

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA FACULDADE
DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

LANA ANDRADE SANTOS

LIBIDIBIA FERREA PODE SER UMA ALTERNATIVA PARA IMUNOMODULAÇÃO EM
PINTINHOS NA PRIMEIRA SEMANA DE VIDA

UBERLÂNDIA

2025

LANA ANDRADE SANTOS

LIBIDIBIA FERREA PODE SER UMA ALTERNATIVA PARA IMUNOMODULAÇÃO EM
PINTINHOS NA PRIMEIRA SEMANA DE VIDA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para aprovação na disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso 2.

Orientadora: Prof.^a Dra. Belchiolina Beatriz
Fonseca.

Uberlândia

2025

LANA ANDRADE SANTOS

LIBIDIBIA FERREA PODE SER UMA ALTERNATIVA PARA IMUNOMODULAÇÃO EM
PINTINHOS NA PRIMEIRA SEMANA DE VIDA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para aprovação na disciplina de
Trabalho de Conclusão de Curso 2.

Uberlândia, 30 de Maio de 2025.

Banca Examinadora:

Prof.^a Dra. Belchiolina Beatriz Fonseca – FMVZ - UFU

Prof. Dr Bruno Serpa Vieira – FMVZ - UFU

Médica Veterinária Dra. Simone Sommerfeld - FMVZ - UFU

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, que me sustenta e me dá forças todos os dias. À minha família, por me apoiarem e quererem o meu melhor. Às amigas Simone, Lara e Fabiana do laboratório que me ajudaram em todo o processo de execução e escrita. Ao Karlaine que tirou algumas dúvidas de imunologia. À minha professora e orientadora Bia Fonseca, que me aguentou e ajudou desde às aulas até na vida profissional. E ao professor Bruno por aceitar o convite para compor a banca avaliadora. Minha imensa gratidão a todos que fizeram parte dessa jornada.

RESUMO

Na avicultura, há vários processos e etapas, de acordo com a finalidade de produção da ave e também da sua idade ou fase no processo de produção. O pintinho de um dia não tem o sistema imune totalmente formado e passa por várias situações estressantes que podem comprometer ainda mais a imunidade desse animal. Trabalhos mostram o efeito da *Libidibia ferrea* sobre o estresse oxidativo e o controle desses efeitos pode representar uma alternativa para fortalecer a imunidade do pintinho na primeira semana, especialmente por meio da imunomodulação intestinal. Assim, esse trabalho teve como objetivo avaliar um produto a base do extrato da vagem da *Libidibia ferrea* sobre secreção das citocinas IL-10 e IL-4 no intestino que são importantes citocinas imunomoduladoras. Pintinhos nos primeiros 3 dias de idade ingeriram o produto e foram estressados ou não com estresse térmico e eutanasiados no sétimo dia de vida. Os resultados mostraram que não houve diferença nos níveis de IL4 nos grupos testados. Por outro lado, houve aumento estatisticamente significativo da produção de IL-10 nos pintinhos que receberam o produto a base de *L. ferrea* nos grupos que foram estressados e não estressados. Além disso, o estudo foi capaz de demonstrar o efeito negativo do estresse sobre a produção de IL-10. Logo, esse trabalho mostra que o produto é útil para minimizar os impactos negativos do estresse e melhorar a imunidade intestinal das aves.

Palavras-chave: pintinhos de um dia; nutrição avícola; *Libidibia ferrea*; il4; il10.

ABSTRACT

In poultry farming, there are several processes and stages, depending on the purpose of producing the bird and also its age or stage in the production process. The one-day-old chick does not have a fully formed immune system and goes through several stressful situations that can further compromise the immunity of this animal. Studies show the effect of *Libidibia ferrea* on oxidative stress and the control of these effects may represent an alternative to strengthen the immunity of the chick in the first week, especially through intestinal immunomodulation. Thus, this study aimed to evaluate a product based on the extract of the pod of *Libidibia ferrea* on the secretion of the cytokines IL-10 and IL-4 in the intestine, which are important immunomodulatory cytokines. Chicks in the first 3 days of age ingested the product and were stressed or not with heat stress and euthanized on the seventh day of life. The results showed that there was no difference in the levels of IL4 in the groups tested. On the other hand, there was a statistically significant increase in IL-10 production in chicks that received the product based on *L. ferrea* in both the stressed and non-stressed groups. In addition, the study was able to demonstrate the negative effect of stress on IL-10 production. Therefore, this work shows that the product is useful for minimizing the negative impacts of stress and improving the intestinal immunity of birds.

Keywords: day one chick; poultry nutrition; *Libidibia ferrea*; IL4; IL10.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	9
2.1 Desenvolvimento inicial do intestino.....	9
2.2 Libidibia ferrea.....	9
2.3 Estresse oxidativo.....	11
2.4 IL-4 e IL-10.....	12
3. METODOLOGIA.....	15
3.1 Extração e preparação do produto.....	15
3.2 Tratamentos.....	15
3.3 Preparação das amostras de intestino.....	16
3.4 Pesquisa de IL-4 e IL-10.....	16
4. RESULTADOS.....	18
5. DISCUSSÃO.....	20
REFERÊNCIAS.....	24

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o Brasil é o maior exportador de carne de frango do mundo e segundo maior em produção (ABPA, 2024). O país produziu pelo menos 5.294 milhões de toneladas de carne de frango no ano de 2024 (ABPA, 2024). Nesse contexto, nota-se que a avicultura é muito importante para a economia do país, por isso, deve haver esforços para que o setor se mantenha forte e para que se melhore os processos de produção. Uma forma de se fazer isso é através da alimentação.

Para que o país se mantenha em destaque no setor, é necessário que haja o desenvolvimento de novas tecnologias que ajudem a aumentar a produção, e a melhorar a saúde das aves ao mesmo tempo em que garantem bem-estar animal (Alexandrino et al., 2020). Dentre as novas tendências de mercado se destaca a produção de suplementos alimentares. Esses produtos têm a capacidade de melhorar a qualidade da microbiota intestinal, a defesa contra o estresse oxidativo, melhorar imunidade e, dessa forma, aumentar a resistência das aves a situações desafiadoras (Lemos et al., 2016; Alexandrino et al., 2020).

Nos seus primeiros dias de vida, os pintinhos passam por inúmeros processos até a chegada à granja, como, por exemplo, o transporte, que pode resultar em estresse oxidativo (Jacobs et al., 2017) e ocasionar o aumento de substâncias pró-inflamatórias. Considerando que as aves nesse período ainda não têm o sistema imune completamente desenvolvido, há dificuldade na resposta intestinal de imunomodulação, prejudicando o estabelecimento de uma microbiota saudável (de Castro Tavernari et al., 2009).

Na resposta imune em aves, além de células de defesa, citocinas estão envolvidas, entre elas as interleucinas quatro (IL-4) e dez (IL-10). Considerando que as aves geralmente enfrentam situações de estresse nos primeiros dias, há recrutamento de células da resposta imune inata e adaptativa (linfócitos T e B) em tentativa de combater o dano pela inflamação ocasionada pelas adversidades mencionadas, porém, o estresse pode levar ao comprometimento da resposta imune inata, principalmente, mas células específicas ainda estarão presentes, sendo possível que o produto estimule essas células a produzir IL-10. A diminuição de células da resposta inata pode predispor o animal a outras complicações e consequentemente aumentar a permeabilidade gastrointestinal e predisposição a infecções.

Havendo presença de linfócitos Th2, há também produção de IL-4 e IL-10. Essas citocinas atuam no processo inflamatório ao inibir a produção de outras citocinas inflamatórias, mantendo a inflamação sob controle e evitando mais danos aos tecidos. A imunomodulação é muito importante para o intestino das aves porque a etiologia das doenças está altamente associada à resposta imune inadequada visto que o intestino é sensível a respostas imune contínuas podendo levar à atrofia das vilosidades intestinais e hiperplasia dos

enterócitos das criptas de Lieberkuhn (Davison et al., 2008; Strober et al., 2002)

Dentre os aditivos, extratos de plantas podem ser uma boa alternativa para estimular a produção de moléculas mediadoras da inflamação (Vieira et al., 2024). A planta *Libidibia ferrea* tem se mostrado como substrato promissor, pois possui efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes (Almeida et al., 2021; de Menezes, 2022).

Este trabalho tem como objetivo analisar o efeito imunomodulatório de um produto à base de extrato de *L. ferrea* pela avaliação dos níveis de IL-4 e IL-10 em pintinhos submetidos ou não a estresse e tratados com o extrato.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Desenvolvimento inicial do intestino

Sabe-se que vários fatores podem influenciar o desenvolvimento das aves, como por exemplo: a idade da matriz, genética, peso do ovo, sistema de criação, vacinação, alimentação e acesso à água nas primeiras horas de vida, transporte, estresse térmico, entre outros (Furlan et al., 2001). Sendo assim, a qualidade dos pintinhos pode ser determinada quantitativa e qualitativamente e, por meio desses resultados, é possível estimar o desempenho de frangos de corte (Decuypere e Bruggeman, 2007). Além disso, estudos de Willemsen et al. (2008) mostram que a melhor idade para se prever o peso final do abate é aos 7 dias de vida.

Nos primeiros momentos de vida, o arraçoamento ajuda no desenvolvimento do trato gastrointestinal das aves, aumentando o peso e melhorando as funções fisiológicas (Pakiding et al., 2020). Nesse sentido, os estudos dos pesquisadores Maiorka et al. (2000) e Agostinho et al. (2012) compararam a velocidade de absorção do saco vitelino entre aves com acesso à comida e em jejum e mostraram que houve aumento da absorção do vitelo nas primeiras 48 horas naqueles que foram alimentados e que eram provenientes de matrizes com 30 ou 33 semanas.

O desenvolvimento e aumento do peso intestinal implica em maior produção de enzimas para a digestão e consequente melhora na absorção de nutrientes da dieta, que poderão ser usados na formação inicial dos órgãos, inclusive da musculatura (Cuervo et al., 2002; Noy et al., 2001). Além disso, nos primeiros dias após a eclosão há a colonização do trato gastrointestinal (TGI) por microrganismos aeróbicos e anaeróbios (Tavernari et al., 2020), que deve ocorrer de forma a manter equilíbrio da microbiota intestinal. Portanto, nessa fase pode surgir um dos primeiros desafios para o sistema imune, que durante os primeiros dias de vida ainda está imaturo (Vieira, 2004).

2.2 *Libidibia ferrea*

A planta conhecida popularmente pelos nomes jucá, pau de jucá ou pau de ferro, possui o nome científico de *Libidibia ferrea* (Figura 1) e pertence à família Fabaceae, subfamília Caesalpinioideae e é uma espécie nativa e endêmica do Brasil (Santos Rodrigues et al.). Jucá é uma árvore e é tida como planta com propriedades medicinais pelo conhecimento popular, geralmente consumida em forma de chá e a popularmente chamada “garrafada”, uma preparação alcoólica, a partir das folhas e sementes da planta (Rodrigues, 2020). Dessa forma, vários estudos científicos foram inspirados a investigar as propriedades da *Libidibia ferrea* procurando utilizá-la formalmente na medicina (Martins et al., 2005).

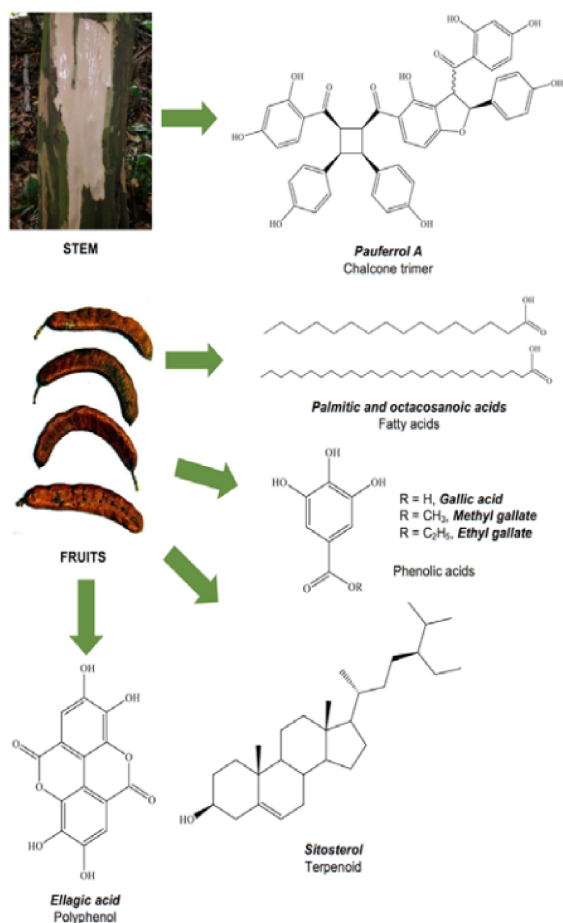
O extrato do fruto (vagem) da *Libidibia ferrea* apresenta mais atividade antioxidante e prevalência de compostos fenólicos totais em comparação com as outras partes da planta (folha e caule), sendo esta uma das partes mais utilizadas em pesquisas, porém sabe-se que todas as suas partes possuem propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes (Almeida, et al., 2021; de Menezes, 2022). O fruto dessa árvore é encontrado em todas as épocas do ano, mas a frutificação ocorre mais significativamente nos meses de março, junho, setembro e outubro em todo território nacional, além de ter relação direta com a precipitação pluviométrica (Ramires et al., 2019).

Figura 1: *Imagens de Libidibia ferrea*. A. Árvore de *Libidibia ferrea*. B. Detalhes do tronco. C. Detalhes da folha. D. Detalhes das flores. E. Inflorescência e frutos. F. Detalhes dos frutos e sementes.



Fonte: Costa (2015)

Figura 2: Constituintes fitoquímicos isolados da *Libidibia ferrea*.



Fonte: Costa (2015)

Ademais, todas as partes da planta *Libidibia ferrea* mostradas na figura 1 possuem compostos fitoquímicos de interesse farmacológico, como flavonoides, compostos fenólicos, taninos e cumarinas, sendo que a partir da análise do extrato bruto da folha foram encontrados alcaloides, flavonoides, derivados cinâmicos, terpenos e taninos (Luna et al., 2020; Almeida, et al., 2021; de Menezes, 2021). A casca da árvore apresenta o composto pauferrol A, que possui atividade indutora de apoptose, vários compostos com atividades biológicas, e não induz atividade mutagênica (Nozaki et al., 2007; Wyrepkowski et al., 2014). A partir do extrato dos frutos foi encontrado principalmente os compostos: ácido linoleico, palmítico, elaídico, gama-sitosterol, esteárico e lupenona. Esses ácidos também são classificados como ácidos graxos saturados, insaturados e terpenoides (Dias et al., 2013).

Os flavonoides são capazes de agir como antioxidantes, inativando radicais livres em ambos os compartimentos celulares, hidrofílico e lipofílico (Bianchi et al., 1999). Moreira & Mancini Filho (2003) sugerem que a atividade antioxidante de compostos fenólicos presentes em especiarias (canela, erva doce e mostarda) difere entre sistemas aquoso e lipídico.

2.3 Estresse oxidativo

O organismo dos animais utiliza o oxigênio para reações que, como consequência natural, geram radicais livres (RL) ou espécies reativas de oxigênio (EROS) (Barbosa et al., 2010; Velloso et al., 2021; Sies, 1985). Os RL e os EROS são moléculas instáveis, e para conseguirem a sua estabilidade, elas reagem com moléculas orgânicas como lipídios e proteínas oxidando-as, causando dano aos tecidos (Barbosa et al., 2010; Velloso et al., 2021; Sousa et al., 2022). Fisiologicamente, o organismo possui mecanismos antioxidantes, enzimáticos ou não, para manter a homeostase. O sistema antioxidante enzimático inclui a superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase, enquanto o sistema não enzimático é feito por compostos como vitaminas, minerais e compostos fenólicos e flavonoides (Barbosa et al., 2010).

Embora as células possam responder até certo nível de RL e EROS, há situações que podem gerar uma produção exacerbada desses elementos, como, por exemplo, intensa ativação de fagócitos, problemas no metabolismo do oxigênio, diminuição dos processos antioxidantes por fatores exógenos como luz UV e poluição (Filippin et al., 2008). Quando há inflamação ou ativação do sistema imune, por exemplo por doenças ou estresse, também ocorre uma produção de RL e EROS acima do limite que o sistema antioxidante consegue combater, gerando lesões em tecidos (Harrison et al., 2011; Harrison et al., 2012).

O estresse é, independente da fonte, um fator que leva à ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal, que está associado ao aumento da produção de cortisol, corticosterona e adrenocorticotropina, podendo afetar a imunidade inata das aves submetidas a fontes de estresse (Siegel, 1960). O pintinho passa por vários fatores estressantes desde a eclosão como, por exemplo, a espera do saque, manejos como debicagem, sexagem, vacinação e espera no carregamento (Van Poucke et al., 2023). O estresse térmico é um exemplo que pode ocorrer com pintinhos e é capaz de causar ativação do sistema mencionado acima, fazendo com que seja necessário um gasto energético para manutenção da homeostase, além de diminuir o consumo de ração, ocasionar imunossupressão da resposta imune inata e desequilibrar a microbiota intestinal (May et al., 1986; Lan et al., 2004; Sansonetti, 2004; Sohail et al., 2010, Sohail et al., 2011).

2.4 IL-4 e IL-10

O intestino das galinhas (*Gallus gallus*) é um complexo microambiente imunológico onde a homeostase é mantida por um delicado equilíbrio entre respostas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. As interleucinas IL-4 e IL-10 emergem como citocinas cruciais na orquestração dessa regulação (Arendt et al., 2019; Rothwell et al., 2004). A IL-4, classicamente associada à imunidade de células T helper tipo 2 (Th2), e a IL-10, reconhecida por suas propriedades imunomoduladoras, desempenham vários papéis na modulação da resposta imune intestinal em aves (Arendt et al., 2019).

A elevação aguda dos níveis de corticosterona estimula a função do eixo

hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), promovendo a redistribuição de leucócitos e intensificando a imunidade mediada por células, o que pode ser benéfico em situações de estresse de curta duração (Dhabhar e McEwen, 1997; Martin et al., 2005). Além disso, a corticosterona diminui a resposta inata e modula a resposta imune adaptativa, promovendo um deslocamento do perfil Th1 para Th2, caracterizado pela supressão de citocinas pró-inflamatórias como IL-12 e IFN- γ , e pela indução de citocinas anti-inflamatórias como IL-4 e IL-10 (Wigley e Kaiser, 2003). Esse deslocamento pode ser benéfico para prevenir respostas inflamatórias excessivas, mas também pode comprometer a capacidade do organismo de combater patógenos intracelulares. Por outro lado, a elevação crônica dos níveis de corticosterona exerce efeitos imunossupressores, inibindo a proliferação de linfócitos e suprimindo respostas imunes, o que pode aumentar a suscetibilidade a infecções (Dhabhar e McEwen, 1997; Mashaly et al., 1998).

A IL-4 também possui efeitos anti-inflamatórios, reduzindo os efeitos das IL-1, TNF- α , IL-6 e IL-8, e, além disso, inibe a produção de radicais livres (De oliveira, et al. 2011).

Estudos demonstram que a IL-4 em galinhas pode induzir a ativação alternativa de macrófagos, promovendo a expressão de marcadores associados ao fenótipo M2, como a arginase e o receptor de manose tipo C (MRC1L-A), enquanto suprime a produção de óxido nítrico e a expressão de iNOS, características do fenótipo M1 (Chaudhari et al., 2018). Esse mecanismo sugere que a IL-4 contribui para a modulação da resposta inflamatória e para a promoção de uma resposta imune humoral eficiente em aves (Chaudhari et al., 2018).

Além disso, a IL-4 é capaz de direcionar a diferenciação de células T auxiliares naíve em efetoras Th2-like, que secretam citocinas como IL-4 e IL-5, essenciais para a resposta imune contra parasitas extracelulares e para a regulação de reações alérgicas (Swain et al., 1950)

Em galinhas, a IL-4 também desempenha um papel na imunidade intestinal. Estudos demonstraram um aumento na expressão de IL-4 na mucosa intestinal durante infecções por parasitas como *Eimeria* spp., sugerindo seu envolvimento na resposta imune local para a eliminação do parasita (Dalloul et al., 2005). A IL-4 pode promover a diferenciação de células Th2 no intestino aviário, que por sua vez secretam outras citocinas como IL-5 e IL-13, contribuindo para a resposta humoral e a produção de IgA, importante para a imunidade de barreira (Kaiser, 2010).

A IL-10 é uma citocina anti-inflamatória que inibe a liberação de citocinas pró inflamatórias (como TNF- α e IFN- γ) e diminui a liberação de radicais livres (Ouyang et al., 2011; Pezzilli et al., 1997), portanto, tem papel central na manutenção da homeostase. Ela é produzida pelas células T (Tregs), por macrófagos e por células dendríticas (Ouyang et al., 2011). Há relatos de que a IL-10 conseguiu regular negativamente as moléculas EROS e o óxido nítrico (NO), além de atuar como sinal negativo sobre a expressão no *priming* induzido por

citocinas pró-inflamatórias da explosão oxidativa (Gougerot-podicalo et al., 1996). A presença desta citocina também é observada com o uso de glicocorticoides como dexametasona, que atuam inibindo a geração de EROS e aumentando as concentrações de IL-10 (Dandona et al., 1999).

Além disso, trabalhos recentes fornecem evidências de que a IL-10 protege a função endotelial quando há estímulos inflamatórios ao limitar o aumento local do ânion superóxido (Gunnnett et al., 2000).

3. METODOLOGIA

A primeira parte da pesquisa foi realizada no Laboratório de Pesquisa Animal do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras (UFLA) e a segunda parte no Laboratório de Doenças Infectocontagiosas (LADOC) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

3.1 Extração e preparação do produto

A preparação se deu pela obtenção do extrato bruto de *Libidibia ferrea* (ELF) a partir de suas vagens, seguindo a metodologia descrita em (de Macedo et al., 2024). Para isso, as vagens passaram por moinho de duas facas até atingir 20 mm de granulometria. Depois disso, a mistura foi submetida à maceração exaustiva por sete dias em solução contendo 70% de etanol e 30% de água para extrato bruto e em solução de etanol PA 100% da marca Synth, do Brasil, com 30% de água destilada para obtenção do extrato hidroalcoólico.

A extração do extrato bruto de *Libidibia ferrea* ocorreu em até 72 h entre procedimentos consecutivos até a exaustão completa do material vegetal. Para obtenção do extrato, a solução extrativa passou por destilação do solvente em evaporador rotativo de pressão (802, Fitsom Equipamentos Científicos) sob pressão reduzida a 78°C e 35 rpm. Após o processo de evaporador rotativo, a solução foi colocada em uma placa de aquecimento para secagem completa.

3.2 Tratamentos

Um total de 480 pintinhos de corte machos de um dia de idade da linhagem Cobb de matrizes de 26 semanas oriundas de São Sebastião do Oeste, Minas Gerais foram usados neste estudo. Os pintinhos de um dia foram vacinados no incubatório contra as doenças de Marek e Gumboro. Os grupos foram divididos em: o grupo T1 se tratou de um controle negativo onde as aves não foram estressadas nem tratadas com o produto de *Libidibia ferrea*; o grupo T2 não foi estressado, porém foi tratado com o produto; o grupo T3 foi estressado e não tratado com o produto; e por fim, o grupo T4 foi estressado e tratado com o produto.

Os pintinhos foram transportados por 160 km, totalizando 3 horas de viagem. No centro de pesquisa, eles foram alojados em 32 baias (2,0 × 1 m) com 15 aves por baia, que tinham um sistema de cama com bebedouros tipo nipple, e comedouros tubulares. O experimento seguiu um delineamento totalmente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições e, em cada repetição, 15 aves. A dieta, que foi baseada em milho e farelo de soja, foi formulada de acordo com Bertechini (2021) para a fase pré-inicial.

Os pintinhos tratados receberam o produto (62.5,g/mL) durante os três primeiros dias, sendo 100 uL por via oral e os controles negativos receberam água na mesma via e na mesma quantidade. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de ética no Uso de Animais (CEUA), (80/2023/CEUA/PROPP/REITO).

Todos os grupos passaram pela etapa do transporte, potencialmente estressante, já que essa é a realidade na maioria dos sistemas de produção avícola, onde precisam receber pintinhos do incubatório e eles precisam ser transportados assim que nascem.

Como forma de reduzir o estresse térmico em dois dos tratamentos, foi preciso cobrir o aviário com uma lona, de forma a reduzir as flutuações de temperatura. Depois disso, foi dividido em duas sessões: uma a 32°C para os grupos T1 e T2 e a outra a 29°C para os grupos T3 e T4. Para isso foi utilizado um sistema automatizado de controle de temperatura. Além do estresse térmico, os grupos T3 e T4 foram privados de água por 6 horas, enquanto os grupos T1 e T2 receberam água normalmente e permaneceram em temperatura adequada. Além disso, no momento em que chegaram ao local de pesquisa, foram administrados 100 µL do produto para os grupos T2 e T4, enquanto os grupos T1 e T3 receberam 100 µL de água. Esse tratamento foi feito por três dias consecutivos.

Aos sete (7) dias de idade uma ave por baia foi eutanasiada e seus intestinos coletados para avaliação dos níveis de IL-10 e IL-4. O material foi levado ao laboratório em nitrogênio líquido e conservado a temperatura de -80 °C até o processamento.

3.3 Preparação das amostras de intestino

Durante todo o processo de extração atentou-se para a preservação de temperatura, realizando-se os procedimentos em caixas de isopor com gelo ou nitrogênio.

Primeiramente, as amostras foram retiradas do ultrafreezer e descongeladas em gelo, sendo em seguida pesadas em uma balança analítica. As amostras foram maceradas e diluídas a uma proporção de 1:10 solução salina tamponada com fosfato (PBS).

Após completa maceração, as amostras foram centrifugadas a 11.000 Xg por 10 minutos a 4°C. O sobrenadante foi então filtrado em filtros de 22mm com seringa e apoio de uma seringa de 3mL.

3.4 Pesquisa de IL-4 e IL-10

Para pesquisa das interleucinas 4 (IL-4) e 10 (IL-10) foram utilizados kits comerciais específicos para cada uma. Para pesquisa de IL-4 foi usado o chicken Interleukin 4 (IL4) ELISA Kit, da marca MyBioSource, que é um teste quantitativo sandwich (MBS2020672). E

para a pesquisa de IL-10 foi usado o “Chicken IL-10 ELISA Kit” da marca Invitrogen, sendo também do tipo sandwich (ECH3RB). Sendo assim, foi utilizado o protocolo descrito pelo fabricante de cada um.

O teste fornece uma microplaca com poços revestidos com um anticorpo específico para IL-4. Um padrão interno é enviado com as concentrações de IL-4 conhecidas para plotar a curva padrão. Em seguida, as amostras são adicionadas nos poços, e então é adicionada avidina conjugada à peroxidase de raiz forte (HRP). Posteriormente, a placa é incubada. Após a adição do substrato TMB, apenas os poços com as amostras que possuem IL-4 mudam de cor. Posteriormente, a reação enzima-substrato é interrompida pela adição de ácido sulfúrico e a alteração de cor é medida espectrofotometricamente no comprimento de onda de 450 nm. A concentração das amostras é determinada pela equação resultante da interpolação da densidade óptica das amostras com a curva padrão. Da mesma forma, o kit para IL-10 também é um teste Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) feito para detectar e quantificar a interleucina 10 de frangos e os passos do teste são similares ao descrito anteriormente para a IL-4.

3.5. Análise estatística

A partir da leitura dos valores de absorbância das microplacas dos kits comerciais foi estimada uma curva padrão de acordo com os poços controle do teste. Dessa forma, uma curva de linearidade com $R^2 > 0,95$ foi aceita. O padrão da placa continha valores conhecidos de concentração de IL-4 e IL-10 e foi lido juntamente com os tratamentos para que se pudesse estimar suas concentrações utilizando a interpolação de dados com aproximante de Pade (1,1) (Graph Pad Prism 9.1). A concentração final foi expressa em função do peso do intestino (pg/ug). Para a análise estatística, foi utilizada uma análise fatorial 2×2 por meio de análise de variância de duas vias (two-way ANOVA), seguida do teste de Tukey para comparação de médias ($p < 0,05$). Além disso, como parte da análise de contrastes ortogonais, foram realizados testes de diferença entre médias entre T1 e T2, e entre T3 e T4, a fim de avaliar o efeito do gel em aves estressadas e não estressadas.

4. RESULTADOS

Não houve diferença nos níveis de IL-4 entre os grupos (Figura 3).

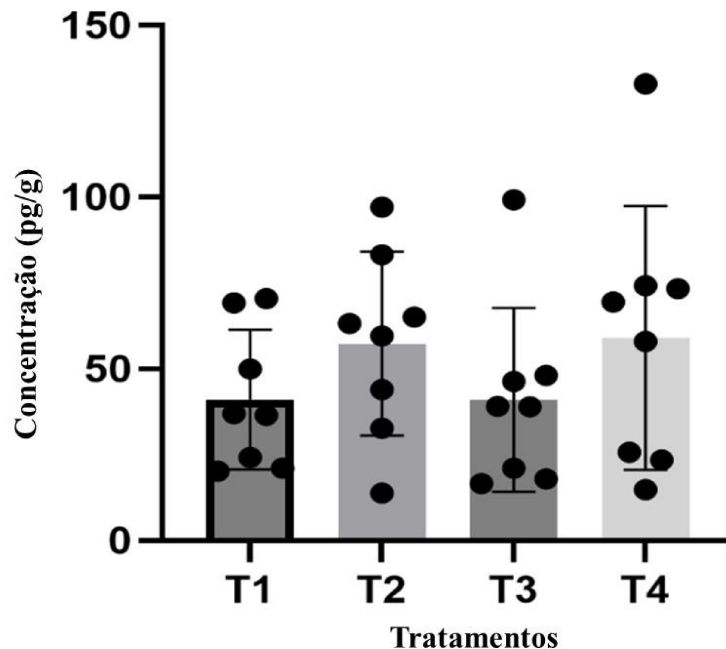


Figura 3: Concentração média (pg/g) de IL4 encontrada nas amostras de intestino de pintinhos de sete dias baseado na curva padrão. T1: grupo de controle negativo, não houve estresse nem tratadas com o produto. T2: Grupo que não foi estressado e que foi tratado com o produto. T3: Grupo que foi estressado e não foi tratado com o produto. T4: Grupo que foi estressado e tratado com o produto. Foi usada como análise estatística a análise de variância (ANOVA) e o teste t de Tukey.. Não houve diferença estatística entre os grupos tratados e não tratados ($p < 0,05$)

Não foi possível avaliar a concentração de IL-10, pois, nos grupos tratados com *L. ferrea*, os valores ultrapassaram o limite superior de detecção do kit de ELISA. Assim, realizamos a análise relativa com base nos valores de absorbância. A análise pelo teste two-way ANOVA indicou que os níveis relativos de IL-10 foram maiores no grupo tratado com *L. ferrea* e não submetido ao estresse (T2), em comparação ao grupo estressado e não tratado com *L. ferrea* (T3) (Figura 4A). Como esse resultado isolado fornece informação limitada, realizamos um teste ortogonal para comparar as médias dos grupos submetidos ou não ao estresse, com o objetivo de avaliar o efeito da planta. Entre os animais não estressados, não houve diferença significativa nos níveis relativos de IL-10. No entanto, sob condição de estresse, o grupo T4 (tratado com *L. ferrea*) apresentou níveis relativos de IL-10 significativamente maiores em comparação ao grupo T3 (sem tratamento).

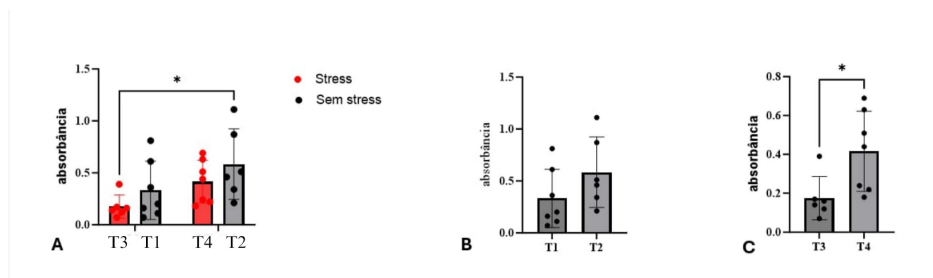


Figura 4: Média da absorbância em relação à IL 10 encontrada em amostras de intestino de pintinhos de 7 dias pela avaliação da two way ANOVA (A) e pelo teste das diferenças de média entre grupos não estressados (B) e grupos estressados (C). T1: grupo de controle negativo, não houve estresse nem tratadas com o produto. T2: Grupo que não foi estressado e que foi tratado com o produto. T3: Grupo que foi estressado e não foi tratado com o produto. T4: Grupo que foi estressado e tratado com o produto. Foi usada como análise estatística a análise de variância (ANOVA) e o teste t de Tukey.. O asterisco (*) representa que houve diferença estatística ($p < 0,05$)

5. DISCUSSÃO

A aplicação do produto de *Libidibia ferrea* não alterou significativamente os níveis de IL-4 no intestino dos pintinhos, com ou sem estresse, mas mostrou diferença significativa nos níveis de IL-10 entre os dois grupos que receberam o tratamento, estressados e tratados e não estressados e tratados, com o último apresentando níveis mais baixos.

Em aves, a IL-4 desempenha funções imunomodulatórias importantes, influenciando a resposta a patógenos e a manutenção da homeostase intestinal (Kaiser, 2010).

A utilização de produtos contendo extratos de *L. ferrea* tem sido explorada em diferentes contextos devido ao seu potencial terapêutico, no entanto, os resultados aqui apresentados indicam que, para a IL-4 intestinal em pintinhos jovens, a aplicação do produto de *L. ferrea*, tanto em condições normais quanto sob estresse, não promoveu uma alteração estatisticamente relevante. É importante considerar que os efeitos de substâncias naturais como os extratos de *L. ferrea* podem ser dependentes da concentração, da forma de aplicação, do tempo de exposição e da especificidade do tecido e da resposta imunológica avaliada (Alves et al., 2018).

Um estudo recente Chagas Neto (2022) investigou o efeito do extrato de *Libidibia ferrea* na resposta inflamatória em modelos animais, observando modulações em outras citocinas pró-inflamatórias, mas sem um efeito significativo consistente sobre a IL-4. Sendo assim, os resultados obtidos neste trabalho podem indicar que o produto não tem atuação direta na regulação dessa citocina em intestino de pintinhos jovens, ou que seus efeitos imunomodulatórios se manifestam através de outras vias ou em diferentes momentos do desenvolvimento.

O resultado apresentado também pode ser explicado pelo momento da avaliação (sete dias de idade), onde o sistema imune dos pintinhos ainda está em desenvolvimento e as respostas a estímulos podem ser diferentes de aves mais maduras (Berghman et al., 2005). Futuras investigações poderiam avaliar a dinâmica da IL-4 em diferentes momentos após o início da situação estressante e do tratamento, bem como analisar outras citocinas e marcadores imunológicos para obter uma compreensão mais completa do impacto dessa intervenção no sistema imune intestinal de aves jovens. Além disso, seria interessante investigar a concentração ideal do extrato e a via de administração mais eficaz para modular a resposta imune em aves. Outra linha de raciocínio pode ser a influência do estresse crônico na imunossupressão e diminuição dos linfócitos (Dhabhar e McEwen, 1997; Mashaly et al., 1998).

A IL-10 é uma citocina imunossupressora crucial na manutenção da homeostase

intestinal, exercendo efeitos anti-inflamatórios ao inibir a produção de citocinas pró-inflamatórias, suprimir a ativação de células T efectoras e macrófagos, e promover a diferenciação de células T reguladoras (Tregs) (Ouyang et al., 2011). No intestino de aves, a IL-10 desempenha um papel fundamental na prevenção de respostas inflamatórias exacerbadas a antígenos luminiais, como a microbiota comensal e antígenos dietéticos (Brisbin et al., 2006).

Os resultados apresentados na Figura 4 demonstram uma diferença significativa nos níveis de IL-10 entre o grupo não estressado e tratado com o produto de *Libidibia ferrea* (T2) e o grupo estressado não tratado (T3). Esse achado sugere que o produto pode ter um efeito modulador positivo na produção de IL-10 no intestino de pintinhos em condições estressantes e não estressantes. A *Libidibia ferrea*, como mencionado anteriormente, possui propriedades anti-inflamatórias devido à presença de diversos compostos bioativos (Oliveira et al., 2011). A observação de um aumento na IL-10 pode ser um dos mecanismos pelos quais o produto exerce seus efeitos benéficos, contribuindo para um ambiente intestinal mais tolerante.

Por outro lado, o grupo estressado e não tratado com o produto de LF (T3) apresentou os níveis mais baixos de IL-10, indicando que o estresse pode ter um impacto negativo na produção dessa citocina anti-inflamatória. O estresse em aves é conhecido por ativar o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), levando à liberação de corticosteroides que podem modular a resposta imune, frequentemente suprimindo a produção de células da resposta imune inata, o que pode impactar em menor grau a resposta adaptativa (Gross & Siegel, 1983). Assim, mesmo com diminuição da quantidade de leucócitos, àqueles presentes ainda podem ser super estimulados pelo aumento de antígenos específicos como em caso de disbiose e dano celular. Dessa forma, o produto pode agir nessas células de forma a proporcionar uma imunomodulação necessária para minimizar os danos ao trato gastrointestinal (Lian et al., 2020).

O tratamento com o produto de *L. ferrea* no grupo estressado (T4) atenuou o efeito negativo do estresse sobre a IL-10, aumentando sua concentração. Os pintinhos sofrem nas primeiras horas várias condições estressantes como a eclosão, espera, saque, vacinações, sexagem, debicagem e transporte, dessa forma, o produto se mostra essencial por seu poder imunomodulador dessa citocina. Assim, o resultado assegura que há uma diferença estatística entre os dois grupos T3 e T4.

Esse resultado sugere que o produto pode ter um potencial imunomodulador pela produção de IL-10, o que pode ser relevante para a manutenção da saúde intestinal.

Estudos recentes têm investigado o potencial de produtos naturais na modulação da resposta imune intestinal em aves. Por exemplo, Silva et al. (2024) demonstraram que a suplementação com determinados fitoterápicos (que não a *L. ferrea*) pode influenciar a produção de citocinas intestinais, incluindo a IL-10, em resposta a desafios ambientais. No contexto

específico da *Libidibia ferrea*, embora a literatura sobre seus efeitos na imunidade intestinal aviária seja limitada, estudos em outros modelos animais sugerem um potencial anti-inflamatório mediado, em parte, pelo aumento de citocinas regulatórias (Sousa et al., 2022).

A diferença significativa observada entre o grupo não estressado tratado com LF (T2) e o grupo estressado não tratado com LF (T3) reforça a hipótese de que o LF pode estimular a produção de IL-10 em condições basais, enquanto o estresse pode inibir significativamente essa produção.

6.0. CONCLUSÃO

Os resultados desta análise sugerem que o produto à base de *L. ferrea* pode ter um efeito positivo na modulação da produção de IL-10 no intestino de pintinhos estressados e não estressados, enquanto o estresse parece exercer um efeito supressor sobre essa citocina.

REFERÊNCIAS

- ABIDIN, Z.; KHATOON, A. Estresse térmico em aves e os efeitos benéficos da suplementação de ácido ascórbico (vitamina C) durante períodos de estresse térmico. **World 's Poultry Science Journal**, v. 69, n. 1, p. 135-152, 2013.
- ALEXANDRINO, S. L. de S. A.; COSTA, T. F.; SILVA, N. G. D. da; ABREU, J. M. de; SILVA, N. F. da; SAMPAIO, S. A.; CHRISTOFOLI, M.; CRUZ, L. C. F.; MOURA, G. F.; FARIA, P. P.; MINAFRA, C. S. Intestinal microbiota and factors influencing poultry. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 9, n. 6, p. e87963098, 2020. DOI: 10.33448/rsd-v9i6.3098. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/3098>. Acesso em: 30 abr. 2025
- ALVES, T. F. et al. Biological activities of *Libidibia ferrea* (Tul.) Mart. ex Hayne and its potential applications. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 220, p. 135-148, 2018.
- ALMEIDA, Nayanne COS et al. *Libidibia ferrea* (jucá) anti-inflammatory action: A systematic review of in vivo and in vitro studies. **Plos one**, v. 16, n. 11, p. e0259545, 2021.
- ARENDT, Maria et al. Investigating the role of interleukin 10 on *Eimeria* intestinal pathogenesis in broiler chickens. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 218, p. 109934, 2019.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Associação Brasileira de Proteína Animal. Disponível em: <https://abpa-br.org/>. Acesso em: 30 abr. 2025.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. Relatório Anual 2024. São Paulo: ABPA, 2024. Disponível em: https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2024/04/ABPA-Relatorio-Anual-2024_capa_frango.pdf. Acesso em: 30 abr. 2025.
- BARBOSA, Kiriaque Barra Ferreira et al. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v. 23, p. 629-643, 2010.
- BERGHMAN, L. R.; Kaspers, B.; Göbel, T. W. Avian cytokines: an update. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 107, n. 1-2, p. 61-78, 2005.
- BERTECHINI, A. G. *Nutrição de monogástricos*. 3. ed. Lavras: UFLA, 2021.
- BIANCHI, MLP; ANTUNES, LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Rev. Nutr.**, v. 12, n. 12, p. 123-130, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1415-52731999000200001>. Acesso em: 30 abr. 2025.

BRISBIN, Jennifer T.; GONG, Joshua; SHARIF, Shayan. Interactions between commensal bacteria and the gut-associated immune system of the chicken. **Animal Health Research Reviews**, v. 9, n. 1, p. 101-110, 2008.

CHAGAS NETO, F. C. Caracterização, toxicidade e aspectos funcionais do extrato de Jucá (*Libidibia ferrea*): atividades anti-inflamatória e antioxidante. 2022. 128 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - **Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza**, 2022. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/68905>. Acesso em: 30 abr. 2025.

CHAUDHARI, Atul A.; KIM, Woo H.; LILLEHOJ, Hyun S. Interleukin-4 (IL-4) may regulate alternative activation of macrophage-like cells in chickens: A sequential study using novel and specific neutralizing monoclonal antibodies against chicken IL-4. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 205, p. 72-82, 2018.

CUERVO, F. M.; et al. Crecimiento y desarrollo intestinal de aves de engorde alimentadas con probióticos. **Revista ESPAMCIENCIA**, v. 3, n. 1, p. 45–52, 2012. Disponível em: <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5923292.pdf>. Acesso em: 1 maio 2025.

DALLOUL, R. A. et al. Differential cytokine mRNA expression in chickens infected with *Eimeria tenella*. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, v. 107, n. 1-2, p. 31-39, 2005.

DANDONA, Paresh et al. Effect of dexamethasone on reactive oxygen species generation by leukocytes and plasma interleukin-10 concentrations: A pharmacodynamic study. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 66, n. 1, p. 58-65, 1999.

DAVISON, Fred; KASPERS, Bernd; SCHAT, Karel A. The avian mucosal immune system. **Avian immunology**, v. 1987, p. 241-42, 2008.

DE MACEDO, Ana Rafaela Silva et al. Unlocking the power of *Libidibia ferrea* extracts: antimicrobial, antioxidant, and protective properties for potential use in poultry production. **Poultry Science**, v. 103, n. 6, p. 103668, 2024.

DE MENEZES, Diego Pereira. Atividade antioxidante de extratos de *Libidibia ferrea*: revisão sistemática. **Anais do Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil**, 2022.

DE OLIVEIRA, Caio Marcio Barros et al. Citocinas e dor. **Rev. Bras. Anesthesiol**, v. 61, p. 260-265, 2011.

DECUYPERE, E.; BRUGGEMAN, V. The endocrine interface of environmental and egg factors affecting chick quality. **Poultry Science**, v. 86, n. 5, p. 1037–1042, 2007.

DHABHAR, F. S.; McEWEN, B. S. Acute stress enhances while chronic stress suppresses cell-mediated immunity in vivo: a potential role for leukocyte trafficking. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 11, n. 4, p. 286–306, 1997. Disponível em: DOI: 10.1006/brbi.1997.0508. Acesso em: 30 abr. 2025.

DIAS, A. M. A. et al. Wound dressings loaded with an anti-inflammatory jucá (*Libidibia ferrea*) extract using supercritical carbon dioxide technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 74, p. 34-45, 2013.

DOS SANTOS LIMA, Maria Joanellys et al. *Libidibia ferrea* extract as a promising antidiabetic agent: characterization, pre-clinical analysis and development of pharmaceutical dosage forms. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 4, p. 43644-43666, 2021.

FERREIRA, Magda Rhayanny Assunção; SOARES, Luiz Alberto Lira. *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) LP Queiroz: A review of the biological activities and phytochemical composition. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 9, n. 5, p. 140-150, 2015.

FILIPPIN, Lidiane Isabel et al. Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatoide. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 48, p. 17-24, 2008.

FURLAN, R. L. et al. Efeito da restrição alimentar inicial e da temperatura ambiente sobre o desenvolvimento de vísceras e ganho compensatório em frangos de corte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 53, n. 4, p. 1-7, 2001.

GOUGEROT-PODICALO, M. A.; ELBIM, C.; CHOLLET-MARTIN, S. Modulation by pro-and anti-inflammatory cytokines of the oxidative burst of human neutrophils. **Pathologie Biologie**, v. 44, n. 1, p. 36-41, 1996.

GROSS, W. B.; SIEGEL, H. S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, v. 27, n. 4, p. 972–979, 1983.

GUNNETT, Carol A. et al. IL-10 deficiency increases superoxide and endothelial dysfunction during inflammation. **American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology**, v. 279, n. 4, p. H1555-H1562, 2000.

HADDAD, John J.; FAHLMAN, Christian S. Redox-and oxidant-mediated regulation of interleukin-10: an anti-inflammatory, antioxidant cytokine?. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 297, n. 2, p. 163-176, 2002.

HARRISON, DG et al. Inflammation, immunity, and hypertension. **Hypertension**, v. 57, p. 132-140, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.163576>

HARRISON, DG; MARVAR, PJ; TITZE, JM. Vascular inflammatory cells in hypertension. **Frontiers in Physiology**, v. 3, n. 7, p. 1-11, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphys.2012.00128>. Acesso em: 30 abr. 2025.

KAISER, P. Avian cytokines: function and in vivo biology. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 137, n. 1-2, p. 16-23, 2010.

LAN, Pham Thi Ngoc; SAKAMOTO, Mitsuo; BENNO, Yoshimi. Efeitos de duas cepas probióticas de *Lactobacillus* na microbiota jejunal e cecal de frangos de corte sob estresse térmico agudo, conforme revelado pela análise molecular dos genes 16S rRNA. **Microbiology and Immunology**, v. 48, n. 12, p. 917-929, 2004.

LEMOS, Marina Jorge de et al. Uso de aditivo alimentar equilibrador da flora intestinal em aves de corte e de postura. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, 2016.

LIAN, Puqiao et al. Beyond heat stress: intestinal integrity disruption and mechanism-based intervention strategies. **Nutrients**, v. 12, n. 3, p. 734, 2020.

LUNA, Mychely SM et al. Bioprospection of *Libidibia ferrea* var. *ferrea*: Phytochemical properties and antibacterial activity. South African **Journal of Botany**, v. 130, p. 103-108, 2020.

MAIORKA, A.; SANTIN, E.; FISCHER DA SILVA, A. V.; BRUNO, L. D. G.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento do trato gastrointestinal de embriões oriundos de matrizes pesadas de 30 e 60 semanas de idade. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, v. 2, n. 2, p. 131–138, 2000. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbca/a/9NcPzMPGTcrJ5g4Y35yGLRS/>. Acesso em: 1 maio 2025.

MARTINS, A. G.; ROSÁRIO, D. L.; BARROS, M. N.; JARDIM, M. A. G. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais, alimentares e tóxicas da Ilha do Combu, Município de Belém, Estado do Pará, Brasil. **Rev. Bras. Farm.**, v. 86, n. 1, p. 21-30, 2005.

MARTIN, L. B. et al. Corticosterone rapidly suppresses innate immune activity in the house sparrow (*Passer domesticus*). **Journal of Experimental Biology**, v. 220, n. 2, p. 322–327, 2017. Disponível em: DOI: 10.1242/jeb.148270. Acesso em: 30 abr. 2025.

MASHALY, M. M.; TROUT, J. M.; HENDRICKS, G.; AL-DOKHI, L. M.; GEHAD, A. The role of neuroendocrine immune interactions in the initiation of humoral immunity in chickens. **Domestic Animal Endocrinology**, v. 15, p. 409–422, 1998.

MAURICE, DV; LIGHTSEY, SF; TOLER, JE. Biossíntese de ácido ascórbico em galinhas produtoras de cascas de ovos fortes e fracas. British **Poultry Science**, v. 45, n. 3, p. 404-408, 2004.

MAY, JD et al. Efeito da aclimação e do estresse térmico na concentração do hormônio tireoidiano. **Poultry Science**, v. 65, n. 6, p. 1211-1213, 1986. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119523926>. Acesso em: 30 abr. 2025.

McGRATH, J. A.; GOLDSPIK, D. F. Glucocorticoid action on protein synthesis and protein breakdown in isolated skeletal muscles. **Biochemical Journal**, v. 206, n. 3, p. 641–645, 1982. Disponível em: DOI: 10.1042/bj2060641. Acesso em: 30 abr. 2025.

MOREIRA, AVB; MANCINI FILHO, J. Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva-doce em sistemas aquoso e lipídico. **Nutrire Rev Soc Bras Aliment Nutr.**, v. 25, p. 31-46, 2003.

NOY, Yeal; GEYRA, A.; SKLAN, D. The effect of early feeding on growth and small intestinal development in the posthatch poult. **Poultry Science**, v. 80, n. 7, p. 912-919, 2001.

NOZAKI, Hiroshi et al. Pauferrol A, um novo trímico de chalcona com anel ciclobutano de *Caesalpinia ferrea* Mart, exibindo inibição da topoisomerase II de DNA e atividade indutora de apoptose. **Tetrahedron Letters**, v. 48, n. 47, p. 8290-8292, 2007.

OLIVEIRA, R. A. et al. Anti-inflammatory activity of *Caesalpinia ferrea* Martius ex Tul. bark extract and its fractions. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 137, n. 1, p. 501-507, 2011.

OUYANG, W.; RENNERT, P. D.; VIEIRA, P. D. Cytokines – diverse functions that regulate homeostasis and immunity. *Immunity*, v. 34, n. 5, p. 656-672, 2011.

PAKIDING, W. et al. The influence of early feeding on intestinal development and performance of broiler chickens. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. IOP Publishing, 2020. p. 012128.

PEZZILLI, Raffaele et al. Serum interleukin-10 in human acute pancreatitis. **Digestive diseases and sciences**, v. 42, p. 1469-1472, 1997.

RAMIRES, Allan Christiam Santos et al. Avaliação fenológica do jucá (*Libidibia ferrea*) Martius ex Tul. (Fabaceae). 2019.

RODRIGUES, Mateus Santana et al. Estudo comparativo entre conhecimento popular e científico de plantas medicinais de espécies da família Fabaceae. In: Extensão rural: práticas e pesquisas para o fortalecimento da agricultura familiar. **Editora Científica**, v. 2, p. 206-212, 2020.

ROHLEDER, N. et al. Glucocorticoids and the Th1/Th2 balance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 992, p. 193–203, 2003. Disponível em: DOI:

10.1111/j.1749-6632.2003.tb03147.x. Acesso em: 30 abr. 2025.

ROTHWELL, Lisa et al. Clonagem e caracterização da IL-10 de galinhas e seu papel na resposta imune a *Eimeria maxima*. **O Jornal de Imunologia**, v. 173, n. 4, p. 2675-2682, 2004.

SANSONETTI, Philippe J. Guerra e paz em superfícies mucosas. **Nature Reviews Immunology**, v. 4, n. 12, p. 953-964, 2004. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nri1499>. Acesso em 30 abr. 2025

SANTOS RODRIGUES, Maira dos et al. Caesalpinieae (Leguminosae-Caesalpinioideae) do campo experimental da Embrapa Amazônia Oriental, Município de Moju, Estado do Pará, Brasil.

SHAKERI, Majid et al. Strategies to combat heat stress in broiler chickens: Unveiling the roles of selenium, vitamin E and vitamin C. **Veterinary Sciences**, v. 7, n. 2, p. 71, 2020. <https://www.mdpi.com/2306-7381/7/2/71>. Acesso em: 30 abr. 2025.

SIEGEL, HS. Efeito da densidade populacional no eixo cortical pituitário-adrenal de galos. **Poultry Science**, v. 39, n. 2, p. 500-510, 1960. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119483636>. Acesso em: 30 abr. 2025.

SILVA, N. F. da; MINAFRA, C. S.; SANTOS, F. R. dos. FITOTERÁPICOS E SAÚDE INTESTINAL NA AVICULTURA. *Ciência Animal*, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 118 a 134, 2024. Disponível em: <https://revistas.uece.br/index.php/cienciaanimal/article/view/12882>. Acesso em: 1 maio. 2025.

STROBER, W., Fuss, I.J. and Blumberg, R.S. (2002). The immunology of mucosal models of inflammation. *Annu. Rev. Immunol.* 20, 495–549.

SIES, Helmut. What is oxidative stress? In: *Oxidative stress and vascular disease*. Boston, MA: Springer US, 1985. p. 1-8.

SOHAIL, Muhammad Umar et al. Alívio do estresse térmico cíclico em frangos de corte pela suplementação dietética de mananoligossacarídeo e probiótico à base de *Lactobacillus*: Dinâmica do cortisol, hormônios tireoidianos, colesterol, proteína C-reativa e imunidade humoral. **Poultry Science**, v. 89, n. 9, p. 1934-1938, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119448931>. Acesso em: 30 abr. 2025.

SOHAIL, Muhammad Umar et al. Efeitos isolados ou combinados de mananoligossacarídeos e suplementos probióticos sobre os oxidantes totais, antioxidantes totais, antioxidantes

enzimáticos, enzimas hepáticas e oligoelementos séricos em frangos de corte submetidos a estresse térmico cíclico. **Poultry Science**, v. 90, n. 11, p. 2573-2577, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032579119423183>. Acesso em: 30 abr. 2025.

SOUSA, L. P. et al. Libidibia ferrea extract modulates inflammatory response in experimental models. *Inflammopharmacology*, v. 30, n. 4, p. 1387-1398, 2022.

SILVA, Erika Oliveira da. Avaliação da resposta Linfoproliferativa in vitro com células mononucleares do sangue periférico (PBMC) de pacientes com Leishmaniose cutânea antes e após tratamento. 2022.

SWAIN, SUSAN L. et al. IL-4 directs the development of Th2-like helper effectors. **Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)**, v. 145, n. 11, p. 3796-3806, 1990.

VAN POUCKE, Enya; SUCHÁNKOVÁ, Hedvika; JENSEN, Per. Commercial hatchery processing may affect susceptibility to stress in laying hens. **PloS one**, v. 18, n. 9, p. e0291324, 2023.

VELLOSA, José Carlos Rebuglio et al. Estresse oxidativo: uma introdução ao estado da arte. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 10152-10168, 2021.

VIEIRA, Sara F. et al. Plant-derived bioactive compounds as key players in the modulation of immune-related conditions. **Phytochemistry Reviews**, p. 1-118, 2024.

WIGLEY, Paul; KAISER, Pete. Avian cytokines in health and disease. **Brazilian Journal of Poultry Science**, v. 5, p. 1-14, 2003.

WYREPKOWSKI, CC et al. Caracterização e quantificação dos compostos do extrato etanólico da casca do caule de *Caesalpinia ferrea* e avaliação de sua atividade mutagênica. **Molecules**, v. 19, p. 16039-...