

EFEITO DA REDUÇÃO DE PROTEÍNA BRUTA NOS PARÂMETROS IMUNOLÓGICOS DE FRANGOS DE CORTE AOS 21 DIAS DE IDADE

Filipe A. Moreno*¹; Leandro N. Kuritza¹; Marley C. Santos¹; Leopoldo M. Almeida¹; Lucas S. Bassi¹; Isabela C. Dias¹; 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: Esta pesquisa foi realizada para avaliar se a redução dos níveis de proteína bruta na dieta de frangos de corte tem algum efeito sobre os órgãos imunológicos e verificar se essa alteração tem impacto na contagem de linfócitos T. Para isso, foram formuladas quatro dietas diferentes, com quatro níveis proteína bruta. Uma dieta basal foi formulada a partir das Tabelas Brasileiras de Aves e Suínos, contendo 22,5% de proteína bruta, e as três dietas seguintes tiveram 1, 2 e 3% menos proteína bruta (21,5%, 20,5% e 19,5%) durante o período de 1 a 21 dias. O total de 800 pintos Ross machos foram alojados aleatoriamente em 32 boxes, com 25 aves cada, totalizando 8 repetições por tratamento. Aos 21 dias de idade, foram realizadas coletas de Bursa de Fabricius e de sangue para análise de linfócitos T. Níveis mais baixos de proteína bruta reduziram as quantidades de linfócitos T aos 21 dias, principalmente da linhagem CD8. Não foi observada diferença significativa no tamanho de Bursa de Fabricius aos 21 dias de idade ($P > 0,05$). Concluiu-se que a redução dos níveis de proteína bruta 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: Bursa de Fabricius; Linfócitos T; Imunidade; Redução de proteínas

ABSTRACT: This research was conducted to evaluate if the reduction of crude protein levels in diets for broiler chickens has any effects on immune organs and verifying if this change has an impact in T lymphocytes counts. For this, four different diets were formulated, with four graded levels of crude protein. A basal diet was formulated to attend the Brazilian Tables for Poultry and Swine, containing 22.5% of crude protein, and the next three diets had 1, 2 and 3% less crude protein (21.5%, 20.5% and 19.5%) from 1 to 21 days. A total of 800 male Ross chicks were randomly allocated to 32 pens, with 25 birds each, totaling 8 replicates per treatment. Was performed the collection of Bursa of Fabricius and blood for T lymphocytes analysis by flow cytometry were performed at 21. Related to immunity, lower levels of crude protein reduced T lymphocytes at 21 days, specially from CD8 lineage. There was no significant difference in the size of the Bursa of Fabricius until 21 days of age ($P > 0.05$). Reduction in dietary crude protein 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: A redução da resposta imune é um desafio presente na produção de aves e pode causar uma redução na lucratividade para o produtor. Sabe-se que 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 Klasing, 2009). Assim, a compreensão do efeito da nutrição sobre o sistema imunológico pode permitir a manipulação da resposta imune para melhorar as defesas do organismo da ave contra possíveis patógenos (Krover, 2012). Sob essa ótica, 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. Além disso, se as quantidades de aminoácidos estiverem abaixo da recomendação, o sistema imunológico pode ter uma redução da imunidade humoral (Glick et al., 1981) e imunidade mediada por células (Glick et al., 1983). Essa redução foi confirmada por alguns autores (Bang-yuang et al., 2012), demonstrando que a redução de alguns aminoácidos pode alterar os órgãos imunes e reduzir a resposta imune. 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. Esta pesquisa foi realizada com intuito de avaliar os efeitos da redução dos níveis de proteína bruta em dietas para frangos de corte sobre os órgãos imunológicos e possíveis impactos dessa alteração na contagem de linfócitos T.

MATERIAL E MÉTODOS: Foram alojados aleatoriamente 800 pintos Ross, machos, em 32 boxes (1,65 x 1,25 m) contendo cama de maravalha de pinus com altura mínima de oito cm, contendo 25 aves cada, cada box representando uma repetição, totalizando oito repetições por tratamento. Todos os boxes foram equipados com comedouro tubular e bebedouros tipo nipple. As aves foram alimentadas com dieta inicial de 1 a 21 dias de vida, sendo formuladas para atender a todos os requisitos dos frangos, de acordo com as Tabelas Brasileiras para Suínos e Aves (Rostagno et al., 2011). 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. As dietas experimentais consistiram em uma dieta controle de milho e farelo de soja contendo 22,50% de proteína bruta (PB), a dietas seguintes tiveram uma redução de 1, 2 e 3 pontos percentuais na redução de PB a partir da dieta controle (21,5; 20,5 e 19,5%), conforme Tabela 1.

Tabela 1 – Composição das dietas experimentais no período de 1 a 21 dias de idade.

	Composição nutricional			
Proteína Bruta (%)	22.50	21.50	20.50	19.50
Energia metabolizável (Kcal/Kg)	3075	3077	3074	3075
Lis. digestível (%)	1.30	1.30	1.30	1.30
Met+Cis. digestível (%)	0.97	0.97	0.97	0.97
Treon. digestível (%)	0.85	0.85	0.85	0.85

Trip. digestível (%)	0.25	0.25	0.25	0.25
Arg. digestível (%)	1.48	1.48	1.48	1.48
Cálcio (%)	0.98	0.98	0.98	0.98
Fósforo (%)	0.47	0.47	0.47	0.47

Os animais tiveram livre acesso a ração e água durante todo o experimento. Os parâmetros analisados foram a contagem de células T e tamanho da Bursa de Fabricius. Aos 21 dias, uma ave por repetição foi selecionada para coleta de sangue para posterior análise de contagem de células T (por meio de citometria de fluxo) e outra para coleta de 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, conforme descrito por Beirão et al. (2012).

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

RESULTADOS E DISCUSSÃO: Na tabela 2 estão representados os resultados relacionados à imunidade dos frangos de corte no período de 21 dias. A redução na PB da dieta resultou em uma redução linear dos linfócitos T citotóxicos (CD4-CD8+; CD8+TCRVb1-; CD8+TCRVb1+; CD8-TCRVb1+; P<0.05) aos 21 dias de idade, no entanto o tamanho da Bursa de Fabricius não foi afetado nesse mesmo período (P>0.05).

Tabela 2. Proporção de células imunes no sangue e peso da Bursa de Fabricius aos 21 dias de idade.

Item	Proteína Bruta (%)				EPM****	P*	
	22.5	21.5	20.5	19.5		L**	Q***
Células (%)							
CD4+CD8-	19.07	20.28	19.42	17.55	0.657	0.369	0.258
CD4+CD8+	8.66	8.37	8.86	8.25	0.578	0.890	0.895
CD4-CD8+	6.88	4.71	6.00	3.73	0.426	0.025	0.951
CD8+TCRVb1-	3.19	2.48	1.91	1.41	0.273	0.016	0.837
CD8+TCRVb1+	5.40	4.37	3.76	2.91	0.316	0.004	0.880
CD8-TCRVb1+	21.91	21.04	18.94	16.43	0.693	0.002	0.507
CD8+CD28-	2.62	2.22	3.21	2.08	0.225	0.748	0.415
CD8+CD28+	15.84	17.37	18.55	15.62	0.947	0.950	0.261
CD8-CD28+	6.18	5.99	6.01	4.96	0.456	0.392	0.648
CD4:CD8 (razão)	3.55	4.93	3.66	4.96	0.304	0.183	0.815
Bursa de Fabricius (g)	2.54	2.39	2.50	2.36	0.097	0.653	0.976

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

As células afetadas foram especialmente da linhagem CD8, mesmo sem diferença significativa aos 21 dias no tamanho da Bursa de Fabricius, responsável pela resposta de

anticorpos em galinhas (Davison, 2008). Esses resultados estão de acordo com o estudo anterior, indicando menor capacidade desses animais em responder a uma possível infecção. Os linfócitos T CD8⁺ são responsáveis por fazer a eliminação de invasores no organismo, através de rápida multiplicação, podendo atingir diversas partes do organismo (Zhang e Beaven, 2011). No entanto, quando há redução da proteína na dieta, há a redução desta capacidade de multiplicação destas células, reduzindo esta capacidade de resposta, através de rápida multiplicação das células (Iyer et al., 2011).

Para animais em situação de homeostase, a deficiência de proteína pode não representar um grande desafio para o sistema imunológico, mas isso pode mudar quando os animais enfrentam uma infecção. Essa alteração nas necessidades de aminoácidos e proteínas foi revisada por Le Floch et al. (2004) e indica que o corpo pode redistribuir aminoácidos que seriam destinados ao desenvolvimento e 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 corpo.

CONCLUSÕES: Considerando os resultados obtidos, podemos esperar menor capacidade desses animais em responder a um desafio de infecções aos 21 dias de idade. Pois a redução dos níveis de proteína bruta na dieta pode ter um impacto negativo na resposta imune de frangos de corte, mesmo quando suplementados com níveis adequados de aminoácidos essenciais.

REFERÊNCIAS

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*. 11(6):1009-1019, 2012.

BEIRÃO, B.C.B.; FÁVARO JR, C.; NAKAO, L.S. et al. Flow cytometric immune profiling of specific-pathogen-free chickens before and after infectious challenges. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 145:31-42, 2012.

DAVISON, F.; KASPERS, B.; SCHAT, K. *Avian Immunology*, 1st edition. Academic Press, London, 496 pp, 2008.

GLICK, B.; DAY, E.J.; Thompson, D. Calorie-protein deficiencies and the immune response of the chicken I. Humoral immunity. *Poultry Science*. 60:2494-2500, 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. *Poultry Science*. 62:1889-1893, 1983.

IYER SS, CHATRAW JH, TAN WG, et al. Protein energy malnutrition impairs homeostatic proliferation of memory CD8 T cells. *J Immunol*. 2012.

KOGUT, M.H.; KLASING, K. An immunologist`s perspective on nutrition, immunity, and infectious diseases – Introduction and overview. *Poultry science*. 18:103-110, 2009.

KROVER, D.R. Implications of changing immune function through nutrition in poultry. *Animal Feed Science and Technology*. 173:54-56, 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*. 87:37-45, 2004.

LI, P.; YIN, Y.; LI, D.; KIM, S.W.; WU, G. Amino acids and immune function. *British Journal of Nutrition*. 98:237-252, 2007.

ROSTAGNO, H.S.; ALBINO, L.F.T.; DONZELE J.L. et al. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 3.ed. Viçosa: UFV, 2011.

ZHANG N, BEVAN MJ. CD8(+) T cells: foot soldiers of the immune system. *Immunity*. 2011.