ácidos graxos (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004). Em ratos foi verificado que a RAC aumenta a apoptose no tecido adiposo branco e isso pode ser uma boa justificativa para o fato dos suínos apresentarem carcaças com menor quantidade de gordura (PAGE et al., 2004; WEBER et al., 2006).

Seus efeitos variam com a duração do tratamento onde com 14 a 21 dias ocorre uma melhora nas condições da carcaça e após isso, essa melhora somente se mantém (KIN; LEET; MILLS, 1990).

2.2 Eixo somatotrófico (GH/IGF-1)

O local mais importante de regulação hormonal do organismo está localizado na base do diencéfalo e corresponde ao Eixo Hipotálamo-hipofisário. O hipotálamo é o local de interface dos sistemas nervoso e endócrino o qual controla as secreções hipofisárias.

A hipófise, localizada abaixo do hipotálamo e com quem tem ligação por um ducto chamado infundíbulo, possui duas partes anatomicamente distintas, as quais correspondem a Adeno-hipófise e a Neuro-hipófise. Dentre os hormônios secretados pela Adeno-hipófise encontra-se o hormônio de crescimento (GH) produzido por células chamadas de Somatotofos (CRUZAT et al., 2008).

O mecanismo de liberação do GH foi descoberto em 1964 por Deuben e Meites, mas sua sequência de 191 aminoácidos foi determinada somente em 1982 (BUONOMO; BAILE, 1990). Essa liberação é regulada pelo hormônio liberador do hormônio do crescimento, o GHRH, produzido no hipotálamo e pela Somatostatina, responsável por inibir a liberação de GH (BUONOMO; BAILE, 1990, LARON, 2001; MCMAHON et al., 2001). A concentração de GH e IGF-1 disponível no organismo também controla essa liberação através do *feedback* negativo atuando diretamente no hipotálamo ou na hipófise (BUONOMO; BAILE, 1990; CRUZAT et al., 2008; MCMAHON et al., 2001).

A maior parte do GH presente na circulação apresenta-se ligada a proteínas transportadoras específicas, GHBP (growth hormone binding proteins), as quais também podem regular as funções dos receptores de membrana do GH (GHR), uma glicoproteína transmembrana responsável pela ativação de quinases intracelulares. Existem receptores de GH em diversos tecidos, tais como músculo esquelético, fígado, rins, pâncreas, coração, intestino, pulmão e cérebro (CRUZAT et al., 2008).

O receptor de GH pertence à superfamília de receptores de citocina, os quais apresentam um único domínio transmembrana e homologia de sequências

definidas nas regiões extracelular e citoplasmática. Ele ativa várias cascatas de sinalização podendo atuar na JAK (*janus quinase*) que ativa a proteína STAT (*signal transducer and activador of transcription*) e segundos mensageiros como MAPK (*mitogen activated protein kinase*), PI3K (*phosphatidil inositol 3 kinase*) e PKC (*protein kinase C*) para a regulação dos genes-alvo do GH (CRUZAT et al., 2008; LOUVEAU; GONDRET, 2004).

A secreção do GH ocorre em picos e varia entre as espécies, por exemplo, em ratos a cada 3 horas, nos suínos a cada 30 minutos, bovinos e ovinos a cada 6 horas. Em humanos, seu maior pico de liberação ocorre nos primeiros 120 minutos do sono sendo que as mulheres apresentam maior e mais frequente liberação de GH, tanto no estado de repouso como no estresse. Mesmo assim, para ambos os sexos as concentrações máximas são alcançadas no período de crescimento (CRUZAT et al., 2008; MCMAHON et al., 2001).

O GH atua realizando funções no organismo de maneira direta ou indireta, através da produção das somatomedinas (IGF-1 e IGF-2). Dentre essas funções pode-se citar o aumento do crescimento linear dos ossos, da síntese proteica nos músculos, da lipólise no tecido adiposo, além de causar no organismo um efeito hiperglicemiante ou diabetogênico. Sua deficiência antes da puberdade pode causar nanismo e após a puberdade pode causar alterações metabólicas. Seu excesso, pelo contrário, pode gerar gigantismo ou acromegalia (CRUZAT et al., 2008; ENGELKING, 2011).

A somatomedina C ou IGF-1 é um polipeptídeo formado por 70 aminoácidos, com peso molecular de 7,47 kD, cuja sequência de aminoácidos é bem parecida com a da pró-insulina e exerce efeitos semelhantes aos da insulina, por exemplo, sobre o crescimento e sobre a homeostase da glicose (FRYSTYK, 2004; ROSENDAL et al., 2002). Esse hormônio pode atuar nos seus devidos receptores localizados nos diversos órgãos, inclusive hipotálamo e hipófise, e

também em receptores de insulina dependendo da sua concentração (BUONOMO; BAILE, 1990; MAURAS; HAYMOND, 2005).

O IGF-1 e a insulina possuem receptores com estrutura heteromérica pertencentes à família tirosina quinase, sendo que cada um deles tem afinidade para seus respectivos receptores, mas podem se ligar de forma cruzada com menor afinidade. Com este receptor tirosina quinase, o IGF-1 pode ativar JAK e MAPK atuando diretamente na transcrição do DNA promovendo diversos efeitos, como por exemplo, o aumento da síntese proteica (LOUVEAU; GONDRET, 2004; VIJAYAKUMAR et al., 2010).

De acordo com Oliveira (2011), o IGF-I é produzido no fígado e em vários outros órgãos. Kamanga-Sollo (2004) também afirmou que o IGF-I é expresso em quase todos os tecidos, incluindo o tecido muscular. Este hormônio é secretado pelo fígado em resposta à estimulação do hormônio do crescimento (GH) e é o mais potente estimulador da síntese proteica (BAUER; LACORN; CLAUS, 2009) sendo considerado o grande mediador dos efeitos anabólicos do GH (CRUZAT et al., 2008). Seu gene é regulado por vários outros fatores além de hormônios, tais como nutrientes, composição corporal e fatores específicos do tecido (CRUZAT et al., 2008). O IGF hepático normalmente está relacionado com crescimento de diversos tecidos como o ósseo e o muscular enquanto que o IGF extra-hepático, o qual tem estímulo predominantemente autócrino e parácrino, não possui efeitos totalmente esclarecidos (OLIVEIRA et al., 2011). O sistema IGF é formado pelos ligantes IGF 1 e 2 e seus respectivos receptores, proteínas carreadoras de IGF, as chamadas IGFBPs e as proteases IGFBPs (LACKEY et al., 1999).

Ultimamente uma grande variedade de IGF tem sido descoberta, o que demonstra sua complexidade em função e regulação. Além disso, existem diferentes isoformas de IGF, como IGF-1Ea, IGF-1Eb e IGF-1Ec também conhecido como MGF (*Mechano-growth factor*), ativado quando se tem, por

exemplo, danos ou sobrecarga no coração. Responsável pela reparação celular, também atua nos osteoblastos e no desenvolvimento e reparação de neurônios além de atuarem na ativação da miogênese e na proliferação de mioblastos no músculo esquelético (DAÍ et al., 2010; KRAEMER et al., 2009).

Algumas das funções do IGF-1 e IGF-2 estão relacionadas com crescimento e desenvolvimento embrionário e pós-natal, reparação, estabilidade e manutenção tecidual, alteração no perfil de hormônios gonadais durante o ciclo estral, maturação sexual, inibição de apoptose celular, proliferação e diferenciação de mioblastos, dentre outras (FLORINI; EWTON; COOLICAN, 1996; LACKEY et al., 1999).

2.3 Ações do GH mediadas ou não pelo IGF-1

Com relação ao metabolismo de proteínas, o GH estimula o anabolismo proteico aumentando também a retenção de nitrogênio levando ao aumento da massa muscular pelo processo de hipertrofia (MAURAS; HAYMOND, 2005). Seus efeitos dependem da interação de GH, IGF-1 e diversos substratos. O GH atua no crescimento e proliferação celular e gera um aumento na capacidade da síntese proteica por estimular a expressão de RNA mensageiro ou redução da degradação e aumento da absorção de aminoácidos. O IGF-1 pode suprimir a taxa proteolítica e causar efeitos indistinguíveis com os da insulina. Pode-se dizer que, nesse caso, o IGF media as ações do GH. Pessoas adultas com deficiência em GH possuem uma menor força muscular, além de uma redução da contração máxima e diminuição da fibra (CRUZAT et al., 2008; LISSET; SHALET, 2000; LUCIANO; MELLO, 1998; VIJAYAKUMAR et al., 2010; WILSON et al., 1998).

No metabolismo de lipídios e composição corporal, o GH possui receptores específicos no tecido adiposo causando lipólise pelo aumento da

atividade da lipase hormônio sensível, além de aumentar a eficiência dos receptores beta-adrenérgicos. Esses receptores vêm sendo associados à ativação dessa lipase, o que causa a diminuição do triacilglicerol, aumentando a oxidação e mobilização de ácidos graxos livres e glicerol do tecido adiposo para a geração de energia (CRUZAT et al., 2008). Além disso, ocorre um aumento da oxidação de ácidos graxos livres na musculatura esquelética e cardíaca. No fígado e no músculo, o GH estimula a captação de triacilgliceróis e seu armazenamento, pois ativa a lipase lipoproteica (VIJAYAKUMAR et al., 2010).

Na adipogênese o GH atua na diferenciação de adipócitos sendo que esses, quando maduros, estão associados a uma maior capacidade de armazenar triacilgliceróis e uma maior capacidade lipolítica (LOUVEAU; GONDRET, 2004). Já o IGF pode diminuir a oxidação lipídica quando administrado por pouco tempo e aumentá-la quando administrado por tempo mais prolongado. Ele causa uma diminuição do número de adipócitos. Pode-se dizer que o IGF possui efeitos separados do GH (CRUZAT et al., 2008; MAURAS; HAYMOND, 2005).

No metabolismo de carboidratos, o GH é responsável pelo efeito diabetogênico, pois gera um aumento da concentração de glicose no sangue devido ao seu estímulo de produção hepática e pela sua menor captação em vários tecidos, devido a uma hiperinsulinemia, através do estímulo à transcrição de RNAm insulínico, que gera uma resistência insulínica pelo excesso de insulina circulante (LIU; MILLS, 1990). O GH causa também glicogenólise no fígado e seus efeitos relacionados à captação de glicose e atuação sobre a insulina ainda não são totalmente esclarecidos. O IGF possui efeitos semelhantes à insulina, o que gera uma hipoglicemia e uma diminuição de insulina circulante. Experimentos mostram que essa hiperglicemia causada pela administração de GH pode ser controlada pela administração concomitante de IGF-1 (CRUZAT et

al., 2008; DEL RINCON et al., 2007; KUPFER et al., 1993; MAURAS; HAYMOND, 2005; VIJAYAKUMAR et al., 2010).

2.4 Hipofisectomia

Muitos experimentos utilizam animais hipofisectomizados para estudos com hormônios de diferentes funções, como por exemplo, o trabalho realizado por Ceranowicz et al. (2010), Suga et al. (2011) e Warzecha et al. (2006), que utilizaram a técnica de hipofisectomia transauricular criada por Sato e Yoneda (1966), através do aparelho para hipofisectomia ilustrado na Figura 2. Com essa técnica pode-se investigar a ação de diferentes hormônios de origem endógena que normalmente seriam produzidos por determinada glândula, como o hormônio de crescimento, produzido pela hipófise, cujas ações são mediadas pelo Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 1 (IGF-1), também chamado de Somatomedina C, e Fator de Crescimento Semelhante à Insulina 2 (IGF-2).



Figura 2 Aparelho para a realização da hipofisectomia transauricular



Figura 3 Rato em posição correta para a realização da hipofisectomia transauricular



Figura 4 Método da hipofisectomia transauricular

A hipofisectomia está presente em experimentos com peixes, onde a hipófise é retirada pela órbita direita do animal, em embriões de galinhas nos quais se realiza a decapitação e em ratos que se usa a hipofisectomia

parafaringeana ou transauricular (SANCHEZ-BRINGAS et al., 2006; TAKASHI; AZUMA, 2002).

A hipofisectomia parafaringeana é o método mais utilizado, mas é muito invasivo e normalmente o pós-operatório traz complicações. Consiste na retirada cirúrgica da glândula envolta pela Sela Túrsica através de uma incisão parafaringeana no animal anestesiado, o qual consiste em um procedimento demorado e com riscos (NAKAYAMA et al., 2004). Já a técnica transauricular é pouco invasiva e o pós-operatório é seguro e com poucos danos teciduais.

A hipofisectomia transauricular consiste na retirada da hipófise pelo ouvido direito do animal anestesiado através da sucção por uma agulha de fino calibre (SATO; YONEDA, 1966), como demonstra as Figuras 3 e 4.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Animais e instalações

Foram utilizadas 30 ratas *Fisher* jovens com idade aproximada de 60 dias e peso inicial de 200 ± 40 g adquiridas do biotério da Universidade Federal de Ouro Preto. Todos os animais foram mantidos individualmente em gaiolas metabólicas devidamente identificadas no biotério do setor de Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras, com temperatura controlada a $\pm 22^{\circ}\text{C}$ e luminosidade em ciclo 12h/12h. Esses receberam ração comercial para roedores e água *ad libidum*.

3.2 Delineamento experimental

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado em arranjo fatorial $2 \times 2 + 1$, sendo quatro grupos formados por animais hipofisectomizados (com ou sem ractopamina na dose de 80mg/kg/dia, segundo Page et al. (2003); e dois tratados com e sem hormônio de crescimento na dose de 4mg/kg/dia, segundo Johansen et al. (2005), e um grupo controle não hipofisectomizado (controle), todos com seis repetições cada grupo.

3.3 Procedimento experimental

Os trinta animais adquiridos foram aleatoriamente divididos em cinco grupos experimentais contendo seis animais em cada grupo: um grupo controle formado pelos animais não hipofisectomizados e não tratados com ractopamina e/ou GH; um grupo formado por animais hipofisectomizados que também não

receberam tratamento com ractopamina e/ou GH; um grupo experimental contendo animais hipofisectomizados e tratados com ractopamina na dose de 80mg/kg/dia por gavagem (PAGE et al., 2003); um grupo experimental contendo animais hipofisectomizados tratados com GH na dose de 4 mg/kg/dia via subcutânea (JOHANSEN et al., 2005) e um grupo experimental contendo animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e GH nas doses de 80mg/kg/dia por gavagem e 4mg/kg/dia via subcutânea respectivamente, sendo que a ractopamina foi dividida em duas doses diárias e o GH administrado em dose única pela manhã.

Para a hipofisectomia vinte e quatro ratas foram anestesiadas com quetamina na dose de 50mg/kg e xilazina na dose de 20mg/kg e posteriormente hipofisectomizadas segundo a técnica transauricular de Sato e Yoneda (1966 citado por CERANOWICZ et al., 2010; SUGA et al., 2011).

Após a hipofisectomia todos os animais receberam tratamento com antibiótico à base de Sulfametoxazol e Trimetropim (Trissulfim[®]) duas vezes ao dia por sete dias, anti-inflamatório à base de Meloxicam (Maxican[®]) uma vez ao dia por três dias nas doses de 30mg/kg e 2mg/kg por via subcutânea. No dia seguinte ao término da administração do antibiótico os animais passaram a receber doses de 80mg/kg/dia de ractopamina via oral por gavagem e/ou 4mg/kg de GH via subcutânea, sendo a ractopamina dividida a cada 12 horas e o GH administrado em dose única pela manhã, durante um período de 14 dias.

Os seis animais restantes que não foram hipofisectomizados também receberam tratamento com antibiótico e anti-inflamatório.

Os animais foram pesados a cada sete dias e seu consumo alimentar, consumo de água e volume de urina foram medidos diariamente.

Ao final do período experimental, todos os animais ficaram em jejum por 12 horas e foram eutanasiados através da administração de Tiopental via

intraperitoneal na dose de 80 mg/kg, para a coleta do sangue e dos órgãos que foram analisados.

O sangue foi coletado por punção cardíaca e o plasma e o soro foram armazenados a - 20°C após centrifugação adequada de 4000 giros por minuto durante 10 minutos para posterior avaliação das concentrações séricas de glicose, triacilgliceróis, colesterol total, peptídeo C e IGF-1.

Foram coletados coração, fígado, baço, pulmão, intestinos e rins, para a avaliação do peso relativo dos órgãos. Esses foram conservados por 24 horas em formalina tamponada 10% e depois mergulhados em álcool 70% até sua utilização. Além disso, foi realizada a histopatologia com coloração HE (hematoxilina e eosina) do fígado e do pâncreas para verificar possíveis alterações morfológicas. Na composição centesimal da carcaça foi avaliado proteína, extrato etéreo, cinzas e umidade pelo método da Association of Official Analytical Chemists.

A proteína foi avaliada de acordo com o método de Silva (1981), onde as proteínas e os compostos nitrogenados foram decompostos na presença de ácido sulfúrico e sulfato de potássio ou sódio. O sulfato de amônio resultante na presença de hidróxido de sódio e ácido bórico determina o teor de nitrogênio, o qual foi multiplicado por 6,25 para o cálculo da proteína.

A gordura foi avaliada de acordo com o Método de *Soxhlet* que se baseia na propriedade dos lipídeos em se solubilizarem em solventes orgânicos e apolares, como o éter de petróleo para posterior separação por destilação e secagem (HORWITZ, 1990).

O teor de cinzas foi determinado pelo método utilizado pelo Instituto Adolfo Lutz (1997), onde foi avaliada pelo resíduo da incineração da amostra em temperaturas de 550-570°C.

A umidade foi determinada pela perda de umidade e compostos voláteis da amostra à temperatura de 105°C (HORWITZ, 1990).

3.4 Metodologia e análise do sangue

A glicose, os triacilgliceróis e o colesterol total foram quantificados por *kits* enzimáticos colorimétricos da empresa DOLES[®]. A concentração de IGF-1 foi analisada pelo método ELISA usando-se o *kit* comercial DRG[®] IGF-1 600 ELISA, e o de peptídeo C analisado pelo *kit* comercial *Enzyme-linked Immunosorbent Assay Kit for Peptide C E90447Ra*[®] Uscn.

3.5 Análise estatística

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias obtidas com a ractopamina e GH comparadas entre si pelo teste F e em relação ao controle pelo teste *Dunnet*.

Para peso relativo do baço, concentrações de glicose, IGF-1 e peptídeo C no sangue, porcentagem de cinzas e extrato etéreo na carcaça, consumo de água e produção de urina foi utilizada a raiz quadrada como opção de transformação dos dados.

A variação de peso, variação média diária de peso e a eficiência alimentar foram analisadas pelo teste não paramétrico de *Kruskal-Walis*. O nível de significância adotado para este trabalho foi de ($p \leq 0,05$). Todas as análises estatísticas foram realizadas no programa *Action 2.4*.

4 RESULTADOS

4.1 Variação de peso, consumo de ração, consumo de água e volume urinário

O uso do GH proporcionou ($p < 0,05$) maior ganho de peso final e eficiência alimentar quando comparado aos animais que não foram tratados com o hormônio. Os animais hipofisectomizados obtiveram ($p < 0,05$) valores no ganho de peso diferentes do controle, sendo que os valores maiores se referem aos tratamentos com o hormônio (Tabela 1).

A associação do GH e da ractopamina proporcionou ($p < 0,05$) maior consumo de ração diário quando comparado ao uso individual da ractopamina. O uso da ractopamina diminuiu ($p < 0,05$) o rendimento da carcaça, independente do uso do GH (Tabela 1).

A produção urinária dos grupos hipofisectomizados foi maior quando comparada à produção do grupo controle não hipofisectomizado ($p < 0,05$). A associação de GH com ractopamina aumentou ($p < 0,05$) o consumo de água e a produção urinária, em relação ao controle, porém o mesmo efeito não foi observado quando se usou as duas substâncias separadamente (Tabela 1).

Tabela 1 Variação de peso, consumo de ração, consumo de águas e volume urinário de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e GH

Ractopamina	GH		Média	CV (%)
	Com	sem		
	Ganho de peso (g) †			
Com	50,0*	-2,7*	23,7	-
Sem	37,3*	-0,2*	18,6	
Média	43,7 a	-1,4 b		
Controle	12,8			

“continua”

Tabela 1 “conclusão”

Ractopamina	GH		Média	CV %)
	Com	sem		
Consumo de ração diário (g)				
Com	15,77 a	12,27 b*	14,02	13,64
Sem	14,49	14,32	14,40	
Média	15,13	13,30		
Controle	16,08			
Eficiência alimentar [†]				
Com	0,230*	-0,016	0,107	-
Sem	0,187*	-0,003	0,092	
Média	0,208 a	-0,010 b		
Controle	0,056			
Rendimento de Carcaça. (g)				
Com	79,47	78,87	79,17 B	2,66
Sem	80,46	82,11	81,29 A	
Média	79,97	80,49		
Controle	78,79			
Consumo de água diário (ml)				
Com	67,2 Aa*	39,4 b	53,3	10,40
Sem	36,9 B	35,7	36,3	
Média	52,0	37,5		
Controle	25,5			
Volume Urinário diário (ml)				
Com	42,4 Aa*	13,7 b*	28,1	23,04
Sem	18,9 B*	15,7*	17,3	
Média	30,7	14,7		
Controle	0,4			

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem pelo teste F (P<0,05);

* Difere do controle pelo teste *Dunnett* (P<0,05);

[†] Médias diferem pelo teste de *Kruskal-Wallis* (P<0,05);

CV= Coeficiente de variação.

4.2 Peso relativo de órgãos

O peso relativo do coração apresentou (p<0,05) diferença quando comparado os grupos tratados com GH e/ou ractopamina ao grupo controle, o qual apresentou peso cardíaco maior. O uso do hormônio de crescimento proporcionou (p<0,05) um menor peso cardíaco quando comparado aos animais que não receberam o GH (Tabela 2).

O peso relativo do fígado e do baço dos animais hipofisectomizados, tratados com GH e/ou ractopamina, foi menor quando comparado ($p > 0,05$) aos animais do grupo controle não hipofisectomizados. O uso de GH proporcionou ($p < 0,05$) um maior peso do baço em relação aos animais que não utilizaram o GH (Tabela 2).

Os animais não tratados com GH e os animais tratados com ractopamina apresentaram ($p < 0,05$) maior peso relativo do pulmão quando comparados aos animais tratados com GH e não tratados com ractopamina (Tabela 2).

O uso da ractopamina proporcionou ($p < 0,05$) um aumento no peso relativo do intestino quando comparado aos animais não tratados (Tabela 2).

Os grupos de animais tratados com GH e/ou ractopamina apresentaram ($p < 0,05$) menor peso relativo dos rins quando comparados ao grupo controle não hipofisectomizado (Tabela 2).

Tabela 2 Peso relativo de órgãos de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e hormônio de crescimento (GH)

Ractopamina	GH		Média	CV (%)
	Com	sem		
Coração (%)				
Com	0,292*	0,314*	0,303	15,98
Sem	0,309*	0,370	0,339	
Média	0,300 b	0,342 a		
Controle	0,370			
Fígado (%)				
Com	3,64*	3,54*	3,59	10,79
Sem	3,52*	3,40*	3,46	
Média	3,58	3,47		
Controle	4,04			
Baço (%)				
Com	0,229*	0,170*	0,199	8,48
Sem	0,231*	0,211*	0,221	
Média	0,230 a	0,190 b		
Controle	0,312			

“continua”

Tabela 2 “conclusão”

Ractopamina	GH		Média	CV (%)
	Com	sem		
	Pulmão (%)			
Com	0,849	1,005	0,927 A	10,71
Sem	0,736	0,808	0,772 B	
Média	0,792 b	0,907 a		
Controle	0,790			
	Intestino (%)			
Com	8,32	8,97 A	8,64	14,20
Sem	8,03	6,93 B	7,48	
Média	8,17	7,95		
Controle	7,94			
	Rins (%)			
Com	0,642*	0,609*	0,625	14,63
Sem	0,642*	0,760	0,701	
Média	0,642	0,685		
Controle	0,860			

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem pelo teste F ($P<0,05$);

* Difere do controle pelo teste *Dunnnett* ($P<0,05$);

CV= Coeficiente de variação.

4.3 Composição da carcaça

Os grupos de animais tratados com ractopamina e/ou GH apresentaram ($p<0,05$) maior porcentagem de proteína quando comparados ao grupo controle. O uso da ractopamina aumentou ($p<0,05$) a porcentagem de proteína na carcaça dos animais quando comparada aos animais que não a receberam (Tabela 3).

O uso da ractopamina e do GH de forma independente aumentou ($p<0,05$) a porcentagem da umidade e diminuiu ($p<0,05$) a porcentagem do extrato etéreo da carcaça dos animais. Os animais tratados com ractopamina e GH apresentaram ($p<0,05$) menor porcentagem de extrato etéreo quando comparado ao grupo controle não hipofisectomizado (Tabela 3).

Tabela 3 Composição da carcaça de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e hormônio do crescimento (GH)

Ractopamina	GH		Média	CV (%)
	Com	sem		
	Umidade (%)			
Com	72,5	70,0	71,2 B	4,91
Sem	69,1	68,8	68,9 A	
Média	70,8 b	69,4 a		
Controle	69,2			
	Proteína Bruta (%)			
Com	21,4*	21,1*	21,2 A	5,66
Sem	20,6*	19,9	20,2 B	
Média	21,0	20,5		
Controle	18,7			
	Cinzas (%)			
Com	4,23	4,87	4,55	8,79
Sem	4,47	4,91	4,69	
Média	4,35	4,89		
Controle	4,54			
	Extrato Etéreo (%)			
Com	1,88*	5,32	3,60 B	8,25
Sem	6,70	9,65	8,17 A	
Média	4,29 b	7,48 a		
Controle	6,24			

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem pelo teste F ($P < 0,05$);

* Difere do controle pelo teste *Dunnnett* ($P < 0,05$);

CV= Coeficiente de variação.

4.4 Parâmetros bioquímicos sanguíneos

O uso da ractopamina proporcionou ($p < 0,05$) um aumento no colesterol total quando comparado ao grupo que não usou a substância e ao grupo controle (Tabela 4).

A concentração de triacilgliceróis no sangue foi menor nos animais tratados com ractopamina associada ao GH, porém o mesmo efeito não foi observado nos animais que foram tratados somente com GH ($p < 0,05$) (Tabela 4).

Os animais hipofisectomizados apresentaram ($p < 0,05$) diferença na glicemia quando comparados ao grupo controle não hipofisectomizado. Os animais tratados com GH tiveram ($p < 0,05$) um aumento significativo na glicose sanguínea quando comparado aos animais não tratados, ao contrário dos animais tratados com ractopamina que apresentaram ($p < 0,05$) uma diminuição na concentração de glicose quando comparado aos grupos não tratados com a substância (Tabela 4).

Os animais tratados com ractopamina e não tratados com GH apresentaram ($p < 0,05$) maiores concentrações de IGF-1 quando comparado aos grupos tratados sem ractopamina e com GH (Tabela 4).

O uso da ractopamina diminuiu ($p < 0,05$) a concentração de peptídeo C quando comparado aos grupos que não receberam a substância (Tabela 4).

Tabela 4 Colesterol total, triacilgliceróis, glicose, IGF-1 e peptídeo C de animais hipofisectomizados tratados com ractopamina e hormônio do crescimento (GH)

Ractopamina	GH		Média	CV (%)
	Com	sem		
Colesterol Total (mg/dL)				
Com	182,1*	185,9*	184,0 A	7,75
Sem	155,8	169,3	162,6 B	
Média	168,9	177,6		
Controle	159,2			
Triacilgliceróis (mg/dL)				
Com	159,2 B	169,4	164,3	6,47
Sem	178,1 A	169,0	173,5	
Média	168,6	169,2		
Controle	169,0			

“continua”

Tabela 4 “conclusão”

Ractopamina	GH		Média	CV (%)
	Com	sem		
	Glicose (mg/dL)			
Com	61,3*	40,9*	51,1 B	9,32
Sem	110,3*	70,4*	90,4 A	
Média	85,8 a	55,7 b		
Controle	85,8			
	IGF 1 (ng/mL)			
Com	198,0	270,0	234,0 A	10,15
Sem	190,0	199,0	194,0 B	
Média	194,0 b	234,0 a		
Controle	193,0			
	Peptídeo C (ng/mL)			
Com	9,45	14,68	12,07 B	18,25
Sem	22,36	24,02	23,19 A	
Média	15,91	19,35		
Controle	14,73			

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas na linha e maiúsculas na coluna diferem pelo teste F (P<0,05);

* Difere do controle pelo teste *Dunnnett* (P<0,05);

CV= Coeficiente de variação.

4.5 Histopatologia

Nenhum grupo apresentou alterações morfológicas dignas de nota. Todos os animais apresentaram no fígado uma pequena proliferação de fibroblastos e pequenos focos de células mononucleares, e no pâncreas, as ilhotas pancreáticas de todos os grupos se encontraram dentro do padrão de normalidade apresentando núcleos claros/escuros, nucléolo evidente e citoplasma abundante.

Os grupos que receberam o hormônio de crescimento apresentaram uma leve vacuolização difusa nas células ao redor do espaço porta (sugestivo de acúmulo de glicogênio), mas essas observações se encontram dentro do padrão normal hepático.

5 DISCUSSÃO

5.1 Variação de peso, consumo de ração, consumo de água e volume urinário

O hormônio de crescimento (GH) atua no crescimento e na proliferação celular de diferentes tecidos além de gerar um aumento na capacidade de síntese proteica por atuar na expressão do RNA mensageiro ou redução da degradação e/ou aumento da absorção dos aminoácidos nos músculos (CRUZAT et al., 2008; VIJAYAKUMAR et al., 2010). Isso é condizente com o resultado observado neste experimento, onde os animais tratados com o GH apresentaram maior ganho de peso em comparação com os animais não tratados. Além disso, o maior ganho de peso ocorreu nos animais que receberam a associação da ractopamina e do GH, o que pode ser devido ao efeito de potencialização de receptores beta-adrenérgicos que o GH exerce sobre os receptores da ractopamina (MAURAS; HAYMOND, 2005).

Quanto ao consumo de alimento, os animais que receberam a associação apresentaram maior consumo de alimento quando comparado aos animais que não receberam GH, o que pode ser devido à maior demanda energética pelo aumento do ganho de peso. Com o uso de dois estimuladores de síntese proteica, o organismo tende a necessitar de uma quantidade maior de energia, aumentando assim o consumo de alimento. Esse mesmo efeito foi observado por Cantarelli (2007) em suínos, os quais aumentaram o consumo devido à fonte de energia limitada na dieta.

A eficiência alimentar foi maior nos grupos que utilizaram o GH. Essa diferença estatística pode estar relacionada com o ganho de peso dos animais, pois os animais que receberam GH apresentaram maior ganho de peso, conseqüentemente sua eficiência alimentar foi maior; e os animais que não

receberam o hormônio apresentaram uma variação de peso negativa com consequente eficiência alimentar negativa.

Com relação ao rendimento de carcaça, houve diferença significativa entre os animais que receberam a ractopamina e os que não receberam. Uma hipótese para o grupo que não recebeu ractopamina estar com maior rendimento de carcaça pode estar relacionada com o peso intestinal, por ser o órgão interno mais pesado e que influencia o rendimento. Nesse caso os animais apresentaram maior peso intestinal devido à necessidade de captação de nutrientes pelo organismo para maior produção de proteína muscular. Os animais que tiveram o peso intestinal maior apresentaram menor rendimento de carcaça e vice-versa.

Animais hipofisectomizados apresentam além da deficiência do hormônio do crescimento, a deficiência do hormônio antidiurético, liberado pela Adeno-hipófise. Esse hormônio é responsável pelo controle da osmolaridade dos líquidos corporais. Ele é responsável pela reabsorção da água nos túbulos coletores nos rins. É secretado em decorrência do aumento da pressão osmótica ou da redução da pressão hidrostática sanguínea. A essa deficiência dá-se o nome de Diabetes Insipidus (CUNNINGHAM; KLEIN, 2003). Animais com esse tipo de diabete apresentam um aumento na excreção de água do organismo, denominada poliúria e também uma polidipsia compensatória, o que se observa no presente estudo onde os animais hipofisectomizados apresentaram um aumento no volume urinário e no consumo diário de água.

Outra hipótese relacionada ao aumento do consumo de água e produção urinária, principalmente nos animais que tiveram a associação das duas substâncias, está relacionada com o aumento de proteína bruta na carcaça, onde quanto maior a quantidade de massa muscular, maior será o teor de umidade, e quanto maior a umidade, maior a demanda pela ingestão de água.

5.2 Peso relativo de órgãos

Sabe-se que determinadas doses de ractopamina geram alterações cardíacas através da ativação ou dessensibilização dos receptores beta adrenérgicos. Em alguns estudos como o de Catalano (2012), as alterações observadas no coração foram dose independente. No seu estudo com suínos a alta dose de ractopamina gerou uma diminuição cardíaca, o que condiz com o presente estudo onde os animais apresentaram um menor peso cardíaco quando comparados ao grupo controle. Essa alteração pode ser devido à dessensibilização ou sub-regulação de receptores beta-adrenérgicos cardíacos. O uso do GH proporcionou o peso cardíaco menor quando comparado ao controle. Isso pode ser devido à maior síntese de proteínas na carcaça, aumentando o peso muscular dessa em uma proporção maior que o crescimento dos órgãos viscerais, o que explica também o menor peso relacionado ao baço.

Com relação ao peso intestinal, de acordo com Catalano (2012) a ractopamina pode causar uma diminuição na concentração do hormônio da tireoide T3, responsável pela regulação térmica do organismo, por estimular de forma cruzada os receptores alfa adrenérgicos, então o intestino tende a aumentar para tentar equilibrar a temperatura corporal do animal.

Outra hipótese que pode estar relacionada seria o fato de que com o uso desse modificador, há uma maior produção de proteína no tecido muscular animal, o que gera aumento intestinal por necessidade de captação de nutrientes pelo organismo. Essa necessidade pode estar associada à maior concentração de proteína bruta na carcaça quando comparada aos animais que não receberam ractopamina. Com essa melhora metabólica o organismo tende a reter maior quantidade de nitrogênio sendo com isso uma menor quantidade excretada pelos rins. Dessa forma esse órgão não tem a necessidade de se expandir para conseguir realizar sua função. Neste estudo houve a diminuição do peso renal

nos animais que fizeram uso do modificador metabólico, confirmando o resultado encontrado por Ferreira et al. (2006) que utilizaram em seu experimento suínos intactos e doses de ractopamina muito menores.

Os animais hipofisectomizados apresentaram o fígado e o baço menores que os animais controle não hipofisectomizados, o que pode ser oriundo da deficiência de GH, relacionado ao metabolismo celular. Novos estudos precisam ser realizados para elucidar as diferenças metabólicas presentes em animais hipofisectomizados.

O aumento pulmonar presente nos animais tratados com ractopamina provavelmente ocorre pelo aumento de frequência respiratória causada pela administração do agonista, que gera um aumento do metabolismo animal. Novos estudos precisam ser realizados para se observar a relação existente entre o uso ou não do hormônio de crescimento associado ao peso pulmonar.

5.3 Composição da carcaça

Vários autores verificaram a ação da ractopamina e do hormônio de crescimento (GH) quanto ao aumento da síntese proteica muscular, por estimular a expressão de RNA mensageiro, a redução da degradação e aumento da absorção de aminoácidos, além do aumento da lipólise no tecido adiposo (GUNAWAN et al., 2007; VIJAYAKUMAR et al., 2010). A ractopamina, agonista beta adrenérgico, aumenta a massa muscular pelo estímulo da capacidade glicolítica do músculo aumentando sua síntese proteica além de aumentar a taxa lipolítica pela fosforilação da enzima lipase hormônio sensível (LHS) (MERSMANN, 2002). O GH, apresentando receptores específicos no tecido adiposo, atua de forma direta na lipólise também pelo aumento da atividade da enzima LHS (CRUZAT et al., 2008). A diminuição do extrato etéreo na carcaça dos animais tratados tanto com o GH e com o agonista beta-

adrenérgico, mostra também que a associação das duas substâncias provocou maior diminuição nos valores dessa variável pela soma das ações lipolíticas e/ou de redução da lipogênese, confirmando também que o GH aumenta a eficiência dos receptores beta-adrenérgicos (CRUZAT et al., 2008).

Os resultados apresentados neste trabalho confirmam o esperado aumento da síntese proteica e a diminuição do extrato etéreo nos animais tratados com a ractopamina e GH.

O aumento da porcentagem de proteína e a diminuição da porcentagem de gordura dos animais tratados com ractopamina explicam o aumento na umidade, pois a maior proporção de água do organismo se encontra a nível muscular quando comparada ao tecido adiposo.

5.4 Parâmetros bioquímicos sanguíneos

Os níveis de colesterol total foram maiores nos animais que receberam a ractopamina quando comparados aos grupos que não receberam. Uma hipótese para esse aumento pode estar relacionada com o aumento da produção de colesterol HDL, o qual representa 70% do colesterol de ratos, estimulada por receptores agonista beta-adrenérgicos. Com este trabalho não foi possível identificar as causas específicas dessa alteração, havendo a necessidade de se realizar mais estudos envolvendo esse parâmetro.

No presente estudo, os níveis de triacilgliceróis no tratamento com a associação do GH e Ractopamina se mostraram menores que o nível do tratamento controle não hipofisectomizado. Uma hipótese para essa diminuição pode estar relacionada à redução da síntese de triacilgliceróis hepáticos (lipogênese hepática) pelo uso concomitante do GH com o agonista beta adrenérgico, o que gera uma liberação menor desses triacilgliceróis para o sangue.

Um dos efeitos do hormônio do crescimento está relacionado com a hiperglicemia, pelo estímulo da produção hepática de glicose (OLIVEIRA, 2011). Animais com deficiência de GH normalmente apresentam uma menor concentração de glicose sanguínea, o que pode ser observado no experimento, onde os animais hipofisectomizados apresentaram de uma maneira geral menores níveis glicêmicos quando comparados aos animais controle, sendo que os animais tratados com o GH apresentaram uma média maior quando comparado aos animais não tratados. Outra hipótese para a menor glicemia dos grupos hipofisectomizados está relacionada com a função do IGF-1 o qual estimula a captação de glicose pela ativação do GLUT-4 (transportadores de glicose tipo 4) no tecido muscular esquelético (OLIVEIRA, 2011), pois animais que apresentaram maior concentração de IGF 1 tiveram menor glicemia e vice-versa. Os animais que receberam a ractopamina apresentaram menor glicemia quando comparados aos animais que não receberam essa substância. Uma hipótese para essa diferença pode estar relacionada ao aumento da transcrição de glicogênio sintetase no músculo estimulado por agonistas beta adrenérgicos, aumentando a captação de glicose sanguínea para a produção de glicogênio muscular (GUNAWAN et al., 2007).

O IGF-1, a principal somatomedina que media as funções do GH, tem como seu principal local de produção, o fígado, onde é estimulada pela liberação do GH. Muitas dúvidas a respeito de suas funções ainda não foram esclarecidas, mas alguns trabalhos mostram que sua produção não é realizada somente no fígado. Yakars, Liu e Jun-Li (1999) mostraram que os animais apresentam outros locais (ainda não esclarecidos) de produção de IGF 1 além do fígado, e que sua produção é significativa. Essa produção, provavelmente, ocorre de forma autócrina e parácrina independente da estimulação do hormônio de crescimento (OLIVEIRA, 2011). Isso condiz com o presente estudo onde de

uma forma geral não houve diferenças entre os animais hipofisectomizados e o tratamento controle.

Os grupos de animais que receberam a ractopamina apresentaram menor concentração sanguínea de Peptídeo C quando comparados aos grupos que não fizeram o uso dessa substância. Uma hipótese para essa diferença está relacionada à presença de receptores beta-adrenérgicos nas células α das ilhotas pancreáticas, assim sendo, a ractopamina pode apresentar efeito sobre a liberação de glucagon, o qual é antagônico à insulina. Em animais normais essa relação insulina/glucagon tende ao equilíbrio, o que não observa-se em animais hipofisectomizados onde um desses fatores pode sobrepor-se ao outro.

6 CONCLUSÃO

Com o presente estudo é possível concluir que a interação ractopamina/GH interfere na composição corporal dos animais, além de exercerem efeitos separadamente em determinadas características corporais, servindo de modelo para criação de animais de produção e melhoria de carcaça para exportação. Outras análises precisam ser realizadas para o esclarecimento de determinadas alterações metabólicas.

REFERÊNCIAS

- ANJOS NETO, M.; RASCADO, R. R.; BENDHACK, L. M. Receptores β -adrenérgicos no sistema cardiovascular. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 39, n. 1, p. 3-12, jan./mar. 2006
- APPLE, J. K. et al. Meta-analysis of the ractopamina response in finishing swine. **Professional Animal Scientist**, Champaign, v. 23, n. 3, p. 179-196, June 2007.
- ARMSTRONG, T. A. et al. The effect of dietary ractopamine concentration and duration of feeding on growth performance, carcass characteristics, and meat quality of finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 3245-3253, 2004.
- BARK, L. J. et al. Influence of genetic capacity for lean tissue growth on rate and efficiency of tissue accretion in pigs fed ractopamine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 70, n. 11, p. 3391-3400, 1992.
- BARROS, R. D. A.; OKOSHI, M. P.; CICOONA, A. C. Via beta-adrenérgica em corações normais e hipertrofiados. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v. 72, n. 5, p. 641-648, 1999.
- BAUER, A.; LACORN, M.; CLAUS, R. Effects of two levels of feed allocation on IGF-I concentrations and metabolic parameters in GnRH-immunized boars. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, v. 93, p. 744-753, 2009.
- BEERMANN, D. H. Beta-adrenergic receptor agonist modulation of skeletal muscle growth. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 18-23, 2002. Suppl. 1.
- BENOVIC, J. L. et al. Regulation of Adenylyl Cyclase-Coupled beta-Adrenergic Receptors. **Annual Review of Cell Biology**, Palo Alto, v. 4, n. 1, p. 405-428, 1988.
- BERGEN, W. G. et al. Muscle protein metabolism in finishing pigs fed ractopamine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, n. 9, p. 2255-2262, 1989.

- BIOLO, A. et al. The role of adrenergic receptor polymorphisms in heart failure. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 39, n. 10, p. 1281-1290, Oct. 2006
- BRIDI, A. M. et al. Efeito do genótipo halotano, da ractopamina e do sexo do animal na qualidade da carne suína. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 5, p. 2027-2033, 2006.
- BUONOMO, F.C., BAILE, C.A. The neurophysiological regulation of growth hormone secretion. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 7, n. 4, p. 435-450, 1990.
- CANTARELLI, V. S. **Ractopamina em rações para suínos em terminação com alimentação à vontade ou restrita**. Lavras: UFLA, 2007. 108 p.
- CARR, S. N. et al. Effects of different cereal grains and ractopamine hydrochloride on performance, carcass characteristics, and fat quality in late-finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 223-230, 2005.
- CATALANO, D. et al. Physiological changes related to the use of ractopamine in swinw: clinical and pathological investigations. **Livestock Science**, Amsterdam, v. 144, p. 74-81, 2012.
- CERANOWICZ, D. et al. Role of hormonal axis, growth hormone – IGF-1, in therapeutic effect of ghrelin in the course of cerulein-induced acute pancreatitis. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Krakow, v. 61, n. 5, p. 599-606, 2010.
- COMAN, O. A. et al. Beta 3 adrenergic receptors: molecular, histological, functional and pharmacological approaches. **Romanian Journal of Morphology and Embryology**, Bucuresti, v. 50, n. 2, p. 169–179, 2009.
- CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B. G. **Tratado de fisiologia veterinária**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 590 p.
- CRUZAT, V. F. et al. Hormônio do crescimento e exercício físico: considerações atuais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 44, n. 4, p. 549-562, 2008.
- DAI, Z. et al. IGF-1Ec expression, regulation and biological function in different tissues. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 20, p. 275-281, 2010.

DEL RINCON, J. P. Growth hormone regulation of p85- expression and Phosphoinositide 3-kinase activity in adipose tissue: mechanism for growth hormone mediated insulin resistance. **Diabetes**, New York, v. 56, p. 1638-1646, 2007.

DEUPI, X.; STANDFUSS, J. Structural insights into agonist-induced activation of G-protein-coupled receptors. **Current Opinion in Structural Biology**, London, v. 21, n. 4, p. 541–551, Aug. 2011.

DROR, R. O. et al. Pathway and mechanism of drug binding to G-protein-coupled receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington , v. 18, n. 32, p. 13118-13123, July 2011.

DUBROVIN, L. C.; LIU, C. Y.; MILLS, S. E. Insulin binding to adipocytes exposed to clenbuterol and ractopamine in vitro and in vivo. **Domestic Animal Endocrinology**, Beeville, v. 7, n. 1, p. 103-109, 1990.

ENGELKING, L. R. **Textbook of veterinary physiological chemistry**. 2nd ed. Oxford: Elsevier, 2011. 607 p.

FERREIRA, R. A. et al. Redução da proteína bruta da ração e suplementação de aminoácidos para suínos machos dos 15 aos 30kg mantidos em ambiente de alta temperatura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 35, n. 3, p. 1056-1062, 2006.

FLORINI, J. R.; EWTON, D. Z.; COOLICAN, S. A. Growth hormone and the insulin-like growth factor system in myogenesis. **Endocrine Reviews**, Baltimore, v. 17, p. 481-517, 1996.

FRYSTYK, J. Free insulin-like growth factors – measurements and relationships to growth hormone secretion and glucose homeostasis. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 14, p. 337-375, 2004.

GONZALEZ, F. H. D.; SILVA, S. C. **Introdução a bioquímica clínica veterinária**. Porto Alegre: UFRGS, 2006. 360 p.

GRANT, A. L. et al. Skeletal muscle growth and expression of skeletal muscle α -Actin mRNA and insulin-like growth factor I mRNA in pigs during feeding and withdrawal of ractopamine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, p. 3319-3326, 1993.

GUNAWAN, A. M. et al. Ractopamine induces differential gene expression in porcine skeletal muscles. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 85, p. 2115-2124, 2007.

HAUSMAN, D. B. et al. Effect of ractopamine on insulin sensitivity and response of isolated rat adiposities. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 67, p. 1455-1464, 1989.

HERMSDORFF, H. H. M.; MONTEIRO, J. B. R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, São Paulo, v. 48, n. 6, p. 803-811, 2004.

HORWITZ, W. **Official methods of Analysis of Official Analytical Chemists**. 13th ed. Arlington: AOAC, 1990.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas**: métodos químicos e físicos para análise de alimentos. São Paulo, 1997. v. 1, n. 2, 371p.

JOHANSEN, T.; LAURINO, C. et al. Reduction adiposity with prolonged growth hormone treatment in old obese rats: effects on glucose handling and early insulin signaling. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 15, p. 55-66, 2005.

KAMANGA-SOLLO, E., et al. IGF-I mRNA levels in bovine satellite cell cultures: effects of fusion and anabolic steroid treatment. **Journal of Cellular Physiology**, Philadelphia, v. 201, p. 181-189, 2004.

KIM, Y. S.; LEE, T. H.; CHOIF, Y. J. Effect of intermittent and stepwise administration of a beta-adrenergic agonist, L644,969, on rat growth performance and skeletal muscles. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Oxford, v. 1, n. 2, p. 127-132, 1990.

KRAEMER, W. J. et al. Effect of circulating growth hormone on muscle IGF-I protein concentration in female mice with growth hormone receptor gene disruption. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 19, p. 242-244, 2009.

KUPFER, S. R. et al. Enhancement of the Anabolic Effects of Growth hormone and Insulin-like Growth factor I by use of both agents simultaneously. **Journal of Clinical Investigation**, New York, v. 91, p. 391-396, 1993.

LACKEY, B. R. et al. The insulin-like growth factor (IGF) system and gonadotropin regulation: actions and interactions. **Cytokines & Growth Factor Reviews**, Montreal, v. 10, p. 201-217, 1999.

LARON, Z. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. **Journal Clinical Pathology**, London, v. 54, p. 311-316, 2001.

LEEB-LUNDBERG, L. M. et al. Regulation of adrenergic receptor function by phosphorylation. I. Agonist-promoted desensitization and phosphorylation of alpha 1-adrenergic receptors coupled to inositol phospholipid metabolism in DDT1 MF-2 smooth muscle cells. **Journal of Biological Chemistry**, Baltimore, v. 262, n. 7, p. 3098-3105, 1987.

LEHNINGER, A. L. et al. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Servier, 2007. p. 1232.

LINHART, H. G. K. et al. C/EBP α is required for differentiation of white, but not brown, adipose tissue. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, Washington, v. 98, n. 22, p. 12532-12537, 2001.

LISSET, C. A.; SHALET, S. M. Effects of growth hormone on bone and muscle. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 10, p. 95-101, 2000. Suppl. B.

LIU, C. Y. et al. Limitations of ractopamine to affect adipose tissue metabolism in swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 62-67, 1994.

LIU, C. Y.; MILLS, S. E. Decreased insulin binding to porcine adipocytes in vitro by beta-adrenergic agonists. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 1603-1608, 1990.

LOUVEAU, I.; GONDRET, F. Regulation of development and metabolism of adipose tissue by growth hormone and the insulin-like growth factor system. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 27, p. 241-255, 2004.

LUCIANO, E.; MELLO, M. A. R. Atividade física e metabolismo de proteínas em músculo de ratos diabéticos experimentais. **Revista Paulista de Educação Física**, São Paulo, v. 12, n. 2, p. 202-209, 1998.

MARINHO, P. C. et al. Efeito da ractopamina e de métodos de formulação de dietas sobre o desempenho e as características de carcaça de suínos machos

castrados em terminação. **Revista Brasileira de Zootecnia, Minas Gerais**, Viçosa, MG, v. 36, n. 4, p. 1061-1068, 2007.

MAURAS, N.; HAYMOND, M. W. Are the metabolic effects of GH and IGF-1 separable? **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 15, p. 19-27, 2005.

MCGRAW, D. W.; LIGGETT, S. B. Molecular mechanisms of β_2 adrenergic receptor function and regulation. **Proceedings of the American Thoracic Society**, New York, v. 2, n. 4, p. 292-296, 2005.

MCMAHON, C. D. et al. Neuroregulation of growth hormone secretion in domestic animals. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 20, p. 65-87, 2001.

MERSMANN, H. J. Beta-Adrenergic receptor modulation of adipocyte metabolism and growth. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 24-29, 2002. Suppl. 1.

MERSMANN, H. J. Overview of the effects of β -Adrenergic receptor agonists on animal growth including mechanisms of action. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, p. 160-172, 1998.

MILLS, S. E. et al. Stereoselectivity of porcine β -adrenergic receptors for ractopamine stereoisomers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 81, n. 1, p. 122-129, 2003.

MILLS, S. E. Implications of feedback regulation of beta-adrenergic signaling. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 30-35, 2002. Suppl. 1.

MOODY, D. E.; HANCOK, D. L.; ANDERSON, D. B. Phenethanolamine repartitioning agents. In: MELLO, J. P. F. D. (Ed.). **Farm animal metabolism and nutrition**. New York: CAB, 2000. p. 65-95.

NAKAYAMA, R. et al. Functional hypophysectomy simply by neck-strangulation in the rat: applications for ACTH and LH assays. **Journal of Pharmacological Sciences**, Tokio, v. 96, p. 101-105, 2004.

OLIVEIRA, C. R. P. et al. Papel emergente do eixo GH/IGF-1 no controle cardiometabólico. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, São Paulo, v. 97, n. 5, p. 434-439, 2011.

PAGE, K. et al. Adrenergic receptor agonists increase apoptosis of adipose tissue in mice. **Domestic Animal Endocrinology**, Auburn, v. 26, p. 23-31, 2004.

PALERMO NETO, J. Agonistas de receptores β 2-adrenérgicos e produção animal. In: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNADI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. cap. 50, p. 545-557.

ROSENBAUM, D. M.; RASMUSSEN, S. G. R.; KOBILKA, B. K. The structure and function of G-protein-coupled receptors. **Nature**, London, v. 459, n. 7245, p. 356-363, May 2009.

ROSENDAL, L. et al. Physical capacity influences the response of insulin-like growth factor and its binding proteins to training. **Journal of Applied Physiology**, Washington, v. 93, p. 1669-1675, 2002.

SANCHEZ-BRINGAS, G. et al. Follicle stimulation hormone treatment reverses the effect of hypophysectomy on cell proliferation in the chicken embryo ovary. **General and Comparative Endocrinology**, New York, v. 149, p. 134-400, 2006.

SATO, M.; YONEDA, S. An Efficient method for transauricular hypophysectomy in rats. **Acta Endocrinology**, Bucarest, v. 51, p. 43-48, 1966.

SILVA, D. J. **Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos**. Viçosa, MG: UFV, 1981. p. 166.

SEE, M. T.; ARMSTRONG, T. A.; WELDON, W. C. Effect of a ractopamine feeding program on growth performance and carcass composition in finishing pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, n. 8, p. 2474-2480, 2004.

SILVEIRA, E. T. F. Inovações tecnológicas aplicadas na determinação da composição da carcaça e suas implicações na industrialização da carne suína. In: SEMINÁRIO DE AVES E SUÍNOS, 7., 2007, Belo Horizonte. **Anais...Belo Horizonte: AveSui Regiões**, 2007. Disponível em: <www.cnpsa.embrapa.br/down.php?tipo=publicacoes&cod_publicacao=983>. Acesso em: 23 jan. 2013.

SMITH, D. J.; PAULSON, G. D. Growth characteristics of rats receiving ractopamine hydrochloride and the metabolic disposition of ractopamine hydrochloride after oral or intraperitoneal administration. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 72, p. 404-414, 1994.

SMITH, D. J. The pharmacokinetics, metabolism, and tissue residues of beta-adrenergic agonists in livestock. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 76, n. 1, p. 173-194, 1998.

SPURLOCK, M. E.; CUSUMANO, J. C.; MILLS, S. E. The affinity of ractopamine, clenbuterol, and L-644,969 for the beta-adrenergic receptor population in porcine adipose tissue and skeletal muscle membrane. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 8, p. 2061-2065, 1993.

SUGA, H. et al. Self-formation of functional adeno-hypophysis in tree-dimensional culture. **Nature**, London, v. 480, p. 57-64, 2011.

TAKASHI, Y.; AZUMA, T. Hypophysectomy depresses immune functions in rainbows trout. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C**, Oxford, v. 131, p. 93-100, 2002.

VIJAYAKUMAR, A. et al. Biological effects of growth hormone on carbohydrate and lipid metabolism. **Growth Hormone & IGF Research**, London, v. 20, p. 1-7, 2010.

WARNE, T. et al. Structure of a b1-adrenergic G-protein coupled receptor. **Nature**, London, v. 54, n. 7203, p 486-492, July 2008.

WARZECHA, Z. et al. Influence of ghrelin on gastric and duodenal growth and expression of digestive enzymes in young mature rats. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Krakow, v. 57, n. 3, p. 425-437, 2006.

WATANABE, P. H. et al. Ractopamine in diets for finishing gilts. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v. 40, n. 4, p. 827-833, Apr. 2011.

WATKINS, L. E. et al. The effect of various levels of ractopamine hydrochloride on the performance and carcass characteristics of finishing swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, p. 3588-3595, 1990.

WEBER, T. E. et al. Evaluation of the effects of dietary fat, conjugated linoleic acid, and ractopamine on growth performance, pork quality, and fatty acid profiles in genetically lean gilts. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 3, p. 720-732, 2006.

WILSON, V. J. et al. Effects of hypophysectomy and growth hormone administration on the mRNA levels of collagen I, III and insulin-like growth

factor-I in rat skeletal muscle. **Growth hormone & IGF Research**, London, v. 8, p. 431-438, 1998.

YAKAR, S.; LIU, JUN-LI. et al. Normal growth and development in the absence of hepatic insulin-like growth factor I. **Proceedings of the national academy of sciences of the United States of America**, Washington, v. 96, p. 7324-7329, 1999.

ANEXOS

ANEXO A Tabelas

Tabela 1A	Análise de variância para peso relativo do coração de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	60
Tabela 2A	Análise de variância para peso relativo do fígado de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	60
Tabela 3A	Análise de variância para peso relativo do baço de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	60
Tabela 4A	Análise de variância para peso relativo do pulmão de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	60
Tabela 5A	Análise de variância para peso relativo do intestino de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	61
Tabela 6A	Análise de variância para peso relativo dos rins de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	61
Tabela 7A	Análise de variância para rendimento de carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	61
Tabela 8A	Análise de variância para consumo de ração diário de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	61
Tabela 9A	Análise de variância para consumo de água diário de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	62
Tabela 10A	Análise de variância para produção urinária de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	62
Tabela 11A	Análise de variância para colesterol de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	62
Tabela 12A	Análise de variância para triacilgliceróis de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	62
Tabela 13A	Análise de variância para glicose de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.	63

Tabela 14A	Análise de variância para IGF-1 de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.....	63
Tabela 15A	Análise de variância para peptídeo C de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.....	63
Tabela 16A	Análise de variância para umidade da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.....	63
Tabela 17A	Análise de variância para cinzas da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento..	64
Tabela 18A	Análise de variância para proteína bruta da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento.....	64
Tabela 19A	Análise de variância para extrato etéreo da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento... ..	64

Tabela 1A Análise de variância para peso relativo do coração de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,0084	0,008	3,01	0,09
GH (G)	1	0,0108	0,011	3,87	0,05
R*G	1	0,0026	0,003	0,93	0,34
adicional	1	0,0114	0,011	4,07	0,05
Erro	25	0,0700	0,003		
CV (%)	15,98				

Tabela 2A Análise de variância para peso relativo do fígado de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,1080	0,108	0,71	0,41
GH (G)	1	0,0737	0,074	0,48	0,49
R*G	1	0,0003	0,000	0,00	0,96
adicional	1	1,3000	1,300	8,49	0,01
Erro	25	3,8288	0,153		
CV (%)	10,79				

Tabela 3A Análise de variância para peso relativo do baço de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,0035	0,004	2,15	0,15
GH (G)	1	0,0118	0,012	7,26	0,01
R*G	1	0,0024	0,002	1,48	0,24
Adicional	1	0,0497	0,050	30,47	0,00
Erro	25	0,0408	0,002		
CV (%)	8,48				

Tabela 4A Análise de variância para peso relativo do pulmão de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,1442	0,144	17,91	0,00
GH (G)	1	0,0794	0,079	9,86	0,00
R*G	1	0,0113	0,011	1,40	0,25
Adicional	1	0,0173	0,017	2,15	0,16
Erro	25	0,2012	0,008		
CV (%)	10,71				

Tabela 5A Análise de variância para peso relativo do intestino de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	8,1550	8,155	6,25	0,02
GH (G)	1	0,3060	0,306	0,23	0,63
R*G	1	4,6376	4,638	3,56	0,07
Adicional	1	0,0658	0,066	0,05	0,82
Erro	25	32,5943	1,304		
CV (%)	14,20				

Tabela 6A Análise de variância para peso relativo dos rins de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,0353	0,035	3,34	0,08
GH (G)	1	0,0122	0,012	1,15	0,29
R*G	1	0,0338	0,034	3,19	0,09
Adicional	1	0,1857	0,186	17,56	0,00
Erro	25	0,2644	0,011		
CV (%)	14,63				

Tabela 7A Análise de variância para rendimento de carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	26,8605	26,861	5,94	0,02
GH (G)	1	1,6590	1,659	0,37	0,55
R*G	1	7,6050	7,605	1,68	0,21
Adicional	1	9,9245	9,925	2,20	0,15
Erro	25	113,0115	4,520		
CV (%)	2,66				

Tabela 8A Análise de variância para consumo de ração diário de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,8817	0,882	0,22	0,64
GH (G)	1	20,2034	20,203	5,10	0,03
R*G	1	16,6667	16,667	4,21	0,05
adicional	1	16,7702	16,770	4,24	0,05
Erro	25	98,9630	3,959		
CV (%)	13,64				

Tabela 9A Análise de variância para consumo de água diário de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	9,0941	9,094	21,28	0,00
GH (G)	1	6,5704	6,570	15,37	0,00
R*G	1	4,8553	4,855	11,36	0,00
adicional	1	11,4865	11,486	26,87	0,00
Erro	25	10,6860	0,427		
CV (%)	10,40				

Tabela 10A Análise de variância para produção urinária de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	4,6995	4,700	6,23	0,02
GH (G)	1	14,9588	14,959	19,82	0,00
R*G	1	8,0601	8,060	10,68	0,00
adicional	1	73,7533	73,753	97,73	0,00
Erro	25	18,8673	0,755		
CV (%)	23,04				

Tabela 11A Análise de variância para colesterol de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	2754,1838	2754,184	15,78	0,00
GH (G)	1	455,7074	455,707	2,61	0,12
R*G	1	139,6838	139,684	0,80	0,38
adicional	1	951,9207	951,921	5,45	0,03
Erro	25	4363,9590	174,558		
CV (%)	7,75				

Tabela 12A Análise de variância para triacilgliceróis de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	508,5763	508,576	4,26	0,05
GH (G)	1	1,7496	1,750	0,01	0,90
R*G	1	557,5776	557,578	4,67	0,04
Adicional	1	0,0137	0,014	0,00	0,99
Erro	25	2986,1280	119,445		
CV (%)	6,47				

Tabela 13A Análise de variância para glicose de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	32,0763	32,076	51,75	0,00
GH (G)	1	18,0366	18,037	29,10	0,00
R*G	1	0,5648	0,565	0,91	0,35
Adicional	1	4,9219	4,922	7,94	0,01
Erro	25	15,4971	0,620		
CV (%)	9,32				

Tabela 14A Análise de variância para IGF-1 de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,9337	0,934	4,37	0,05
GH (G)	1	0,9160	0,916	4,29	0,05
R*G	1	0,4985	0,499	2,33	0,14
Adicional	1	0,2114	0,211	0,99	0,33
Erro	25	5,3379	0,214		
CV (%)	10,15				

Tabela 15A Análise de variância para peptídeo C de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	9,7042	9,704	17,98	0,00
GH (G)	1	0,9714	0,971	1,80	0,19
R*G	1	0,7477	0,748	1,39	0,25
adicional	1	0,3276	0,328	0,61	0,44
Erro	25	13,4957	0,540		
CV (%)	18,25				

Tabela 16A Análise de variância para umidade da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	31,8551	31,855	14,61	0,00
GH (G)	1	11,5787	11,579	5,31	0,03
R*G	1	7,6727	7,673	3,52	0,07
adicional	1	3,7559	3,756	1,72	0,20
erro	25	54,5009	2,180		
CV (%)	4,91				

Tabela 17A Análise de variância para cinzas da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	0,0078	0,008	0,22	0,64
GH (G)	1	0,0997	0,100	2,83	0,11
R*G	1	0,0031	0,003	0,09	0,77
Adicional	1	0,0009	0,001	0,03	0,87
Erro	25	0,8817	0,035		
CV (%)	8,79				

Tabela 18A Análise de variância para proteína bruta da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	5,8806	5,881	4,45	0,05
GH (G)	1	1,4406	1,441	1,09	0,31
R*G	1	0,2166	0,217	0,16	0,69
adicional	1	20,1392	20,139	15,23	0,00
erro	25	33,0522	1,322		
CV (%)	5,66				

Tabela 19A Análise de variância para extrato etéreo da carcaça de ratos tratados com ractopamina e hormônio do crescimento

FV	GL	SQ	QM	F	P>F
Ractopamina (R)	1	6,1037	6,104	160,07	0,00
GH (G)	1	3,1868	3,187	83,57	0,00
R*G	1	0,2634	0,263	6,91	0,01
adicional	1	0,1076	0,108	2,82	0,11
erro	25	0,9533	0,038		
CV (%)	8,25				