

EFEITO DA REDUÇÃO DE PROTEÍNA BRUTA SOBRE OS PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS E SANGUÍNEOS DE FRANGOS DE CORTE

Filipe A. Moreno*¹; Leandro N. Kuritza¹; Katiucia C. Sonalio¹; Geovani C. Senger¹; Letícia Dzierva¹; Vitor A. B. Zavelinski¹; Alex Maiorka¹.

¹ Universidade Federal do Paraná (UFPR), Setor de Ciências Agrárias, Curitiba, PR.
Autor correspondente: filipe.btu@gmail.com

Apresentado no
19º Seminário Técnico Científico de Aves, Suínos e Peixes
5º Congresso de Zootecnia de Precisão
AveSui 2020 - 28 a 30 de julho de 2020 – Lar Centro de Eventos / Medianeira - PR, Brasil

RESUMO: Objetivou-se avaliar se a redução dos níveis de proteína bruta (PB) nas dietas de frangos de corte tem algum efeito sobre alterações em órgãos imunológicos, e por sua vez, se estas tem impacto na contagem de linfócitos T. Foram formuladas quatro dietas diferentes, com diferentes níveis de PB. Uma dieta basal contendo os níveis recomendados de PB, e as três dietas seguintes tiveram 1, 2 e 3% menos PB nos períodos de 1 a 21 dias (22,5, 21,5, 20,5 e 19,5% de PB) e de 22 a 42 dias (19,2, 18,2, 17,2 e 16,2% de PB). Um total de 800 pintos Ross machos foram alojados aleatoriamente em 32 boxes, com 25 aves cada, totalizando 8 repetições por tratamento. Foram analisados o tamanho da Bursa de Fabricius e a contagem sanguínea de linfócitos T por citometria de fluxo, aos 42 dias. Em relação à imunidade, os resultados obtidos indicaram que o tamanho de Bursa de Fabricius foi reduzido e causou alteração nas linhagens CD4 e CD8 ($P < 0,05$). A redução dos níveis de PB na dieta pode ter um impacto negativo na resposta imune de frangos de corte, mesmo quando suplementados com níveis adequados de aminoácidos essenciais.

PALAVRAS-CHAVE: Aminoácidos essenciais; Análise sanguínea, Sistema imunológico

ABSTRACT: The objective was to evaluate whether the reduction of crude protein (CP) levels in broiler diets has any effect on changes in immune organs, and whether these have an impact on T lymphocyte count. Four different diets were formulated, with four levels of CP. One basal diet containing the recommended levels of CP, and the following three diets had 1, 2 and 3% less CP in the periods from 1 to 21 days (22.5, 21.5, 20.5 and 19.5% of CP) and 22 to 42 days (19.2, 18.2, 17.2 and 16.2% CP). A total of 800 male Ross chicks were randomly allocated to 32 pens, with 25 birds each, totaling 8 replicates per treatment. Bursa of Fabricius size and blood lymphocyte count by flow cytometry were analyzed at 42 days. Related to immunity, the results obtained indicated the size of Bursa of Fabricius was reduced and may caused changes in the CD4 and CD8 strains ($P < 0.05$). Reduction in dietary CP levels may have a negative impact on immune response of broilers, even when supplementing with adequate levels of essential amino acids.

KEYWORDS: Bursa of Fabricius; T lymphocytes; Immunity; Protein reduction

INTRODUÇÃO: O sistema imunológico possui demandas nutricionais específicas para ter seu desenvolvimento e funcionalidade normais, sendo que quantidades acima ou abaixo dos níveis nutricionais recomendados podem afetar esse sistema de forma positiva ou negativa (Kogut e Krasaing, 2009). Compreendendo-se os efeitos da nutrição nesse sistema, é possível melhorar as defesas da ave contra possíveis patógenos (Krover, 2012). Os aminoácidos têm papel fundamental na síntese de várias proteínas específicas, como por exemplo, citocinas e anticorpos, e regulam as vias metabólicas essenciais para a resposta imune aos patógenos (Li et al., 2007). Quando os animais enfrentam um desafio, o organismo desvia os aminoácidos do crescimento e produção para os órgãos imunológicos para responder a uma infecção (Le Floch et al., 2004). Isso pode reduzir o desempenho e a produtividade das aves. E se, as quantidades de aminoácidos estiverem abaixo da recomendação, a imunidade humoral e a imunidade mediada por células pode ser comprometida (Glick et al., 1981; Glick et al., 1983). A redução de aminoácidos na dieta pode também alterar os órgãos imunes, reduzindo a resposta imune (Bang-yuang et al., 2012). Considerando que as aves possuem uma nutrição precisa, é recomendável definir o equilíbrio correto de proteínas e, mais precisamente, aminoácidos para atender às necessidades de desempenho e também à resposta imune. Objetivou-se avaliar os efeitos da redução dos níveis de proteína bruta (PB) nas dietas para frangos de corte sobre os órgãos imunológicos e possíveis impactos dessa alteração na contagem sanguínea de linfócitos T.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram formuladas quatro dietas diferentes, com quatro níveis graduados de PB. Uma dieta basal foi formulada para atender as exigências nutricionais das aves com base nas “Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos” (Rostagno et al., 2011). As dietas experimentais consistiram em uma dieta controle de milho e farelo de soja contendo 22,50% de PB na fase inicial (1 a 21 dias) e 19,20% de PB na dieta de crescimento (22 a 42 dias), as dietas seguintes tiveram uma redução de 1, 2 e 3% na redução de PB a partir da dieta controle (21,5; 20,5 e 19,5% nas dietas iniciais e 18,20; 17,20 e 16,20% nas dietas de crescimento), conforme a Tabela 1.

Tabela 1 – Composição nutricional das dietas nos períodos de 1 à 21 e 22 à 42 dias de idade.

Composição nutricional	Inicial (1 à 21 dias)				Crescimento (22 à 42 dias)			
Proteína Bruta (%)	22.50	21.50	20.50	19.50	19.20	18.20	17.20	16.20
Energia met. (Kcal/Kg)	3075	3077	3074	3075	3174	3176	3178	3174
Lis. digestível (%)	1.30	1.30	1.30	1.30	1.07	1.07	1.07	1.07
Met+Cis. digestível (%)	0.97	0.97	0.97	0.97	0.81	0.81	0.81	0.81
Treon. digestível (%)	0.85	0.85	0.85	0.85	0.72	0.72	0.72	0.72
Trip. digestível (%)	0.25	0.25	0.25	0.25	0.21	0.21	0.21	0.21
Arg. digestível (%)	1.48	1.48	1.48	1.48	1.25	1.25	1.25	1.25
Cálcio (%)	0.98	0.98	0.98	0.98	0.80	0.80	0.80	0.80
Fósforo (%)	0.47	0.47	0.47	0.47	0.40	0.40	0.40	0.40

Os animais foram alojados em boxes (1,65 x 1,25 m) contendo cama de maravalha de pinus com altura mínima de 8 cm, equipados com comedouro tubular e bebedouros tipo nipple. No total, 800 pintos Ross machos foram alojados aleatoriamente em 32 boxes, com 25

aves cada, totalizando oito repetições por tratamento. Antes do alojamento, 80 animais foram selecionados aleatoriamente e pesados para determinar o peso corporal inicial, permitindo uma distribuição homogênea do peso entre os tratamentos. Os parâmetros analisados foram a contagem de células T e tamanho da Bursa de Fabricius. Os animais tiveram livre acesso a ração e água durante todo o experimento. Aos 42 dias, uma ave por repetição foi selecionada para contagem de células T (por meio de citometria de fluxo) e duas aves selecionadas e eutanasiadas para verificar o peso da Bursa de Fabricius. As coletas de sangue foram realizadas por pessoas treinadas, por meio de punção direta da veia braquial com seringas heparinizadas até a coleta de 4 ml de sangue de cada ave e posteriormente transportado para laboratório para processamento.

Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade (Shapiro-Wilk) e homogeneidade de variância (Bartlett), quando normais e homogêneos, foram submetidos à análise de regressão com nível de probabilidade de 5%, utilizando PROC REG do SAS®.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Na tabela 2 estão representados os resultados relacionados à imunidade dos frangos de corte no período de 42 dias. A redução da PB na dieta resultou em redução linear no tamanho da Bursa de Fabricius aos 42 dias de idade dos frangos de corte ($P < 0.05$). As células T CD4+CD8-, CD8+TCRVβ1-, CD8-TCRVβ1+ e CD8+CD28- apresentaram um comportamento quadrático ($P < 0.05$), e as células T CD4+CD8+, CD8+CD28+ apresentaram um comportamento linear ($P < 0.05$). Outras células não diferiram significativamente ($P > 0.05$).

Tabela 2. Proporção de células imunes no sangue e peso da Bursa de Fabricius aos 42 dias de idade.

Item	Proteína Bruta (%)				EPM****	P*	
	19.2	18.2	17.2	16.2		L**	Q***
Células (%)							
CD4+CD8-	10.93	13.17	11.36	9.49	0.510	0.162	0.040
CD4+CD8+	2.56	2.39	2.13	1.44	0.200	0.047	0.513
CD4-CD8+	5.39	5.31	5.34	4.54	0.427	0.533	0.686
CD8+TCRVb1-	6.19	13.39	8.08	5.05	0.797	0.104	0.001
CD8+TCRVb1+	5.37	5.80	4.65	3.45	0.414	0.065	0.320
CD8-TCRVb1+	8.65	9.53	9.40	6.76	0.430	0.117	0.037
CD8+CD28-	2.44	3.42	2.83	1.00	0.260	0.017	0.003
CD8+CD28+	4.19	5.30	2.83	1.44	0.423	0.002	0.087
CD8-CD28+	12.65	17.27	14.19	12.61	0.811	0.648	0.055
CD4:CD8 (razão)	2.37	2.94	2.68	2.14	0.203	0.611	0.189
Bursa de Fabricius (g)	6.39	5.81	5.36	5.06	0.216	0.024	0.743

* P valor; ** Efeito Linear; *** Efeito quadrático; **** Erro padrão da média

Níveis mais baixos de proteína podem reduzir o ganho de peso corporal nos estágios iniciais da vida, mas essa diferença pode não ser observada em idades mais avançadas (Corzo et al., 2005). O corpo preferencialmente pode direcionar os aminoácidos da proteína ingerida para o crescimento do animal. Mas esse direcionamento pode ter efeitos colaterais, reduzindo o peso de alguns órgãos, como o timo e a Bursa de Fabricius (Jahanian, 2009). Alguns dos

principais órgãos imunológicos responsáveis pela resposta dos anticorpos nas aves (Davison, 2008). Como Jahanian (2019) que observou redução nos linfócitos no sangue, resultando em menores níveis de anticorpos quando os animais foram submetidos a desafios sanitários. Semelhantemente, aos 42 dias, foi observada redução linear no tamanho desse órgão, correspondendo a níveis decrescentes de PB.

As células CD8 + TCRV β 1- são células citotóxicas periféricas e estão associadas ao ataque direto contra células infectadas (Davidson, 2008) e CD8-TCRV β 1 + são consideradas auxiliares da mucosa, induzindo a produção de IgA (Cihak et al., 1991). As células duplamente positivas (CD4 + CD8 +) são células imaturas quando nos tímócitos, mas no sangue periférico, pouco se sabe sobre seu papel (Overgaard et al., 2015).

Em camundongos, a depleção imunológica devido à baixa inclusão de proteínas na dieta implica danos graves à função tímica e linfócitos que dela derivam. Nesta espécie, o timo apresenta um desequilíbrio na razão entre a quantidade de linfócitos CD4 e CD8. No entanto, isso não se reflete da mesma maneira no sangue periférico (Lee & Woodward, 1996). Da mesma forma, no presente estudo, a proporção desses tipos de linfócitos no sangue não refletiu a mudança de proteína na dieta, embora seja possível que o timo tenha sofrido grandes modificações. Fica evidente que as alterações linfocitárias no sangue não refletem necessariamente as mudanças drásticas que ocorrem nos órgãos linfóides durante situações de baixa proteína na dieta. Sendo assim, a análise do sangue parece ser mais apropriada do que as avaliações imunológicas intestinais, por exemplo.

Os níveis inferiores de proteínas nas dietas foram atingidos por meio da redução do farelo de soja e aumento nas quantidades de milho. Contudo, níveis mais altos de milho podem reduzir a digestibilidade das proteínas, reduzir assim a absorção de aminoácidos e comprometer o desempenho animal (Moss et al., 2018). Para o sistema imunológico a queda na PB da dieta pode não representar grande desafio sanitário, mas essa condição pode mudar em caso de uma infecção. Le Floc'h et al. (2004) afirma que o corpo pode redistribuir aminoácidos para afastar as proteínas da produção animal (crescimento, lactação, etc.) em direção aos tecidos envolvidos na inflamação e na resposta imune para sintetizar proteínas inflamatórias e imunológicas, apoiar a proliferação de células imunes e sintetizar outros compostos importantes para as funções de defesa do organismo.

CONCLUSÕES: A redução na PB da dieta diminui o tamanho da Bursa de Fabricius e causa menor produção na contagem de linfócitos T. O que indica menor capacidade de resposta imunológica a desafios sanitários.

REFERÊNCIAS

AWAD, E.A.; ZULKIFLI, I.; SOLEIMANI, A.F. et al., Individual non-essential amino acids fortification of a low-protein diet for broilers under the hot and humid tropical climate, 2015.

BANG-YUAN, W.; HENG-MIN, C.; XI, P. et al. Effect of methionine deficiency on the thymus and the subsets and proliferation of peripheral blood t-cell, and serum IL-2 contents in broilers. Journal of Integrative Agriculture, 2012.

CAMPBELL, J.W. Excretory nitrogen metabolism. In: Prosser CL (ed) Experimental and metabolic animal physiology. Comparative Animal Physiology, 1991.

CIHAK, J.G.; HOFFMANN-FEZER, H.W.; ZIEGLER-HEIBROCK, H. et al. T cells expressing the V β 1 T-cell receptor are required for IgA production in the chicken. Proceedings of the National Academy of Sciences. 88:10951-10955, 1991.

CORZO, A.; FRITTS, C.A.; KIDD, M.T. et al. Response of broiler chicks to essential and non-essential amino acids supplementation of low crude protein diets. An. Fd. Sci. Tec. 2005.

DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K. Avian Immunology, 1ª ed. Academic Press, 2008.

EMMANUEL, B.; HOWARD, B.R. Endogenous uric acid and urea metabolism in the chicken. Br. Poult. Sci., 1978.

GLICK, B.; DAY, E.J.; Thompson, D. Calorie-protein deficiencies and the immune response of the chicken I. Humoral immunity. Poult. Sci., 1981.

GLICK, B.; TAYLOR JR, R.L.; MARTIN, D.E. et al. Calorie-protein deficiencies and the immune response of the chicken II. Cell-mediated immunity. Poult. Sci., 1983.

JAHANIAN, R. Immunological responses as affected by dietary protein and arginine concentrations in starting broiler chicks. Poult. Sci., 2009.

KARASAWA, Y. Time course of urinary excretion of intraportal ammonia as uric acid and ammonia in chickens fed low- or high-protein diet. Comp. Bioch. and Phys., 1986.

KOGUT, M.H.; KLASING, K. An immunologist's perspective on nutrition, immunity, and infectious diseases – Introduction and overview. Poult. Sci., 2009.

KROVER, D.R. Implications of changing immune function through nutrition in poultry. Animal Feed Science and Technology., 2012.

LE FLOC'H, N.; MELCHIOR, D.; OBLED, C. Modifications of protein and amino acid metabolism during inflammation and immune system activation. Livestock Prod. Sci., 2004.

LEE, W.H.; WOODWARD, B.D. The CD4-CD8 ratio in the blood does not reflect the response of this index in secondary lymphoid organs of weanling mice in models of protein-energy malnutrition known to depress thymus-dependent immunity. J. of Nutr., 1996.

LI, P.; YIN, Y.; LI, D.; KIM, S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. Br. J. of Nutr., 2007.

MOSS, A.F.; SYDENHAM, C.J.; KHODDAMI, A. et al. Dietary starch influences growth performance, nutrient utilization and digestive dynamics of protein and amino acids in broiler chickens offered low-protein diets. An. Fd. Sci. Tec., 2018.