

## EXPRESSÃO DE *NK-lisina* EM RESPOSTA A COCCIDIOSE EM LINHAGENS DE CORTE E POSTURA

EA Almeida<sup>1,2\*</sup>, DB Vieira<sup>2</sup>, CAF Costa<sup>3</sup>, L Brentano<sup>3</sup>, IM Trevisol<sup>3</sup>, EAP Figueiredo<sup>3</sup>, RB Zingali<sup>4</sup>, LHVG Gil<sup>5</sup>, GR Bertani<sup>2†</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genética – Universidade Federal de Pernambuco. Recife, PE, Brasil.

<sup>2</sup>Departamento de Bioquímica – LIKA/UFPE. Recife, PE, Brasil. †gbertani@gmail.com;

<sup>3</sup>Embrapa Suínos e Aves – CNPSA. Concórdia, SC, Brasil.

<sup>4</sup>Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>5</sup>Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – CPqAM/FIOCRUZ. Recife, PE, Brasil.

### Introdução

Embora a avicultura contribua de forma expressiva para o agronegócio brasileiro, grande parte do plantel avícola está acometida pela coccidiose, causada por parasitos intracelulares do gênero *Eimeria*. O controle da enfermidade tem sido feito com anticoccidiostáticos administrados na dieta, prática cada vez mais condenada pelos mercados consumidores e que tem favorecido o surgimento de resistência por parte dos parasitos, além de aumentar o custo de produção. Neste contexto, animais apresentando maior resistência genética à infecção por *E. tenella* podem servir para o advento de linhagens comerciais resistentes ao parasito. O mecanismo de resistência inata envolve atividade poligênica em diversas células especializadas do sistema imune, como linfócitos T e células *natural killer*, que secretam grânulos citolíticos direcionados a células alvo (3). Dentre os peptídeos secretados por estas células, a *NK-lisina* atua em infecções parasitárias ao lesar a membrana celular, elevar a concentração intracelular de  $Ca^{+2}$  e danificar a mitocôndria, agindo sobre parasitos intracelulares (3), como *E. acervulina* e *E. máxima* (2). Este trabalho visou avaliar a resposta de expressão gênica de *NK-lisina* em linhagens de galinhas infectadas com *E. tenella* com diferenças genéticas relativa à resistência a infecção.

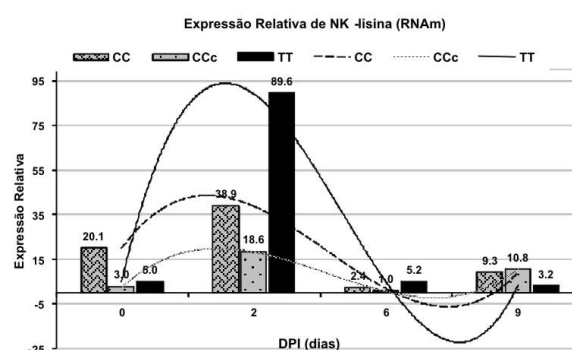
### Material e Métodos

Três linhagens de aves desenvolvidas pela Embrapa Suínos e Aves, SC, foram inoculadas com 30.000 oocistos de *Eimeria tenella* aos 7 dias de idade. Baços foram colhidos em diferentes dias pós-infecção (dpi): no dia da inoculação (dpi0), e após 2 (dpi2), 6 (dpi6) e 9 (dpi9) dias. Um total de 4 aves (2 machos e 2 fêmeas) de cada linhagem (TT: corte; CC: postura; e CC<sub>c</sub>: controle genético de CC) foram avaliadas em cada tempo coletado. A expressão de RNAm de *NK-lisina* foi avaliada por qRT-PCR em Rotor Gene (Corbett Life Sciences). A quantificação relativa seguiu o método 2<sup>-DDCT</sup> (4), normalizada com o gene constitutivo GAPDH.

### Resultados e Discussão

A amplificação de *NK-lisina* não foi de 100% para todas as linhagens em todos os dpi. Assim, o número de animais amplificados foi de: 3 em CC<sub>c</sub> dpi0, CC<sub>c</sub> dpi6, CC dpi6 e TT dpi9; 2 em CC<sub>c</sub> dpi2; 4 nos demais tratamentos. Antes da infecção observou-se maior expressão de *NK-lisina* nas aves CC, sendo 6,8 vezes maior do que nas aves da linhagem CC<sub>c</sub> (P=0,08) (Figura 1). Aos 2 dias após a infecção, houve um aumento na expressão de *NK-lisina* na ordem de 6,29 vezes na linhagem CC<sub>c</sub> (P=0,09) e de 17,8 vezes nos animais da linhagem TT (P=0,01). Com o passar do tempo após infecção, observa-se uma redução dos níveis de expressão nas três linhagens, na ordem de: 16,09 vezes na linhagem CC (P=0,01), 18,6 na linhagem CC<sub>c</sub> (P=0,02) e de 17,13 na linhagem TT (P=0,01), entre os dpi2 e dpi6. Comparando-se com os valores apresentados pré-infecção, no dpi0, a

expressão de *NK-lisina* diminuiu 8,32 vezes na linhagem CC (P=0,05), e retornou a valores similares aos de pré-infecção nas linhagens TT e CC<sub>c</sub>. Aos 9 dias de infecção, os níveis de expressão de *NK-lisina* voltaram a aumentar na linhagem CC<sub>c</sub> (10,81 vezes em relação ao dpi6, P=0,07), e continuaram a diminuir na linhagem de corte: 28,15 vezes menor em relação ao dpi2 (P=0,005).



**Figura 1** - Expressão relativa de *NK-lisina* entre as linhagens. Colunas indicam expressão relativa de *NK-lisina* e linhas regressão polinomial.

Em estudos anteriores, nosso grupo evidenciou uma maior taxa de mortalidade das aves da linhagem de corte TT em relação às aves da linhagem de postura CC (CC=18,7%<sup>a</sup>, CC<sub>c</sub>=25%<sup>ab</sup> e TT=35,0%<sup>b</sup>) (1) fato que motivou o presente estudo. Linhagens com maiores níveis de *NK-lisina* pré-infecção podem ser mais resistentes a infecção por *E. tenella*, conforme observamos nas aves CC. Os resultados obtidos nas linhagens CC e CC<sub>c</sub> sugerem que a seleção genética para produção de ovos possa favorecer uma maior expressão basal de *NK-lisina*.

### Conclusão

A seleção para postura pode estar favorecendo maiores níveis de *NK-lisina* pré-infecção, o que favorece a sobrevivência de aves infectadas. No entanto, no período inicial pós-infecção, altos níveis de *NK-lisina* estão associados à menor sobrevivência. Aves TT aparentam estar imunologicamente inaptas a combater a infecção eficientemente nos momentos iniciais.

### Bibliografia

- Bertani GR, Costa CAF, Barioni Junior W, Gil LHVG, Brentano L, Figueiredo EAP. In: The IXth International Coccidiosis Conference, 2005.
- Hong YH, Lillehoj HS, Siragusa GR, Bannerman DD, Lillehoj EP. *Avian Diseases* 2008; 52(2):302-305
- Jacobs T, Bruhn H, Gaworski I, Fleischer B, Leippe M. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2003; 47(2): 607-613.
- Livak KJ, Schmittgen TD. *Methods* 2001; 25:402-408.