

## COMPONENTES HUMORAIS E CELULARES NO COLOSTRO DE MARRÃS E PORCAS

Gabrielly E. Bombassaro<sup>1</sup>, Shaiana S. Maciag<sup>1</sup>, Francisco Noé Fonseca<sup>2</sup>, Danielle Gava<sup>2</sup>, Leticia S. Lopes<sup>2</sup> e Ana Paula Bastos<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduanda em Medicina Veterinária pelo Instituto Federal Catarinense – Campus Concórdia, bolsista CNPQ/PIBIC na Embrapa Suínos e Aves, [gabibombassaro@gmail.com](mailto:gabibombassaro@gmail.com)

<sup>2</sup>Analista da Embrapa Suínos e Aves

<sup>3</sup>Pesquisador da Embrapa Suínos e Aves

**Palavras-chave:** qualidade de colostro, imunidade celular, subgrupos de células T.

### INTRODUÇÃO

O leitão recém-nascido passa de um ambiente intrauterino estéril, devido à estrutura epiteliocorial da placenta, para um ambiente externo rico em antígenos; portanto, precisa de uma resposta imunológica adequada para sobreviver (1,2). Este despreparo imunológico do leitão ao nascer e o impedimento da transferência da imunidade pela placenta no útero torna-o extremamente dependente da aquisição de imunidade materna via colostro. É de conhecimento que o rendimento e a composição do colostro podem ser influenciados por várias características da porca e da leitegada, incluindo a paridade da porca (3). A imunidade mediada por células é um fator necessário para o controle da doença, mas a contribuição celular para o colostro tem sido tradicionalmente negligenciada em favor de fatores não celulares, como imunoglobulinas (4). As secreções mamárias de todas as espécies contêm vários tipos de células; o colostro de suínos contém principalmente células polimorfonucleares (5), e em menor grau os linfócitos (células T e B) e fagócitos (neutrófilos e macrófagos). No presente estudo, analisamos a composição imune celular do colostro de leitões e porcas.

### MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em 80 porcas mestiças Landrace x Large White, 40 leitões e 40 porcas (terceira e quarta paridades). O colostro foi coletado manualmente de todos os tetos funcionais para um volume total de 25-30 mL, logo após o nascimento do primeiro leitão. Para minimizar a contaminação, os tetos foram limpos com álcool iodado. As amostras de colostro foram diluídas 1:3 em PBS contendo 5% de soro fetal bovino (Sigma, Austrália) e centrifugadas, após a camada de gordura foi descartada. Primeiramente, avaliamos a viabilidade celular através do teste de azul de tripano. Avaliamos as seguintes populações celulares no citômetro de fluxo: monócitos e macrófagos, linfócitos B, linfócitos T (CD4 e CD8), células *Natural Killer* e granulócitos; para tal as amostras de colostro foram incubadas com os seguintes anticorpos: isotipos controles; camundongo anti-porco CD3, CD4, CD8, granulócitos, macrófagos, SWC2, SWC7, CD79a (intracelular, utilizamos o BD PERM/Wash), CD5, CD14, CD16, IgM, CD45RA/B220 e CD335. A citometria de fluxo foi realizada com citômetro de fluxo Accuri® (Becton Dickinson), 50.000 eventos foram analisados. Para quantificar as concentrações de imunoglobulinas no colostro realizamos Elisás, técnica descrita por Foss e Murtaugh, (1999), para IgG e IgA (Bethyl Laboratories, Montgomery, EUA). Os resultados foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis com o pós-teste de comparação múltipla de Dunn, com nível de significância de  $P < 0,05$ .

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisados a relação entre o estágio de paridade da porca e a quantidade de cada tipo de célula imune observada no colostro das porcas. Os achados mostraram que o colostro é rico em células; observamos uma concentração celular de  $1 \times 10^7$ - $1 \times 10^9$  células/mL em ambos os grupos de porcas, e uma viabilidade celular maior do que 95% de células/mL no colostro. A Figura 1 mostra os componentes celulares no colostro das leitões e das porcas. Em ambos os grupos (leitão e porca), a célula imune mais predominante no colostro foi o macrófago (40%), seguido por linfócito T (CD5<sup>+</sup>, 30%). Linfócito B (CD79<sup>+</sup>) enquanto granulócito foi o tipo de célula menos predominante no colostro, somando aproximadamente 13-16% e 7-11%, respectivamente. Entre os linfócitos, as células CD4<sup>+</sup> (21-29%) foram mais numerosas do que as células CD8<sup>+</sup> (13-16%) (Tabela 1). Curiosamente, os subconjuntos de células T CD4<sup>+</sup> foram significativamente maiores ( $P < 0,05$ ) nas porcas quando comparadas às leitões. Em relação às células T CD8<sup>+</sup>, as porcas apresentaram maior quantidade de memória central CD8<sup>+</sup> (CD8<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>) no colostro quando comparadas às leitões. Monócitos/macrófagos (macrófagos<sup>+</sup>CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup>) também foram significativamente maiores nas porcas. Na análise humoral não houve diferença significativa na concentração de IgA entre as leitões e porcas, entretanto, as concentrações de IgG foram significativamente maiores nas porcas (Figura 1).

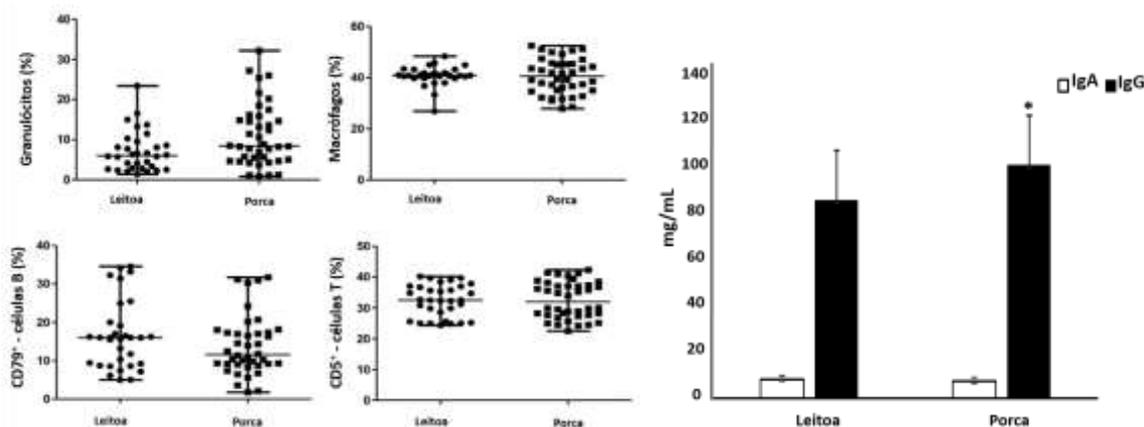
### CONCLUSÕES

Supõe-se que as porcas primíparas podem produzir colostro com níveis mais baixos de fatores imunológicos do que as múltiparas devido ao menor tempo de exposição a patógenos ao longo da vida e a um sistema imunológico relativamente imaturo em comparação com as porcas. De fato, os tipos e quantidades de células são afetados pelo estágio de paridade da porca. Neste estudo encontramos novos

dados sobre a população de células existentes no colostro suíno, especialmente no que diz respeito a subconjuntos de linfócitos T e a diferença sobre esses subconjuntos no colostro da leiteira e da porca.

### REFERÊNCIAS

1. Le Dividich J., Rooke J.A., Herpin P. Nutritional and immunological importance of colostrum for the new-born pig. *J Agric Sci.* 2005 Dec; 143, 469-485.
2. Salmon H., Berri M., Gerds V., Meurens F. Humoral and cellular factors of maternal immunity in swine. *Dev Comp Immunol.* 2009 Mar; 33, 384-93
3. Farmer C., Quesnel H. Nutritional, hormonal, and environmental effects on colostrum in sows. *J Anim Sci.* 2009 Apr; 87, 56-64.
4. Bandrick M., Ariza-Nieto C., Baidoo S K., Molitor T W. Colostral antibody-mediated and cell-mediated immunity contributes to innate and antigen-specific immunity in piglets. *Dev Comp Immunol.* 2014 Mar; 43, 114-120.
5. Wagstrom E A., Kyoung-Jin Y., Zimmerman J. Immune components in porcine mammary secretions. *Viral Immunol.* 2000; 13, 383-97.



**Figura 1.** Células imunológicas e concentração total de IgG e IgA (mg /mL) no colostro de leiteiras e porcas. \*P<0,05 Leiteiras vs Porcas.

**Tabela 1.** Comparação por citometria de fluxo dos subgrupos de Monócitos, Linfócitos T e B no colostro de porcas e leiteiras, onde a letra "a" indica uma diferença estatística significativa.

Células imunes		Animais	
		Leitões	Porcas
Macrófagos	Macrófagos <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup>	27,60 ± 1.286	25,90 ± 1.945
	Macrófagos <sup>+</sup> CD14 <sup>+</sup> CD16 <sup>+</sup>	10,88 ± 1.695 <sup>a</sup>	16,76 ± 1.888
Linfócitos B	SWC7 <sup>+</sup> IGM <sup>+</sup>	18,93 ± 1.085	25,63 ± 4.022
	SWC7 <sup>+</sup> CD45R / B220 <sup>+</sup>	1.856 ± 0,547	2.846 ± 0,470
Linfócitos T	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	9.354 ± 2.277	11,81 ± 2,117
	CD4 <sup>+</sup> SWC2 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>	8.380 ± 1.215 <sup>a</sup>	18,31 ± 3.110
	CD4 <sup>+</sup> SWC2 <sup>+</sup> CD4RA <sup>+</sup>	2.955 ± 0,761 <sup>a</sup>	6.258 ± 1.274
	CD4 <sup>+</sup> SWC2 <sup>-</sup> CD45RA <sup>-</sup>	21,53 ± 2.360	29,16 ± 3.331
	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	7.205 ± 1.536	7.880 ± 1.266
	CD8 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> CD45RA <sup>-</sup>	10,09 ± 1.706 <sup>a</sup>	18,33 ± 2.348
	CD8 <sup>+</sup> CD27 <sup>+</sup> CD45RA <sup>+</sup>	3.848 ± 1.077	7.426 ± 2.050
Natural Killer	CD3 <sup>-</sup> CD8 <sup>low</sup> CD335 <sup>+</sup>	13,20 ± 1.098	16,31 ± 1.735