



**MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**



MARISA SILVA BASTOS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CANELA SOBRE A EXPRESSÃO
GÊNICA, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E HISTOMORFOMETRIA
INTESTINAL DE CODORNAS EM FASE DE POSTURA**

**SÃO CRISTÓVÃO-SE
2017**

MARISA SILVA BASTOS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CANELA SOBRE A EXPRESSÃO
GÊNICA, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E HISTOMORFOMETRIA
INTESTINAL DE CODORNAS EM FASE DE POSTURA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Sergipe
como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

Orientadora: Prof^ª Dra. Ana Paula Del Vesco

Co-orientador: Prof^º Dr. Leandro Teixeira Barbosa

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE

Bastos, Marisa Silva.

B327e Efeito da suplementação de canela sobre a expressão gênica, capacidade antioxidante e histomorfometria intestinal de codornas em fase de postura / Marisa Silva Bastos; orientadora Ana Paula Del Vesco. – São Cristóvão, 2017.

82 f. ; il.

Dissertação (mestrado em Zootecnia)– Universidade Federal de Sergipe, 2017.

1. Codorna. 2. Lipoproteínas. 3. Ovos - Produção. 4. Metabolismo. 5. Intestinos. I. Del Vesco, Ana Paula, orient. II. Título.

CDU 636.6

MARISA SILVA BASTOS

**EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CANELA SOBRE A EXPRESSÃO
GÊNICA, CAPACIDADE ANTIOXIDANTE E HISTOMORFOMETRIA
INTESTINAL DE CODORNAS EM FASE DE POSTURA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Sergipe
como parte das exigências para
obtenção do título de Mestre em
Zootecnia.

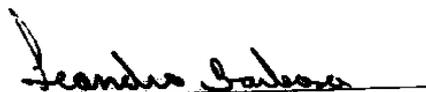
APROVADA em 28 de Julho de 2017.



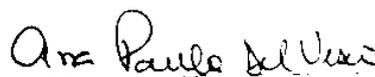
Prof. Dr^a. Eliane Gasparino



Prof^a. Dr^a. Roberta Pereira Miranda
Fernandes



Prof. Dr. Leandro Teixeira Barbosa



Prof^a. Dr^a. Ana Paula Del Vesco

SÃO CRISTÓVÃO-SE

2017

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”

Madre Teresa de Calcutá

Aos meus pais, José Gomes Bastos e Maria Aparecida Silva Bastos. Meus maiores exemplos de força, coragem e honestidade

Aos meus irmãos, Simone Pereira Bastos, Lucas Silva Bastos e Gabriel Silva Bastos, com os quais sei que posso contar sempre.

Em especial, a Tia Bel (*in memoriam*) que acreditou em meu potencial, e que sempre esteve espiritualmente presente em todos os momentos especiais da minha vida.

DEDICO ESTE TRABALHO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me dado saúde e força para superar as dificuldades e realizar esse sonho.

Aos meus pais e aos meus irmãos que com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Às amigas Fernanda Gazar, Gilmara Miranda e Helainne Oliveira por me ajudarem a superar os momentos de desânimo, e comemorarem comigo os momentos de alegria, mesmo distantes.

À professora Ana Paula Del Vesco, pela paciência na orientação e incentivo que tornaram tudo possível.

Ao professor Leandro Teixeira Barbosa, pelo apoio e compreensão.

À professora Cláudia da Costa Lopes e ao professor Gregório Murilo De Oliveira Junior, fundamentais para o desenvolvimento desta dissertação.

À Thailine Santana, pela generosidade e apoio.

E a todos os professores do Programa de Pós Graduação em Zootecnia da UFS, que foram tão importantes nesse período da minha vida acadêmica, obrigada pelo apoio e convívio.

A Luiz Carlos Soares, pelo convívio e pela amizade que tornaram esses dois anos mais leves e divertidos.

À Thais e Lilian, pela parceria no desenvolvimento das análises.

À professora Roberta Fernandes e toda a equipe do laboratório de enzimologia da UFS, pela parceria na realização das análises bioquímicas.

Aos integrantes do NEMAB, pelas contribuições à dissertação, pelo companheirismo e por todo conhecimento compartilhado.

À professora Eliane Gasparino (UEM), pela colaboração fundamental ao desenvolvimento desta dissertação.

A todos que compõem o setor de coturnicultura da UFS.

Aos integrantes da banca de defesa, pelas valiosas sugestões que certamente irão enriquecer o presente trabalho.

A CAPES, pela concessão da bolsa, e ao PROMOB – Programa de Estimulo a Mobilidade e ao Aumento da Cooperação Acadêmica da Pós-Graduação em Sergipe.

À Universidade Federal de Sergipe e ao Programa de Pós Graduação em Zootecnia, por ter tornado possível a realização dos meus estudos e deste projeto.

BIOGRAFIA

MARISA SILVA BASTOS, filha de Maria Aparecida Machado Silva e José Gomes Bastos, nasceu em Ruy Barbosa, Estado da Bahia, no dia 02 de junho de 1990.

Cursou graduação em Zootecnia na Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, no período de 2010 a 2015.

Em agosto de 2015, iniciou o mestrado no Programa de Pós Graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Sergipe, área de concentração Produção Animal – Sistemas de Produção Animal, sob orientação da Professora Dra. Ana Paula Del Vesco e do Professor Dr. Leandro Teixeira Barbosa.

Em julho de 2017, submeteu-se à banca examinadora para defesa da Dissertação de mestrado.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
INTRODUÇÃO.....	5
REVISÃO DE LITERATURA.....	7
1. <i>Produção de ovos</i>	7
2. <i>Metabolismo lipídico</i>	9
3. <i>Saúde Intestinal</i>	11
4. <i>Produção de ROS e atividade antioxidante</i>	13
5. <i>Aditivos fitogênicos</i>	15
5.1. <i>A canela</i>	16
REFERÊNCIAS.....	19
OBJETIVO GERAL.....	26
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
ARTIGO I – AÇÃO DA CANELA SOBRE OS SISTEMAS DE DEFESA ANTIOXIDANTE E AMBIENTE INTESTINAL DE CODORNAS DE POSTURA.....	28
RESUMO.....	28
INTRODUÇÃO.....	29
MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
<i>Animais e desenho experimental</i>	31
<i>Parâmetros sanguíneos e morfometria intestinal</i>	32
<i>Histomorfometria</i>	33
<i>Expressão gênica</i>	34
<i>Atividade da Catalase e TBARS</i>	36
<i>Análise estatística</i>	38
RESULTADOS.....	39
<i>Parâmetros sanguíneos</i>	39
<i>Expressão gênica</i>	39
<i>Atividade enzimática da catalase e TBARS</i>	40
<i>Histomorfometria</i>	41
DISCUSSÃO.....	43

CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS	48
ARTIGO II – EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CANELA NA DIETA DE CODORNAS DE POSTURA SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO METABOLISMO LIPÍDICO E PRODUÇÃO DE OVOS	53
RESUMO	53
INTRODUÇÃO.....	54
MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
<i>Animais e desenho experimental</i>	56
<i>Produção de ovos</i>	57
<i>Parâmetros sanguíneos e morfometria de órgãos</i>	58
<i>Expressão gênica</i>	59
<i>Análise estatística</i>	62
RESULTADOS	63
<i>Produção de ovos</i>	63
<i>Morfometria dos órgãos</i>	63
<i>Parâmetros sanguíneos</i>	64
<i>Expressão gênica</i>	65
DISCUSSÃO.....	67
CONCLUSÃO.....	70
REFERÊNCIAS	71

LISTA DE TABELAS

Página

ARTIGO I - AÇÃO DA CANELA SOBRE OS SISTEMAS DE DEFESA ANTIOXIDANTES E AMBIENTE INTESTINAL DE CODORNAS DE POSTURA

Tabela 1 - Composição percentual e valores nutricionais da dieta basal	32
Tabela 2 - Primers para qRT-PCR.....	36
Tabela 3 - Parâmetros sanguíneos de codornas em postura recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó	39
Tabela 4 - Expressão de genes relacionados aos sistemas de defesa antioxidante no intestino de codornas em postura recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó.....	39
Tabela 5 - Médias dos parâmetros morfológicos da mucosa intestinal de codornas japônicas em fase de postura alimentadas com dietas recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó ..	42

ARTIGO II - EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CANELA NA DIETA DE CODORNAS DE POSTURA SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO METABOLISMO LIPÍDICO E PRODUÇÃO DE OVOS

Tabela 1 - Composição percentual e valores nutricionais da dieta basal.	57
Tabela 2 - Primers para qRT-PCR.....	61
Tabela 3 - Características relacionadas à produção de ovos de codornas de postura recebendo dieta sem inclusão de canela (SC) e com inclusão de canela (CC).....	63
Tabela 4 - Peso relativo de órgãos e gordura abdominal de codornas de postura recebendo dieta sem inclusão de canela (SC) e com inclusão de canela (CC).	64
Tabela 5 - Parâmetros sanguíneos relacionados ao metabolismo lipídico de codornas em postura recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó.	64

LISTA DE FIGURAS

Página

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1 - Anatomia do sistema reprodutivo feminino das aves.	8
Figura 2 - Esquema: Microvilosidades do intestino delgado.....	11
Figura 3 - Reações catalisadas pelas enzimas Superóxido dismutase, Catalase, Glutathione.....	14
Figura 4 - Estrutura química do eugenol.....	17

ARTIGO I - AÇÃO DA CANELA SOBRE OS SISTEMAS DE DEFESA ANTIOXIDANTES E AMBIENTE INTESTINAL DE CODORNAS DE POSTURA

Figura 1 - Expressão de mRNA <i>SOD</i> e <i>GPX 7</i> (UA) no fígado de codornas em postura recebendo dietas com e sem adição de canela em pó.....	40
Figura 2 - Nível de TBARS (nmoles/mg de Proteína) e atividade da enzima CAT (H_2O_2 /minuto/mg de Proteína) no fígado de codornas em postura recebendo dietas com (CC) e sem adição de canela em pó (SC).....	41
Figura 3 - a, c – duodeno e jejuno das aves do tratamento sem suplementação de canela; b, d – duodeno e jejuno das aves do tratamento com suplementação de canela.....	42

ARTIGO II - EFEITO DA SUPLEMENTAÇÃO DE CANELA NA DIETA DE CODORNAS DE POSTURA SOBRE A EXPRESSÃO DE GENES RELACIONADOS AO METABOLISMO LIPÍDICO E PRODUÇÃO DE OVOS

Figura 1 - Expressão de mRNA <i>ACC</i> , <i>FAZ</i> , <i>APOA</i> e <i>APOB</i> (UA) no fígado de codornas em postura recebendo dietas com e sem adição de canela em pó.....	65
Figura 2 - Expressão de mRNA <i>ESR1</i> e <i>ESR2</i> (UA) no ovário de codornas em postura recebendo dietas com e sem adição de canela em pó.....	66

BASTOS, Marisa Silva. Efeito da suplementação de canela sobre a expressão gênica, capacidade antioxidante e histomorfometria intestinal de codornas em fase de postura. Sergipe: UFS, 2017. 71p. (Dissertação - Mestrado em Zootecnia)

RESUMO: A fase de postura exige intensa atividade do organismo das aves, e para que a produção seja eficiente é necessário que haja equilíbrio no metabolismo como um todo. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a expressão dos genes: superóxido dismutase (*SOD*), glutathiona peroxidase 7 (*GPX7*), acetil-CoAcarboxilase (*ACC*), ácido graxo sintase (*FAS*), apolipoproteína A-I (*APOA-I*), e apolipoproteína B (*APOB*), no fígado; fator de necrose tumoral alpha (*TNF α*), glutathiona peroxidase 7 (*GPX7*), catalase (*CAT*) e superóxido dismutase (*SOD*) no intestino; além do receptor do estrógeno 1 (*ESR1*) e receptor do estrógeno 2 (*ESR2*) no ovário; assim como a histomorfometria de seguimentos do intestino, o desempenho produtivo, a morfometria dos órgãos, atividade antioxidante, marcadores do estresse oxidativo, parâmetros séricos do metabolismo lipídico de codornas japônicas em fase de postura alimentadas com dietas com e sem adição de canela em pó a ração. Foram utilizadas 144 codornas japônicas (*Coturnix japonica*) com idade inicial de 18 semanas, distribuídas em dois tratamentos (dieta basal sem suplementação de canela (SC) e dieta basal mais suplementação de 9g/kg de canela em pó (CC)). Ao final do período experimental proposto, seis animais de cada tratamento foram eutanaseados por deslocamento cervical, o sangue foi coletado e os órgãos pesados. Tecidos do fígado, intestino e ovário foram coletados para extração de RNA, análises enzimáticas e análises histológicas. O cDNA foi amplificado usando primers específicos para os genes analisados pela qRT-PCR. Maior peso de ovário foi observado nas aves do tratamento CC, estas também apresentaram maior altura de vilo, maior profundidade de cripta, bem como melhor conversão alimentar por massa de ovo, maior conteúdo de triglicérides, ácido úrico e VLDL. Com relação à quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a atividade da enzima catalase (*CAT*) maiores valores foram observados no fígado das aves do tratamento SC. As aves do tratamento CC apresentaram maior expressão de mRNA *FAS*, *ACC*, *APOA-I*, *SOD*, *GPX7* e *ESR2*. A suplementação de canela em pó na dieta de codornas em fase de postura torna a produção de ovos mais eficiente por promover equilíbrio no organismo através da atividade antioxidante e modulação da expressão de genes relacionados aos sistemas de defesa antioxidante e metabolismo lipídico.

Palavras – chave: *Coturnix japonica*, *Cinnamomum*, saúde intestinal, lipoproteínas, produção de ovos

BASTOS, Marisa Silva. **Effect of cinnamon supplementation on gene expression, antioxidant capacity and intestinal histomorphometry of laying quails.** Sergipe: UFS, 2017. 71p. (Dissertation - Master in Animal Science)

ABSTRACT: The laying phase requires intense activity of the poultry organism, so the equilibrium in the metabolism is necessary to a efficient production. Thus, this work aimed to evaluate the expression of genes superoxide dismutase (*SOD*), Glutathione peroxidase 7 (*GPX7*), acetyl CoA carboxylase (*ACC*), fatty acid synthase (*FAS*), apolipoprotein A-I (*APOA-I*), and apolipoprotein B (*APOB*) in the liver; Tumor necrosis factor alpha (*TNF α*), glutathione peroxidase 7 (*GPX7*), catalase (*CAT*) and superoxide dismutase (*SOD*) in intestine; estrogen receptor 1 (*ESR1*) and estrogen receptor 2 (*ESR2*) in ovary; the histomorphometry of intestinal traits, productive performance, organ morphometry, antioxidant activity, oxidative stress markers, and serum parameters of lipid metabolism of Japanese laying quails fed with diets with or without cinnamon powder added to the diet. It was used 144 quail (*Coturnix japonica*) with initial age of 18 weeks, distributed in two treatments (basal diet without supplementation of cinnamon (SC) and basal diet plus 9g / kg of powdered cinnamon (CC)). At the end of the proposed experimental period, six animals from each treatment were euthanized by cervical dislocation, blood was collected and the organs weighed. Liver, intestinal and ovary tissues were collected for RNA extraction, enzymatic analysis and histological analysis. The cDNA was amplified using primers specific for the genes analyzed by qRT-PCR. Increased ovary weight was observed in the CC treatment birds; they also presented higher villus height, higher crypt depth, as well as better feed conversion by egg mass, higher triglyceride, uric acid and VLDL content. Regarding the amount of thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) and the activity of the enzyme catalase (CAT), higher values were observed in the liver of SC treatment birds. The CC treatment birds presented higher expression of *FAS*, *ACC*, *APOA-I*, *SOD*, *GPX7* and *ESR2* mRNA. The supplementation of cinnamon powder in the laying quail diet makes egg production more efficient by promoting balance in the body through antioxidant activity and modulation of the expression of genes related to antioxidant defense systems and lipid metabolism.

Key-words: *Coturnix japonica*, Cinnamomum, egg production, intestinal health, lipoproteins

INTRODUÇÃO

As codornas fazem parte da ordem das Galináceas, família das Faisámidas, e gênero *Coturnix*, e as espécies mais utilizadas na produção industrial são: *Coturnix japonica* e *Coturnix coturnix* (Europeia); sendo a primeira mais explorada para a produção de ovos, e a segunda para produção de carne.

Estas aves apresentam rápido desenvolvimento, com curto intervalo de geração, rápido amadurecimento sexual (42 dias em média para a fêmea e 48 dias em média para o macho), e pequeno porte quando comparada a outras espécies exploradas na avicultura, tais características aliadas a maior demanda de consumo podem justificar o crescente número de produtores dessas aves no Brasil (Almeida et al., 2013; Lazia, 2013). As codornas também são bastante utilizadas como modelos experimentais em estudos que avaliam potenciais melhoradores de desempenho produtivo das aves, como os aspectos relacionados à adição de componentes fitogênicos na dieta, por exemplo (Windisch et al., 2008; Amad et al., 2011; Muro et al., 2015).

Estudos sobre a utilização de aditivos fitogênicos, como óleos essenciais e outros produtos de origem vegetal, na dieta de aves têm sido bastante difundido no mundo, como potenciais melhoradores de desempenho (Ciftci et al., 2010; Şimşek et al., 2013; Qotbi, 2016). Estudos in vitro com óleos essenciais, como de sálvia (Farag et al., 1989), orégano (Lagouri e Boskou, 1995), alecrim (Wang et al., 2008) e canela (Carvalho et al. 2010) também já demonstram a existência de princípios ativos que podem melhorar a resposta imunológica e promover melhorias no desempenho dos animais, devido à ação antioxidante, antibacteriana e antifúngica.

Codornas japônicas em fase de postura estão mais propensas a distúrbios metabólicos e são mais susceptíveis aos danos causados pelos radicais livres devido ao

intenso metabolismo demandado para a produção contínua de ovos e ao estresse ambiental (Zou et al., 2007). Tais fatores podem afetar negativamente o funcionamento adequado de alguns órgãos, e causar desequilíbrio nas funções fisiológicas, resultando em baixo desempenho produtivo. Sendo assim, este trabalho tem como objetivo avaliar o efeito da suplementação de canela sobre a expressão de genes relacionados à atividade antioxidante, o metabolismo lipídico e a produção de ovos em codornas de postura.

REVISÃO DE LITERATURA

1. *Produção de ovos*

A demanda pelos produtos da coturnicultura é crescente, a comercialização de ovos e carne aquece a produção e estimula o setor, fato que pode estar relacionado às mudanças sociais (Almeida et al., 2013). Segundo Teixeira et al. (2012), na coturnicultura brasileira a produção de ovos tem maior representatividade com utilização da codorna japônica.

No Brasil a produção de ovos de codorna cresceu 13,9% no ano de 2015 com relação ao ano anterior (IBGE 2016). Segundo Pastore et al. (2012), o aumento na produção com consequente redução nos preços e melhoria na qualidade tornou os produtos oriundos da coturnicultura mais acessíveis às diferentes classes sociais.

O ovo de codorna é constituído de 59,77% de albúmen, 31% de gema e 8,62% de casca (Garcia, 2001). Nutricionalmente um ovo de codorna de aproximadamente 10g possui 6,69g de água, 1,17g de proteína, 1,0g de lipídeos, e 0,04g de carboidratos (USDA, 2016), e se assemelha ao ovo de galinha tanto na sua constituição quanto na composição nutricional, no entanto, pesa em média 10,3g e corresponde a cerca de 8% do peso vivo do animal, enquanto que o ovo da galinha representa apenas 3,5% do seu peso, sugerindo que proporcionalmente há uma maior mobilização de nutrientes para a síntese dos ovos da codorna (Moura et al., 2010).

Nas aves o sistema reprodutor feminino é bilateral, no entanto, o ovário e oviduto esquerdo apresentam maior desenvolvimento que o direito, assim, na fase adulta apenas a porção esquerda do sistema reprodutivo das fêmeas é funcional (Rutz et al., 2005) e formada pelo ovário, infundíbulo, magno, istmo, útero, vagina e cloaca (Figura 1).

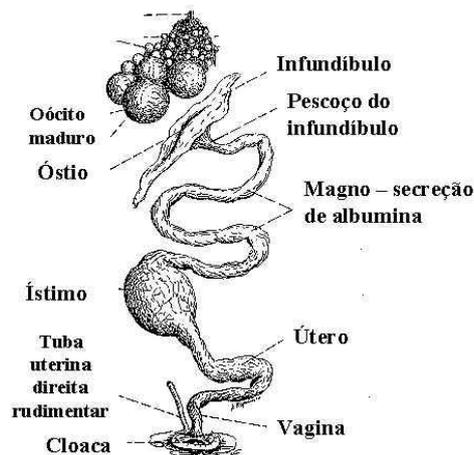


Figura 1 - Anatomia do sistema reprodutivo feminino das aves.
Adaptado de Macari, M., e Mendes, A. A. (Eds.). (2005). Manejo de matrizes de corte. FACTA

O ovo tem um período de formação de aproximadamente 24 horas, que se inicia logo após a ovulação quando o ovócito, que tem seus precursores sintetizados no fígado e são transportados até o ovário via corrente sanguínea sob a forma de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), é captado pelo infundíbulo e em um processo com duração de cerca de 4 horas são formados o albúmen e as membranas; no magno são liberadas substâncias ricas em proteínas e minerais que complementam a formação da clara; no ístimo ocorre a incorporação de água e a formação da membrana que envolve a porção interna da casca; e por fim ocorre a formação da casca com a deposição de cálcio e do íon HCO_3^- , formando o carbonato de cálcio, esse processo é mais longo com duração de 20 a 21 horas e ocorre no útero (Bertechini, 2003; Rutz et al., 2005; Sartori et al., 2009).

No ovário funcional estão aderidos os folículos que sob influência do hormônio folículo estimulante (FSH) se desenvolvem. O folículo é formado por uma vesícula germinativa aderida a um vitelo (precursor da gema), circundados por membranas formadas por células denominadas células da granulosa e células da teca (De Moraes, 2006).

O FSH é uma gonadotrofina, sintetizada pela hipófise, que promove a maturação dos folículos e estimula a secreção de estrógenos. Os estrógenos (ES) são produzidos nos ovários, mais especificamente pelas células da teca, que apresenta, entre outras funções, a de promover o desenvolvimento e manutenção dos tecidos do sistema reprodutor, além de atuar na síntese da gema. Os estrógenos possuem dois receptores principais, o receptor de estrógeno alfa (ESR1) e receptor de estrógeno beta (ESR2), ambos são bastante expressos em tecidos do sistema reprodutor, no entanto o ESR2 inibe a proliferação celular, ação oposta a do ESR1 (Kang et al., 2009; Lee et al., 2012).

Hormônios como o FSH (hormônio folículo estimulante) e o ES (estrógeno) estão diretamente relacionados à produção de ovos, visto que, a expressão de genes ligada aos receptores desses hormônios no tecido ovariano pode influenciar a produção de ovos (Rutz et al., 2007).

O estudo da expressão diferencial desses genes é importante, pois através do entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na reprodução é possível a elaboração de estratégias para melhorar o desempenho dos animais (Kang et al., 2009).

2. *Metabolismo lipídico*

Muitos fatores podem influenciar a produção de ovos, entre eles distúrbios no metabolismo lipídico, tais como hiperlipidemia, que pode afetar negativamente a eficiência reprodutiva das fêmeas (Walzem e Chen, 2014; Lara, 2015).

Os lipídeos têm como principais representantes os triglicerídeos, fosfolipídios e colesterol. Sua principal função é a produção e armazenamento energético, uma vez que o catabolismo no tecido hepático fornece a energia necessária para manutenção das atividades vitais do organismo quando em repouso (Lelis et al., 2009).

Os lipídios são moléculas apolares, por tanto insolúveis em meio aquoso, toda via seu transporte no organismo se dá através da corrente sanguínea e para isso necessitam

se ligar a componentes como as apoproteínas formando assim as lipoproteínas de alta, intermediária, baixa e muito baixa densidades (HDL, IDL, LDL e VLDL) (Sato et al., 2009). Os dois principais tipos de apoproteínas são a A (ApoA) e a B (ApoB), ambas tem importante papel no reconhecimento da molécula de lipídeo para a células do tecido alvo; no entanto, a primeira está associada aos lipídeos de reserva dos tecidos, levados até o fígado para a produção de energia pela oxidação dos ácidos graxos, por tanto é mais encontrada nas lipoproteínas de alta densidade (HDL); já a APOB está mais relacionada as lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL), ligada aos triglicerídeos sintetizados no fígado e transportados até os tecidos alvos (Botham e Mayes, 2016).

Nas aves a lipogênese ocorre principalmente no fígado, em um processo desencadeado a partir da transferência das acetilas da mitocôndria para o citosol da célula e formação do malonil-CoA, esta reação é catalisada pela enzima acetil-CoA-carboxilase (ACC). Em seguida o sistema multienzimático ácido graxo sintase (FAS) promove reações em sucessivos ciclos nos quais pares de átomos de carbono são acoplados a molécula até formar o ácido graxo (Nelson e Cox, 2008). Então, os lipídeos, na forma de triglicerídeos, são armazenados em células especializadas denominadas adipócitos que se encontram em grande número na região abdominal, característica indesejável para aves de corte e de postura em produção (Lelis et al., 2009). Segundo Walzem e Chen (2014), o acúmulo excessivo de tecido adiposo pode causar danos à reprodução das aves, pois interfere no metabolismo lipídico induzido pelo estrógeno para formação da gema. A obesidade pode provocar formação de lipídios bioativos que causam inflamação no sistema reprodutivo levando a morte celular e conseqüente perdas hormonais. De acordo com Lara (2015) o sobrepeso pode causar hiperovulação com hierarquia dupla, apoptose e necrose de folículos ovarianos,

causando desuniformidade dos ovos, formação de ovos com gema dupla, e queda na produção, pois a ave apresenta dificuldade para restabelecer o ciclo reprodutivo.

3. *Saúde Intestinal*

O bom desempenho produtivo das aves de postura também está diretamente relacionado com o adequado aproveitamento dos nutrientes fornecido através da reação, e para tanto é necessário que o trato gastrointestinal esteja estruturalmente íntegro e funcional (Stanley et al., 2014; Placha et al., 2014).

O intestino delgado das aves é dividido em três segmentos: duodeno, jejuno e íleo (Gava, 2012), e se difere de outras espécies por não apresentarem pregas macroscópicas, mas sim expansões digitiformes microscópicas, chamadas de microvilosidades, que ampliam a área de absorção (Boleli et al., 2002; Duarte, 2009). Os vilos são estruturas de forma cônica, presentes na superfície interna de todos os segmentos do intestino delgado, formadas por três tipos de células (células caliciformes, células enteroendócrinas e enterócitos) que apresentam diferentes funções, desde a secreção de muco, hormônios e até enzimas (Boaro, 2009) (Figura 2). É ainda através das células presente no ápice dos vilos, que ocorre o transporte transepitelial dos nutrientes do lúmen intestinal para a corrente sanguínea (Tavernari e Mendes, 2009; Hamone et al., 2010).

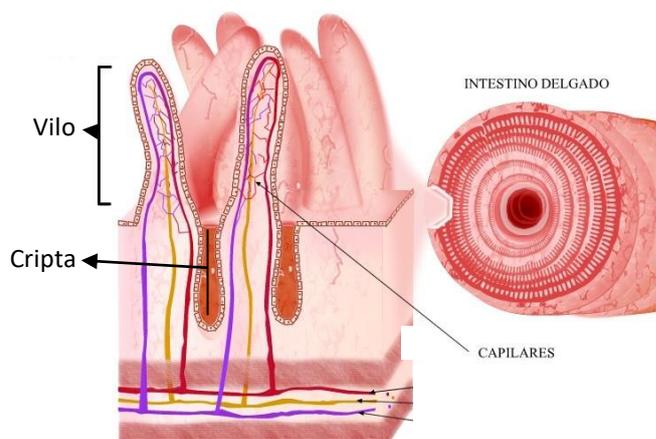


Figura 2 - Esquema: Microvilosidades do intestino delgado. Adaptado de: www.lactobacilo.com/digestao.htm

Os processos de maturação e diferenciação das células, migrando da cripta para o ápice, caracterizam o aumento de tamanho dos vilos, estes processos caracterizam também o *turnover* ou renovação celular: à medida que as células passam por mitoses e maturação enquanto migram, outras células são perdidas a nível de ápice do vilos (Boleli et al., 2002; Duarte, 2009; Boaro, 2009).

Na base dos vilos encontram-se as criptas, glândulas tubulosas, formadas principalmente por células enteroendócrinas que produzem hormônios e enzimas de defesa (Pluske et al., 1997; Chamone et al., 2010). Segundo Pluske et al. (1997), a altura das vilosidades e a profundidade das criptas são características importantes pois determinam a saúde intestinal das aves.

Muitos fatores podem causar danos ao epitélio intestinal, como manejo nutricional inadequado, sanidade precária e o estresse oxidativo (Stanley et al., 2014; Placha et al., 2014; Yu et al., 2015; Ghareeb et al., 2015), que pode causar desequilíbrios na formação e manutenção dos vilos. Desequilíbrios na produção e eliminação de radicais livres levam o organismo a um estado de estresse oxidativo, neste as células que compõe o revestimento intestinal podem ser danificadas havendo modificação na sua estrutura e função, ou até mesmo, a morte celular (Yu et al., 2015; Ghareeb et al., 2015) o que pode levar a redução da digestão dos alimentos e absorção dos nutrientes, e por conseqüência declínio na produção de ovos.

Entretanto, é importante destacar que os radicais livres produzidos no ambiente intestinal podem contribuir com a resposta do hospedeiro contra microrganismos patogênicos, já que estes podem atuar como segundo mensageiro e desencadear ações envolvidas no crescimento, diferenciação e motilidade das células epiteliais, bem como, na resposta imune (Jones et al., 2012). E ainda, as espécies reativas de oxigênio (ROS) também são utilizadas no combate de microrganismos patogênicos fagocitados no

ambiente intestinal (Paiva e Bozza, 2014). Assim, trabalhos mostram a importância da eficiência dos sistemas de defesa antioxidante para combater o ROS produzido em excesso e garantir as funções intestinais e um bom desempenho produtivo das aves de postura (Jang et al., 2014; Iskender et al., 2016; Lin et al., 2017).

4. *Produção de ROS e atividade antioxidante*

Negligências que prejudicam a sanidade das aves ou mesmo o intenso metabolismo exigido pela produção contínua de ovos podem ser fontes de estresse para animais, tornando-os mais vulneráveis aos danos causados pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) (Innocentini e Araújo, 2015). Os ROS são moléculas de oxigênio com elétrons instáveis que podem causar degeneração e morte celular. Essas moléculas podem ser originadas de fontes endógenas ou exógenas, e quando em excesso em organismo debilitados podem causar danos desde as estruturas lipídicas das membranas até mesmo a molécula de DNA (Pereira e Das Graças Cardoso, 2012).

Os danos causados pelas ROS são gerados a partir de reações em cadeia (Sen e Chakraborty, 2010), que podem ser utilizadas como marcadores para medir o estresse oxidativo (Kmecick, 2014). Segundo Lima (2004) a peroxidação lipídica é um dos danos causados pelos ROS, em que os fosfolipídios que compõem a membrana das células são danificados, prejudicando a permeabilidade da célula, podendo causar turgidez e até o rompimento da membrana.

Os ROS podem modificar o centro de ativação de enzimas e outros componentes essenciais para o funcionamento adequado das proteínas, alterando sua função ou as tornando inativas (Lima, 2004; Rao et al., 2011). Da mesma forma, podem danificar o material genético das células causando quebras na cadeia de DNA, perda de bases púricas e mutações (Lima, 2004). Assim, é função dos sistemas de defesa antioxidante proteger o organismo contra os danos causados pelos ROS (Halliwell e Gutteridge,

2015). Entre os compostos que desempenham essa função estão os antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos.

Entre as enzimas importantes para o sistema de defesa antioxidante podemos destacar a superóxido dismutase (SOD); enzima que atua no controle da produção de radicais livres, convertendo as moléculas de superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio. O peróxido de hidrogênio é então eliminado através de reações catalisadas pelas enzimas catalase (CAT) e pelo sistema da glutaciona que convertem o H_2O_2 em água e oxigênio molecular (Fang et al., 2002). A enzima catalase promove a decomposição do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) na taxa de uma molécula de catalase para 6×10^{10} moléculas de H_2O_2 (Halliwell e Gutteridge, 2015; Rahman, 2007; Souza, 2013). Outra enzima que tem esta mesma função é a glutationaperoxidase (GPX) que diminui a citotoxicidade dos ROS decompondo os hidroperóxidos (Holmgren et al., 2005), como descrito na Figura 3.

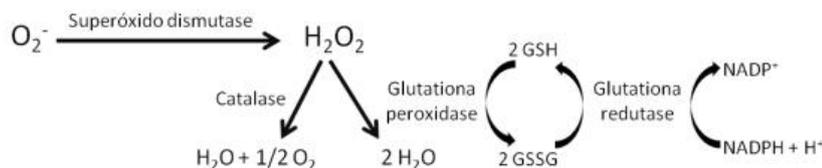


Figura 3 - Reações catalisadas pelas enzimas Superóxido dismutase, Catalase e Glutaciona
Fonte: Kmecick, M. (2014). Desenvolvimento do sistema de defesa antioxidante em embriões de ave Gallus gallus

Segundo a literatura, os radicais livres são de difícil mensuração em ensaios experimentais devido a sua meia vida curta, por isso para identificar sua ação são utilizadas técnicas que quantificam a presença de substâncias geradas a partir das reações dos ROS nos diferentes substratos (Hu et al., 2007). Por exemplo, os produtos da peroxidação lipídica, como o malondialdeído (MDA), que ao reagir com ácido 2-

tiobarbitúrico (TBA) forma bases de Schiff, estas são coloridas o que permite determinar sua concentração por espectrofotometria (Neto et al., 2012).

Entre as substâncias não enzimáticas com ação antioxidante nas aves podemos destacar o ácido úrico, principal forma de excreção de nitrogênio proveniente do metabolismo. Encontrado sob a forma do ânion urato na maioria dos tecidos, é considerado um importante neutralizador de radicais livres, fazendo com que estes deixem de se ligar a substratos importantes como proteínas e lipídeos, minimizando os danos (Barreiros et al., 2006; Cutler et al., 2015). Segundo Machín et al. (2004), aumentar os níveis de ácido úrico plasmático pode ser uma estratégia para reduzir o estresse oxidativo em aves. Assim a concentração de ácido úrico na circulação pode ser utilizada como um indicador da atividade dos ROS.

Além do ácido úrico podemos citar também os compostos fenólicos presentes em extratos vegetais como o cinomaldeído e o eugenol, que também se ligam aos radicais livres doando uma molécula de hidrogênio promovendo assim a estabilidade dos radicais (Şimşek et al., 2013).

5. *Aditivos fitogênicos*

Desde a antiguidade as civilizações utilizam-se dos princípios ativos presentes nos vegetais para o tratamento de doenças, ou mesmo como agente profilático baseado em conhecimento empírico (Rizzo et al., 2008). Segundo Cravotto et al. (2010), a utilização de produtos de origem vegetal com princípios terapêuticos e profilático é uma alternativa a medicina convencional. Ainda assim, sua aplicação deve ter embasamento científico que comprove a sua eficácia.

Nos últimos anos esse tema tem sido bastante discutido dentro da produção animal, visto que o maior conhecimento a respeito dos princípios ativos presentes em alguns vegetais permitiu o uso destes como potenciais aditivos usados na nutrição,

auxiliando principalmente os sistemas antioxidantes e melhorando o desempenho produtivo (Traesel et al., 2011). Muitos estudos vêm sendo desenvolvidos com o intuito de ampliar o conhecimento sobre esta temática; Wang et al. (2008) em sua pesquisa *in vitro* constatou a atividade antioxidante do óleo essencial de alecrim. Matrizes pesadas recebendo dieta contendo óleos essenciais (tomilho, orégano, alecrim e extrato de pimenta), também apresentam resultados promissores com relação à integridade da mucosa intestinal, e aumento na produção de ovos (Chilante et al., 2012). Frangos de corte alimentados com dieta suplementada com óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta vermelha, apresentaram redução de danos na mucosa intestinal causadas por *Eimeria maxima* e *Eimeria tenella* (Bona et al., 2012).

Dentre os aditivos fitogênicos estudados, a canela também tem demonstrado efeito antioxidante quando suplementada na dieta de aves (Ciftci et al., 2010; Qotbi, 2016).

5.1. A canela

A canela (*Cinnamomum zeylanicum*) é uma planta arbórea, pertencente à família das *lauraceae*, de origem asiática; pode atingir de 10 a 15 metros de altura, apresenta folhas em formato oval e flores esverdeadas. De importância econômica e histórica a canela já foi utilizada como moeda de troca no mundo antigo, chegando a ser mais valorizada que o ouro em muitos países naquele período (Sousa e Waldman, 2009). Apresenta aroma forte e característico sendo utilizada para fabricação de vários produtos. No entanto, sua utilização é mais difundida pela tradição em algumas comunidades com base em conhecimentos empíricos.

A canela tem em sua composição química, vitaminas e minerais antioxidantes, além dos compostos fenólicos eficientes no combate aos radicais livres. Segundo Gul e Safdar (2009), o extrato da casca da canela contém ferro, zinco, cálcio, cromo, manganês, magnésio, potássio e fósforo.

Extratos de canela apresentam significativa concentração de compostos fenólicos, cerca de 10,4%, principalmente o eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$), representado na Figura 4 (Lee, 2002). Este componente é considerado um potencial agente antioxidante, pois se liga aos radicais livres doando uma molécula de hidrogênio promovendo assim a estabilidade dos radicais, minimizando os danos causados por estes (Ito et al., 2005; De Moraes et al., 2009).

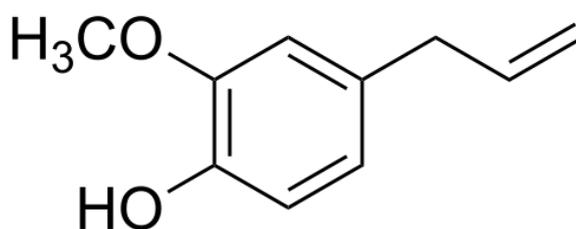


Figura 4 - Estrutura química do eugenol
(Fonte: Núcleo Educacional de Broglie, 2013)

A inclusão do óleo essencial de canela à dieta de codornas japônicas em condições de estresse térmico melhora a resposta do sistema de defesa antioxidante (Şimşek et al., 2013). A suplementação de 1,5% de canela em pó apresenta a capacidade de reduzir o colesterol circulante e se mostra eficiente no combate a *Escherichia Coli*, destacando a canela em pó como um potencial promotor de crescimento para aves devido ao seu efeito estimulante digestivo e antimicrobiano (Qotbi, 2016).

Ciftci et al. (2010) avaliou o efeito de dois níveis de suplementação de óleo essencial de canela sobre características como níveis de colesterol, atividade do sistema antioxidante e qualidade da carne de frangos de corte, e concluiu que de 1000ppm (nível mais alto testado) de óleo essencial de canela na dieta além de diminuir os níveis de colesterol na carne, também ocasionou expressivo aumento na atividade de enzimas antioxidantes. No entanto, ainda são escassos na literatura trabalhos que avaliem a composição da canela em pó, como destaca Gul e Safdar (2009), e os efeitos desse

vegetal sobre a expressão de genes ligados ao metabolismo e a produção de aves em fase de postura.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, T. J. O., DE ARAÚJO, V. V., DA SILVA, A. V., FERREIRA, R., SILVA, N. D. A. S., SANTANA, M. D., E DE OLIVEIRA, V. P. Evolução da produção de codornas para abate e postura no Brasil. XIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão – JEPEX– UFRPE; 2013. Anais... Recife - PE.
- AMAD, A. A., MÄNNER, K., WENDLER, K. R., NEUMANN, K., E ZENTEK, J. Effects of a phytonic feed additive on growth performance and ileal nutrient digestibility in broiler chickens. *Poultry Science*, 90(12), 2811-2816, 2011.
- BARREIROS, A. L. B. S., DAVID, J. M., E DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Revista Química nova*, v. 29, n. 1, p. 113, 2006.
- BERTECHINI, A. G. Mitos e verdades sobre o ovo e consumo. CONFERÊNCIA APINCO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA AVÍCOLAS, v. 19, 2006.
- BOARO, M. Morfofisiologia do trato intestinal. CONFERENCIA FACTA DE CIENCIA E TECNOLOGIA AVICOLAS, v. 27, 2009.
- BOLELI, I. C., MAIORKA, A., MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*, v. 2, p. 75-98, 2002.
- BONA, T. D., PICKLER, L., MIGLINO, L. B., KURITZA, L. N., VASCONCELOS, S. P., E SANTIN, E. Óleo essencial de orégano, alecrim, canela e extrato de pimenta no controle de Salmonella, Eimeria e Clostridium em frangos de corte. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 32, n. 5, p. 411-418, 2012.
- BOTHAM, K. M., MAYES, P. A. Transporte e armazenamento de lipídeos. In RODWELL, V. W., et al. *Bioquímica Ilustrada de Harper*. McGraw Hill Brasil, p. 253-264, 2016.
- CARVALHO, T. M. D., TOSTA, T. D. F., SARMENTO, R. R., BEGNINI, M. L., E OKURA, M. H. Verificação da atividade antibacteriana in vitro dos óleos essenciais Cinnamomum zeylanicum e Rosmarinus officinalis em bactérias causadoras de infecção do trato urinário. *Revista brasileira de análises clínicas*, v. 42, n. 3, p. 213-215, 2010.
- CHAMONE, J. M. A., MELO, M. T. P., AROUCA, C. L. C., BARBOSA, M. M., SOUZA, F. A., E SANTOS, D. Fisiologia digestiva de leitões. *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 7, n. 5, p. 1353-1363, 2010.

- CHILANTE, R. B., KUSSAKAWA, K. C. K., E FLEMMING, J. S. Efeitos da utilização de óleos essenciais na alimentação de aves matrizes pesadas. *Revista Acadêmica de Ciências Agrárias e Ambientais*, v.10, p.387-394, 2012.
- CIFTCI, M., SIMSEK, U. G., YUCE, A., YILMAZ, O., E DALKILIC, B. Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*, v. 79, n. 1, p. 33-40, 2010.
- CRAVOTTO, G., BOFFA, L., GENZINI, L., E GARELLA, D. Phytotherapeutics: an evaluation of the potential of 1000 plants. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, Oxford, v. 35, n. 1, p. 11-48, 2010.
- CUTLER, R., CAMANDOLA, S., F MALOTT, K., A EDELHAUSER, M., E P MATTSON, M. The role of uric acid and methyl derivatives in the prevention of age-related neurodegenerative disorders. *Current topics in medicinal chemistry*, v.15, n. 21, p. 2233-2238, 2015.
- DE MORAES, I. A. Fisiologia da reprodução das aves domésticas. Disponível em: http://www.uff.br/fisiovet/Reprod_aves.pdf. Acesso em: 16 de fev. de 2017.
- DE MORAIS, S. M., CAVALCANTI, E. S., COSTA, S. M., E AGUIAR, L. A. Ação antioxidante de chás e condimentos de grande consumo no Brasil. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, v. 19, n. 1B, p. 315-320, 2009.
- USDA (2016) National Nutrient Database for Standard Reference Release 28. United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service. Disponível em: <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/>. Acesso em: 13 de mar. de 2017.
- DUARTE, C. R. A. Flexibilidade Fenotípica Do Trato Digestório: Efeitos Da Restrição Alimentar E Realimentação Em Frangos. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2009. 97p. 2009. Tese de Doutorado. Tese (Livre-docência)-Universidade Estadual Paulista 2009.
- FANG, Y. Z., S. YANG, E G, WU. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, v. 18, n. 10, p. 872-879, 2002.
- FARAG, R. S., DAW, Z. Y., HEWEDI, F. M., E EL-BAROTY, G. S. A. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of food protection*, v. 52, n. 9, p. 665-667, 1989.
- GARCIA, E. A. Níveis nutricionais e métodos de muda forçada em codornas japonesas (*Coturnix coturnix* japônica). Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2001. 111p. 2001. Tese de Doutorado. Tese (Livre-docência)-Universidade Estadual Paulista 2001.

- GAVA, M. S. Metodologia de morfometria intestinal em frango de corte. Santa Maria: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2012. 59p. 2012. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul 2012.
- GHAREEB, K., KÖNIG, K., AWAD, W. A., ZEBELI, Q., e BÖHM, J. The impact of a microbial feed supplement on small intestine integrity and oxidative stress biomarker in broiler chickens. *Avian Biology Research*, v.8, n. 3, p. 185-189, 2015.
- GUL, S., E SAFDAR M. Proximate composition and mineral analysis of cinnamon. *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 8, p. 1456-1460, 2009.
- HALLIWELL, B., E GUTTERIDGE, J. M. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA. 2015. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=3DIKCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Free+radicals+in+biology+and+medicine&ots=bohCbSxooX&sig=rMQ6AnWrI19OSTqPqAT7cyRsVJQ#v=onepage&q=Free%20radicals%20in%20biology%20and%20medicine&f=false>. Acesso em: 11 de nov. de 2016.
- HOLMGREN, A., JOHANSSON, C. B., BERNDT, C., LONN, M. E., HUDEMANN, C., E LILLIG, C. H. Thiol redox control via thioredoxin and glutaredoxin systems. *Biochemical Society Transactions*, v. 33, p. 1375–1377, 2005.
- HU, Y., ZHANG, Z., E YANG, C. The determination of hydrogen peroxide generated from cigarette smoke with an ultrasensitive and highly selective chemiluminescence method. *Analytica Chimica Acta*; v. 601, n. 1 p. 95-100, 2007.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. (2016). Disponível em: www.ibge.gov.br. Acesso em: 12 de fev. de 2017.
- INNOCENTINI, R. D. C. P., E ARAÚJO, L. F. Capítulo XVII: Utilização de carotenóides e vitamina d na dieta de matrizes de postura e seu efeito na qualidade da progênie. *Novos Desafios da Pesquisa em Nutrição e Produção Animal*, p. 340. 2015. Disponível em: <http://posvnp.org/novo/wp-content/uploads/2016/02/IX-simposio-vnp-pos-graduacao-livro-2015.pdf#page=340>. Acesso em: 10 de mar. De 2017.
- ISKENDER, H., YENICE, G., DOKUMACIOGLU, E., KAYNAR, O., HAYIRLI, A., E KAYA, A. The Effects of Dietary Flavonoid Supplementation on the Antioxidant Status of Laying Hens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 18, n.4, p. 663-668, 2016.
- ITO, M., MURAKAMI, K., E YOSHINO, M. Antioxidant action of eugenol compounds: role of metal ion in the inhibition of lipid peroxidation. *Food and chemical toxicology*, v. 43, n. 3, p. 461-466, 2005.

- JANG, I., KO, Y., KANG, S., KIM, S., SONG, M., CHO, K., E SOHN, S. Effects of Dietary Lutein Sources on Lutein-Enriched Egg Production and Hepatic Antioxidant System in Laying Hens. *The Journal of Poultry Science*, v. 51, n. 1, p. 58-65, 2014.
- JONES M.R., MERCANTE W.J., NEISH S.A. Reactive oxygen production induced by the gut microbiota: pharmacotherapeutic implications. *Current medicinal chemistry*, v. 19, p. 1519-1529, 2012.
- KANG, B., GUO, J. R., YANG, H. M., ZHOU, R. J., LIU, J. X., LI, S. Z., E DONG, C. Y. Differential expression profiling of ovarian genes in prelaying and laying geese. *Poultry science*, v. 88, n. 9, p. 1975-1983, 2009.
- KMECICK, M. Desenvolvimento do sistema de defesa antioxidante e embriões de ave Gallus gallus. 2014. Disponível em: <http://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/38800/TCC+Melyssa+Kmecick.pdf?sequence=1>. Acesso em: fevereiro de 2017.
- LAGOURI, V., E BOSKOU, D. Screening for antioxidant activity of essential oils obtained from spices. *Developments in Food Science*, v. 37, p. 869-879, 1995.
- LARA, L. J. C. Reprodução nas aves: desafios do manejo e da nutrição. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 39, n. 1, p. 85-90, 2015.
- LAZIA, B. Codornas domésticas e suas principais características. Portal Agropecuário.2013. Disponível em: <http://www.portalagropecuaria.com.br/avicultura/codornas-domesticas-e-suas-principais-caracteristicas/>. Acesso em: fevereiro de 2017.
- LEE, J. Y., JEONG, W., LIM, W., KIM, J., BAZER, F. W., HAN, J. Y., E SONG, G. Chicken pleiotrophin: regulation of tissue specific expression by estrogen in the oviduct and distinct expression pattern in the ovarian carcinomas. *PLoS One*, v. 7, n. 4, p. e34215, 2012.
- LEE, K. W. Essential oils in broiler nutrition. Uttercht University, 2002. Disponível em: <https://dspace.library.uu.nl/handle/1874/186867>. Acesso em: novembro de 2016.
- LELIS, G. R., ALBINO, L. F. T., TAVERNARI, F. C., E ROSTAGNO, H. S. Suplementação dietética de fitase em dietas para frangos de corte. *Revista Eletrônica Nutritime*, v.6, n. 2, p. 875-889, 2009.
- LIMA, M. H. Oxygen in biology and biochemistry: role of free radicals. *Functional metabolism: Regulation and adaptation*, v. 1, p. 319-66, 2004.

- LIN, W. C., LEE, M. T., CHANG, S. C., CHANG, Y. L., SHIH, C. H., YU, B., E LEE, T. T. Effects of mulberry leaves on production performance and the potential modulation of antioxidative status in laying hens. *Poultry Science*, v. 96, n. 5, p. 1191-1203, 2017.
- MACHIN, M., SIMOYI, M. F., BLEMININGS, K. P., E KLANDORF, H. Increased dietary protein elevates plasma uric acid and is associated with decreased oxidative stress in rapidly-growing broilers. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 137, n. 3, p. 383-390, 2004.
- MOURA, A. M. A. D., FONSECA, J. B., RABELLO, C. B. V., TAKATA, F. N., E OLIVEIRA, N. T. E. D. Performance and egg quality of laying Japanese quails fed rations with different sorghum levels. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 39, n. 12, p. 2697-2702, 2010.
- MURO, E. M., PELÍCIA, V. C., VERCESE, F., DE SOUZA, I. M. G. P., PIMENTA, G. E. M., OLIVEIRA, R. S. D. S. G., E SARTORI, J. R. Aditivos fitogênicos e glutamina mais ácido glutâmico na dieta de frangos desafiados com coccidiose. *Agrarian*, v. 8, n. 29, p. 304-311, 2015.
- NELSON, D.L., COX, M.M. *Lehninger Principles of biochemistry*. 5. ed. New York: Worth Publishers, 2008. 1119p
- NETO, A., FERREIRA, J. M., DONADON, C. C., RIVERA, R. J. B., E CALVI, R. G. Correlação entre peroxidação lipídica e níveis de creatina quinase plasmática em jogadores de tênis de campo juvenis durante um período competitivo. *Brazilian Journal of Biomotricity*, v.6, n. 1, 2012.
- PAIVA C.N., BOZZA M.T. Are reactive oxygen species always detrimental to pathogens? *Antioxidants and redox signaling*, v. 20, p. 1000-1037, 2014.
- PASTORE, S. M., OLIVEIRA, W. D., E MUNIZ, J. C. L. Panorama da coturnicultura no Brasil. *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 9, n. 6, p. 2041-2049, 2012.
- PEREIRA, R. J., E DAS GRAÇAS CARDOSO, M. Metabólitos secundários vegetais e benefícios antioxidantes. *Journal of biotechnology and biodiversity*, v. 3, n.4, 2012.
- PLACHA, I., TAKACOVA, J., RYZNER, M., COBANOVA, K., LAUKOVA, A., STROMPFOVA, V., e FAIX, S. Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. *British poultryscience*, v. 55, n. 1, p. 105-114, 2014.
- PLUSKE, J. R., HAMPSON, D. J., & WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livestock production science*, v. 51, n. 1, p. 215-236, 1997.

- QOTBI, A. A. A. The Effect of Cinnamon Powder and Cinnamon Extract on Performance, Blood Parameters and Microbial Population of Broiler Chicks. *Journal of Babylon University, Pure and Applied Sciences*, v. 24, n. 9, 2016.
- RAHMAN, K. Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. *Clinical Interventions in Aging*, v. 2, n. 2, p. 219, 2007.
- RAO, P. S., KALVA, S., YERRAMILI, A., E MAMIDI, S. Free radicals and tissue damage: role of antioxidants. *Free radicals and antioxidants*, v. 1, n. 4, p. 2-7, 2011.
- RIZZO, P. V.; MENTEN, J. F. M.; RACANICCI, A. M. C.; SANTAROSA, J. Foundation and perspectives of the use of plant extracts as performance enhancers in broilers. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v. 10, n. 4, p. 195-204, 2008.
- RUTZ, F., ANCTUTI, M. A., E PAN, E. A. Fisiologia e manejo reprodutivo de aves. Manejo de Matrizes de corte. 2ª ed. *Facta*, Campinas, p. 57-121, 2005.
- RUTZ, F., ANCIUTI, M. A., XAVIER, E. G., ROLL, V. F. B., & ROSSI, P. Avanços na fisiologia e desempenho reprodutivo de aves domésticas. *Revista Brasileira de Reprodução Animal*, v. 31, n. 3, p. 307-317, 2007.
- SARTORI, E. V., CANNIATTI-BRAZACA, S. G., DA CRUZ, S. H., E GAZIOLA, S. A. Concentração de proteínas em gemas de ovos de poedeiras (*Gallus Gallus*) nos diferentes ciclos de postura e sua interferência na disponibilidade de ferro. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 39, n. 3, p. 481-7, 2009.
- SATO, K., SUZUKI, K., E AKIBA, Y. Characterization of chicken portomicron remnant and very low density lipoprotein remnant. *The journal of poultry science*, v. 46, n. 1, p. 35-39, 2009.
- SEN, S., E CHAKRABORTY, R. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, v. 3, n. 1, p. 91–100, 2010.
- ŞİMŞEK, Ü. G., CİFTCI, M., DOĞAN, G., E ÖZÇELİK, M. Antioxidant activity of cinnamon bark oil (*Cinnamomum zeylanicum* L.) in Japanese quails under thermo neutral and heat stressed conditions. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, v. 19, n. 5, p. 889-894, 2013.
- SOUSA, A. M., E WALDMAN, W. R. Especiarias. Instituto Virtual de Estudos de Meio Ambiente e Saúde em Nova Friburgo – RJ, 2009.
- SOUZA, M. D. O. Caracterização química, atividade antioxidante e antigenotóxica de extrato de brácteas de *Araucaria angustifolia* (Bert) O. Kuntze. 2013. Tese de

- Doutorado. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/handle/11338/663>. Acesso em: novembro de 2016.
- STANLEY, D., HUGHES, R. J., E MOORE, R. J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease. *Appliedmicrobiologyandbiotechnology*, v. 98, n. 10, p. 4301, 2014.
- TAVERNARI, F. C., E MENDES, A. M. P. Desenvolvimento, crescimento e características do sistema digestório de aves. *Revista Eletrônica Nutritime*, v. 6, n. 6, p. 1103-1115, 2009.
- TEIXEIRA, B. B., TEIXEIRA, R. B., SILVA, L. D., TORRES, R. D. A., CAETANO, G. D. C., E EUCLYDES, R. F. Estimação dos componentes de variância para as características de produção e de qualidade de ovos em matrizes de codorna de corte. *Ciência Rural*, v. 42, n. 4, p. 713-717, 2012.
- TRAESEL, C. K., LOPES, S. T. D. A., WOLKMER, P., SCHMIDT, C., SANTURIO, J. M., E ALVES, S. H. Óleos essenciais como substituintes de antibióticos promotores de crescimento em frangos de corte: perfil de soroproteínas e peroxidação lipídica. *Ciência rural*, v. 41, n. 2, 2011.
- WALZEM, R. L., E CHEN, S. E. Obesity-induced dysfunctions in female reproduction: lessons from birds and mammals. *Advances in Nutrition: An International Review Journal*, v. 5, n. 2, p. 199-206, 2014.
- WANG, W., WU, N., ZU, Y. G., E FU, Y. J. Antioxidative activity of Rosmarinus officinalis L. essential oil compared to its main components. *Food chemistry*, v. 108, n. 3, p. 1019-1022, 2008.
- WINDISCH, W., SCHEDLE, K., PLITZNER, C., E KROISMAYR, A. Use of phytogetic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of animal science*, v. 86, n. 14, p. e140-e148, 2008.
- YU, J., YAO, H., GAO, X., ZHANG, Z., WANG, J. F., & XU, S. W. The role of nitric oxide and oxidative stress in intestinal damage induced by selenium deficiency in chickens. *Biological trace elementresearch*, v. 163, n.1-2, p. 144, 2015.
- ZOU, X. T., XU, Z. R., ZHU, J. L., FANG, X. J., E JIANG, J. F. Effects of dietary dihydropyridine supplementation on laying performance and fat metabolism of laying hens. *Asian Australasian Journal Of Animal Sciences*, v. 20, n. 10, p. 1606, 2007.

OBJETIVO GERAL

Avaliar a expressão dos genes relacionados à capacidade antioxidante, metabolismo lipídico e produção de ovos; bem como avaliar parâmetros sanguíneos, morfometria de órgãos e desempenho produtivo de codornas japônicas em fase de postura alimentadas com dietas com suplementação de canela em pó e sem suplementação de canela.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

ARTIGO I - Avaliar o efeito da suplementação de canela na dieta de codornas de postura sobre:

A expressão dos genes superóxido dismutase (*SOD*) e glutathione peroxidase (*GPX7*) no fígado e no intestino; factor de necrose tumoral alpha (*TNF α*) e catalase (*CAT*) no intestino.

Atividade da enzima catalase, bem como a concentração de TBARS no tecido hepático.

Os conteúdos séricos de ácido úrico, bem como a atividade das enzimas creatina quinase (*CK*), aspartato aminotransferase (*AST*), e alanina aminotransferase (*ALT*) no plasma.

A histomorfometria do duodeno e jejuno de codornas japônicas em fase de postura.

ARTIGO II – Avaliar o efeito da suplementação de canela na dieta de codornas de postura sobre:

A expressão dos genes acetil-CoAcarboxilase (*ACC*), ácido graxo sintase (*FAS*), apolipoproteína A-I (*APOA-I*), apolipoproteína B (*APOB*) no fígado; e receptor de estrógeno 1 (*ESR1*) e receptor de estrógeno 2 (*ESR2*) no ovário.

Os conteúdos séricos de colesterol, creatinina, glicose, triglicérides e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) no plasma.

A morfometria dos órgãos e o desempenho produtivo e de codornas japônicas em fase de postura.

ARTIGO I

BASTOS, Marisa Silva. **Ação da canela sobre os sistemas de defesa antioxidantes e ambiente intestinal de codornas de postura**. Sergipe: UFS, 2017. 24p. (Dissertação: Artigo I - Mestrado em Zootecnia)

RESUMO

Esse trabalho foi desenvolvido sob a hipótese de que a suplementação de canela na dieta de codornas em fase de postura poderia contribuir para maior ação das enzimas antioxidantes e melhor ambiente intestinal. Assim, foram utilizadas 144 codornas japônicas (*Coturnix japonica*) com idade inicial de 18 semanas e peso médio de 133g, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos: sem suplementação de canela (SC) e com suplementação de 9g/kg de canela em pó (CC). O experimento teve duração de 84 dias. Diariamente os ovos produzidos foram coletados, contabilizados e pesados. Ao final do período experimental seis animais de cada tratamento foram eutanaseados por deslocamento cervical, o sangue foi coletado e os órgãos pesados. Tecidos do fígado e intestino foram coletados para extração de RNA e análises histomorfométricas. O cDNA foi amplificado usando primers específicos para os genes analisados pela qRT-PCR. As Aves do tratamento CC apresentaram maior atividade de alanina aminotransferase (ALT) e ácido úrico séricos, assim como maior expressão de *SOD* e *GPX7* no fígado. Este mesmo tratamento apresentou também maior altura de vilo, maior profundidade de cripta no duodeno e maior altura de vilo e relação vilo:cripta no jejuno. Os resultados mostram que a maior capacidade antioxidante proporcionada pela suplementação de canela conseguiu manter o equilíbrio metabólico, mantendo o estado redox e garantindo a integridade das estruturas teciduais, e assim, melhor desenvolvimento das estruturas do epitélio intestinal, o que favorece a absorção de nutrientes e por consequência melhora o desempenho das aves.

Palavras-Chave: Absorção, desempenho, histomorfometria, ROS

INTRODUÇÃO

O intenso metabolismo relacionado à produção contínua de ovos pode estar ligado à maior produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) (Innocentini e Araújo, 2015). Esses ROS agem danificando os componentes celulares dos tecidos, principalmente no fígado, causando morte celular e perda da função hepática, podendo acarretar em hemorragias e infecções graves (Kmecick, 2014; Zou et al., 2007). De acordo com Rutz et al. (2005) a ação dos radicais livres pode diminuir a fertilidade das matrizes se os tecidos não contarem com a ação de eficientes mecanismos antioxidantes no sistema reprodutor. Além da eficiência por parte do sistema reprodutor, a produção de ovos também depende do aproveitamento adequado dos nutrientes fornecidos na dieta, sendo este aproveitamento diretamente relacionado à saúde intestinal das aves (Najafi e Taherpour, 2014).

A suplementação de compostos, como os presentes em vegetais, que melhoram a defesa antioxidante do organismo quer seja por modular a ação de enzimas antioxidantes, ou ainda, por contribuir para um ambiente intestinal saudável, pode aumentar a eficiência produtiva das aves. Segundo Al-Kassie (2009), o uso de extrato de canela melhora a eficiência alimentar de frangos, pois, os componentes da canela propiciam melhor ambiente intestinal, o que favorece o aproveitamento dos nutrientes. Dušan et al. (2006), comprovou a atividade antimicrobiana e a viabilidade de células intestinais utilizando óleo de canela na dieta animal.

O eugenol, composto presente na canela (*Cinnamomum zeylanicum* L.), apresenta potencial capacidade antioxidante, antibacteriana e antimicrobiana (Dušan et al., 2006; Tajodini et al., 2015), podendo promover equilíbrio no metabolismo; isto porque, este composto fenólico neutraliza a ação de radicais livres minimizando os danos causados as membranas das células, inclusive as células do epitélio intestinal, assim como combate

os microorganismos vinculados a enfermidades gastrointestinais em aves (Ali et al., 2005; Gill e Holley, 2006; Qotbi, 2016). Şimşek et al. (2013) observaram que o óleo de canela exibiu atividade antioxidante significativa em codorna japônica principalmente sob condição de estresse térmico; o autor relacionou esse resultado ao alto teor de compostos fenólicos presentes na canela.

Assim, esta pesquisa foi conduzida sob a hipótese de que a suplementação de canela na dieta de codornas em fase de postura poderia contribuir para aumentar a ação das enzimas antioxidantes e melhorar o ambiente intestinal. Para testar essa hipótese, foi avaliada a expressão dos genes fator de necrose tumoral alpha (*TNF α*), glutathione peroxidase 7 (*GPX7*), catalase (*CAT*) e superóxido dismutase (*SOD*), a histomorfometria de segmentos do intestino, parâmetros sanguíneos metabólicos ligados ao estresse oxidativo em codornas japônicas em fase de postura recebendo dieta com e sem suplementação de canela em pó.

MATERIAIS E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com animais de produção (CEPAP) da Universidade Federal de Sergipe (protocolo nº 09/2015).

Animais e desenho experimental

Para a realização deste experimento foram utilizadas 144 codornas japônicas (*Coturnix japônica*) com idade de 15 semanas e peso médio de 133g, alojadas em galpão de alvenaria, uniformemente distribuídas em gaiolas de postura (0,50x0,15x0,35m) equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo niple.

Para a uniformização da produção de ovos, foi feito um acompanhamento diário da produção por um período de três semanas. Sendo então iniciado o experimento quando as unidades experimentais apresentaram uma taxa de postura de cerca de 85% e 18 semanas de idade. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos: sem suplementação de canela (SC) e com suplementação de 9g/kg canela em pó (CC) em substituição ao inerte. Cada tratamento foi formado por seis repetições com 12 aves cada, o que totalizou 72 codornas por tratamento.

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja conforme recomendações nutricionais encontradas nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (Rostagno et al., 2011). O experimento teve duração de 84 dias. As aves receberam água e ração à vontade e foi utilizado um programa de luz de 16 horas diárias.

Tabela 1 - Composição percentual e valores nutricionais da dieta basal

Ingredientes	(%)
Milho moído	57,792
F. Soja 45%	30,450
Óleo de soja	1,561
F. Bicálcico	1,091
Calcário	6,802
Sal comum (NaCl)	0,323
L-Lisina HCl	0,261
DL-Metionina	0,396
L-Treonina	0,024
Premix Vit+Min. ¹	0,100
Inerte (caolin)	1,200
Total	100,000
Composição Nutricional	
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2807
Proteína Bruta (%)	18,80
Gordura (%)	4,101
Cálcio (%)	2,922
Fósforo Disponível (%)	0,304
Sódio (%)	0,146
Cloro (%)	0,242
Potássio (%)	0,725
Aminoácidos Digestíveis (%)	
Metionina	0,642
Metionina + Cisteína	0,900
¹ Lisina	1,097
Treonina	0,658
Triptofano	0,206

¹Níveis de garantia por kg do produto: Ácido fólico (mín.) 200mg; ácido pantotênico (mín.) 5.350 mg; cobre (mín.) 4.000 mg; ferro (mín.) 20 g; iodo (mín.) 1.500 mg; manganês (mín.) 75 g; niacina (mín.) 19,9 g; selênio (mín.) 250 mg; Vit. A (mín.) 8.000.000 UI; Vit. B12 (mín.) 10.000 mcg; Vit. B2 (mín.) 4.000 mg; Vit. B6 (mín.) 1.000 mg; Vit. D3 (mín.) 2.000.000 UI; Vit. E (mín.) 15.000 UI; Vit. K3 (mín.) 2.000 mg; zinco (mín.) 50 g.

Parâmetros sanguíneos e morfometria intestinal

Ao final do período experimental proposto de 84 dias, seis animais de cada tratamento, em jejum de 6 horas, foram pesados e então eutanaseados por deslocamento cervical.

Para realizar as análises de atividade enzimática da creatina quinase (CK), aspartato aminotransferase (AST), e alanina aminotransferase (ALT), e o conteúdo de ácido úrico, foram retiradas amostras de sangue de seis aves por tratamento, coletado a

partir da veia jugular, em tubos coletores com EDTA e mantidos em gelo. As amostras de sangue foram então submetidas à centrifugação (1500 xg , 10 min, 4°C), o plasma foi coletado e armazenado a -20°C até o momento das análises.

O conteúdo ácido úrico, assim como as análises de atividade da ALT, AST e CK foram realizados de acordo com métodos colorimétricos com os seguintes kits: ÁCIDO ÚRICO-PP-MS 80022230065, ALT-MS 80022230086, AST-MS80022230083 e CK-NAC-PP-MS 80022230088, respectivamente, de acordo com as recomendações do fabricante (Gold Analisa, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Estes animais foram eviscerados para avaliação do peso relativo e comprimento de intestino. O peso relativo foi calculado como (peso do órgão / peso da ave) x100.

Histomorfometria

Foram coletados de fragmentos de aproximadamente 2,0 cm de comprimento das porções médias dos segmentos do duodeno e jejuno de dez animais de cada tratamento. Esses fragmentos foram fixados em solução fixadora (Formol 10%) segundo metodologia descrita por Sun et al. (2005). Posteriormente, as amostras de tecidos coletadas foram desidratadas, diafanizadas, inclusas em parafina e cortadas a 5,0 μm , então as lâminas foram confeccionadas e coradas em hematoxilina-eosina. Foram confeccionadas duas lâminas de cada segmento e de cada animal, fotografadas e analisadas em analisador de imagem MoticImages Plus 3.0. Foram selecionados e medidos, de acordo com a unidade adotada (μm), os comprimentos de 15 vilosidades e 15 criptas, bem orientadas, de cada região intestinal por animal. As medidas de altura de vilosidades foram tomadas a partir da região basal do vilo, coincidente com porção superior das criptas, até o seu ápice e a profundidade das criptas foi medida da sua base

até a transição cripta:vilosidade. Também foram calculado as relações entre altura das vilosidades e profundidade das criptas (Altura de vilo/ profundidade de cripta).

Para padronização dos dados os resultados de histologia sofreram transformação logarítmica e posteriormente foram submetidos a análise estatística.

Expressão gênica

Para a análises de expressão gênica foram coletados tecidos do duodeno e ovário de 4 animais de cada tratamento e armazenados em RNA lather® (BioAgency Biotecnologia, Brasil) à -20°C até o momento da extração de RNA. O RNA total foi extraído com uso do reagente Trizol® (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante, na proporção de 1 mL para cada 100 mg de tecido. O tecido foi picotado com o auxílio de laminas descartáveis. Logo após, foi adicionado 200 uL de clorofórmio e homogeneizado manualmente por 1 minuto. As amostras foram, então, centrifugadas por 15 minutos a 12.000 *xg* a 4°C; e a fase líquida foi coletada e transferida para tubo limpo, com adição de 500 uL de isopropanol em cada tubo. As amostras foram homogeneizadas, centrifugadas por 15 minutos a 12.000 *xg*, a 4°C. O sobrenadante foi descartado, e o precipitado foi lavado em 1 mL de etanol 75%. O material foi centrifugado novamente a 12.000 *xg* por 5 minutos, e o sobrenadante foi descartado. O pelet foi seco por 15 minutos e então, ressuspendido em água ultrapura livre de RNase. A concentração total de RNA foi mensurada usando espectrofotômetro no comprimento de onda de 260 nm. As amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), para remoção de possíveis resíduos de DNA genômico, de acordo com as recomendações do fabricante.

Para confecção do cDNA, foi utilizado o kit GoScript™ Reverse Transcription System (Promega Corporation, USA) de acordo com as normas do fabricante. Em tubo

estéril e livre de RNA, foram adicionados 4 uL de RNA total tratado com DNase e 1uL de Oligo(dT)₁₅ Primer. A reação foi incubada por 5 minutos a 70°C e então colocada no gelo por 5 minutos. Foram adicionados em seguida 4 uL de GoScript™ 5X Reaction Buffer, 4 uL de MgCl₂ (25mM), 1µL de PCR Nucleotide Mix, 1 uLGoScript™ Reverse Transcriptase e 4,5 uL de Nuclease-FreeWater. A solução foi incubada no Thermal Cyclers (Bio-Rad Corporation, Brasil) por 5 minutos a 25°C, 1 hora a 42°C, e 15 minutos a 70°C.

Para as reações de PCR em tempo real, foi utilizado o corante fluorescente SYBR GREEN (SYBR® GREEN PCR Máster Mix (Applied Biosystems, USA). As análises de PCR em tempo real foram realizadas no aparelho CFX96™ IVD Real-Time PCR Systems (Bio-RadLaboratories, USA). A reação de amplificação consistiu em 5 uL de cDNA diluído, 0,5 uL de cada primer (forward e reverse) a 10 uM, 12,5 uL de SYBR® GREEN PCR Master Mix e água até um volume total de 25 uL. Para medir cada eficiência da reação do gene, uma série de reações de 25 uL foi realizada semelhante à anterior utilizando sempre 5uL de pool de cDNA derivado de uma diluição em série (80, 40, 20 e 10 ng).

Os primers utilizados nas reações de amplificação dos genes superóxido dismutase (*SOD*), glutathiona peroxidase (*GPX*), catalase (*CAT*) e factor de necrose tumoral alpha (*TNFα*) foram desenhados de acordo com as sequências dos seus respectivos genes, e depositadas no site www.ncbi.nlm.nih.gov (número de acesso NM_205064.1, NM_001163245.1, XM_015863594.1 e NM_204267.1) (Tabela 2). O gene da *β-actina* (número de acesso L08165) foi utilizado como endógeno. Todas as análises foram realizadas em um volume de 25 uL e em duplicatas.

Tabela 2 - Primers para qRT-PCR

Genes	Amplicom (Pb)	TA (°C)	Sequências dos primers (5'-3') ¹
<i>SOD</i> ²	126	60	TGGACCTCGTTTAGCTTGTG ACACGGAAGAGCAAGTACAG
<i>GPX7</i>	140	60	TTGTAAACATCAGGGGCAAA TGGGCCAAGATCTTTCTGTAA
<i>CAT</i>	76	60	TTGGGTTGGCTCGTTGAGG CGGAGCTACAGAAGCACGAT
<i>TNFα</i>	64	60	GAGCGTTGACTTGGCTGTC AAGCAACAACCAGCTATGCAC
<i>β-actina</i>	136	60	ACCCCAAAGCCAACAGA CCAGAGTCCATCACAATACC

¹Pb, Pares de base; TA, temperatura de anelamento

²*SOD*, Superóxido desmutase; *GPX7*, Glutathione peroxidase 7; *CAT*, catalase; *TNF α* , fator de necrose tumoral alpha.

Os primers analisados foram adequados para as reações de PCR em tempo real. As eficiências de amplificação foram semelhantes para todos os genes de interesse, entre 90% a 110% de eficiência. As análises da curva de dissociação não revelaram qualquer produto inespecífico ou formação de dímeros de primers, o que demonstra a confiabilidade dos dados estimados nas expressões de mRNA dos genes avaliados. A *β -actina* utilizada como controle endógeno não mostrou nenhuma diferença significativa entre as variáveis analisadas, o que confere eficiência a *β -actina* como controle endógeno.

Atividade da Catalase e TBARS

Para as avaliações bioquímicas, parte do fígado de cinco animais de cada tratamento foi coletada e armazenada em nitrogênio líquido até o momento das análises.

A determinação da concentração de TBARS foi baseada na capacidade do ácido tiobarbitúrico em se ligar a lipídeos oxidados. Essa dosagem foi realizada conforme descrito por Buege e Aust (1978). Foram pesados 100mg do tecido, adicionado 1mL de tampão fosfato (0,1M, pH de 7,4). O homogenato foi centrifugado a 4°C por 10

minutos a 10000 *xg*. Foram coletados 500 μ L do sobrenadante, e a este acrescentado 250 μ L de TCA 28% diluído em HCl 0,25N, 250 μ L de ácido tiobarbitúrico 1% diluído em ácido acético (1:1), e 125 μ L de BHT (hidroxi tolueno butilado) 5mM. A solução foi homogeneizada e aquecida em banho maria por 15 minutos a 95°C. Posteriormente foi centrifugada a 4°C por 10 minutos a 10000 *xg*. Em seguida foi realizada a leitura do sobrenadante em espectrofotômetro a 535 nm. A concentração de TBARS foi determinada utilizando o coeficiente de extinção molar $\epsilon = 1,56 \times 10^5 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$, segundo a lei de Lambert Beer. Usualmente essa concentração é representada em nmoles por mg de proteína.

A análise da atividade da catalase foi baseada na capacidade da enzima CAT presente nas amostras de converter o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) em água e oxigênio molecular, conforme descrito por Aebi (1984). Foram pesados 100mg do tecido, adicionado a 1 mL de tampão fosfato (0,1M, pH de 7,2). O homogeneizado foi centrifugado a 4°C por 10 minutos a 10000 *xg*. Em um tubo limpo foram adicionados 50 μ L de tampão fosfato (pH 7,2) e 40 μ L de água destilada. Esta mistura foi mantida em banho maria a 30°C por um minuto, em seguida foi adicionado 10 μ L do sobrenadante da amostra e 900 μ L de H_2O_2 (10mM), a solução foi homogeneizada. Em seguida as absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro a 240 nm, zerado com H_2O_2 (10mM), estas medidas foram lidas a cada minuto durante 5 minutos. Sabe-se que 1U de catalase equivale a hidrólise de 1 μ mol de H_2O_2 por minuto ($\epsilon = 39,4 \text{ L}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$) (Aebi, 1984). A absorbância utilizada nessa expressão foi o delta obtido das cinco absorbâncias lidas (absorbância final – absorbância inicial / 4).

Para ajuste das análises enzimática da catalase e conteúdo de TBARS, a quantificação de proteínas totais foi realizada pelo método de Bradford (1976).

Análise estatística

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade dos dados de expressão dos genes em estudo (expressos como $2^{-\Delta C_t}$) e dos demais dados avaliados. O efeito dos tratamentos (SC e CC) foi testado por meio da ANOVA (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA). Os resultados são apresentados como médias e erros padrões.

RESULTADOS

Parâmetros sanguíneos

Observamos efeito significativo dos tratamentos sobre a atividade plasmática da CK ($P=0,0169$); maior atividade foi observada nas aves do tratamento sem canela (SC). Animais do tratamento com inclusão de canela na dieta apresentaram maior atividade de ALT ($2,40\text{U/L}$, $P=0,0497$) e ácido úrico ($7,40\text{mg/dL}$, $P=0,0003$). Não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) para os níveis AST, como descrito na Tabela 3.

Tabela 3 - Parâmetros sanguíneos de codornas em postura recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó

Parâmetros	SC	CC	P_{valor}
ÁC. ÚRICO (mg/dL)	4,82± 0,245	7,40± 0,348	0,0003*
CK (U/L)	3529,20 ±412,140	2241,60± 116,270	0,0169*
AST (U/L)	420,00 ± 4,370	402,20 ± 16,560	0,3291
ALT (U/L)	1,60± 0,245	2,40± 0,245	0,0497*

CK - Creatina cinase; AST – Aspartatoaminotransferase; ALT - Alanina aminotransferase. Os resultados são médias com seus erros padrões (EP). * Significante pelo teste de F ($P<0,05$).

Expressão gênica

A Tabela 4 mostra os resultados da expressão de genes relacionados aos sistemas de defesa antioxidante no intestino de codornas em postura recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó. Neste tecido não foi observada diferença significativa ($P>0,05$) na expressão destes genes.

Tabela 4 - Expressão de genes relacionados aos sistemas de defesa antioxidante no intestino de codornas em postura recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó

Genes	SC	CC	P_{valor}
<i>TNFα</i>	0,403±0,043	0,481±0,086	0,3977
<i>GPX7</i>	0,860±0,107	0,815±0,166	0,3021
<i>CAT</i>	0,119±0,016	0,090±0,006	0,1679
<i>SOD</i>	2,194±0,794	2,040±0,853	0,0927

Expressão de mRNA *TNF α* (factor de necrose tumoral alpha), *GPX 7* (glutationa peroxidase 7), *CAT* (catalase) e *SOD* (superóxido dismutase) (UA). Os resultados são médias com seus erros padrões.

Os resultados de expressão dos genes *SOD* e *GPX 7* no fígado são apresentados na Figura 1. É possível observar que as aves alimentadas com adição de canela na dieta apresentaram maior expressão de *SOD* e *GPX7* que os animais do tratamento sem adição de canela.

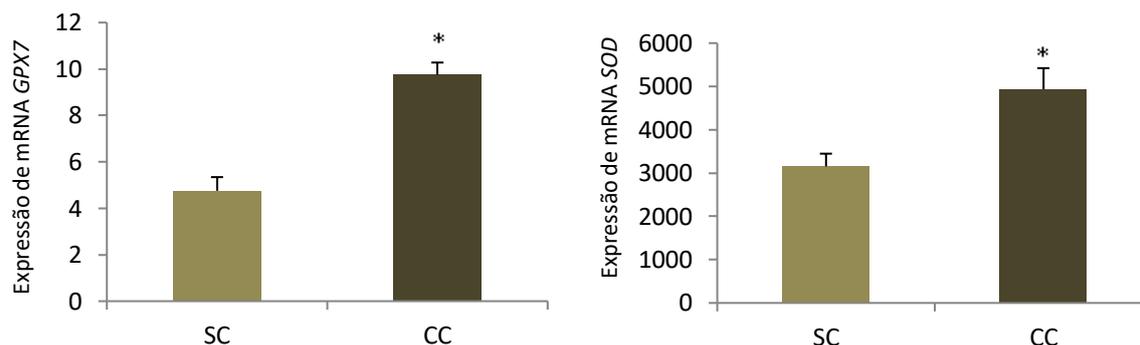


Figura 1 - Expressão de mRNA *SOD* e *GPX 7* (UA) no fígado de codornas em postura recebendo dietas com e sem adição de canela em pó. Os resultados são médias com seus erros padrões representados pela barra vertical. * Significante pelo teste de F ($P < 0,05$).

Atividade enzimática da catalase e TBARS

Houve efeito significativo da adição de canela à dieta sobre a quantidade de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) ($P=0,0158$) e sobre a atividade da enzima catalase (CAT) ($P=0,0033$) no fígado das aves. As aves do tratamento SC apresentaram valores superiores de TBARS ($0,118 \text{ mmoles.mg}^{-1}$ de proteína) em relação as do tratamento CC ($0,086 \text{ mmoles.mg}^{-1}$ de proteína) o mesmo ocorreu para atividade enzimática em que os animais do tratamento SC apresentaram valores superiores ($4,585 \text{ H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de proteína) em relação ao animais do tratamento CC ($2,298 \text{ H}_2\text{O}_2/\text{min}/\text{mg}$ de proteína)(Figura 2).

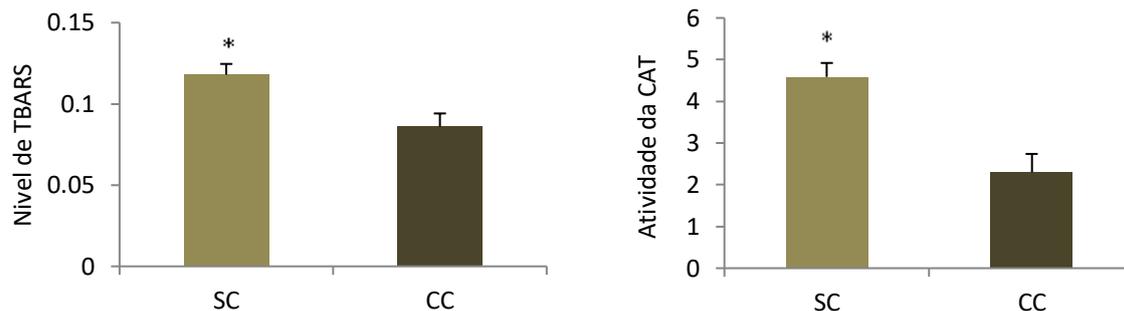


Figura 2 - Nível de TBARS (nmoles/mg de Proteína) e atividade da enzima CAT (H₂O₂/minuto/mg de Proteína) no fígado de codornas em postura recebendo dietas com (CC) e sem adição de canela em pó (SC). Os resultados são médias com seus erros padrões representados pela barra vertical. * Significante pelo teste de F (P<0,05).

Histomorfometria

Na Tabela 5 podem ser observadas as médias obtidas para as variáveis de morfologia intestinal. No duodeno foi observado efeito da suplementação de canela sob altura de vilos, profundidade de criptas e relação vilo:cripta; as aves que receberam dieta suplementada com canela apresentaram maior altura de vilo (150,14µM), maior profundidade de criptas (13,41µM) e maior relação (11,18µM). No jejuno houve diferença significativa (P<0,05) na altura de vilos e na relação vilo:cripta; os animais do tratamento suplementado com canela apresentaram maior altura de vilo (102,98µM) e maior relação vilo:cripta (9,14µM) que as aves do tratamento sem suplementação (Figura 3). Foi observada diferença significativa (P=0,0389) no peso do intestino entre os tratamentos; os animais do tratamento não suplementado com canela apresentaram maior peso relativo de intestino (0,036%) que as aves que receberam dieta suplementada (0,028%).

Tabela 5 - Médias dos parâmetros morfológicos da mucosa intestinal de codornas japônicas em fase de postura alimentadas com dietas recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó

Parâmetros (μM)	SC		P_{valor}
	Duodeno		
Alt. Vilos	104,00 \pm 0,037	150,14 \pm 0,030	0,0045*
Prof. Criptas	11,85 \pm 0,013	13,41 \pm 0,014	0,0130*
Relação VC	8,91 \pm 0,046	11,18 \pm 0,0241	0,0507*
	Jejuno		
Alt. Vilos	65,21 \pm 0,0607	102,98 \pm 0,0319	0,0049*
Prof. Criptas	10,30 \pm 0,0282	11,28 \pm 0,0247	0,3134
Relação VC	6,31 \pm 0,0536	9,14 \pm 0,022	0,0052*
	Intestino		
Peso do Intestino	0,036 \pm 0,0020	0,028 \pm 0,0010	0,0389*
Comp. de Intestino	0,443 \pm 0,0196	0,423 \pm 0,0217	0,7141

Alt. Vilos – Altura de vilos; Prof. Criptas – Profundidade de criptas; Relação VC – Relação Vilos:Criptas; Comp. De Intestino – Comprimento de intestino. Os resultados são médias com seus erros padrões (EP). * Significante pelo teste de F ($P < 0,06$).

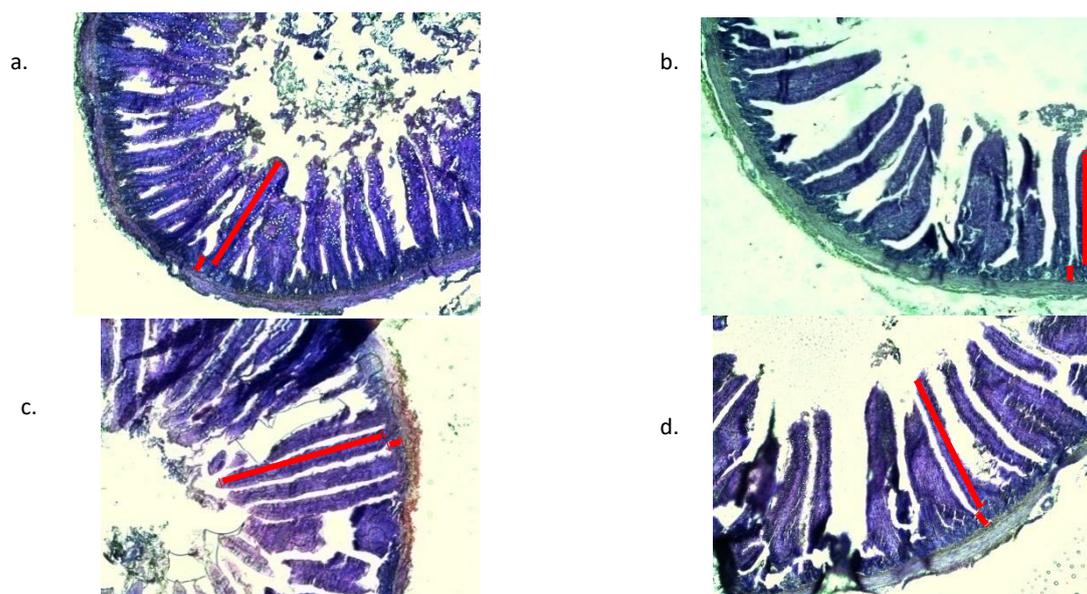


Figura 3 - a, c – duodeno e jejuno das aves do tratamento sem suplementação de canela; b, d – duodeno e jejuno das aves do tratamento com suplementação de canela. Fotografia em microscopia utilizando objetiva 10x.

DISCUSSÃO

A saúde intestinal das aves está diretamente relacionada ao seu desempenho produtivo (Stanley et al., 2014), uma vez que a manutenção da integridade das estruturas intestinais e o controle dos microrganismos presentes neste seguimento podem melhorar a absorção dos nutrientes fornecidos via dieta promovendo equilíbrio no metabolismo (Placha et al., 2014; Du et al., 2016), e assim, melhorando a produção de ovos.

O revestimento intestinal das aves é composto por estruturas microscópicas (vilosidades) que ampliam a superfície de contato, proporcionando maior eficiência na absorção intestinal (Boleli et al., 2002; Duarte, 2009). Quando comparadas a outras espécies, essas vilosidades tem papel crucial no metabolismo, visto que, é através de células presentes no ápice dessas estruturas que ocorre o transporte transeptelial dos nutrientes provenientes da digestão dos alimentos (Baoro, 2009).

Segundo Pluske et al. (1997), a altura das vilosidades é uma característica importante que determina a saúde intestinal das aves, assim como a profundidade das criptas é um indicativo da atividade proliferativa celular, que garante a renovação do tecido à medida que outras células são perdidas a nível de ápice do vilo. Em nosso trabalho observamos que a suplementação de canela na dieta aumentou a altura dos vilos, a profundidade das criptas e a relação vilo:cripta no duodeno das aves, bem como aumento de altura de vilos e da relação vilo:cripta no jejuno, estes resultados podem indicar que a canela pode ter melhorado o ambiente intestinal propiciando melhor desenvolvimento das estruturas que o compõe. Pesquisas ressaltam que a melhor eficiência no aproveitamento dos nutrientes aliada ao melhor desempenho produtivo está diretamente relacionado à altura das vilosidades intestinais das aves (Maiorka et al., 2002; Macari e Maiorka, 2000).

Por outro lado, embora não tenha sido observada diferença significativa com relação ao comprimento do intestino, as aves que receberam dieta sem suplementação de canela apresentam maior peso relativo de intestino, o que pode ser justificado pelo aumento da espessura da parede intestinal, consequência de lesões e aumento no número de células inflamatórias provocado por toxinas liberadas por microrganismos patogênicos (Zuanon et al., 1998), já que segundo a literatura a canela apresenta capacidade antimicrobiana, antifúngica e antibacteriana (Dušanet al., 2006; Carvalho et al., 2010; Tajodini et al., 2015).

A integridade das microestruturas do epitélio intestinal é bastante influenciada por fatores como manejo nutricional, sanidade e estresse oxidativo (Placha et al., 2014), e quando há desequilíbrio na produção e eliminação de radicais livres, as células que compõe o revestimento intestinal podem ser danificadas havendo modificação na sua estrutura e função, ou até mesmo, a morte celular (Yu et al., 2015; Ghareeb et al., 2015). Assim, trabalhos mostram a importância do equilíbrio entre a produção e eliminação de radicais livres para um bom desempenho produtivo das aves de postura (Jang et al., 2014; Iskender et al., 2016; Lin et al., 2017).

As espécies reativas de oxigênio são moléculas com elétrons instáveis que podem causar degeneração e morte celular. Essas moléculas podem ser originadas de fontes endógenas ou exógenas, e quando em excesso podem causar danos desde as estruturas lipídicas das membranas até o material genético das células (Freeman et al., 1982; Dröge, 2002;). Os sistemas de defesa antioxidante contam com a ação de substâncias que têm a função de proteger o organismo contra os danos causados pelos ROS (Halliwell e Gutteridge, 2015). Os antioxidantes podem ser enzimáticos e não enzimáticos, como o eugenol, composto presente na canela, que se liga aos radicais

livres doando uma molécula de hidrogênio promovendo assim a estabilidade dos radicais, minimizando os danos causados por estes (Şimşek et al., 2013).

Entre as enzimas importantes para o sistema de defesa antioxidante podemos destacar a superóxido dismutase (SOD) que atua no controle da produção de radicais livres, convertendo as moléculas de superóxido em peróxido de hidrogênio e oxigênio. O peróxido de hidrogênio (H_2O_2) é então eliminado através de reações catalisadas pela enzima catalase (CAT) e pelo sistema da glutathiona que converte o H_2O_2 em água e oxigênio molecular (Fang et al., 2002). Neste trabalho, foi observado que as aves que receberam adição de 9g/kg de canela na dieta apresentaram maior expressão hepática dos genes *SOD* e *GPX7* do que os animais do tratamento que não receberam a suplementação, indicando que a suplementação de canela pode promover melhoria na defesa antioxidante do organismo, não só por conter compostos que podem atuar diretamente no combate do ROS (Şimşek et al., 2013), mas também por modular a expressão de enzimas antioxidantes, como a SOD e GPX no fígado. Diferente do que era esperado, não observamos efeito significativo da suplementação de canela sobre nenhum dos genes avaliados no intestino. Estes resultados sugerem que os compostos fenólicos presentes na canela podem apresentar diferentes ações sobre os compostos antioxidantes nos diferentes tecidos; cabe ressaltar que mesmo não tendo sido observado efeito dos tratamentos sobre a expressão gênica no intestino, os resultados de morfologia sugerem ação positiva da canela também nesse tecido. Segundo Rompelberg et al. (1996), compostos fenólicos, como o eugenol influencia principalmente a atividade de enzimas do sistema da glutathiona.

Ao lado de maior expressão dos genes relacionados à capacidade antioxidante, também observamos que aves alimentadas com dieta CC apresentaram menor conteúdo de TBARS e maior conteúdo plasmático de ácido úrico que aves da dieta SC. O ácido

úrico é considerado uma potencial molécula de defesa antioxidante não enzimática, pois age como substrato para oxidação dos ROS quando os sistemas de defesa antioxidante não são eficientes (Machin et al., 2004; Stinefelt et al. 2005), assim o maior conteúdo de ácido úrico observado nas aves recebendo dieta CC pode sugerir que houve equilíbrio nas reações de neutralização dos ROS, não exigindo a atuação deste composto como agente doador de elétrons para os radicais livres.

Por outro lado, em situações em que maior quantidade de ROS está sendo produzida e não há maior atividade dos sistemas de defesa antioxidante pode ser instaurado um estado de estresse oxidativo no organismo, ocasionando maior dano às macromoléculas como proteínas e lipídeos (Delles et al., 2014; Liu et al., 2015), assim a menor quantidade de TBARS observadas nas aves que receberam dieta com adição de canela mostra que a canela exibiu atividade antioxidante suficiente para combater o ROS produzido no fígado de codornas japônicas em fase de postura e garantir o equilíbrio metabólico.

Além do TBARS, maior conteúdo plasmático de creatina quinase (CK) também foi observado em aves que receberam dieta SC. Este resultado pode indicar que houve maior dano oxidativo as proteínas musculares destas aves do que as do tratamento com adição de canela, já que níveis elevados de CK sérico é um indício de alterações na permeabilidade da membrana celular por consequência de danos nos tecidos (Tabatabaei et al., 2015), causadas principalmente pelos ROS; membranas danificadas pelo ROS podem se romper e o conteúdo celular, extravasar.

A alanina aminotransferase (ALT) e a aspartato aminotransferase (AST) são enzimas importantes para a identificação de inflamação e infecções virais no fígado, pois quando detectada em níveis elevados na corrente sanguínea pode ser

associada a hepatopatias agudas (Georgakouli et al., 2015), sendo então consideradas como marcadores fisiológicos de algum tipo de dano celular.

Neste estudo foi detectado maior nível de ALT plasmático nos animais que receberam dieta com suplementação de canela, no entanto, de acordo com Georgakouli et al. (2015), este resultado não pode ser associado a danos causados por radicais livres já que existe baixa correlação entre o nível de ALT e os danos causados por ROS às células do tecido hepático, uma vez que, estes danos são latentes e a sinalização através do nível de ALT circulante é proveniente de danos agudos.

CONCLUSÃO

Assim os resultados encontrados neste estudo mostram que a maior capacidade antioxidante proporcionada pela suplementação de canela conseguiu manter o equilíbrio metabólico, mantendo o estado redox e garantindo a integridade das estruturas teciduais, e assim, melhor desenvolvimento das estruturas do epitélio intestinal, o que pode favorecer a absorção de nutrientes e por consequência pode melhorar o desempenho das aves.

REFERÊNCIAS

- AEBI, H. Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, v. 105, p. 121-126, 1984.
- ALI S.M., A.A. KHAN, I. AHMED, M. MUSADDIQ, K.S. AHMED, H. POLASA, V.L. RAO, C.M. HABIBULLAH, L.A. SECHI, N. Antimicrobial activities of Eugenol and Cinnamaldehyde against the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, v. 4, n. 1, p. 20, 2005.
- AL-KASSIE, G. A. Influence of two plant extracts derived from thyme and cinnamon on broiler performance. *Pakistan Veterinary Journal*, v. 29, n. 4, p. 169-173, 2009.
- BOARO, M. Morfofisiologia Trato Intestinal Fisiologia Frango: Morfofisiologia Do Trato Intestinal. 2009. Site Avicultura. www.pt.engormix.com/MA-avicultura . Acesso em: 10 de out. 2015.
- BOLELI, I. C., MAIORKA, A., MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*, v. 2, p. 75-98, 2002.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BUEGE, JOHN A., AUST, STEVEN D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods in enzymology*, v. 52, p. 302-310, 1978.
- CARVALHO, T. M. D., TOSTA, T. D. F., SARMENTO, R. R., BEGNINI, M. L., E OKURA, M. H. Verificação da atividade antibacteriana in vitro dos óleos essenciais *Cinnamomum zeylanicum* e *Rosmarinus officinalis* em bactérias causadoras de infecção do trato urinário. *Revista brasileira de análises clínicas*, v. 42, n. 3, p. 213-215, 2010.
- DELLES, R. M., XIONG, Y. L., TRUE, A. D., AO, T., E DAWSON, K. A. Dietary antioxidant supplementation enhances lipid and protein oxidative stability of chicken broiler meat through promotion of antioxidant enzyme activity. *Poultry Science*, v. 93, n. 6, p. 1561-1570, 2014.
- DRÖGE W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological reviews*, v. 82, n. 1, p. 47-95, 2002.
- DU, E., WANG, W., GAN, L., LI, Z., GUO, S., E GUO, Y. Effects of thymol and carvacrol supplementation on intestinal integrity and immune responses of broiler chickens challenged with *Clostridium perfringens*. *Journal of animal science and biotechnology*, v. 7, n. 1, p. 19, 2016.

- DUARTE, C. R. A. Flexibilidade Fenotípica Do Trato Digestório: Efeitos Da Restrição Alimentar E Realimentação Em Frangos. Botucatu: Universidade Estadual Paulista, 2009. 97p. 2009. Tese de Doutorado. Tese (Livre-docência)-Universidade Estadual Paulista 2009.
- DUŠAN, F., MARIÁN, S., KATARÍNA, D., DOBROSLAVA, B. Essential oils—their antimicrobial activity against *Escherichia coli* and effect on intestinal cell viability. *Toxicology in vitro*, v. 20, n. 8, p. 1435-1445, 2006.
- FANG, Y. Z., S. YANG, E G, WU. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition*, v. 18, n. 10, p. 872-879, 2002.
- FREEMAN, B. A., CRAPO, J. D. Biology of disease: free radicals and tissue injury. Laboratory investigation; a *journal of technical methods and pathology*, v. 47, n. 5, p. 412-426, 1982.
- GEORGAKOULI, K., MANTHOU, E., FATOUROS, I. G., DELI, C. K., SPANDIDOS, D. A., TSATSAKIS, A. M. Effects of acute exercise on liver function and blood redox status in heavy drinkers. *Experimental and therapeutic medicine*, v.10, n. 6, 2015.
- GHAREEB, K., KÖNIG, K., AWAD, W. A., ZEBELI, Q., BÖHM, J. The impact of a microbial feed supplement on small intestine integrity and oxidative stress biomarker in broiler chickens. *Avian Biology Research*, v. 8, n. 3, p. 185-189, 2015.
- GILL, A. O., E HOLLEY, R. A. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *International journal of food microbiology*, v. 108, n. 1, p. 1-9, 2006.
- HALLIWELL, B., E GUTTERIDGE, J. M. *Free radicals in biology and medicine*. Oxford University Press, USA. 2015. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=3DIKCgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=Free+radicals+in+biology+and+medicine&ots=bohCbSxooX&sig=rMQ6AnWrI19OSTqPqAT7cyRsVJQ#v=onepage&q=Free%20radicals%20in%20biology%20and%20medicine&f=false>. Acesso em: 11 de nov. de 2016.
- INNOCENTINI, R. D. C. P., E ARAÚJO, L. F. Capítulo XVII: Utilização de carotenóides e vitamina d na dieta de matrizes de postura e seu efeito na qualidade da progênie. *Novos Desafios da Pesquisa em Nutrição e Produção Animal*, p. 340. 2015. Disponível em: <http://posvnp.org/novo/wp-content/uploads/2016/02/IX-simposio-vnp-pos-graduacao-livro-2015.pdf#page=340>. Acesso em: 10 de mar. De 2017.

- ISKENDER, H., YENICE, G., DOKUMACIOGLU, E., KAYNAR, O., HAYIRLI, A., E KAYA, A. The Effects of Dietary Flavonoid Supplementation on the Antioxidant Status of Laying Hens. *Revista Brasileira de Ciência Avícola*, v.18, n. 4, p. 663-668, 2016.
- JANG, I., KO, Y., KANG, S., KIM, S., SONG, M., CHO, K., E SOHN, S. Effects of Dietary Lutein Sources on Lutein-Enriched Egg Production and Hepatic Antioxidant System in Laying Hens. *The Journal of Poultry Science*, v. 51, n. 1, p. 58-65, 2014.
- KMECICK, M. Desenvolvimento do sistema de defesa antioxidante e embriões de ave Gallus gallus. 2014. Disponível em: <http://www.acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/38800/TCC+Melyssa+Kmecick.pdf?sequence=1>. Acesso em: fevereiro de 2017.
- LIN, W. C., LEE, M. T., CHANG, S. C., CHANG, Y. L., SHIH, C. H., YU, B., E LEE, T. T. Effects of mulberry leaves on production performance and the potential modulation of antioxidative status in laying hens. *Poultry Science*, v. 96, n. 5, p. 1191-1203, 2017.
- LIU, C. P., FU, J., XU, F. P., WANG, X. S., E LI, S. The role of heat shock proteins in oxidative stress damage induced by Se deficiency in chicken livers. *Biometals*, v. 28, n. 1, p. 163-173, 2015.
- MACARI, M., E MAIORKA, A. Função gastrintestinal e seu impacto no rendimento avícola. In Conferência Apinco de Ciência e Tecnologia Avícolas (v. 2, p. 161-174, 2000). Campinas: Fundação Avícola de Ciência e Tecnologia Avícolas.
- MACHIN, M., SIMOYI, M. F., BLEMININGS, K. P., KLANDORF, H. Increased dietary protein elevates plasma uric acid and is associated with decreased oxidative stress in rapidly-growing broilers. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, v. 137, n. 3, p. 383-390, 2004.
- MAIORKA, A., BOLELI, I. C., MACARI, M. Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: MACARI, M., FURLAN, R. L., GONZALES, E. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. p.143-148, 2002.
- NAJAFI, S., TAHERPOUR, K. Effects of dietary ginger (*Zingiber Officinale*), Cinnamon (*Cinnamomum*), synbiotic and antibiotic supplementation on performance of broilers. *Journal of Animal Science Advances*, v. 4, n. 1, p. 658-667, 2014.
- PLACHA, I., TAKACOVA, J., RYZNER, M., COBANOVA, K., LAUKOVA, A., STROMPFOVA, V., FAIX, S. Effect of thyme essential oil and selenium on intestine integrity and antioxidant status of broilers. *British poultry science*, v. 55, n. 1, p. 105-114, 2014.

- PLUSKE, J. R., HAMPSON, D. J., WILLIAMS, I. H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. *Livestock production science*, v. 51, n. 1, p. 215-236, 1997.
- QOTBI, A. A. A. The Effect of Cinnamon Powder and Cinnamon Extract on Performance, Blood Parameters and Microbial Population of Broiler Chicks. *Journal of Babylon University, Pure and Applied Sciences*, v. 24, n. 9, 2016.
- ROMPELBERG, C. J., PLOEMEN, J. H., JESPERSE, S., VAN DER GREEF, J., VERHAGEN, H., VAN BLADEREN, P. J. Inhibition of rat, mouse and human glutathione S-transferase by eugenol and its oxidation products. *Chemico-biological interactions*, v. 99, n. 1-3, p. 85-97, 1996.
- RUTZ, F., ANCTUTI, M. A., E PAN, E. A. Fisiologia e manejo reprodutivo de aves. Manejo de Matrizes de corte. 2^a ed. Facta, Campinas, p. 57-121, 2005.
- ŞİMŞEK, Ü. G., CİFTÇİ, M., DOĞAN, G., E ÖZÇELİK, M. Antioxidant activity of cinnamon bark oil (*Cinnamomum zeylanicum* L.) in Japanese quails under thermo neutral and heat stressed conditions. *Kafkas Univ Vet Fak Derg*, v. 19, n. 5, p. 889-894, 2013.
- STANLEY, D., HUGHES, R. J., & MOORE, R. J. Microbiota of the chicken gastrointestinal tract: influence on health, productivity and disease. *Applied microbiology and biotechnology*, v. 98, n. 10, p. 4301, 2014.
- STINEFELT, B., LEONARD, S. S., BLEMINGS, K. P., SHI, X., KLANDORF, H. Free radical scavenging, DNA protection, and inhibition of lipid peroxidation mediated by uric acid. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, v. 35, n. 1, p. 37-45, 2005.
- SUN, X., MCELROY, A., WEBB JR, K. E., SEFTON, A. E., NOVAK, C. Broiler performance and intestinal alterations when fed drug-free diets. *Poultry science*, v. 84, n. 8, p. 1294-1302, 2005.
- TABATABAEI, S. M., BADALZADEH, R., MOHAMMADNEZHAD, G. R., BALAEI, R. Effects of Cinnamon extract on biochemical enzymes, TNF- α and NF- κ B gene expression levels in liver of broiler chickens inoculated with *Escherichia coli*. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, v. 35, n. 9, p. 781-787, 2015.
- TAJODINI, M., SAEEDI, H. R., MOGHBELI, P. Use of black pepper, cinnamon and turmeric as feed additives in the poultry industry. *World's Poultry Science Journal*, v. 71, n. 01, p. 175-183, 2015.

- YU, J., YAO, H., GAO, X., ZHANG, Z., WANG, J. F., E XU, S. W. The role of nitric oxide and oxidative stress in intestinal damage induced by selenium deficiency in chickens. *Biological trace element research*, v. 163, n. 1-2, p. 144, 2015.
- ZOU, X. T., XU, Z. R., ZHU, J. L., FANG, X. J., JIANG, J. F. Effects of dietary dihydropyridine supplementation on laying performance and fat metabolism of laying hens. *Asian Australasian Journal Of Animal Sciences*, v. 20, n. 10, p. 1606, 2007.
- ZUANON, J. A. S., FONSECA, J. B., ROSTAGNO, H. S., SILVA, M. A. Efeito de promotores de crescimento sobre o desempenho de frangos de corte. *Revista Brasileira de Zootecnia*, v. 27, n. 5, p. 999-1005, 1998.

ARTIGO II

BASTOS, Marisa Silva. **Efeito da suplementação de canela na dieta de codornas de postura sobre a expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico e produção de ovos.** Sergipe: UFS, 2017. 19p. (Dissertação: Artigo II - Mestrado em Zootecnia)

RESUMO

Esse trabalho foi desenvolvido sob a hipótese de que a inclusão de canela em pó em dieta de codornas de postura pode influenciar o desempenho das aves através da expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico. Assim, foram utilizadas 144 codornas japônicas (*Coturnix japonica*) com idade inicial de 18 semanas e peso médio de 133g, distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos: sem suplementação de canela (SC) e com suplementação de 9g/kg de canela em pó (CC). O experimento teve duração de 84 dias. Diariamente os ovos produzidos foram coletados, contabilizados e pesados. Ao final do período experimental seis animais de cada tratamento foram eutanaseados por deslocamento cervical, o sangue foi coletado e os órgãos pesados. Tecidos do fígado e ovário foram coletados para extração de RNA. O cDNA foi amplificado usando primers específicos para os genes analisados pela qRT-PCR. Maior peso relativo de ovário foi observado nas aves do tratamento CC, assim como melhor conversão alimentar por massa de ovo, maior conteúdo de triglicerídeos e VLDL séricos. A expressão de mRNA *FAS*, *ACC*, *APOA-I* e *ESR2* também foi maior nas aves que receberam dieta com adição de canela. Os resultados obtidos neste estudo indicam que a suplementação de canela em pó na dieta de codornas em fase de postura promoveu equilíbrio no organismo através da modulação da expressão de genes relacionados ao metabolismo lipídico e contribuiu para maior eficiência na produção de ovos

Palavras – chave: equilíbrio metabólico, fase de postura, lipídeos

INTRODUÇÃO

O metabolismo lipídico nas aves de postura tem um papel importante para formação do ovo, uma vez que, a maioria dos percussores da gema são sintetizados no fígado e transportados para o folículo sob a forma de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). A produção contínua de ovos pode sobrecarregar o metabolismo causando distúrbios que bloqueiam o transporte do VLDL, havendo assim acúmulo de triglicerídeos no fígado (Rutz et al., 2005; Zou et al., 2007).

Dessa maneira, alguns compostos fitoquímicos vêm sendo estudados como potenciais agentes promotores de equilíbrio no metabolismo animal capazes de atuar na produção e qualidade dos ovos (Ghasemi et al., 2010; Boka et al., 2014). Um exemplo destes é a canela (*Cinnamomum zeylanicum* L.), que tem em sua composição compostos fenólicos, vitaminas e minerais antioxidantes (Gul e Safdar, 2009) muito eficientes no combate aos radicais livres (ROS), além apresentar capacidade antimicrobiana, antibacteriana e antifúngica que proporcionam melhoria na sanidade das aves (Dušan et al., 2006; Tajodini et al., 2015).

Segundo Ciftci et al. (2010), a suplementação em até 1000 ppm de óleo essencial de canela na dieta de frangos de corte além de diminuir os níveis de colesterol na carne, também apresenta expressivo aumento na atividade de enzimas antioxidantes. Ainda, a suplementação de 1,5% de canela em pó diminui o colesterol circulante e se mostra eficiente no combate a *Escherichia Coli* (Qotbi, 2016); o autor destaca a canela como um potencial promotor de crescimento para aves devido ao seu efeito estimulante digestivo e antimicrobiano.

Sendo assim, este estudo foi conduzido sob a hipótese de que a suplementação de canela na dieta de codornas em fase de postura poderia promover equilíbrio no metabolismo lipídico e influenciar o desempenho produtivo das aves. Para testar essa

hipótese, foi avaliada a expressão dos genes acetil-CoAcarboxilase (*ACC*), ácido graxo sintase (*FAS*), apolipoproteína A-I (*APOA-I*), apolipoproteína B (*APOB*) no fígado, e dos genes do receptor do estrógeno 1 (*ESR1*) e receptor do estrógeno 2 (*ESR2*) no ovário, o desempenho produtivo, e parâmetros sanguíneos ligados ao metabolismo lipídico em codornas japônicas em fase de postura recebendo dieta suplementada com canela em pó ou dieta sem suplementação

MATERIAIS E MÉTODOS

Este experimento foi aprovado pelo comitê de ética em pesquisa com animais de produção (CEPAP) da Universidade Federal de Sergipe (protocolo nº 09/2015).

Animais e desenho experimental

Para a realização deste experimento foram utilizadas 144 codornas japônicas (*Coturnix japonica*) com 15 semanas de idade e peso médio de 133g, alojadas em galpão de alvenaria, uniformemente distribuídas em gaiolas de postura (0,50x0,15x0,35m) equipadas com comedouro tipo calha e bebedouro tipo *niple*.

Para a uniformização da produção de ovos, foi feito um acompanhamento diário da produção por um período de três semanas. Sendo então iniciado o experimento quando as unidades experimentais apresentaram uma taxa de postura de cerca de 85% e 18 semanas de idade. As aves foram distribuídas em delineamento inteiramente casualizado com dois tratamentos: sem suplementação de canela (SC) e com suplementação de 9g/kg canela em pó (CC) em substituição ao inerte. Cada tratamento foi formado por seis repetições com 12 aves cada, o que totalizou 72 codornas por tratamento.

As rações experimentais (Tabela 1) foram formuladas à base de milho e farelo de soja conforme recomendações nutricionais encontradas nas Tabelas Brasileiras para Aves e Suínos (Rostagno et al., 2011). O experimento teve duração de 84 dias. As aves receberam água e ração à vontade e foi utilizado um programa de luz de 16 horas diárias.

Tabela 1 - Composição percentual e valores nutricionais da dieta basal.

Ingredientes	(%)
Milho moído	57,792
F. Soja 45%	30,450
Óleo de soja	1,561
F. Bicálcico	1,091
Calcário	6,802
Sal comum (NaCl)	0,323
L-Lisina HCl	0,261
DL-Metionina	0,396
L-Treonina	0,024
Premix Vit+Min. ¹	0,100
Inerte (caolin)	1,200
Total	100,000
Composição Nutricional	
Energia Metabolizável (kcal/kg)	2807
Proteína Bruta (%)	18,80
Gordura (%)	4,101
Cálcio (%)	2,922
Fósforo Disponível (%)	0,304
Sódio (%)	0,146
Cloro (%)	0,242
Potássio (%)	0,725
Aminoácidos Digestíveis (%)	
Metionina	0,642
Metionina + Cisteína	0,900
¹ Lisina	1,097
Treonina	0,658
Triptofano	0,206

¹Níveis de garantia por kg do produto: Ácido fólico (mín.) 200mg; ácido pantotênico (mín.) 5.350 mg; cobre (mín.) 4.000 mg; ferro (mín.) 20 g; iodo (mín.) 1.500 mg; manganês (mín.) 75 g; niacina (mín.) 19,9 g; selênio (mín.) 250 mg; Vit. A (mín.) 8.000.000 UI; Vit. B12 (mín.) 10.000 mcg; Vit. B2 (mín.) 4.000 mg; Vit. B6 (mín.) 1.000 mg; Vit. D3 (mín.) 2.000.000 UI; Vit. E (mín.) 15.000 UI; Vit. K3 (mín.) 2.000 mg; zinco (mín.) 50 g.

Produção de ovos

Diariamente os ovos foram coletados, armazenados em recipientes devidamente identificados por unidade experimental, contabilizados e pesados. Todos os ovos quebrados e sem casca também foram contabilizados.

Semanalmente, para registro do consumo de ração, a quantidade de ração fornecida no período de sete dias foi pesada, bem como as sobras que foram contabilizadas ao final de cada semana.

Após a coleta diária, todos os ovos foram pesados em balança digital (0,01g) sendo o peso médio, em gramas, obtido pela razão entre o peso dos ovos de cada gaiola e o número de ovos. Os dados sobre massa de ovos (g/ave/dia) foram obtidos multiplicando-se o número de ovos produzidos em cada gaiola pelo peso médio dos ovos. A conversão alimentar por massa de ovo (g/ave/dia) foi calculada através da divisão do consumo de ração (g), pela massa de ovos (g) postos produzida no período de 84 dias. A conversão alimentar por dúzia de ovos (g/ave/dúzia).

Ao final do período experimental, foram separados seis ovos com peso médio da parcela, para as seguintes análises: peso da gema (g), peso da casca (g), e peso do albúmen (g). Utilizando esses dados foram calculados os percentuais de gema, casca e albúmen. As gemas foram separadas do albúmen e pesadas em balança de precisão de 0,01g.

As cascas, que estavam numeradas, foram colocadas em placas de papelão e deixadas em temperatura ambiente por um período de 24 horas para secar. Depois de secas, foram pesadas.

Com os valores de peso do ovo, peso da gema e peso da casca, foi determinado por diferença o peso do albúmen e calculados percentuais das partes do ovo.

Parâmetros sanguíneos e morfometria de órgãos

Ao final do período experimental proposto de 84 dias, seis animais de cada tratamento, em jejum de 6 horas, foram pesados e então eutanaseados por deslocamento cervical. Foram coletadas amostras de sangue partir da veia jugular, em tubos coletores com EDTA e submetidas à centrifugação (1500 xg, 10 min, 4°C), o plasma foi coletado e armazenado a -20°C até o momento das análises. O conteúdo de creatinina, glicose, triglicerídeos, colesterol, e VLDL foram realizados de acordo com métodos colorimétricos com os seguintes kits: creatinina-PP-MS 80022230066, GLICOSE-PP-

MS 80022230067, TRIGLICÉRIDES-PP-MS 80022230062 e COLESTEROL HDL-PP-MS 80022230068, respectivamente, de acordo com as recomendações do fabricante (Gold Analisa, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil).

Estes animais foram eviscerados para avaliação dos pesos relativos dos órgãos. Foram mensurados: pesos do fígado, do pâncreas, do intestino, do ovário, da moela e gordura abdominal. O peso relativo foi calculado como (peso do órgão / peso da ave) x 100.

Expressão gênica

Para a análises de expressão gênica foram coletados tecidos do fígado e ovário de 4 animais de cada tratamento e armazenados em RNA later® (BioAgency Biotecnologia, Brasil) à -20°C até o momento da extração de RNA. O RNA total foi extraído com uso do reagente Trizol® (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) de acordo com as normas do fabricante, na proporção de 1 mL para cada 100 mg de tecido. O tecido foi picotado com o auxílio de laminas descartáveis. Logo após, foi adicionado 200 uL de clorofórmio e homogeneizado manualmente por 1 minuto. As amostras foram, então, centrifugadas por 15 minutos a 12.000 *xg* a 4°C; e a fase líquida foi coletada e transferida para tubo limpo, com adição de 500 uL de isopropanol em cada tubo. As amostras foram homogeneizadas, centrifugadas por 15 minutos a 12.000 *xg*, a 4°C. O sobrenadante foi descartado, e o precipitado foi lavado em 1 mL de etanol 75%. O material foi centrifugado novamente a 12.000 *xg* por 5 minutos, e o sobrenadante foi descartado. O pelet foi seco por 15 minutos e então, ressuscitado em água ultrapura livre de RNase. A concentração total de RNA foi mensurada usando espectrofotômetro no comprimento de onda de 260 nm. As amostras de RNA foram tratadas com DNase I (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA), para remoção de possíveis resíduos de DNA

genômico, de acordo com as recomendações do fabricante. Para confecção do cDNA, foi utilizado o kit GoScript™ Reverse Transcription System (Promega Corporation, USA) de acordo com as normas do fabricante. Em tubo estéril e livre de RNA, foram adicionados 4 uL de RNA total tratado com DNase e 1uL de Oligo (dT)₁₅ Primer. A reação foi incubada por 5 minutos a 70°C e então colocada no gelo por 5 minutos. Foram adicionados em seguida 4 uL de GoScript™ 5X Reaction Buffer, 4 uL de MgCl₂ (25mM), 1 µL de PCR Nucleotide Mix, 1 uL GoScript™ Reverse Transcriptase e 4,5 uL de Nuclease-Free Water. A solução foi incubada no ThermalCyclers (Bio-Rad Corporation, Brasil) por 5 minutos a 25°C, 1 hora a 42°C, e 15 minutos a 70°C.

Para as reações de PCR em tempo real, foi utilizado o corante fluorescente SYBR GREEN (SYBR® GREEN PCR Máster Mix Applied Biosystems, USA). As análises de PCR em tempo real foram realizadas no aparelho CFX96™ IVD Real-Time PCR Systems (Bio-Rad Laboratories, USA). A reação de amplificação consistiu em 5 uL de cDNA diluído, 0,5 uL de cada primer (forward e reverse) a 10 uM, 12,5 uL de SYBR® GREEN PCR Master Mix e água até um volume total de 25 uL. Para medir cada eficiência da reação do gene, uma série de reações de 25 uL foi realizada semelhante à anterior utilizando sempre 5uL de pool de cDNA derivado de uma diluição em série (80, 40, 20 e 10 ng).

Os primers utilizados nas reações de amplificação dos genes acetil-CoA carboxilase (*ACC*), ácido graxo sintase (*FAS*) foram obtidas a partir do trabalho de Lei e Lixian (2012), as sequências do apolipoproteína A-I (*APOA-I*), apolipoproteína B (*APOB*) de acordo com Jiang et al. (2014), os demais primers, receptor do estrogênio 1 (*ESR1*) e receptor do estrogênio 2 (*ESR2*) foram desenhados de acordo com as sequências dos seus respectivos genes, e depositadas no site www.ncbi.nlm.nih.gov (XM_015858163.1 e XM_015865463.1, respectivamente) (Tabela 2). O gene da β -

actina (número de acesso L08165) foi utilizado como endógeno. Todas as análises foram realizadas em um volume de 25 uL e em duplicatas.

Tabela 2 - Primers para qRT-PCR

Genes	Amplicom (Pb)	TA (°C)	Sequências dos primers (5'-3') ¹
<i>ACC</i> ²	136	60	AATGGCAGCTTTGGAGGTGT TCTGTTTGGGTGGGAGGTG
<i>FAS</i>	107	60	CTATCGACACAGCCTGCTCCT CAGAATGTTGACCCCTCCTACC
<i>APOA-I</i>	217	60	GTGACCCTCGCTGTGCTCTT CACTCAGCGTGTCCAGGTTGT
<i>APOB</i>	196	60	GACTTGTTACACGCCTCA TAACTTGCCTGTTATGCTC
<i>ESR1</i>	103	60	AAGGGAAATGTGTAGAGGGC ACACCAGAATTGAGCAGGATG
<i>ESR2</i>	125	60	CCTCAATTCCAGCATGTTTCC AATAACCCACACCAGAGCATC
<i>β-actina</i>	136	60	ACCCCAAAGCCAACAGA CCAGAGTCCATCACAATACC

¹Pb, Pares de base; TA, temperatura de anelamento

²*ACC*, Acetil-CoA-carboxilase; *FAS*, Ácido graxo sintase; *APOA-I*, Apolipoproteína A-I; *APOB*, Apolipoproteína B; *ESR1*, Receptor do estrogênio 1; *ESR2*, Receptor do estrogênio 2.

Os primers analisados foram adequados para as reações de PCR em tempo real. As eficiências de amplificação foram semelhantes para todos os genes de interesse, entre 90% a 110% de eficiência. As análises da curva de dissociação não revelaram qualquer produto inespecífico ou formação de dímeros de primers, o que demonstra a confiabilidade dos dados estimados nas expressões de mRNA dos genes avaliados. A *β-actina* utilizada como controle endógeno não mostrou nenhuma diferença significativa entre as variáveis analisadas, o que confere eficiência a *β-actina* como controle endógeno.

Análise estatística

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a normalidade dos dados de expressão dos genes em estudo (expressos como $2^{-\Delta C_t}$) e dos demais dados avaliados. O efeito dos tratamentos (SC e CC) foi testado por meio da ANOVA (SAS Inst. Inc., Cary, NC, USA).

RESULTADOS

Produção de ovos

Para as características de produção de ovos avaliadas, foi observada diferença significativa na conversão alimentar por massa de ovo ($P=0,0122$); as aves do tratamento sem suplementação apresentaram valor de CA/MASSA maior (2,491g/g) que as do tratamento com suplementação (2,426g/g). Não houve efeito dos tratamentos sobre as demais características avaliadas (Tabela 3).

Tabela 3 - Características relacionadas à produção de ovos de codornas de postura recebendo dieta sem inclusão de canela (SC) e com inclusão de canela (CC)

	Médias \pm EP		<i>P</i> _{valor}
	SC	CC	
PO (g)	10,505 \pm 0,091	10,583 \pm 0,065	0,4996
Gema (%)	31,313 \pm 0,407	31,426 \pm 0,215	0,8106
Casca (%)	8,723 \pm 0,054	8,858 \pm 0,059	0,1236
Albúmen (%)	60,493 \pm 0,453	60,555 \pm 0,232	0,9060
Postura (%)	94,183 \pm 0,529	95,435 \pm 0,465	0,1062
CR (g/ave/dia)	24,941 \pm 0,225	25,028 \pm 0,436	0,8634
MO (g)	10,140 \pm 0,069	10,170 \pm 0,096	0,8052
CA/Massa (g/g)	2,491 \pm 0,069	2,426 \pm 0,096	0,0122*
CA/Dúzia (g/dúzia)	3,796 \pm 0,016	3,705 \pm 0,044	0,0801

PO – Peso de ovo; Gema – Percentagem da gema; Casca - Percentagem de casca; Albumen – Percentagem de albúmen; Postura – Percentagem de postura; CR – Consumo de Ração; MO – Massa de ovo; CA/Massa – Conversão alimentar por massa de ovo; CA/Dúzia – Conversão alimentar por dúzia de ovos; Os resultados descritos na tabela são apresentados como médias com seus erros padrões (EP). * Significante pelo teste de F ($P<0,05$).

Morfometria dos órgãos

Observamos efeito significativo da inclusão de canela em pó na ração para codornas de postura sobre o peso do pâncreas ($P=0,0418$), peso do intestino ($P=0,0209$) e peso do ovário ($P=0,0389$) (Tabela 4). Aves do tratamento SC apresentaram maior peso de pâncreas e de intestino do que aves do tratamento CC. Maior peso de ovário foi observado nas aves do tratamento CC. Não foi observado efeito da dieta sobre peso da ave, peso do fígado, comprimento de intestino, peso de moela e gordura abdominal.

Tabela 4 - Peso relativo de órgãos e gordura abdominal de codornas de postura recebendo dieta sem inclusão de canela (SC) e com inclusão de canela (CC)

	Média ± EP		<i>P</i> valor
	SC	CC	
Peso da Ave	172,000 ± 5,8310	174,000 ± 3,6740	0,7791
Peso do Fígado	0,022 ± 0,0030	0,020 ± 0,0020	0,6262
Peso do Pâncreas	0,002 ± 0,0001	0,001 ± 0,0002	0,0418*
Peso do Intestino	0,036 ± 0,0020	0,028 ± 0,0010	0,0209*
Peso do Ovário	0,032 ± 0,0020	0,039 ± 0,0020	0,0389*
Peso da Moela	0,025 ± 0,0020	0,024 ± 0,0009	0,7141
Gordura Abdominal	0,009 ± 0,0010	0,011 ± 0,0010	0,1641

Os resultados descritos na tabela são dados pelas médias com seus erros padrões (EP).

* Significante pelo teste de F ($P < 0,05$).

Parâmetros sanguíneos

Animais do tratamento com inclusão de canela na dieta apresentaram maior conteúdo de triglicerídeos (1516,60mg/dL, $P = 0,0207$) e VLDL (300,40mg/dL, $P = 0,0252$) que aves recebendo dieta do tratamento SC. Não foi observada diferença significativa ($P > 0,05$) para os níveis de colesterol, creatinina e glicose como descritos na Tabela 5.

Tabela 5 - Parâmetros sanguíneos relacionados ao metabolismo lipídico de codornas em postura recebendo dieta com e sem inclusão de canela em pó

	Médias ± EP		<i>P</i> valor
	SC	CC	
Glicose (mg/dL)	318,80 ± 4,994	318,20 ± 2,922	0,9200
Colesterol (mg/dL)	235,40 ± 5,826	229,20 ± 4,106	0,4097
Trigliceri (mg/dL)	1286,40 ± 70,627	1516,60 ± 37,742	0,0207*
VLDL (mg/dL)	257,40 ± 63,568	300,40 ± 6,675	0,0252*
Cretinina (mg/dL)	0,180 ± 0,020	0,20 ± 0,001	0,3466

Trigliceri – Triglicerídeos; VLDL - Lipoproteína de muito baixa densidade. Os resultados são médias com seus erros padrões (EP).

Expressão gênica

Foi observada diferença significativa para expressão de mRNA *ACC* ($P=0,0001$), *FAS* ($P=0,0001$) e *APOAI* ($P=0,0197$); a expressão destes genes foi maior no tratamento com adição de canela (36,03, 31,33, 803,9 UA, respectivamente), como descrito nas Figura 1. Não houve efeito da adição de canela sobre a expressão de mRNA *APOB*.

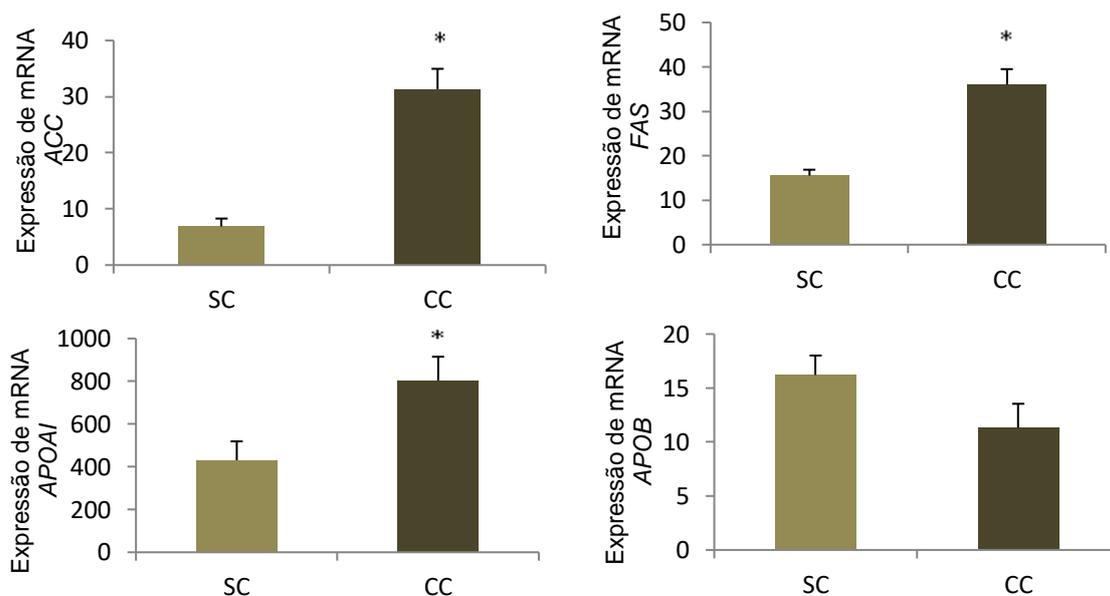


Figura 1 - Expressão de mRNA *ACC*, *FAS*, *APOA* e *APOB* (UA) no fígado de codornas em postura recebendo dietas com e sem adição de canela em pó. Os resultados são médias com seus erros padrões representados pela barra vertical. * Significante pelo teste de F ($P<0,05$).

Houve diferença significativa na expressão de mRNA *ESR2* ($P=0,026$) entre os tratamentos. As aves do tratamento que receberam suplementação de canela apresentaram maior expressão (0,728UA) de mRNA do receptor de estrógeno 2 que os animais do tratamento sem suplementação (0,442UA). Não houve diferença na expressão de mRNA *ESR1* ($P= 0,201$), como descrito na Figura 2.

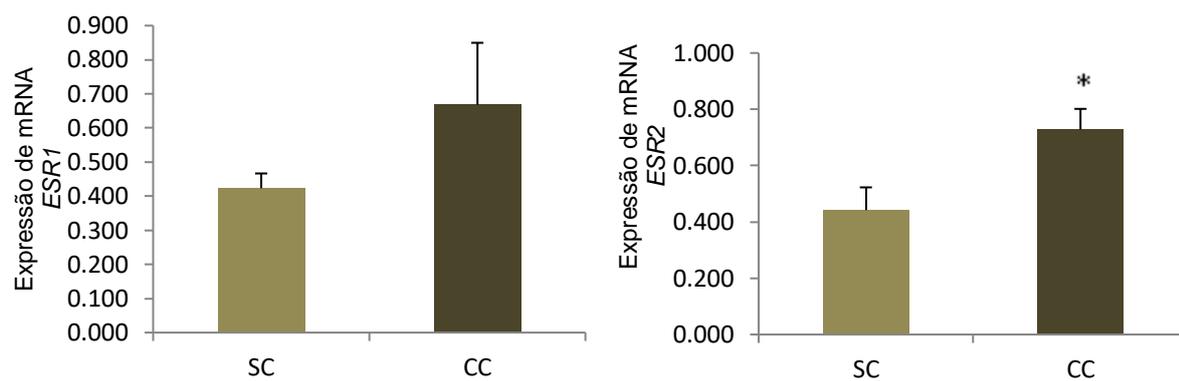


Figura 2 - Expressão de mRNA *ESR1* e *ESR2* (UA) no ovário de codornas em postura recebendo dietas com e sem adição de canela em pó. Os resultados são médias com seus erros padrões representados pela barra vertical. * Significante pelo teste de F ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

Codornas em fase de postura estão mais propensas a distúrbios metabólicos e susceptíveis aos danos causados pelos radicais livres, e isto pode ser justificado pelo intenso metabolismo demandado para a produção contínua de ovos e o estresse ambiental (Zou et al., 2007; Bozkurt et al., 2012). Tais fatores podem afetar negativamente o funcionamento adequado do organismo, uma vez que, alguns distúrbios metabólicos e a ação dos radicais livres podem alterar a morfometria dos órgãos (Rodríguez et al., 2006) e prejudicar a produção de ovos.

A eficiência na produção de ovos também depende do correto aproveitamento dos nutrientes, e segundo Rodríguez et al. (2006), é o desenvolvimento adequado dos órgãos que garante esse aproveitamento. Sendo assim, para aves de postura em específico, a eficiência produtiva pode estar relacionada ao completo desenvolvimento dos sistemas reprodutor e digestório. Neste trabalho foi observado que a suplementação de canela aumentou o peso do ovário, e reduziu o peso do intestino e do pâncreas, sugerindo que a suplementação de canela conseguiu manter o equilíbrio metabólico, favorecendo a absorção de nutrientes, o que pode ter resultado em melhor desenvolvimento do sistema reprodutor e tornando as aves mais eficientes em produzir ovos.

O ovo tem um período de formação de aproximadamente 24 horas, que se inicia logo após a ovulação quando a gema é captada pelo infundíbulo (Lavelin et al., 2000). Os precursores da gema são sintetizados no fígado em reações enzimáticas que produzem os componentes lipídicos que serão transportados até o ovário via corrente sanguínea sob a forma de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). De modo geral, a síntese de ácidos graxos se inicia com a formação do malonil-CoA e quem catalisa esta reação é a enzima acetil-CoA-carboxilase (ACC), a partir daí, o sistema multienzimático ácido graxo sintase (FAS) promove reações em sucessivos ciclos nos

quais pares de átomos de carbono são acoplados a molécula até formar o ácido graxo (Poureslami et al., 2010; Nelson e Cox, 2008).

A lipoproteína VLDL é fundamental no processo de transporte dos precursores da gema, uma vez que estes são de origem lipídica, por tanto insolúveis no sangue, e para ser transportada via corrente sanguínea se ligam a moléculas que permitem seu transporte e reconhecimento no tecido alvo, entre estas moléculas estão as apoproteínas (Wang et al., 2016). As apoproteínas A (APOA) e B (APOB) são os dois principais tipos, entretanto, apresentam diferentes funções; a primeira está associada ao transporte de lipídeos dos tecidos até o fígado para a produção de energia pela oxidação dos ácidos graxos, por tanto é mais encontrada nas lipoproteínas de alta densidade (HDL); e a APOB está relacionada às lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL), é sobre a forma destas lipoproteínas que ocorre o transporte dos triglicerídeos sintetizados no fígado até os tecidos alvos. Estas são estruturas chaves no metabolismo, não só por realizarem o transporte de moléculas de origem lipídica, mas também por promover o reconhecimento dessas moléculas nos receptores das células do tecido alvo (Schneider et al., 1997).

Em nosso trabalho observamos que aves alimentadas com suplementação de canela apresentaram maior expressão dos genes *ACC* e *FAS*, bem como maior conteúdo plasmático de triglicerídeos e VLDL. Em estado metabólico normal, a maior expressão de genes relacionados à síntese de lipídeos tem sido associada à maior deposição de gordura (Xing e Jiang 2012), e essa maior produção de ácidos graxos pode estar relacionada ao desencadeamento de desordens hepáticas (Zou et al., 2007). No entanto, mesmo tendo observado maior expressão dos genes *ACC* e *FAS* em aves alimentadas com canela, não observamos efeito significativo da dieta sobre a deposição de gordura visceral nem sobre o peso relativo do fígado. Estes resultados podem estar associados à

maior expressão do gene *APOA* também observada nesses animais, já que a *APOA* está envolvida no transporte dos lipídeos provenientes dos tecidos periféricos para o fígado onde serão metabolizados, assim quanto maior expressão deste gene, menor deposição de gordura abdominal (Zhuo et al., 2015).

Ainda no que diz respeito à síntese de lipídeos, em aves em fase de postura a maior síntese está relacionada com a maior exigência demandada para que órgãos reprodutivos sejam supridos com lipídeos que serão destinados para a produção de ovo, ou para utilização como precursores dos hormônios esteroides (Choi et al., 2012; Laudadio et al., 2014). Já que essa maior síntese pode ser dependente da ação dos estrógenos, a maior expressão do gene *ESR2*, também observada em aves que receberam canela na dieta, pode ajudar a compreender porque mesmo tendo apresentado maior expressão dos genes relacionados a síntese de lipídeos e maior conteúdo de lipídeos plasmáticos, as aves que receberam dieta com suplementação de canela não apresentaram maior deposição de gordura abdominal. A maior expressão de *ESR2* ainda pode explicar a melhor conversão alimentar por massa de ovo observada em aves recebendo canela em pó na dieta; já que trabalhos *in vitro* e *in vivo* mostram que os estrógenos produzidos em grandes quantidades pelos folículos pré-ovulatórios induzem maior expressão dos genes relacionados com a síntese de lipídeos (Choi et al., 2012), bem como maior conteúdo de VLDL (Wang et al., 2013), assim a maior expressão do gene *ESR2* pode sugerir que a suplementação de canela pode contribuir para maior produção de lipídeos relacionados a produção de precursores da gema, e maior mobilização de nutrientes para a formação dos ovos.

CONCLUSÃO

Os resultados encontrados mostram que a suplementação de canela em pó na dieta de codornas de postura influenciou na expressão dos genes relacionados ao metabolismo lipídico, tornando a produção dos precursores da gema mais eficiente, e assim, pode garantir maior eficiência produtiva em uma fase de intensa demanda metabólica.

REFERÊNCIAS

- BOKA, J., MAHDAVI, A. H., SAMIE, A. H., JAHANIAN, R. Effect of different levels of black cumin (*Nigella sativa L.*) on performance, intestinal *Escherichia coli* colonization and jejunal morphology in laying hens. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, v. 98, p. 373–383, 2014.
- BOZKURT, M., KÜÇÜKYILMAZ, K., CATLI, A. U., ÇINAR, M., BINTAŞ, E., ÇÖVEN, F. Performance, egg quality, and immune response of laying hens fed diets supplemented with mannan-oligosaccharide or an essential oil mixture under moderate and hot environmental conditions. *Poultry science*, v. 91, n. 6, p. 1379-1386, 2012.
- CHOI, Y. I., AHN, H. J., LEE, B. K., OH, S. T., AN, B. K., E KANG, C. W. Nutritional and hormonal induction of fatty liver syndrome and effects of dietary lipotropic factors in egg-type male chicks. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, v. 25, n. 8, p. 1145-1152, 2012.
- CIFTCI, M., SIMSEK, U. G., YUCE, A., YILMAZ, O., E DALKILIC, B. Effects of dietary antibiotic and cinnamon oil supplementation on antioxidant enzyme activities, cholesterol levels and fatty acid compositions of serum and meat in broiler chickens. *Acta Veterinaria Brno*, v. 79, n. 1, p. 33-40, 2010.
- GHASEMI, R., ZAREI, M., TORKI, M. Adding medicinal herbs including garlic (*Allium sativum*) and thyme (*Thymus vulgaris*) to diet of laying hens and evaluating productive performance and egg quality characteristics. *American journal of animal and veterinary sciences*, v. 5, p.151–154, 2010.
- GUL, S., SAFDAR M. Proximate composition and mineral analysis of cinnamon. *Pakistan Journal of Nutrition*, v. 8, p. 1456-1460, 2009.
- JANG, I., KO, Y., KANG, S., KIM, S., SONG, M., CHO, K., E SOHN, S. Effects of Dietary Lutein Sources on Lutein-Enriched Egg Production and Hepatic Antioxidant System in Laying Hens. *The Journal of Poultry Science*, v. 51, n. 1, p. 58-65, 2014.
- JIANG, R. R., G. P. ZHAO, J. P. ZHAO, J. L. CHEN, M. Q. ZHENG, R. R. LIU, E J. WEN. Influence of dietary nicotinic acid supplementation on lipid metabolism and related gene expression in two distinct broiler breeds of female chickens. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, v. 98, n. 5, p. 822-829, 2014.
- LAUDADIO, V., CECI, E., NAHASHON, S. N., INTRONA, M., LASTELLA, N. M. B., E TUFARELLI, V. Influence of Substituting Dietary Soybean for Air-Classified Sunflower (*Helianthus annuus L.*) Meal on Egg Production and Steroid Hormones in

- Early-Phase Laying Hens. *Reproduction in domestic animals*, v. 49, n. 1, p. 158-163, 2014.
- LAVELIN, I., MEIRI, N., PINES, M. New insight in eggshell formation. *Poultry Science*, v. 79, n. 7, p. 1014-1017, 2000.
- LEI, L., Z. LIXIAN. Effect of 24 h fasting on gene expression of AMPK, appetite regulation peptides and lipometabolism related factors in the hypothalamus of broiler chicks. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, v. 25, n. 9, p. 1300-1308, 2012.
- NELSON, D.L., COX, M.M. Lehninger Principles of biochemistry. 5. ed. New York: Worth Publishers, 2008. 1119p.
- POURESLAMI, R., TURCHINI, G. M., RAES, K., HUYGHEBAERT, G., DE SMET, S. Effect of diet, sex and age on fatty acid metabolism in broiler chickens: SFA and MUFA. *British journal of nutrition*, v. 104, n. 02, p. 204-213, 2010.
- QOTBI, A. A. A. The Effect of Cinnamon Powder and Cinnamon Extract on Performance, Blood Parameters and Microbial Population of Broiler Chicks. *Journal of Babylon University, Pure and Applied Sciences*, 9, v. 24, 2016.
- RODRÍGUEZ, R., MARTINEZ, M., VALDIVIÉ, M., CISNEROS, M., CARDENAS, M., SARDUY, L. Morphometry of the gastrointestinal tract and its accessory organs in laying hens fed feedstuffs containing proteinic sugarcane meal. *Cuban Journal of Agricultural Science*, v. 40, n. 3, p. 343-347, 2006.
- ROSTAGNO, H. S., ALBINO, L. F. T., DONZELE, J. L., GOMES, P. C., OLIVEIRA, R. T., LOPES, D. C., EUCLIDES, R. F. Brazilian tables for poultry and swine. Composition of Feedstuffs and Nutritional Requirements. 3rd ed. Brazil: UFV Viçosa. 2011.
- RUTZ, F., ANCTUTI, M. A., PAN, E. A. Fisiologia e manejo reprodutivo de aves. Manejo de Matrizes de corte. 2ª ed. Facta, Campinas, 57-121, 2005.
- SCHNEIDER, W. J., NIMPF, J., BUJO, H. Novel members of the low density lipoprotein receptor superfamily and their potential roles in lipid metabolism. *Current opinion in lipidology*, v. 8, n. 5, p. 315-319, 1997.
- WANG, J., LONG, C., ZHANG, H., ZHANG, Y., WANG, H., YUE, H., ET AL. Genetic Variant in Flavin-Containing Monooxygenase 3 Alters Lipid Metabolism in Laying Hens in a Diet-Specific Manner. *International Journal of Biological Sciences*, v. 12, n. 11, p. 1382, 2016.

- WANG, X. J., LI, Y., SONG, Q. Q., GUO, Y. Y., JIAO, H. C., SONG, Z. G., LIN, H. Corticosterone regulation of ovarian follicular development is dependent on the energy status of laying hens. *Journal of lipid research*, v. 54, n. 7, p. 1860-1876, 2013.
- XING, J., E JJIANG, Y. Effect of dietary betaine supplementation on mrna level of lipogenesis genes and on promoter cpg methylation of fatty acid synthase (FAS) gene in laying hens. *African Journal of Biotechnology*, v. 11, p. 6633-6640, 2012.
- ZHUO, Z., LAMONT, S. J., LEE, W. R., ABASHT, B. RNA-seq analysis of abdominal fat reveals differences between modern commercial broiler chickens with high and low feed efficiencies. *PloS one*, v. 10, n. 8, p. e0135810, 2015.
- ZOU, X. T., XU, Z. R., ZHU, J. L., FANG, X. J., JIANG, J. F. Effects of dietary dihydropyridine supplementation on laying performance and fat metabolism of laying hens. *Asian australasian journal of animal sciences*, v. 20, n. 10, p. 1606, 2007.