### AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO ABOMASO E CECO-CÓLON DE BOVINOS

MILTON GHEDINI CARDOSO

#### MILTON GHEDINI CARDOSO

# AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO ABOMASO E CECO-CÓLON DE BOVINOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de concentração em Medicina da Produção Animal, para obtenção do título de "Mestre".

Orientador

Prof. Dr. João Chrysostomo de Resende Júnior

LAVRAS MINAS GERAIS – BRASIL 2009

#### Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFLA

Cardoso, Milton Ghedini.

Avaliação morfológica do abomaso e ceco-cólon de bovinos / Milton Ghedini Cardoso. – Lavras : UFLA, 2009. 59 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2009. Orientador: João Chrysostomo de Resende Júnior. Bibliografia.

1. Câmara de fermentação distal. 2. Estômago. 3. Índice mitótico. 4. Intestino grosso. 5. Superfície absortiva. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD - 636.2085

#### MILTON GHEDINI CARDOSO

## AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO ABOMASO E CECO-CÓLON DE BOVINOS

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Curso de Mestrado em Ciências Veterinárias, área de concentração em Medicina da Produção Animal, para obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 19 de fevereiro de 2009

Prof<sup>a</sup>. Dra. Cristina Delarete Drummond UFLA

Prof<sup>a</sup>. Dra. Priscila Vieira Rosa Logato UFLA

Prof<sup>a</sup>. Dra. Suely de Fátima Costa UFLA

Prof. Dr. João Chrysostomo de Resende Júnior UFLA (ORIENTADOR)

> LAVRAS MINAS GERAIS – BRASIL

Aos meus pais Milton e Egly

Dedico

#### **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, irmãos e demais familiares, pelo amor e incentivo.

À minha namorada Monica em especial, que me apoiou de perto e sempre me incentivou a continuar, assim como seus familiares.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao programa de pósgraduação em Ciências Veterinárias, o qual me ajudou em meu crescimento profissional.

Ao professor João Chrysostomo de Resende Júnior, pela oportunidade e pela orientação em meu mestrado.

Às professoras Cristina Delarete Drummond, Priscila Vieira Rosa Logato e Suely de Fátima Costa, pelas valiosas sugestões.

À CAPES pela concessão da bolsa.

Aos amigos João Luiz, Leandra Melo, Matheus Moreira, Ronaldo Lima, Tiago Teófilo e Thiago pela ajuda indispensável.

Aos técnicos dos laboratórios da UFLA, em especial o Marcos, o Willian e o José Rodrigues pelo apoio.

Aos demais que contribuíram indiretamente para a realização desse trabalho.

### **SUMÁRIO**

|  | Página  |
|--|---------|
| RESUMO   | i       |
| ABSTRACT   | ii      |
| CAPÍTULO 1   | 1       |
| 1 INTRODUÇÃO   | 1       |
| 2 OBJETIVOS  | 3       |
| 2.1 Objetivo geral   | 3       |
| 2.2 Objetivos específicos  | 3       |
| 3 REFERÊNCIAL TEÓRICO  | 4       |
| 3.1 Aspectos morfológicos do estômago e do ceco-cólon de rumina      | intes.4 |
| 3.1.1 Aspectos anatômicos  | 4       |
| 3.1.2 Aspectos histológicos  | 6       |
| 3.2 Absorção de AGV  | 8       |
| 3.3 Fatores que influenciam a proliferação celular no TGI            | 15      |
| 3.4 Fermentação microbiana no ceco-cólon                             | 19      |
| 3.4.1 Volume e fluxo   | 19      |
| 3.4.2 Absorção de água e minerais                                    | 20      |
| 3.4.3 Fermentação e metabolismo de carboidratos                      | 20      |
| 3.4.4 Metabolismo de nitrogênio                                      | 24      |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS   | 26      |
| 4.1 Local de condução do experimento e animais                       | 26      |
| 4.2 Coleta de material no abatedouro                                 | 26      |
| 4.3 Digitalização das imagens e estimativa de superfície absortiva . | 26      |
| 4.4 Preparações histológicas   | 27      |
| 4.5 Determinação do índice mitótico                                  | 29      |

| 4. | 6 Análises estatísticas    | .29 |
|----|----------------------------|-----|
| 5  | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | .31 |
| C  | APÍTULO 2                  | .41 |
| 1  | RESUMO                     | .43 |
| 2  | ABSTRACT                   | .43 |
| 3  | INTRODUÇÃO                 | .44 |
| 4  | MATERIAL E MÉTODOS         | .46 |
| 5  | RESULTADOS E DISCUSSÃO     | .48 |
| 6  | CONCLUSÕES                 | .55 |
| 7  | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | .55 |
| 8  | CONSIDERAÇÕES FINAIS       | .59 |
|    |                            |     |

#### **RESUMO**

CARDOSO, Milton Ghedini. **Avaliação morfológica do abomaso e ceco-cólon de bovinos.** 2009. 63 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

A morfofisiologia relacionada à absorção de ácidos graxos voláteis (AGV) ao longo do trato gastrintestinal de ruminantes não é totalmente caracterizada. A elucidação do comportamento dos AGV em todos os sítios de produção e absorção pode contribuir para a adoção de estratégias nutricionais que maximizem o aproveitamento dos alimentos e minimizem a ocorrência de distúrbios digestivos em ruminantes. Objetivou-se mensurar a extensão da superfície absortiva e determinar o índice mitótico (IM) do abomaso e do cecocólon de bovinos adultos. Dez bovinos mesticos adultos tiveram seu estômago e intestino grosso removidos imediatamente após o abate. A área total da superfície absortiva foi mensurada por meio de digitalização e análise de imagens. Cortes histológicos foram feitos para mensurar a proliferação celular, através do IM. A superfície absortiva do abomaso  $(0.58 \text{ m}^2)$  foi menor (P <0,01) do que a do rúmen (6,53 m<sup>2</sup>) e do omaso (2,31 m<sup>2</sup>). A região das pregas espirais do abomaso representou 91 % (0,53 m<sup>2</sup>) da superfície absortiva do abomaso e o peso (g) da mucosa + submucosa dessa região apresentou correlação positiva e alta ( $r^2 = 0.94$ ) com a superfície absortiva do abomaso. A superfície absortiva do ceco-cólon (0,23 m<sup>2</sup>) correspondeu a 3,5 % da superfície do rúmen e a 10 % da superfície do omaso. O ceco e alca proximal do cólon ascendente apresentaram superfícies de 0,11 m<sup>2</sup> e 0,12 m<sup>2</sup>; respectivamente. O ceco-cólon possui alta eficiência em produção de energia metabolizável por superfície absortiva. O IM entre os diferentes segmentos estudados foram diferentes e os valores observados foram de 0,48 %; 0,14 %; 0,36 % e 0,41 % para as regiões de pregas espirais, pilórica, ceco e alça proximal do cólon ascendente, respectivamente. Observou-se uma correlação positiva entre a massa tecidual do abomaso e a área de superfície absortiva. Foi possível estabelecer regressões para facilitar a mensuração da superfície absortiva do abomaso e ceco-cólon.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Comitê Orientador: Dr. João Chrysostomo de Resende Júnior – UFLA (Orientador), Dr. Mario César Guerreiro – UFLA e Dra. Suely de Fátima Costa – UFLA (Co-orientadores).

#### **ABSTRACT**

CARDOSO, Milton Ghedini. **Morphologic evaluation of abomasum and cecum-colon of bovines.** 2009. 63 p. Dissertation (Master in Veterinary Science) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.<sup>1</sup>

The morphophysiology related to volatile fatty acids (VFA) absorption throughout the gastrointestinal tract of ruminants is not totally characterized. The elucidation of VFA behavior in all production and absorption sites can contribute to the adoption of nutritional strategies aiming to maximize food utilization and to reduce the occurrence of digestive disturbances in ruminants. The aim of this work was to measure the extent of the abomasum and cecumcolon absorptive surface and determine the mitotic index (MI). Ten adult crossbred bovines had their stomach and large intestine removed after slaughter. The total area of the absorptive surface was measured through image capture and analysis. Histological sections were done to measure cellular proliferation, through the MI. The abomasum absorptive surface  $(0.58 \text{ m}^2)$  was lower (P <0.01) than that of the rumen (6.53 m<sup>2</sup>) and omasum (2.31m<sup>2</sup>). The spiral folds region of the abomasum represented 91 % (0.53 m<sup>2</sup>) of the abomasum absorptive surface and the weight (g) of the mucosa + sub mucosa of this region presented positive and high correlation ( $r^2 = 0.94$ ) with the abomasum absorptive surface. The cecum-colon absorptive surface (0.23 m<sup>2</sup>) corresponded to 3.5% of that of the rumen and 10 % of that of the omasum. Cecum and ascending colon proximal loop presented a surface of  $0.11 \text{m}^2$  and  $0.12 \text{ m}^2$ ; respectively. The cecum-colon has a high capacity to produce metabolizable energy in its absorptive surface. The MI among different studied segments were different and the values observed were 0.48 %; 0.14 %; 0.36 % and 0.41 % for the spiral folds, pyloric, cecum and ascending colon proximal loop regions, respectively. Positive correlation was observed between tissue mass and absorptive surface of the abomasum. It allowed to establish regressions to facilitate the measuring of abomasum and cecum-colon absorptive surface.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>**Graduate Committee:** Dr. João Chrysostomo de Resende Júnior – UFLA (Advisor), Dr. Mario César Guerreiro – UFLA and Dra. Suely de Fátima Costa – UFLA. (Co-advisor).

#### **CAPÍTULO 1**

#### 1 INTRODUÇÃO

A digestão de carboidratos como a celulose e a hemicelulose não pode ser feita por enzimas oriundas de mamíferos, exigindo um processo que envolve a colonização do trato gastrintestinal (TGI) por microorganismos simbióticos. Os ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos no TGI, como subprodutos do metabolismo microbiano de nutrientes, podem prover grande parte da exigência diária de energia dos ruminantes e as maiores concentrações de AGV ocorrem no ruminorretículo e no ceco-cólon.

A remoção (*clearance*) desses AGV do ruminorretículo ocorre por dois processos: absorção pela parede do órgão e passagem para o omaso juntamente com a fase fluida ruminal. A maior parte dos AGV é absorvida no ruminorretículo e omaso, mas uma pequena concentração de AGV atinge o abomaso, provavelmente incorporada ao fluido que não atingiu os recessos interlaminares do omaso. Caso ocorra uma concentração alta de AGV, não absorvidos no omaso, atingindo o abomaso, pode causar hipomotilidade do órgão, a qual consiste em um dos fatores predisponentes do deslocamento de abomaso em bovinos. Um provável aumento na superfície absortiva do abomaso poderia evitar sobrecarga, devido à diminuição da concentração molar de AGV absorvida por área.

O ceco e a alça proximal do cólon ascendente, segmentos anatômicos do intestino grosso, são sítios importantes de produção e absorção de nutrientes. Devido à ausência de barreira anatômica entre os dois segmentos, muitas vezes são considerados um segmento anatômico único, denominado, em ruminantes, ceco-cólon. Ao contrário do ruminorretículo, o ceco-cólon, não tem grande capacidade de retenção de digesta. A produção ceco-cólica de AGV contribui com uma parte da energia metabolizável absorvida diariamente pelos

ruminantes. Poucos trabalhos estudaram o comportamento dos AGV no abomaso e intestino grosso e também não existem trabalhos que estabeleceram a extensão da superfície interna desses segmentos anatômicos.

O índice mitótico (IM) é considerado um dos melhores marcadores morfológicos de proliferação do epitélio do rúmen e já foram estabelecidas correlações entre o IM e as taxas fracionais de absorção e metabolização de AGV. No entanto, não foram encontradas informações sobre valores de IM no abomaso e no ceco-cólon de bovinos. O conhecimento das características morfofisiológicas básicas desses órgãos é de grande importância, para contribuir na adoção de estratégias nutricionais que minimizem a ocorrência de distúrbios digestivos em ruminantes.

#### 2 OBJETIVOS

#### 2.1 Objetivo geral

 Aprofundar o conhecimento sobre a distribuição da absorção de ácidos graxos voláteis no trato gastrintestinal de bovinos, elucidando características ainda desconhecidas relacionadas ao abomaso e intestino grosso.

#### 2.2 Objetivos específicos

- Mensurar a área de superfície absortiva do abomaso.
- Mensurar a área de superfície absortiva do ceco e da alça proximal do cólon ascendente do intestino grosso.
- Correlacionar a área de superfície absortiva do abomaso, ceco e alça proximal do cólon ascendente, com a área de superfície absortiva dos compartimentos da região aglandular do estômago estimadas por regressão.
- Gerar regressões para determinar a superfície absortiva do abomaso, ceco e alça proximal do cólon ascendente através de técnicas de fácil mensuração.
- Determinar o índice mitótico no abomaso, ceco e alça proximal do cólon ascendente.

#### 3 REFERÊNCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Aspectos morfológicos do estômago e do ceco-cólon de ruminantes

#### 3.1.1 Aspectos anatômicos

O estômago dos ruminantes é constituído por quatro compartimentos, morfologicamente distintos: rúmen, retículo, omaso e abomaso. Os três primeiros constituem a parte aglandular do estômago. O abomaso constitui a parte glandular do estômago, onde é produzida a secreção gástrica e ocorre a ação desta sobre a digesta (Dellmann & Brown, 1982; Nickel et al., 1979).

Os dois primeiros compartimentos, o rúmen e o retículo, freqüentemente são considerados uma só câmara, denominada ruminorretículo ou câmara de fermentação proximal, devido à ausência de barreira anatômica consistente entre elas. Esse órgão é responsável por cerca de 84 % da capacidade de armazenamento do estômago, com uma capacidade média de 125 litros, além de ocupar a maior parte da cavidade abdominal, especialmente o antímero esquerdo (Church, 1993; Nickel et al., 1979). O ruminorretículo é o principal local de ação dos microorganismos simbióticos sobre a matéria orgânica da dieta (Soest, 1994). A superfície interna do rúmen é caracterizada pela presença de papilas, que são projeções que aumentam a superfície de contato deste órgão (Banks, 1992) possibilitando maior capacidade de absorção de AGV (Dirksen et al., 1985).

O retículo é um órgão esférico, ligeiramente achatado craniocaudalmente, relacionado às funções mecânicas como a motilidade e a seleção de partículas (Soest, 1994). Sua superfície é caracterizada pela presença de projeções anastomosadas denominadas cristas, que delimitam áreas poligonais, as células do retículo (Nickel et al., 1979). Na parede, em sentido crânio-medial, encontra-se o sulco do retículo (Nickel et al., 1979), responsável pelo desvio de alimentos fluidos do esôfago para o abomaso, principalmente em

ruminantes jovens (Ørskov et al., 1970a), pois, em animais adultos, apenas 30% da água de bebida ingerida é desviada do ambiente ruminal (Daniel et al., 2007). O terceiro compartimento, o omaso, é especializado em absorção (Bueno et al., 1972). Sua mucosa apresenta extensas projeções, de diferentes tamanhos e suas lâminas são sobrepostas umas às outras, como as folhas de um livro (Nickel et al., 1979). Os espaços entre as lâminas são denominados recessos interlaminares e ficam preenchidos por digesta.

O abomaso é o mais distal dos quatro compartimentos e possui uma mucosa gástrica glandular similar aos outros mamíferos. A mucosa é dividida em duas regiões: a região de glândulas fúndicas e a região de glândulas pilóricas. A região das glândulas fúndicas localiza-se nas regiões do fundo e corpo do abomaso. A mucosa dessa região possui uma coloração avermelhada e é disposta em grandes pregas espirais de forma oblíqua, num eixo longitudinal do corpo do abomaso que se estendem até a transição com a região pilórica. Já a região das glândulas pilóricas coincide com a região pilórica do abomaso. A mucosa possui uma coloração amarelada e uma maior espessura. O esfíncter pilórico não é bem desenvolvido nos ruminantes, por isso desenvolveu-se o tórus pilórico, que é uma protuberância arredondada, formada por tecido adiposo e camada circular média da túnica muscular, com mais ou menos 3 cm de diâmetro, localizado na curvatura menor, que tem como função aumentar a ação constritiva do esfíncter pilórico contra o duodeno. Existe também uma pequena região de glândulas cárdicas, localizadas na transição entre o omaso e o abomaso (Nickel et al., 1979; Church, 1993).

Não existe barreira anatômica consistente entre o ceco e a alça proximal do cólon ascendente, segmentos anatômicos do intestino grosso (IG). Sendo assim, a digesta está constantemente circulando entre esses compartimentos devido à motilidade visceral e, por isso, são considerados como um único segmento anatômico em ruminantes, denominada câmara de fermentação distal

(Church, 1993), ou ceco-cólon. O ceco constitui-se de um tubo com fundo cego, que possui um diâmetro de cerca de 12 cm. Já a alça proximal do cólon ascendente é uma continuação do ceco, em formato de "S", que se estreita subitamente antes de prosseguir como cólon espiral. Ao contrário do ruminorretículo, o ceco-cólon, não tem grande capacidade de retenção de digesta. O volume de conteúdo varia com o influxo, podendo corresponder a 20 % do volume contido no rúmen e possuir um tempo de retenção de 10 a 29 horas (Hoover, 1978).

#### 3.1.2 Aspectos histológicos

A parede do estômago é composta pelas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa, no sentido do lúmen para a cavidade abdominal, embora existam peculiaridades entre os compartimentos. O epitélio que reveste internamente a parede do rúmen, retículo e omaso (parte aglandular do estômago) é do tipo estratificado, pavimentoso, queratinizado, de espessura variável e formado pelas camadas basal, espinhosa, granulosa e córnea dispostas nesta ordem, da base para o lúmen (Banks, 1992; Dellmann & Brown, 1982).

Os tamanhos das papilas ruminais estão correlacionados à proliferação do epitélio ruminal que ocorre na camada basal (Sakata & Tamate, 1974; Goodlad, 1981), bem como à intensidade do fluxo sanguíneo no órgão (Tamate et al., 1974). No retículo, observa-se a presença da muscular da mucosa localizada no ápice das cristas do retículo, sendo que no omaso, fibras da túnica muscular interna se projetam para o interior das lâminas, com disposição perpendicular à muscular da mucosa (Banks, 1992).

O abomaso (parte glandular do estômago) possui as mesmas características histológicas do estômago dos não ruminantes. A parede do órgão é formada pelas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa. A túnica mucosa é formada pelo epitélio de revestimento colunar simples, por tecido

conjuntivo frouxo da lâmina própria e muscular da mucosa. O epitélio de revestimento sofre invaginações em direção à lâmina própria, dando origem às fossetas gástricas. As glândulas gástricas localizadas na mucosa do abomaso variam de acordo com a região e são denominadas glândulas cárdicas, fúndicas e pilóricas. Elas desembocam no fundo das fossetas gástricas, que atuam como pequenos dutos que transportam secreções gástricas para a luz do abomaso (Delmann & Brown, 1982; Henrikson et al., 1999).

As glândulas cárdicas são secretoras de muco e localizam-se em uma pequena faixa de transição entre a mucosa do omaso e do abomaso. As glândulas fúndicas estão localizadas nas regiões de corpo e fundo, que corresponde anatomicamente à região das pregas espirais. Elas são mais numerosas, ocupam quase toda a totalidade da lâmina própria e são as responsáveis pela síntese e secreção do suco gástrico. Já as glândulas pilóricas localizam-se na região pilórica do abomaso e secretam muco (Delmann & Brown, 1982; Henrikson et al., 1999).

A túnica submucosa é constituída por tecido conjuntivo frouxo a denso, que contém vasos sanguíneos, nervos e tecido adiposo. As pregas espirais são projeções da túnica mucosa e submucosa. A túnica muscular lisa possui três camadas: uma camada interna oblíqua, uma camada circular média e uma camada longitudinal externa. O plexo mioentérico apresenta-se localizado entre as camadas musculares média e externa. Já a túnica serosa é composta por mesotélio sobreposto a uma camada de tecido conjuntivo frouxo (Delmann & Brown, 1982; Henrikson et al., 1999).

O ceco e a alça proximal do cólon ascendente não diferem histologicamente. A parede é constituída pelas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa. Na túnica mucosa, encontra-se um epitélio de revestimento simples colunar, rico em células caliciformes. No tecido conjuntivo frouxo da lâmina própria, encontram-se as glândulas intestinais (tubulosas e retas) e tecido

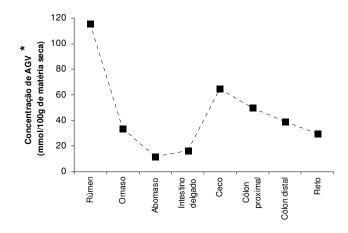
linfático. A túnica submucosa é constituída por tecido conjuntivo moderadamente denso, contendo plexo submucoso, além de vasos sanguíneos e linfáticos. A túnica muscular é formada por duas camadas concêntricas de músculo liso, que são a camada circular interna e a camada longitudinal externa. A túnica serosa consiste em um tecido conjuntivo frouxo recoberto pelo mesotélio (Henrikson et al., 1999).

#### 3.2 Absorção de AGV

A digestão de carboidratos estruturais, como a celulose, a hemicelulose e a pectina, não pode ser feita por enzimas produzidas por mamíferos (Soest, 1994), exigindo um processo que envolve a colonização do trato gastrintestinal (TGI) por microorganismos simbióticos (Stevens & Hume, 1998). Os ácidos graxos voláteis¹ (AGV) produzidos no TGI como subprodutos do metabolismo microbiano de nutrientes podem prover até 70% da exigência diária de energia dos ruminantes (Bergman, 1990) e as maiores concentrações de AGV ocorrem no ruminorretículo e no ceco-cólon (Elsden et al., 1946) (FIGURA 1).

-

¹ Os principais AGV – acetato, propionato e butirato − são ácidos carboxílicos normais com dois a quatro carbonos.



\* Valores médios das concentrações determinadas em bovinos e ovinos FIGURA 1 Concentrações de AGV ao longo do TGI de ruminantes. Fonte: Dados retirados de Elsden et al. (1946).

A concentração de AGV no fluido ruminorreticular é bastante variável, podendo oscilar de 70 a 150 mM em vacas de alta produção leiteira (Pereira & Armentano, 2000), além de ser dependente da composição da dieta e do tempo após a alimentação. Já no ceco-cólon a concentração pode variar de 70 a 135 mM para novilhos alimentados respectivamente com alta ou baixa inclusão de concentrado (Siciliano-Jones & Murphy, 1989). O pico de concentração no ruminorretículo ocorre geralmente entre 10 a 14 horas após a primeira alimentação do dia em vacas leiteiras alimentadas com dieta completa de alto conteúdo energético e fornecida uma (Pereira & Armentano, 2000), ou duas vezes ao dia (Salvador et al., 2008). Ao longo do dia, a concentração de AGV não flutua muito no ceco-cólon devido ao constante fluxo de digesta.

O padrão de fermentação¹ é determinado pela composição da população microbiana, que por sua vez é determinada pela dieta basal, particularmente pelo tipo de carboidrato dietético. Dietas baseadas em forragem apresentam altos teores de fibra, estimulam o crescimento de espécies de bactérias produtoras de acetato e a proporção molar entre acetato : propionato : butirato gira em torno de 70 : 20: 10 para ruminorretículo (Bergmam, 1990) e 75 :17 : 8 para ceco-cólon (De Gregorio et al., 1982). Enquanto dietas com concentrado, ricas em amido, propiciam o desenvolvimento de bactérias produtoras de propionato e estão associadas a um aumento na proporção molar de propionato em detrenimento do acetato, embora o acetato seja sempre o mais abundante dos AGV. Outros fatores também podem afetar o padrão de fermentação tais como a forma física da dieta, o nível de consumo, a freqüência de alimentação e o uso de aditivos químicos (France & Siddons, 1993).

A remoção (*clearance*) dos AGV no ruminorretículo ocorre por dois processos: i) absorção pela parede do órgão e ii) passagem para o omaso juntamente com a fase fluida ruminal (Peters et al., 1990). Se a taxa de produção de AGV exceder a taxa de *clearance*, haverá acúmulo desses dentro do ruminorretículo, podendo desencadear um distúrbio metabólico conhecido como acidose ruminal (Barker et al., 1995). Cerca de 60% do *clearance* ruminal de AGV acontece por absorção pela parede do ruminorretículo e os outros 40% passam para o omaso (Voelker & Allen, 2003; Resende Júnior, 2006b), que parece absorver a maioria dos AGV. Porém, uma quantidade razoável atinge o abomaso, já que 7 a 14 mM de AGV podem atingir o duodeno (Rupp et al., 1994), incorporada ao fluido que provavelmente não atingiu os recessos interlaminares do omaso. As áreas das superfícies epiteliais do ruminorretículo (Dirksen et al., 1985) e, provavelmente, do omaso estão diretamente

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Fermentação é um termo geral que denota a degradação anaeróbica da glicose ou de outros nutrientes orgânicos em vários produtos (característicos para os diferentes organismos) para obter energia na forma de ATP (Lehninger et al., 1995).

relacionadas à capacidade de absorção de AGV. Na mesma unidade de área, existe diferença entre a velocidade de absorção de AGV pela parede do rúmen e pela parede do omaso (Daniel, 2007), demonstrando que os fatores determinantes da absorção de AGV variam conforme as características morfofisiológicas dos diferentes segmentos do TGI.

Os AGV são absorvidos pela parede do rúmen na forma dissociada (AGV<sup>-</sup>) e na forma não dissociada (HAGV) (Kramer et al., 1996; Gäbel et al., 2002). Como o pK<sub>a</sub> dos AGV estão em torno de 4,8 (Cummings et al., 1995) e o pH do ambiente ruminorreticular normalmente está entre 5,8 a 7,2; pode-se observar que a maioria dos AGV estão na forma AGV<sup>-</sup> no fluido ruminal (> 90 %), de acordo com a equação de Henderson-Hasselbalch<sup>1</sup>. Em baixos valores de pH os AGV são mais rapidamente absorvidos (Dijkstra et al., 1993) devido ao aumento na proporção de formas HAGV. No entanto, isto se reflete em um pequeno aumento do *clearance* de AGV (Cummings et al., 1995), ou seja, a taxa de absorção não é proporcional à concentração de HAGV.

Uma fonte de prótons H<sup>+</sup> ocorre pelo mecanismo de anti-porte com o sódio (Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>) (Martens et al., 1991), o que propicia a formação de um micro-ambiente ácido, aumentando a concentração de HAGV, que por sua vez permeiam facilmente a membrana das células por difusão. Os H<sup>+</sup> são oriundos da dissociação do ácido carbônico (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). A partir do gás carbônico (CO<sub>2</sub>) e água (H<sub>2</sub>O) (Gäbel et al., 2002), a produção de H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> é catalisada pela anidrase carbônica presente no epitélio ruminal (Carter, 1971). O CO<sub>2</sub> da célula epitelial vem do sangue e do metabolismo de AGV intracelular (Gäbel et al., 2002).

Os AGV<sup>-</sup> também podem atravessar a membrana celular através de um mecanismo de antiporte envolvendo o bicarbonato (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) (Kramer et al., 1996; Gäbel et al., 2002). O HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> é derivado a partir da dissociação do H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Os

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> pH = pK<sub>a</sub> +  $log_{10}([A^{-}]/[AH])$ 

AGV também competem com o Cl pelos sítios de ligação do mecanismo antiporte AGV -HCO<sub>3</sub> (Kramer et al., 1996; Sehested et al., 1999).

Desde as primeiras pesquisas demonstrou-se que a quantidade de AGV absorvida não se refletia na quantidade de AGV que atingia o sangue portal (Masson & Phillipson, 1951). Gäbel et al. (2001) ao comparar o transporte epitelial do *n*-butirato ("facilmente metabolizável") com o transporte do *iso*-butirato ("resistente ao metabolismo"), em condições *in vivo* e *in vitro* concluíram que o metabolismo e/ou a disponibilidade de ATP estimulou a absorção líquida de *n*-butirato e com isso, o epitélio poderia ter uma influência regulatória sobre a absorção de *n*-butirato. Nos estudos *in vitro*, não se observaram resultados significativos na metabolização do acetato e o propionato, provavelmente porque estes ácidos são pouco metabolizados pelo epitélio ruminal (Kristensen et al., 2000; Kristensen & Harmon, 2004).

Como visto, a absorção de AGV pode ocorrer sob as formas HAGV ou AGV. A remoção dos AGV do fluido ruminorreticular ajuda na manutenção do pH ruminorreticular, porém os HAGV absorvidos são potencialmente danosos ao ambiente citosólico das células epiteliais (Gäbel et al., 2002). A absorção de HAGV diminui diretamente o pH intracelular (pH<sub>i</sub>) devido a liberação dos prótons H<sup>+</sup>. O antiporte AGV<sup>-</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> também leva à acidificação indireta do ambiente citosólico, já que o HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (pK<sub>a</sub> = 6,1) é substituído por AGV<sup>-</sup> (pK<sub>a</sub> = 4,8), diminuindo a capacidade tampão do citosol (Gäbel et al., 2002). O antiporte Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> na membrana apical das células é, provavelmente, um dos principais mecanismos que ajudam a manter o pH<sub>i</sub> (Müller et al., 2000). Além desse mecanismo na membrana apical, também existe um antiporte Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup> secundário e um mecanismo de captação de bicarbonato na membrana basolateral (Müller et al., 2000), assim como uma possível exportação ativa de íons H<sup>+</sup> pela membrana apical da célula. (Gäbel et al., 2007), Gäbel et al. (2007),

sugere que a importação de bicarbonato seja feita via isoforma 1 do cotransportador Na<sup>+</sup>-HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> (NBC1).

Após a absorção dos AGV, eles são transportados para fora da célula ou então metabolizados. O metabolismo intracelular dos AGV leva à produção de corpos cetônicos (acetoacetato e 3-OH-butitato) e lactato, que não podem atravessar a membrana por difusão passiva, necessitando de proteínas transportadoras específicas. Müller et al. (2002) demonstraram a presença de mRNA e da proteína isoforma 1 do transportador monocarboxilato (MCT1) em células intactas ou cultivadas, do epitélio ruminal de ovinos e concluíram que o MCT1 funciona como um mecanismo importante de remoção de corpos cetônicos e lactato, juntamente com prótons, do citosol para o sangue, ajudando na regulação do pH<sub>i</sub>.

Os mecanismos de transferência de AGV do citoplasma para o sangue, através da membrana basolateral, provavelmente ocorrem sob as duas formas HAGV e AGV. Existe a possibilidade dos AGV atravessarem a membrana basolateral sob a forma HAGV. Porém, no citoplasma, (pH<sub>i</sub> ~ 7,4), 99,75 % dos AGV estão sob a forma AGV e precisariam de um mecanismo de exportação para atingirem o sangue. Foi então proposto que o MCT1 estava envolvido no transporte de AGV pelo epitélio ruminal. Também indentificou-se a distribuição do MCT1 ao longo do TGI de caprinos (Kirat et al., 2006). A RT-PCR revelou a presença de mRNA para MCT1 em todas as regiões do TGI. Uma análise quantitativa, por meio de Western blot, mostrou que o nível de proteína MCT1 seguiu a ordem rúmen >= retículo > omaso > ceco > cólon proximal > cólon distal > abomaso > intestino delgado.

Fundamentado em dados da literatura, Daniel (2007) apresenta um resumo (FIGURA 2) dos mecanismos de absorção e metabolização pelo epitélio ruminal.

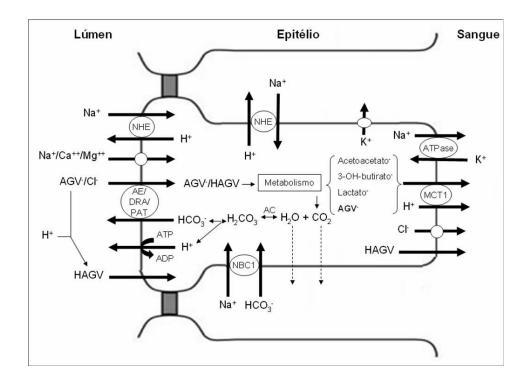


FIGURA 2 Mecanismo de transporte de ácidos graxos voláteis no epitélio ruminal. NHE: antiporte Na<sup>+</sup>-H<sup>+</sup>. AE: *anion exchanger*. DRA: *down-regulated in adenoma*. PAT: *putative*.

Fonte: Daniel (2007).

O transporte dos AGV em outros segmentos do TGI (omaso, abomaso e ceco-cólon) não foi muito estudado ainda. Em relação ao omaso, verificou-se que apenas um trabalho estudou o transporte de AGV pelo epitélio (Ali et al., 2006). Neste, grande parte dos mecanismos de transporte muco-serosal demonstraram ser iguais aos que ocorrem no rúmen, como a influência do pH, da concentração dos AGV, a inexistência de competição no transporte entre os AGV, o antiporte HCO<sub>3</sub>-AGV. Porém, duas diferenças importantes foram observadas através da inexistência de um antiporte entre HCO<sub>3</sub>-AGV e da

inversão do antiporte HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Cl<sup>-</sup>. Devido à inexistência do antiporte entre HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-AGV<sup>-</sup>, torna-se muito importante a absorção de AGV<sup>-</sup> através da ligação com o H<sup>+</sup> secretado pelo epitélio. Já a inversão do antiporte HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Cl<sup>-</sup> é um mecanismo importante para reciclar HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, já que o próximo segmento do TGI é o abomaso, onde o pH diminui bruscamente. Para esse segmento, não existem trabalhos demonstrando o mecanismo de absorção dos AGV, mas, provavelmente, seja similar ao que ocorre no omaso, já que nele se verifica grande secreção de H<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> para a formação do suco gástrico, onde o pH encontra-se próximo a 3 (Kern et al., 1974), fazendo com que a maioria dos AGV estejam sob a forma HAGV.

Numa revisão feita por Cummings et al. (1995), é apresentado um modelo de absorção de AGV semelhante ao do rúmen, onde os AGV são absorvidos na forma HAGV ou na forma AGV<sup>-</sup>, através de um antiporte HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-AGV<sup>-</sup>. A presença de um mecanismo de exportação (MCT1) dos AGV<sup>-</sup> presente no citosol, através da membrana basolateral, já foi demonstrada por Kirat et al. (2006).

#### 3.3 Fatores que influenciam a proliferação celular no TGI

O índice mitótico (IM) é considerado um dos melhores marcadores morfológicos de proliferação do epitélio do rúmen (Resende Júnior et al., 2006a) e já foram estabelecidas correlações entre o IM e as taxas fracionais de absorção e metabolização de AGV (Daniel, 2007). Desde a década de setenta, vários pesquisadores vêm estudando os fatores que influenciam na proliferação do epitélio ruminal. Tamate et al. (1974) e Resende Júnior et al. (2006a), demonstraram que o jejum diminui drasticamente o IM. Sakata & Tamate (1974) observaram que a baixa freqüência alimentar estimulava maiores IM. As variações observadas pelos pesquisadores provavelmente deviam-se às variações nos produtos de fermentação, ou seja, à concentração de AGV.

Sakata & Tamate (1976, 1978, 1979) estudaram o efeito de injeções intra-ruminais de acetato, propionato ou butirato de sódio sobre o IM do epitélio ruminal de carneiros. Quando comparados aos animais que foram infundidos com solução salina, como controle (Sakata & Tamate, 1976), os animais que receberam infusões diárias de uma solução de butirato de sódio a 10 % tiveram o IM aumentado até atingir um pico (≥ 1,22 %) entre os dias três e seis. Ao testar a velocidade infusão de butirato de sódio (rápida ou lenta) sobre a proliferação do epitélio ruminal (Sakata & Tamate, 1978) observaram que animais infundidos rapidamente com butirato apresentaram maiores picos de IM do que os animais infundidos lentamente, ao longo de 24 horas. Quando os efeitos de acetato e propionato sobre a proliferação do epitélio ruminal foram verificados, Sakata & Tamate (1979) observaram que o IM aumentou após infusão intra-ruminal de propionato e acetato até atingir um pico, dois a quatro dias após o início da infusão e, então, declinou. Ficou então demonstrado tanto o efeito dos AGV sobre o IM, como o fato de que, após atingir o pico de proliferação celular, o epitélio volta o IM a valores normais.

Na década de 80, Goodlad (1981) conseguiu determinar a duração do ciclo celular da camada basal, o tempo de renovação da camada basal e de renovação do epitélio inteiro em carneiros recebendo alimentação à base de forragem e concentrado. Para se obter a determinação quantitativa da divisão celular no epitélio ruminal, utilizou-se metil[³H]timidina como marcador de pares de bases do DNA. Dois carneiros foram alimentados por um período com forragem, passando, gradativamente para alimentação concentrada, seguida por um período de alimentação exclusivamente à base de concentrados por vários meses. Aos 5 e 6 dias após o início da mudança, o IM na transição da dieta de forragem para concentrado atingiu, aproximadamente, o dobro do detectado na dieta de forragem. Isto foi seguido por um agudo declínio, atingindo valores próximos aos observados inicialmente, no oitavo dia. A duração do ciclo celular

da camada basal encontrada para os períodos de dieta de forragem, transição e concentrada foi respectivamente de 23,1; 17 e 24,4 horas. O tempo de renovação da camada basal na dieta de forragem foi 7,5 dias, baixando para 1,9 dias durante a transição e 4,1 dias após vários meses com concentrado. Já a estimativa de renovação do epitélio inteiro para os períodos de dieta de forragem, transição e concentrada, foi respectivamente de 16,5; 4,3 e 10,9 dias. Estes dados indicam que o efeito agudo da introdução de concentrados estimula a proliferação celular mais que seu efeito crônico. Isto provavelmente acontece porque na transição de forragem para concentrado, uma maior superfície absortiva do epitélio ruminal deve ser atingida para possibilitar a absorção dos AGV. Uma vez atingida, o IM cai a uma taxa capaz de possibilitar a reposição de células metabolicamente ativas.

Ao contrário do que ocorria em experimentos *in vivo*, o acido butírico inibia a proliferação de células de mamíferos, *in vitro* (Ginsburg et al., 1973). Esta contradição entre estudos *in vivo* e *in vitro* a existência de mediadores, não presentes nos estudos *in vitro*. È sabido que a insulina é um dos fatores essenciais para a proliferação de células *in vitro* (Bottenstein et al., 1979). Para verificar o efeito da insulina na proliferação do epitélio ruminal Sakata et al. (1980) infundiram insulina (0,125 UI/kg de peso corporal por hora) juntamente com glicose (300 mg/kg de peso corporal por hora) em carneiros adaptados com cânulas ruminais para prevenir hipoglicemia. O IM dos carneiros que receberam insulina mais glicose aumentou significativamente entre zero e três horas após a infusão, permaneceu alto por até 24 horas e retornou ao valor inicial 48 horas após a infusão. Nos carneiros infundidos apenas com glicose, o IM também aumentou significativamente no período entre 6 e 24 horas, mas foi menor que o IM nos animais infundidos com insulina e glicose. O IM do controle com salina não mostrou flutuações marcadas durante o experimento.

Ainda para esclarecer os mecanismos indiretos pelos quais os AGV estimulam a proliferação do epitélio ruminal, Shen et al. (2004) testaram a influência de teores altos e baixos de nutrientes nas mudanças das concentração plasmáticas do fator de crescimento, semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) e do número de receptores de IGF-1 (IGF-1R) nas papilas ruminais. A concentração plasmática de IGF-1 nos animais que receberam uma dieta com alto teor de nutrientes foi aproximadamente o dobro daquela verificada nos animais que consumiram dieta com menor concentração de nutrientes. A capacidade de ligação máxima dos receptores de IGF-I nas papilas ruminais foi maior nos animais que receberam uma dieta com alto teor de nutrientes, mas não houve um efeito da dieta na abundância de mRNA para IGF-1 e para receptores de IGF-1 nas papilas ruminais. Além disso, em ambos os grupos, células do epitélio ruminal incubadas in vitro na presença de IGF-1 apresentaram maior síntese de DNA, ou seja, uma maior proporção de células proliferativas. Os resultados obtidos indicaram que a ação estimuladora da insulina sobre a proliferação do epitélio ruminal poderia se dar por meio de IGF-1.

Apesar de não haver estudos da proliferação celular no ceco-cólon de ruminantes, pesquisas feitas com não ruminantes sugerem efeitos semelhantes dos AGV sobre o IM. A infusão de uma mistura de AGV (acetato, 75; propionato, 35 e butirato 20 mM) no cólon proximal de ratos anestesiados estimulou o IM nesse local (Sakata & Engelhardt, 1983), assim como a infusão de AGV no ceco estimulou o aumento no peso da mucosa e submucosa, o tamanho das glândulas intestinais e o IM (Ichikawa & Sakata 1997). Em outro trabalho, a infusão de AGV em ratos com fistula ileal estimulou a proliferação celular tanto no jejuno como no ceco (Sakata, 1987). No mesmo experimento, os AGV inibiram a proliferação de células cecais *in vitro*. O butirato foi o maior inibidor do crescimento *in vitro* e o maior estimulador *in vivo*. O efeito estimulatório dos AGV sobre a proliferação celular *in vivo* e o efeito inibitório *in* 

vitro sugerem a atuação de um mecanismo indireto no efeito estimulatório dos AGV sobre a proliferação celular no epitélio do ceco-cólon. A inclusão alta de fibra na dieta de ratos aumentou a concentração de AGV no cólon proximal e consequentemente mostrou efeito estimulatório na proliferação celular da região (Edwards et al., 1992).

#### 3.4 Fermentação microbiana no ceco-cólon

#### 3.4.1 Volume e fluxo

Ao reportar o volume da digesta e taxa de fermentação para o IG comparado ao rúmen em varias espécies, Hungate et al. (1959) concluíram que o IG possuía pequena importância como um local de fermentação em ruminantes. Hecker (1971a), por outro lado, afirmou que a capacidade de absorção do IG pode ser maior pela unidade de volume que o rúmen, por causa de sua forma estreita e longa.

Os valores encontrados para o volume de digesta no ceco-cólon de ovelhas por Grovum & Hecker (1973), mostram uma grande variação e são afetados positivamente pelo nível de consumo. Enquanto o volume da digesta parece aumentar com o nível de forragem na dieta, é menos afetado pelo tempo após a ingestão, que o volume do rúmen (Williams, 1964). O peso da digesta no IG de ovelhas varia de 700 a 1200 gramas (Hecker & Grovum, 1971; Williams, 1964). Isto representa uma relação com o rúmen de 15 a 26 % do conteúdo de 4,5 kg do rúmen (Hyden, 1961). A quantidade de matéria seca presente no ceco-cólon de ovinos está em torno de 10 a 22% da encontrada no rúmen e representa 14 a 40 % da matéria seca ingerida (Williams, 1964; Grovum & Hecker, 1973).

Os tempos médios encontrados de retenção da digesta no IG de ovelhas variam de acordo com a ingestão, variando de aproximadamente 29 horas para animais ingerindo 400 g/d e 10,5 horas para animais consumindo 1200 g/d (Coombe & Kay, 1965; Thornton et al., 1970; Grovum & Hecker, 1973).

#### 3.4.2 Absorção de água e minerais

O IG tem uma alta capacidade de absorção. Grovum & Hecker (1973) encontraram um declínio contínuo no conteúdo água na digesta entre o ceco e reto. A concentração em gramas de água por gramas de matéria seca na digesta do ceco era de 7,1, enquanto no reto era de 1,5. O total de água absorvida em 24 horas em ovelhas consumindo 400g de forragem varia de 1536 a 2101 ml, enquanto ovelhas consumindo 1200 g de forragem absorvem 5769 a 8520 ml (Grovum & Williams, 1973). Hecker & Grovum (1971) encontraram uma taxa de absorção de água em ovelhas em torno de 40 a 128 mg/min./100 cm². De acordo com Kay & Pfeffer (1970), 90 % da água que passa do íleo é absorvida no IG.

Além da absorção de água, o IG é um local importante para a absorção de inúmeros minerais, sendo o íon sódio (Na<sup>+</sup>) o principal deles e onde a absorção de Na<sup>+</sup> ocorre contra o gradiente de concentração. No trabalho de Pfeffer et al. (1970), os principais minerais absorvidos no IG são sódio, potássio (K), fósforo (P), cálcio (Ca) e magnésio (Mg). Embora o principal local de absorção de K, Ca e P seja o intestino delgado (ID), ocorre uma pequena absorção no IG. Grace (1975) também demonstrou a absorção de zinco, cobalto, cobre e manganês pelo IG de ovelhas.

#### 3.4.3 Fermentação e metabolismo de carboidratos

Elsden et al. (1946) observou que os principais sítios de fermentação microbiana com produção de AGV são o ruminorretículo e o ceco-cólon. Uma população microbiana com números próximos aos encontrados no conteúdo ruminal, mas podendo não ser encontrados protozoários, tem sido relatada no ceco-cólon de ruminantes (Kern et al., 1974; Allison et al., 1975).

A taxa de fermentação no conteúdo do ceco-cólon de vários ruminantes (Hungate et al., 1959) é menor que a no conteúdo ruminal. Siciliano-Jones & Murphy (1989) encontraram que a contribuição dos AGV, produzidos no cecocólon, na energia metabolizável total é em média de 8,6 %. O trabalho foi desenvolvido com novilhos com cânulas ruminais e cecais. Os animais receberam dietas com dois tipos de forragens: feno de alfafa ou pelete de alfafa, e utilizadas nas proporções 80:20 ou 20:80 com o concentrado à base de milho e soja. O óxido crômico foi utilizado para a determinação da energia digestível. A urina e as fezes eram coletadas para estimar as perdas energéticas. Amostras do conteúdo ruminorreticular e ceco-cólico eram coletas para mensurar o pH, osmolaridade, concentração de amônia e AGV. A taxa de produção de acetato era determinada através de infusão contínua de isótopos associado a um marcador de fase fluida (Co-EDTA). A taxa de produção do propionato e butirato foi determinada através da proporção molar. Os valores de energia metabolizável do acetato, propionato e butirato (210,5; 363,6 e 500,0 kcal/mol, respectivamente) foram utilizados para determinar a contribuição na energia metabolizável, assumindo absorção total. A energia contida nos alimentos e fezes era medida através de uma bomba calorimétrica. A energia perdida na urina foi calculada através da excreção de nitrogênio. A produção de metano foi estimada através dos padrões de AGV e taxas de produção usando o equilíbrio de fermentação descrito por Wolin (1960). Os pesquisadores observaram que a variação da dieta não alterou significativamente o pH (5,80 à 6,68) e a osmolaridade (289 à 336) ceco-cólica. Houve uma tendência de maior osmolaridade com dietas com alto concentrado, provavelmente devido à maior concentração de AGV. As maiores concentrações de AGV foram encontradas nas dietas com alto concentrado (135 mM), assim com houve um aumento na proporção molar de propionato. Houve uma diminuição na relação acetato/propionato quando as dietas mudaram de alta forragem, para alto concentrado (4,8 para 3,2 respectivamente). A diminuição na relação acetato/propionato também já foi observada por outros pesquisadores (Ørskov et al., 1970b; De Gregorio et al., 1982). A contribuição média dos AGV produzidos no ceco-cólon na energia metabolizável com dietas com alta forragem e alto concentrado foram, respectivamente, 6,5 % e 10,7 %. Os valores encontrados para o rúmen foram de 62,8 % e 61,5 %, respectivamente. Os autores concluíram que a concentração total de AGV foi alterada quando dietas com alta inclusão de concentrado aumentam a concentração total de AGV e diminuem a relação acetato/propionato. A contribuição dos AGV ceco-cólicos na energia metabolizável total não foi alterada pela dieta e encontrou um valor médio de 8,6 %. A fermentação no ceco-cólon de bovinos apresenta um potencial para manipulação dietética e possui uma contribuição importante na energia metabolizável total

Além do trabalho de Siciliano-Jones & Murphy (1989), inúmeros trabalhos mostram que taxa de fermentação microbiana no digesta do ceco-cólon é menor que a encontrada no ruminorretículo. Também, verificou-se que a microbiota do ceco-cólon responde prontamente ao aumento de matéria orgânica fermentável com aumento na massa microbiana, diminuição do pH e variações nas concentrações e relações dos AGV (Ørskov et al., 1970b; Allison et al., 1975).

A fermentação no ceco-cólon é controlada em grande parte pela quantidade de matéria orgânica fermentável que escapa do ruminorretículo e ID. A atividade celulolítica já foi demonstrada no conteúdo ceco-cólico (Hecker, 1971b) e enzimas que hidrolisam pentoses e hemicelulose foram extraídas de bactérias presentes no ceco-cólon (Bailey & MacRae, 1970). A digestão de celulose no ceco-cólon foi demonstrada através de infusões no ceco de ovelhas e novilhos (Warner et al., 1972). Quando a digestão no ruminorretículo é incompleta, quantidades maiores de celulose e hemicelulose atingem o ceco-

cólon, devido à pequena digestão que ocorre no ID. Os percentuais de celulose e hemicelulose atingindo o ceco-cólon em relação ao ingerido pode variar de 14 a 57 % para celulose e de 22 a 68 %. Os fatores que influenciam a quantidade de carboidrato que alcança o ceco-cólon incluem maturidade da forragem, forma física e nível de consumo. A digestão de celulose no ceco-cólon varia de 18,5 a 49,5 % da quantidade absorvida e representa 18 a 27 % da celulose total digerida por dia. Já para hemicelulose, a digestão varia entre 2,5 a 46 % da quantidade que atinge o ceco-cólon, e representa 30 a 40 % da hemicelulose total digerida total digerida (Beever et al., 1972; Mac Rae & Armstrong, 1969).

Na maior parte dos cereais, exceto o milho e o sorgo, 90% ou mais de amido são normalmente fermentados no ruminorretículo. O amido do milho possui uma taxa de fermentação ruminorreticular mais lenta, em que até 40 % pode escapar da fermentação nesse local (Hoover, 1978). A maior parte do amido que escapa da fermentação no ruminorretículo será digerido no ID ou fermentado no ceco-cólon (Karr et al., 1966; Beever et al., 1972). A capacidade de digestão do amido no ID é limitada. Mayes & Ørskov (1974) encontram um limite para digestão de 100 a 200 gramas de amido por dia, quando o amido era infundido diretamente no abomaso. A limitação ocorria pela quantidade secretada de amilase pancreática e pelo tempo para atuação da enzima. Quando o amido era infundido juntamente com amilase, o limite de digestão do amido aumentava para 200 a 300 g/d. O limite aqui ocorria devido à falta de enzimas envolvidas na hidrólise de di, tri e oligossacarídeos e também pela capacidade de absorção de glicose.

Karr et al. (1966) estudaram a digestão de amido ao longo do TGI. Novilhos com cânulas ruminais, abomasais e ileais eram alimentados com dietas contendo 19 a 63,5 % de amido. Eles observaram que a quantidade que passa pelo abomaso (16 a 38 %) aumenta com o crescente aumento de amido na dieta. Valores acima de 50 % de amido na dieta aumentaram o escape de amido do

ruminorretículo, aumentando a importância da digestão ceco-cólica devido à existência de um limite na digestão que ocorre no ID. A digestão ruminal do amido cai de 84,2 % em dietas com 19 % de amido dietético para 62,3 % em dietas com 63,5 % de amido dietético. Nas dietas de alto amido, aproximadamente 11% da digestão total de amido ocorre no ceco-cólon.

A digestão do amigo que atinge o ceco-cólon é variável, mas a maioria das estimativas indicam uma faixa entre 70 a 100 % de todo o amido que entra no IG (Hoover, 1978). Porém, o aumento da fermentação de amido no ceco-cólon leva a um aumento na perda de nitrogênio pelas fezes (Ørskov et al., 1970b; Ørskov, 1986). Além disso, há de se considerar que o aporte de energia para ceco-cólon varia principalmente com fatores relacionados ao manejo alimentar. Sendo assim, dietas mais energéticas não necessariamente levariam ao maior aporte de matéria orgânica fermentável no ceco e APCA, resultando em maior concentração de AGV.

### 3.4.4 Metabolismo de nitrogênio

A avaliação do papel do IG no metabolismo de nitrogênio (N) exige uma breve consideração no ciclo do nitrogênio não protéico (NNP) dentro e fora do TGI. Em ruminantes e não ruminantes, a uréia e a amônia parecem se mover livremente entre o TGI pós-gástrico e os fluidos corporais e, em ambas as espécies, o N pode ser utilizado pelo fígado na síntese de aminoácidos não essenciais (Hoover, 1978).

Nos ruminantes, a reciclagem de uréia e/ou amônia é muito importante para a síntese de proteína, devido a população microbiana presente no ruminorretículo, especialmente quando os animais ingerem dietas de baixa proteína. A uréia no sangue pode retornar ao ruminorretículo através da saliva ou por difusão pela parede do compartimento (Hoover, 1978). Inicialmente, acreditava-se que o N envolvido na reciclagem era essencialmente todo

absorvido no ruminorretículo. Porém, estudos realizados na década de 70 mostraram que o IG é um sítio importante de reciclagem de N (Hecker, 1971a,b), onde foram encontrados níveis altos de atividade proteolítica no conteúdo do IG e níveis de amônia, às vezes, superiores no ceco-cólon do que os verificados no ruminorretículo (Williams, 1964; Hecker, 1971a; Kern et al., 1974).

Ørskov et al. (1971) observaram que havia pouca variação no N digerido no ceco-cólon quando o N dietético era aumentado com inclusão de uréia ou farinha de peixe. Cole et al. (1976) concluíram que a principal fonte do N que chega ao IG é de origem endógena e era principalmente uréia absorvida do sangue. A difusão de uréia do sangue para o intestino foi demonstrada por vários trabalhos (Thornton et al., 1970; Hecker, 1971a; Nolan et al., 1976). A difusão passiva de amônia ocorre através de sua forma não protonada, onde o pH no ceco-cólon facilita esta absorção (Cole et al., 1976).

A utilização do N para a síntese de proteína microbiana ocorre no cecocólon e pode ser aumentada com um nível maior de amido chegando ao cecocólon (Thornton et al., 1970; Ørskov et al., 1970b). Porém, a proteína microbiana produzida no ceco-cólon não pode ser aproveitada, sendo que a principal contribuição do ceco-cólon no metabolismo do N ocorre através da reciclagem NNP, com 13 a 39 % do total reciclado (Hecker, 1971a; Mazanov & Nolan, 1976; Nolan et al., 1976). O N reciclado vai ser utilizado pelo fígado na síntese de aminoácidos não essenciais, ou entrará no ruminorretículo, onde ocorrerá a síntese de proteína microbiana que poderá ser aproveitada pelos ruminantes (Hoover, 1978).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

## 4.1 Local de condução do experimento e animais

Este experimento foi conduzido no Laboratório de Anatomia Veterinária, do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras (UFLA). Foram utilizados dez bovinos mestiços adultos, de ambos os sexos, com peso corporal médio de 459,5 ± 50,7 kg, com alimentação desconhecida, provenientes do Abatedouro Municipal de Lavras, MG.

### 4.2 Coleta de material no abatedouro

Os animais foram eviscerados após o abate e tiveram o estômago e o IG removidos imediatamente. O abomaso e o ceco-cólon foram separados, acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhados ao laboratório de Anatomia Veterinária. Um fragmento do saco ventral do rúmen coletado a 10 cm do pilar cranial foi retirado e armazenado em solução tampão fosfato (PBS = 0,068 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0,283 g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 8,5 g NaCl; 1000 ml H<sub>2</sub>O). O omaso teve o conteúdo esvaziado e o peso do compartimento vazio foi reportado.

### 4.3 Digitalização das imagens e estimativa de superfície absortiva

No laboratório, o tecido conjuntivo excedente da superfície externa dos órgãos foi removido e o peso de cada segmento anatômico foi registrado. O abomaso foi dividido em região de pregas espirais e região pilórica, o cecocólon foi dividido em ceco e alça proximal do cólon ascendente (APCA), tomando como referência a papila ileal. As regiões foram fragmentadas de maneira a possibilitar a digitalização de suas imagens através de um scanner (ScanAce 630p, Pacific Image Electronics®). Ao lado dos fragmentos, era colocada um escala de 1 cm para permitir posterior calibração das imagens. As

áreas foram estimadas através do programa de análise de imagens UTHSCSA Image Tool (software livre), como proposto por Resende Júnior et al. (2006a).

Para determinar a superfície absortiva total do abomaso, assumiu-se a espessura da base das pregas como valor médio (0,1 cm), estimado por meio de paquímetro. A superfície absortiva total do abomaso foi calculada pela seguinte equação: Superfície absortiva = superfície de parede + superfície das pregas – superfície da base das pregas. A superfície absortiva do ceco e da APCA foi dada pela área de parede dos órgãos, pois estes não possuem projeções.

A mensuração da superfície absortiva do rúmen foi feita com os fragmentos, previamente preservados em PBS. Foi realizada efetuando-se a contagem do número de papilas ruminais presentes em cada fragmento. Doze papilas ruminais foram seccionadas na base por meio de uma lâmina de bisturi e foram acondicionadas em uma placa de petri juntamente com o fragmento que as originou e a imagem foi digitalizada como descrito por Resende Júnior et al. (2006a). A superfície absortiva total do rúmen foi posteriormente estimada utilizando o resultado de área das imagens digitalizadas, através de regressão proposta por Daniel et al., (2006). O peso do omaso sem digesta foi utilizado para estimativa da superfície absortiva total do omaso, através de regressão proposta por Daniel (informação verbal).

Após a digitalização o peso da mucosa + submucosa e do restante da parede da região das pregas espirais foi mensurado após serem dissecadas. A região pilórica do abomaso, o ceco e a APCA tiveram fragmentos de 25 cm² separados e o peso das mucosa + submucosa e do restante da parede desses fragmentos foram reportados.

## 4.4 Preparações histológicas

Imediatamente após a digitalização, fragmentos de aproximadamente 3 cm² das regiões de ceco, APCA, pregas espirais e pilórica foram fixadas em

líquido de Bouin por 22 horas. Após fixados os fragmentos, foram mantidos em álcool etílico a 70°GL para posterior preparação histológica. Procedeu-se, então, à desidratação dos fragmentos em uma série de álcool etílico com concentrações crescentes. Os fragmentos foram retirados dos recipientes nos quais estavam com etanol a 70°GL e transferidos para outro com etanol a 80°GL, onde ficaram imersos por 30 minutos. Da mesma maneira, foram transferidos para o etanol 95°GL onde ficaram por mais 30 minutos. Logo após, foram passados para outro recipiente contendo etanol absoluto, ficando imersos novamente por 30 minutos. Este último passo foi repetido uma vez. Em seguida, foram imersos em xilol PA (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) por 30 minutos para diafanização, também repetindo-se esta operação outra vez. Logo após, os fragmentos foram imersos em parafina histológica à temperatura de 60 °C e incluídos (um fragmento em cada bloco de parafina). Após resfriado o material, procedeu-se o corte histológico utilizandose um micrótomo manual (Ancap), obtendo-se secções de 5 µm de espessura. Os cortes obtidos foram fixados em lâminas histológicas. As lâminas foram coradas por hematoxilina – eosina, utilizando o seguinte procedimento: As laminas foram imersas em xilol, por no mínimo 25 minutos. Em seguida, foram imersas em uma série de etanol, com concentrações decrescentes (absoluto, 95°GL, 80°GL e 70°GL) para reidratar, deixando-se dois minutos em cada. Foram então imersas em hematoxilina por 2 a 3 minutos. Na etapa seguinte, foram colocadas em uma cuba em banho de água corrente por 25 minutos e finalmente imersas em eosina por 30 segundos. Outras séries de etanol com concentrações crescentes (70°GL, 80°GL, 95°GL, absoluto 1, absoluto 2 e absoluto 3) foram utilizadas para desidratar novamente o material, deixando-se as lâminas por 10 segundos em cada álcool. As lâminas foram então banhadas duas vezes em xilol por 10 e 40 segundos e depois montadas, utilizando-se uma camada de bálsamo do Canadá, superpondo-se uma lamínula de vidro em cada lâmina.

# 4.5 Determinação do índice mitótico

O IM no abomaso foi realizado no epitélio de revestimento das fossetas gástricas e no epitélio glandular das regiões de pregas espirais e pilórica. No ceco e no APCA, o IM foi determinado no epitélio das glândulas intestinais. Os núcleos de 4000 células foram contabilizados em todas as regiões em que as fossetas e glândulas gástricas e intestinais estavam bem definidas. Para esta contagem, utilizou-se um microscópio óptico (Ernst Leitz Wetzlar Nr. 438895, Germany) com um aumento de 400 vezes. Todas as células que apresentaram núcleo com figuras mitóticas foram contabilizadas. O percentual do IM foi calculado dividindo-se o número de células apresentando figuras mitóticas pelo número total de núcleos contados. Três avaliadores independentes fizeram a contagem de células em cada fragmento e o número médio entre as três avaliações foi utilizado como resultado.

### 4.6 Análises estatísticas

Para análise dos dados, adotou-se o delineamento de blocos ao acaso, onde cada animal constituía um bloco. A superfície absortiva total, a superfície absortiva de parede, a superfície absortiva de projeções (pregas), o peso do órgão, o peso das mucosa + submucosa, a razão peso da mucosa + submucosa/peso do restante da parede e o IM dos órgãos foram analisados pelo procedimento GLM do pacote estatístico SAS (Statistical Analysis Systems – SAS, 1999), de acordo com o seguinte modelo:

$$Y_{ij} = \mu + O_i + A_j + \varepsilon_{ij}$$

Em que:

μ: média geral

Oi: efeito de órgão ou região (i = rúmen, omaso ou abomaso; rúmen ou ceco-cólon; ceco ou cólon; região de pregas espirais ou pilórica)

Aj: efeito de animal (j = 1 a 10)

 $\epsilon ij:\ erro\ residual,\ assumindo\ independente\ e\ identicamente\ distribuído$  em suposta distribuição normal com média zero e variância  $\sigma^2$ .

Correlações foram estabelecidas pelo procedimento CORR do SAS. Regressões lineares foram desenvolvidas com o procedimento REG do SAS. As médias foram comparadas uma a uma pelo teste Tukey.

# 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, O.; SHEN, Z.; TIETJEN, U.; MARTENS, H. Transport of acetate and sodium in sheep omasum: mutual, but asymmetric interactions. **Journal of Comparative Physiology B : Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, Berlin, v. 176, n. 5, p. 477-487, June 2006.
- ALLISON, M. J.; ROBINSON, I. M.; DOUGHERTY, R. W.; BUCLDIN, J. A. Grain overload in cattle and sheep: Changes in microbial populations in the cecum and rumen. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 36, n. 2, p. 181-185, Feb. 1975.
- BAILEY, R. W.; MACRAE, J. C. The hydrolysis by rumen and cecal microbial enzymes of hemicelluloses in plant and digesta particles. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 75, p. 321-325, 1970.
- BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2. ed. São Paulo: Manole, 1992. 629 p.
- BARKER, I. K.; DREUMEL, A. A. van.; PALMER, N. The alimentary system. In: JUBB, K. V. F.; KENNEDY, P. C.; PALMER, N. **Pathology of domestic animals**. 4. ed. San Diego: Academic, 1995. v. 2, cap. 1, p. 1-318.
- BEEVER, D. E.; COELHO da SILVA, J. F.; PRESCOTT, J. D. H.; ARMSTRONG, D. G. The effect in sheep of physical form and stage of growth on the sites of digestion of a dried grass: 1. sites of digestion of organic matter, energy and carbohydrate. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 28, n. 3, p. 347-356, Nov. 1972.
- BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 70, n. 2, p. 567-590, Apr. 1990.
- BOTTENSTEIN, J. M.; HAYASHI, I.; HUTCHINGS, S.; MASI, H.; MATHER, J.; MCCLURE, D. B.; OHASA, S.; RIZZINO, A.; SATO, G.; SRRERO, G.; WOLFE, R.; WU, R. **Methods in Enzymology**. London: Academic, 1979. v. 58, 94 p.
- BUENO, L.; GOODALL, E. D.; KAY, R. N. B.; RUCKEBUSCH, Y. On the function of the sheep's omasum. **Journal of Physiology**, London, v. 227, n. 2, p. 14-15, Jan. 1972. Supplement.

- CARTER, M. J. The carbonic anhydrase in the rumen epithelial tissue of the ox. **Biochimica et Biophysica Acta**, Amsterdam, v. 235, n. 1, p. 222-236, Apr. 1971.
- CHURCH, D. C. **The ruminant animal :** digestive physiology and nutrition. New Jersey: Waveland, 1993, 564 p.
- COLE, D. J. A.; BOORMAN, K. N.; BUTTERY, P. J.; LEWIS, D.; NEALE, R. J.; SWAN, H. **Protein Metabolism and Nutrition**. London: Buttersworths, 1976. 555 p.
- COOMBE, J. B.; KAY, R. N. B. Passage of digesta through the intestines of the sheep. Retention times in the small and large intestines. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 19, n. 1, p. 325-338, Feb. 1965.
- CUMMINGS, J. H.; ROMBEAU, L.; SAKATA, T. **Physiological and clinical aspects of short-chain fatty acids**. Cambridge: Cambridge University, 1995. 575 p.
- DANIEL, J. L. P. Avaliação morfofisiológica da absorção e metabolização de ácidos graxos voláteis pelo proventrículo de bovinos. 2007. 147 p. 7p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- DANIEL, J. L. P.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; CRUZ, F. J. Participação do ruminorretículo e omaso na superfície absortiva total do proventrículo de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 688-694, Out. 2006.
- DANIEL, J. L. P.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; MELO, L. Q.; SOUZA, R. L. M.; GUERRERO, M. C. Funcionalidade do sulco do retículo em bovinos adultos e avaliação de técnicas alternativas para preparação, infusão e coleta de marcadores da fase fluida ruminal. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 6, p. 1850-1856, nov./dez. 2007.
- DE GREGORIO, R. M.; TUCKER, R. E.; MITCHELL JÚNIOR, G. E.; GILL, W. W. Carbohydrate fermentation in the large intestine of lambs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 54, n. 4, p. 855-862, Apr. 1982.
- DELLMANN, H. D.; BROWN, E. M. **Histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1982. 397 p.

- DIJKSTRA, J.; BOER, H.; BRUCHEM, J. van.; BRUINING, M.; TAMMINGA, S. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 69, n. 2, p. 385-396, Mar. 1993.
- DIRKSEN, G.; LIEBICH, H. G.; MAYER, E. Adaptive changes of the ruminal mucosa and their functional and clinical significance. **The Bovine Practitioner**, Montreal, v. 20, p. 116-120, Nov. 1985.
- EDWARDS, C. A.; WILSON, R. G.; HANLON, L.; EASTWOOD, M. A. Effect of the dietary fiber content of lifelong diet on colonic cellular proliferation in the rat. **Gut**, London, v. 33, p. 1076-1079, Aug. 1992
- ELSDEN, S. R.; HITCHCOCK, M. W. S.; MARSHALL, R. A.; PHILLIPSON, A. T. Volatile acid in the digesta of ruminants and other animals. **The Journal of Experimental Biology**, London, v. 22, n. 3/4, p. 191-202, May 1946.
- FRANCE, J.; SIDDONS, R. C. Volatile fatty acid production. In: FORBES, J. M. **Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism**. Wallinford: C.A.B. International, 1993. cap. 5, p. 107-121.
- GÄBEL G.; ASCHENBACH, J. R.; MÜLLER, F. Transfer of energy substrates across the ruminal epithelium: implications and limitations. **Animal Health Research Reviews**, Wallingford, v. 3, n. 1, p. 15-30, June 2002.
- GÄBEL, G.; BILK, S.; URBANSKY, I. **SCFA absorption in the rumen and regulating intracellular pH**. Disponível em: < http://www.vmf.uni-leipzig.de/ik/wphysiologie/48.htm >. Acesso em: 04 dez. 2007.
- GÄBEL, G.; MÜLLER, F.; PFANNKUCHE, H.; ASCHENBACH, J. R. Influence of isoform and DNP on butyrate transport across the sheep ruminal epithelium. **Journal of Comparative Physiology B : Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, Berlin, v. 171, n.3, p. 215-221, Apr. 2001.
- GINSBURG, E.; SALAMON, D.; SREEVALSAN, T.; FREESE, E. Growth inhibition and morphological changes caused by lipophilic acids in mammalian cells. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, Washington, v. 70, p. 2457-61, Aug. 1973.

- GOODLAD, R. A some effects of diet on the mitotic index and the cell cycle of the ruminal epithelium of sheep. **Quarterly Journal of Experimental Physiology**, Cambridge, v. 66, n. 4, p. 487-499, Oct. 1981.
- GRACE, N. D. Studies on the flow of zinc, cobalt, copper and manganese along the digestive tract of sheep given perennial ryegrass, or white or red clover. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 34, n. 1, p. 73-82, July 1975.
- GROVUM, W. L.; HECKER, J. F. Rate of passage of digesta in sheep. 2. the effect of level of food intake on digesta retention times and on water and electrolyte absorption in the large intestine. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 30, n. 2, p. 221-230, Sep. 1973.
- GROVUM, W. L.; WILLIAMS, V. J. Rate of passage of digesta in sheep. 4. passage of marker through the alimentary tract and the biological relevance of rate constants derived from the changes in concentration of marker in feces. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 30, n. 2, p. 313-329, Sept. 1973.
- HECKER, J. F. Ammonia in the large intestine of herbivores. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 26, n. 2, p. 135-145, Sept. 1971a.
- HECKER, J. F. Use of the marker Cr-51-EDTA in the ovine caecum. **The Journal of Agricultural Science**, Cambridge, v. 77, p. 151-157, Aug. 1971b.
- HECKER, J. F.; GROVUM, W. L. Absorption of water and electrolytes from the large intestine of sheep. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 24, n. 2, p. 365-372, Apr. 1971.
- HENRIKSON, R. C.; KAYE, G. I.; MAZURKIEWICZ, J. E. **Histologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 533 p.
- HOOVER, W. H. Digestion and absorption in the hindgut of ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 46, n. 6, p. 1789-1799, June 1978.
- HUNGATE, R. E.; PHILLIPS, G. D.; MCGREGOR, A.; HUNGATE, D. P.; BUECHNER, H. K. Microbial fermentation in certain mammals. **Science**, v. 130, p. 1192-1194, Oct. 1959.
- HYDEN, S. Determination of the amount of fluid in the reticulorumen of the sheep and its rate of passage to the omasum. **Proceedings of the Royal Agricultural College of Sweden**, Sweden, v. 27, p. 51-79, 1961.

- ICHIKAWA, H.; SAKATA, T. Effect of L-lactic acid, short-chain fatty acids, and pH in cecal infusate on morphometric and cell kinetic parameters of rat cecum. **Digestive Diseases Sciences**, Amsterdam, v. 42, n. 8, p. 1598-1610, Aug. 1997.
- KARR, M. R.; LITTLE, C. O.; MITCHELL JÚNIOR, G. E. Starch disappearance from different segments of the digestive tract of steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 25, n. 3, p. 652-654, Aug. 1966.
- KAY, R. N. B.; PFEFFER, E. Movements of water and electrolytes into and from the intestines of the sheep. In: PHILLIPSON, A. T. **Physiology of digestion and metabolism in the ruminant.** New Castle Upon Tyne: Oriel, 1970. p. 390-402.
- KERN, D. L.; SLYTER, L. L.; LEFFEL, E. C.; WEAVER, J. M.; OLTJEN, R. R. Ponies *vs* steers: microbial and chemical characteristics of intestinal digesta. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 38, n. 3, p. 559-564, Mar. 1974.
- KIRAT, D.; MASUOKA, J.; HAYASH, H.; IWANO, H.; YOKOTA, H.; TANIYAMA, H.; KATO, S. Monocarboxylate transporter 1 (MCT1) plays a direct role in short-chain fatty acids absorption in caprine rumen. **The Journal of Physiology**, Oxford, v. 576, n. 2, p. 635-647, Aug. 2006.
- KRAMER, T.; MICHELBERGER, T.; GURTLER, H.; GÄBEL, G. Absorption of short-chain fatty acids across ruminal epithelium of sheep. **Journal of Comparative Physiology: B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, Berlin, v. 166, n. 4, p. 262-269, Jan. 1996.
- KRISTENSEN, N. B.; GÄBEL, G.; PIERZYNOWSKI, S. G.; DANFAER, A. Portal recovery of short-chain fatty acids infused into the temporarialy-isolated and washed reticulo-rumen of sheep. **The British Journal of Nutrition**, Wallingford, v. 84, n. 4, p. 477-482, Oct. 2000.
- KRISTENSEN, N. B.; HARMON, D. L. Splanchnic metabolism of volatile fatty acids absorbed from the washed reticulorumen of steers. **Journal of Animal Science**, Savoy, v. 82, n. 7, p. 2033-2042, July 2004.
- LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. Princípios de bioquímica. Tradução de Arnaldo Antônio Simões; Wilson Roberto Navega Lodi. 2.ed. São Paulo: SARVIER, 1995. 839 p. Título original: Principles of biochemistry.

- MACRAE, J. C.; ARMSTRONG, D. G. Studies on intestinal digestion in the sheep. 2. Digestion of some carbohydrate constituents in cereal and hay-cereal. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 23, n. 2, p. 377-387, June 1969.
- MARTENS, H.; GÄBEL, G.; STROZYK, B. Mechanism of eletrically silent Na and Cl transport across the rumen epithelium of sheep. **Experimental Physiology**, Cambridge, v. 76, n. 1, p. 103-114, Jan. 1991.
- MASSON, M. J.; PHILLIPSON, A. T. The absorption or acetate, propionate and butyrate from the rumen of sheep. **The Journal of Physiology**, London, v. 113, n. 2/3, p. 189-206, Apr. 1951.
- MAYES, R. W.; ØRSKOV, E. R. The utilization of gelled maize starch in the small intestine of sheep. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 32, n. 1, p. 143-153, July 1974.
- MAZANOV, A.; NOLAN, J. V. Simulation of the dynamics of nitrogen metabolism in sheep. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 35, n. 1, p.149-174, Jan. 1976.
- MÜLLER, F.; ASCHENBACH, J. R.; GÄBEL, G. Role of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange and HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> transport in pH<sub>i</sub> recovery from intracellular acid load in cultured epithelial cells of sheep rumen. **Journal of Comparative Physiology : B, Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology**, Berlin, v. 170, n. 4, p. 337-343, June 2000.
- MÜLLER, F.; HUBER, K.; PFANNKUCHE, H.; ASCHENBACH, J. R.; BREVES, G.; GÄBEL, G. Transport of ketone bodies and lactate in the sheep ruminal epithelium by monocarboxylate transporter 1. **American Journal of Physiology : Gastrointestinal and Liver Physiology**, Bethesta, v. 283, n. 5, p. 1139-1146, Nov. 2002.
- NOLAN, J. V.; NORTON, B. W.; LENG, R. A. Further studies of the dynamics of nitrogen metabolism in sheep. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 35, n. 1, p. 127-147, Jan. 1976.
- ØRSKOV, E. R.; BENZIE, D.; KAY, R. N. B. The effects of feeding procedure on closure of the oesophageal groove in young sheep. **The British Journal of Nutrition,** Cambridge v. 24, n.3, p. 785-795, Sept. 1970a.

- ØRSKOV, E. R.; FRASER, C.; MASON, V. C.; MANN, S. O. Influence of starch digestion in the large intestine of sheep on caecal fermentation, caecal microflora and faecal nitrogen excretion. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 24, n. 3, p. 671-682, Sept. 1970b.
- ØRSKOV, E. R.; FRASER, C.; MCDONALD, I. Digestion of concentrates in sheep. 2. The effect of urea or fishmeal supplementation of barley diets on the apparent digestion of protein, fat, starch and ash in the rumen, the small intestine and the large intestine and calculation of volatile fatty acid production. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 25, n. 2, p. 243-252, Mar. 1971.
- ØRSKOV, E. R. Starch digestion and utilization in ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 63, n. 5, p. 1624-1633, Nov. 1986.
- PEREIRA, M. N.; ARMENTANO, L. E. Partial replacement of forage with nonforage sources in lactating cow diets. II. Digestion and rumen function. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 83, n. 12, p. 2876-2887, Dec. 2000.
- PETERS, J. P.; SHEN, R. Y. W.; CHESTER, S. T. Propionic acid disappearance from the foregut and small intestine of the beef steer. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 11, p. 3905-3913, Nov. 1990.
- PFEFFER, E.; THOMPSON, A.; ARMSTRONG, D. G. Studies on intestinal digestion in sheep. 3. Net movement of certain inorganic elements in the digestive tract on rations containing different proportions of hay and rolled barley. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 24, n. 1, p. 197-205, Mar. 1970.
- RESENDE JÚNIOR, J. C.; ALONSO, L. S.; PEREIRA, M. N.; ROCA, M. G. M.; DUBOC, M. V.; OLIVEIRA, E. C.; MELO, L. Q. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 526-536, July/Agu. 2006a.
- RESENDE JÚNIOR, J. C.; PEREIRA, M. N.; BÔER, H.; TAMMINGA, S. Comparison of techniques to determine the clearance of ruminal volatile fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 89, n. 8, p. 3096-3106, Aug. 2006b.

- RUPP, G. P.; KREIKEMEIER, K. K.; PERINO, L. J.; ROSS, G. S. Measurement of volatile fatty acid disappearance and fluid flux across the abomasum of cattle, using an improved omasal cannulation technique. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 55, n. 4, p. 522-529, Apr. 1994.
- SAKATA, T.; ENGELHARDT, W. V. Stimulatory effect of short chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in rat large intestine. **Comparative Biochemitry and Physiology**, Oxford, v. 74, n. 2, p. 459-462, 1983.
- SAKATA, T.; HIKOSAKA, K.; SHIOMURA, Y.; TAMATE, H. Stimulatory effect of insulin on ruminal epithelium cell mitosis in adult sheep. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 44, n. 3, p. 325-331, Nov. 1980.
- SAKATA, T. Stimulatory effect of short chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in rat large intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fiber, gut microbes and luminal trophic factors. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 58, n. 1, p. 95-103, July 1987.
- SAKATA, T.; TAMATE, H. Effect of intraruminal injection of n-sodium butyrate on the mitotic indices in sheep ruminal epithelium. **Tohoku Journal of Agricultural Research**, Sendai-shi, v. 27, n. 3/4, p. 133-135. Dec. 1976.
- SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelium cell proliferation accelerated by propionate and acetate. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 62, n. 1, p. 49-52, Jan. 1979.
- SAKATA, T.; TAMATE, H. Rumen epithelium cell proliferation accelerated by rapid increase in intra-ruminal butyrate. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 61, n. 8, p. 1109-1113, Aug. 1978.
- SALVADOR, S. C.; PEREIRA, M. N.; SANTOS, J. F.; MELO, L. Q.; CHAVES, M. L. Resposta de vacas leiteiras à substituição total de milho por polpa cítrica e à suplementação com microminerais orgânicos I : consumo e digestão. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 3, p. 682-690, jun. 2008.
- STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS. **SAS/STAT Users Guide:** version 6.12. Cary, 1999. 842 p.

- SEHESTED, J.; DIERNAES, L.; MOLLER, P. D.; SKADHAUGE, E. Transport of butyrate across the isolated bovine rumen epithelium interation with sodium, chloride and bicarbonate. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, New York, v. 123, n. 4, p. 399-408, Aug. 1999.
- SHEN, Z.; SEYFERT, H. M.; LÖHRKE, B.; SCHNEIDER, F.; ZITNAN, R.; CHUDY, A.; KUHLA, S.; HAMMON, H. M.; BLUM, J. W.; MARTENS, H.; HAGEMEISTER, H; VOIGT, J. An energy-rich diet causes rumen papillae proliferation associated with more IGF type 1 receptors and increased plasma IGF-1 concentrations in young goats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 1, p. 11-17, Jan. 2004.
- SICILIANO-JONES, J.; MURPHY, M. R. Production of volatile fatty acids in the rumen and cecum-colon of steers as affected by forage: concentrate and forage physical form. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 2, p. 485-492, Feb. 1989.
- SOEST, P. J. van. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2. ed. Ithaca: Cornell University, 1994. 476 p.
- STEVENS, C. E.; HUME, I. D. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production an conservation of nutrients. **Physiology Reviews**, Washington, v. 78, n. 2, p. 393-427, Apr. 1998.
- TAMATE, H.; KIKUCHI, T.; SAKATA, T. Ultrasctructural changes in the ruminal epithelium after fasting and subsequent refeeding in the sheep. **Tohoku Journal of Agricultural Research**, Sendai-shi, v. 25, n. 3/4, p. 142-152, Dec. 1974.
- THORNTON, R. F.; BIRD, P. R.; SOMMERS, M.; MOIR, R. J. Urea excretion in ruminants: III. The role of the hindgut (caecum and colon). **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 21, n. 2, p. 345-354, Apr. 1970.
- VOELKER, J. A.; ALLEN, M. S. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 3. Effects on ruminal fermentation, pH, and microbial protein efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 86, n. 11, p. 3562-3570, Nov. 2003.

WARNER, R. L.; MITCHELL JÚNIOR, G. E.; LITTLE, C. O. Post ruminal digestion of cellulose in wethers and steers. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 34, n. 1, p. 161-165, Jan. 1972.

WILLIAMS, V. J. Microbial metabolism in the forestomachs and the large intestine of sheep. **Australian Journal of Agricultural Research**, Melbourne, v. 16, n. 1, p. 77-91, Feb. 1964.

WOLIN, M. J. A theoretical rumen fermentation balance. **Journal of Dairy Science**, Champaing, v. 43, n. 10, p. 1452-1459, Oct. 1960.

# **CAPÍTULO 2**

# AVALIAÇÃO MORFOLÓGICA DO ABOMASO E CECO-CÓLON DE BOVINOS

O capítulo 2 será transcrito em formato de artigo e encaminhado para submissão do Periódico Científico

# Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia

Milton Ghedini Cardoso<sup>1</sup>, João Chrysostomo de Resende Júnior<sup>1</sup>, Ronaldo Francisco de Lima<sup>1</sup>, João Luiz Pratti Daniel<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Lavras, Departamento de Medicina Veterinária, CEP 37200-000, Caixa Postal 3037, Lavras, Minas Gerais. e-mail: cardoso\_vet@yahoo.com.br

Os autores agradecem a CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelos auxílios concedidos para a realização desse trabalho

Autor para correspondência: Milton Ghedini Cardoso<sup>1</sup>

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> CARDOSO, M. G.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; LIMA, R. F.; DANIEL, J. L. P. Avaliação morfológica do abomaso e ceco-cólon de bovinos.

#### 1 RESUMO

A morfofisiologia relacionada à absorção de ácidos graxos voláteis ao longo do trato gastrintestinal de ruminantes não é totalmente caracterizada. O objetivo foi mensurar a extensão da superfície absortiva e determinar o índice mitótico (IM) do abomaso e do ceco-cólon. Dez bovinos mestiços adultos tiveram seu estômago e intestino grosso removidos imediatamente após o abate. A área total da superfície absortiva foi mensurada por meio de digitalização e análise de imagens. Cortes histológicos foram feitos para mensurar a proliferação celular, através do IM. A superfície absortiva do abomaso (0,58 m²) foi menor (P < 0,01) do que a do rúmen (6,53 m<sup>2</sup>) e do omaso (2,31 m<sup>2</sup>). A superfície absortiva do ceco-cólon (0,23 m²) correspondeu a 3,5 % da superfície do rúmen e a 10 % da superfície do omaso e demonstrou ter alta eficiência em produção de energia metabolizável por superfície absortiva O IM observado foi de 0,48 %; 0,14 %; 0,36 % e 0,41 % para as regiões de pregas espirais, pilórica, ceco e alça proximal do cólon ascendente, respectivamente. Observou-se uma correlação positiva entre a massa tecidual do abomaso e a área de superfície absortiva. Foi possível estabelecer regressões para facilitar a mensuração da superfície absortiva do abomaso e ceco-cólon.

Palavras-chave: câmara de fermentação distal, estômago, índice mitótico, intestino grosso, superfície absortiva

### 2 ABSTRACT

The morphophysiology related to volatile fatty acids (VFA) absorption throughout the gastrointestinal tract of ruminants is not totally characterized. The aim of this work was to measure the extent of the abomasum and cecum-

colon absorptive surface and determine the mitotic index (MI). Ten adult crossbred bovines had their stomach and large intestine removed after slaughter. The total area of the absorptive surface was measured through image capture and analysis. Histological sections were done to measure cellular proliferation, through the MI. The abomasum absorptive surface  $(0.58 \text{ m}^2)$  was lower (P < 0.01) than that of the rumen  $(6.53 \text{ m}^2)$  and omasum  $(2.31\text{m}^2)$ . The cecum-colon absorptive surface  $(0.23 \text{ m}^2)$  corresponded to 3.5% of that of the rumen and 10% of that of the omasum and demonstrated a high capacity to produce metabolizable energy in its absorptive surface. The MI between different studied segments were different and the values observed were 0.48%; 0.14%; 0.36% and 0.41% for the spiral folds, pyloric, cecum and ascending colon proximal loop regions, respectively. Positive correlation was observed between tissue mass and absorptive surface of the abomasum. It allowed to establish regressions to facilitate the measuring of abomasum and cecum-colon absorptive surface.

Keywords: distal fermentation chamber, stomach, mitotic index, large intestine, absorptive surface

# 3 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos voláteis (AGV) produzidos no trato gastrintestinal (TGI) como subprodutos do metabolismo microbiano podem prover até 80 % da exigência diária de energia dos ruminantes (Bergman, 1990). Ao longo do TGI, as maiores concentrações de AGV ocorrem no ruminorretículo e no ceco-cólon (Elsden et al., 1946).

No ruminorretículo a remoção (*clearance*) dos AGV ocorre por dois processos: absorção pela parede do órgão e passagem para o omaso juntamente com a fase fluida ruminal (Peters et al., 1990). Cerca de 60 % do *clearance* 

ruminal de AGV acontece por absorção pela parede do ruminorretículo e os outros 40 % passam para o omaso (Voelker & Allen, 2003; Resende Junior et al., 2006b), que parece absorver a maioria dos AGV. Porém, quantidade considerável de AGV pode atingir o abomaso, já que 7 a 14 mM de AGV podem atingir o duodeno (Rupp et al., 1994). O excesso de AGV na digesta abomasal pode causar hipomotilidade do órgão (Bolton et al., 1976), a qual consiste em um dos fatores predisponentes ao deslocamento de abomaso em bovinos (Svendsen, 1969).

O ceco e o alça proximal do cólon ascendente (APCA), segmentos anatômicos do intestino grosso, também são sítios de produção e absorção de AGV. A produção ceco-cólica de AGV contribui com aproximadamente dez por cento da energia metabolizável absorvida diariamente pelos ruminantes (Siciliano-Jones & Murphy, 1989). Apesar de a produção e remoção de AGV serem distribuídas, ainda que não equitativamente, em várias regiões do TGI, a maioria dos estudos e do conhecimento gerado envolvem apenas o ruminorretículo. A superfície absortiva do ruminorretículo e do omaso de bovinos já é conhecida (Daniel et al., 2006), bem como suas correlações com as taxas fracionais de absorção de AGV (Daniel, 2007). Entretanto, essas informações são desconhecidas em relação ao abomaso e ao ceco-cólon de bovinos, apesar do diâmetro e comprimento desses segmentos já serem conhecidos há bastante tempo (Nickel et al., 1979). O índice mitótico é considerado um dos melhores marcadores morfológicos de proliferação do epitélio do rúmen (Resende Júnior et al., 2006a) e já foram estabelecidas correlações entre o IM e as taxas fracionais de absorção e metabolização de AGV no rúmen e omaso (Daniel, 2007).

Com o presente experimento, objetivou-se estabelecer a superfície absortiva e o IM do abomaso e ceco-cólon de bovinos.

# 4 MATERIAL E MÉTODOS

Dez bovinos mestiços adultos, de ambos os sexos, com peso corporal de  $459.5 \pm 50.7$  kg, com alimentação desconhecida, provenientes de um matadouro comercial, tiveram o estômago e o intestino grosso removidos imediatamente após o abate. Abomaso, ceco e APCA foram separados, acondicionados em caixas isotérmicas e encaminhados ao laboratório de Anatomia Veterinária do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras. Um fragmento do saco ventral do rúmen foi retirado a 10 cm do pilar cranial, armazenado em solução tampão fosfato (PBS = 0.068 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 0.283 g NaH<sub>2</sub>PO<sup>4</sup>; 8.5 g NaCl; 1000 ml H<sub>2</sub>O) e resfriado, para posterior estimativa da superfície total do rúmen.. O peso do omaso vazio foi reportado.

No laboratório, o tecido conjuntivo excedente da superfície externa dos órgãos foi removido e o peso de cada segmento anatômico foi registrado. O abomaso foi dividido em região de pregas espirais e região pilórica, O cecocólon foi dividido em ceco e alça proximal do cólon ascendente (APCA), tomando como referência a papila ileal. As regiões foram fragmentadas de maneira a possibilitar a digitalização de suas imagens através de um scanner (ScanAce 630p, Pacific Image Electronics®). Ao lado dos fragmentos, era colocada um escala de 1 cm para permitir posterior calibração das imagens. As áreas foram estimadas através do programa de análise de imagens UTHSCSA Image Tool (software livre), como proposto por Resende Júnior et al. (2006a).

Para determinar a superfície absortiva total do abomaso, assumiu-se a espessura da base das pregas como valor médio (0,1 cm), estimado por meio de paquímetro. A superfície absortiva total do abomaso foi calculada pela seguinte equação: Superfície absortiva = superfície de parede + superfície das pregas – superfície da base das pregas. A superfície absortiva do ceco e da APCA foi dada pela área de parede dos órgãos, pois estes não possuem projeções. O

número de papilas contidas no fragmento coletado do rúmen foi contado e 12 papilas foram seccionadas aleatoriamente. As papilas e o fragmento foram digitalizadas para determinação da superfície absortiva do rúmen através de regressão proposta por Daniel et al. (2006). O peso do omaso sem digesta foi utilizado para determinar a superfície absortiva do omaso através de regressão proposta por Daniel (informação verbal).

Após a digitalização, o peso da mucosa + submucosa e do restante da parede da região das pregas espirais foi mensurado após serem dissecadas. A região pilórica do abomaso, o ceco e a APCA tiveram um fragmento de 25 cm² isolados e o peso da mucosa + submucosa e do restante da parede foram reportados.

Para preparo dos cortes histológicos, um fragmento (2 cm<sup>2</sup>) de cada região (pregas espirais, pilórica, ceco e APCA) foi fixado em solução de Bouin por 22 horas, desidratado em soluções crescentes de etanol (70 %, 80 %, 95 % e absoluto), diafanizado em xilol e incluídos em parafina. Os blocos de parafina foram cortados utilizando-se um micrótomo manual (Ancap), obtendo-se secções de 5 µm de espessura. Os cortes obtidos foram fixados em lâminas histológicas. As lâminas foram coradas por Hematoxilina - eosina (HE). A determinação do IM no abomaso foi realizada no epitélio de revestimento das fossetas gástricas e no epitélio glandular das regiões de pregas espirais e pilórica. No ceco e no APCA, o IM foi determinado no epitélio das glândulas intestinais. Os núcleos de 4000 células foram contabilizados em todas as regiões em que as fossetas e glândulas gástricas e intestinais estavam bem definidas. Para esta contagem, utilizou-se um microscópio óptico (Ernst Leitz Wetzlar Nr. 438895, Germany) aumentado em 400 vezes. Todas as células que apresentaram núcleo com figuras mitóticas foram contabilizadas. O percentual do IM foi calculado dividindo-se o número de células apresentando figuras mitóticas pelo número total de núcleos contados. Três avaliadores independentes fizeram a contagem de células em cada fragmento e o número médio entre as três avaliações foi utilizado como resultado.

Para análise dos dados, adotou-se o delineamento de blocos ao acaso, em que cada animal constituía um bloco. A superfície absortiva total, a superfície absortiva de parede, a superfície absortiva de projeções (pregas), o peso do órgão, o peso da mucosa + submucosa, a razão peso de mucosa + submucosa /peso do restante da parede e o IM dos órgãos foram analisados pelo procedimento GLM do pacote estatístico SAS (Statistical Analysis Systems – SAS, 1999), de acordo com o seguinte modelo:  $Y_{ij} = \mu + O_i + A_j + \epsilon_{ij}$ ; onde:  $\mu$ : média geral;  $O_i$ : efeito de órgão (i = rúmen, omaso ou abomaso; rúmen ou cecocólon; ceco ou cólon; região de pregas espirais ou pilórica);  $A_j$ : efeito de animal (j = 1 a 10);  $\epsilon_{ij}$ : erro independente e identicamente distribuído em suposta distribuição normal com média zero e variância  $\sigma^2$ . Correlações foram estabelecidas pelo procedimento CORR do SAS. Regressões lineares foram desenvolvidas com o procedimento REG do SAS. As médias foram comparadas uma a uma pelo teste Tukey.

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Apesar de o abomaso representar uma pequena parte do estômago dos bovinos adultos (TABELA 1), uma maior superfície absortiva poderia evitar sobrecarga do órgão quando houvesse escape de AGV do ruminorretículo e omaso, devido ao aumento da razão superfície absortiva/concentração de AGV. Houve correlação positiva e significativa (FIGURA 3) entre a superfície absortiva e o peso do abomaso. Em vacas leiteiras no período peri-parto, foi observada uma variação da massa dos tecidos viscerais (Reynolds et al., 2004). Os autores detectaram aumento do peso do abomaso (P = 0.06) aos 22 dias de lactação, quando os animais mudaram de uma dieta de transição para uma dieta

de lactação. Assim sendo, existem indícios de que a superfície absortiva do abomaso pode responder a diferentes níveis de energia da dieta, provavelmente refletindo diferentes concentrações de AGV que chegam ao órgão.

TABELA 1 Peso do órgão e superfície absortiva por região anatômica do estômago de bovinos adultos.

|                                 | Rúmen | Omaso | Abomaso | Pregas   | Região   | EPM <sup>1</sup> | Р      |
|---------------------------------|-------|-------|---------|----------|----------|------------------|--------|
|                                 |       |       |         | espirais | Pilórica |                  |        |
| Peso órgão (kg)                 | -     | 3,21a | 1,40b   | -        | -        | 0,12             | < 0,01 |
| Superfície absortiva            | 6,53a | 2,31b | 0,58c   | -        | -        | 0,21             | < 0,01 |
| compartimento (m <sup>2</sup> ) |       |       |         |          |          |                  |        |
| Superfície absortiva            | -     | -     | -       | 0,53a    | 0,05b    | 0,03             | < 0,01 |
| por região (m²)                 |       |       |         |          |          |                  |        |

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Erro padrão da média

As superfícies absortivas do ceco e da APCA foram similares (*P* = 0,26) (TABELA 2). A superfície absortiva do ceco-cólon, quando comparada às superfícies do rúmen e omaso, representou aproximadamente 3,5 % e 10 %, respectivamente. Apesar de a literatura mostrar que o ceco-cólon de bovinos apresenta uma capacidade de 10 % em relação ao rúmen (Getty, 1981), a metodologia utilizada para se obter a capacidade dos órgãos não é tão precisa quanto a utilizada no presente trabalho para se obter a superfície absortiva. Apesar desta pequena proporção em relação à câmara de fermentação proximal, no estudo de Siciliano-Jones & Murphy (1989) o ceco-cólon contribui em média com 8,6 % da produção de energia metabolizável total enquanto que o ruminorretículo contribuiu em média com 62 %. A razão entre a produção de

 $<sup>^{\</sup>rm a, b, c}$  Médias seguidas de letras diferentes na linha não são iguais pelo Teste de Tukey (P < 0.05).

energia metabolizável obtida por Siciliano-Jones & Murphy (1989) e a superfície absortiva obtida no presente estudo foi aproximadamente quatro vezes maior no ceco-cólon do que no rúmen.

TABELA 2 Superfície absortiva por região anatômica do TGI de bovinos adultos.

|                                 | Rúmen | Ceco-cólon | Ceco  | APCA <sup>1</sup> | EPM <sup>2</sup> | P      |
|---------------------------------|-------|------------|-------|-------------------|------------------|--------|
| Superfície absortiva            | 6,53a | 0,23b      | -     | -                 | 0,26             | < 0,01 |
| compartimento (m <sup>2</sup> ) |       |            |       |                   |                  |        |
| Superfície absortiva por        | -     | -          | 0,11a | 0,12a             | 0,004            | 0,26   |
| região (m <sup>2</sup> )        |       |            |       |                   |                  |        |

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>Alça proximal do cólon ascendente

Quando a taxa de produção exceder a taxa de absorção de ácidos orgânicos na câmara de fermentação distal, haverá um aumento da osmolaridade com consequente influxo de água para o lúmen do órgão. Como a taxa de produção de ácidos orgânicos depende da disponibilidade de substratos, a consistência das fezes pode ser utilizada como um bom indicador do escape ruminal de partículas potencialmente fermentáveis (Wheeler & Noller, 1977; Depenbusch et al., 2008).

Com o objetivo de facilitar metodologicamente trabalhos posteriores, foram estabelecidas correlações e regressões entre o peso dos compartimentos sem digesta, o peso das mucosa + submucosa, a razão peso da mucosa + submucosa/peso do restante da parede e a superfície absortiva do abomaso e ceco-cólon. Nas regiões anatômicas em que as correlações entre superfície e peso são significativas (TABELA 3 e FIGURAS 3 e 4), desde que possuam um

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Erro padrão da média

 $<sup>^{\</sup>rm a, \ b, \ c}$  Médias seguidas de letras diferentes na linha não são iguais pelo Teste de Tukey (P < 0.05).

r² alto, pode-se estimar a superfície absortiva apenas pesando-se os órgãos ou fragmentos dos órgãos, o que facilita e torna os procedimentos mais rápidos.

TABELA 3 Regressões estabelecidas entre o peso (g) da mucosa + submucosa do abomaso e a área (cm²) da superfície absortiva do abomaso de bovinos adultos.

| Peso da mucosa + submucosa                          |   |
|---|---|
| Região de pregas espirais                           |   |
| $Y = 10.75954x + 1584.34196 	 r^2 = 0.94; P < 0.01$ | onde: x = peso da mucosa + submucosa das pregas espirais;<br>Y = área total absortiva do abomaso; |
| Abomaso   |   |
| $Y = 7.94308x + 471.32399 	 r^2 = 0.99; P < 0.01$   | onde: x = peso da mucosa + submucosa do abomaso;<br>Y = área total absortiva do abomaso;          |

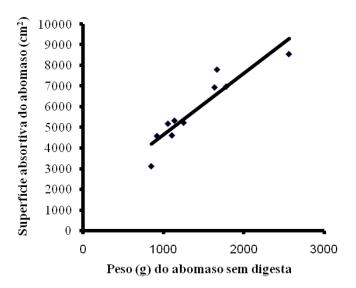


FIGURA 3 Correlação entre peso do abomaso sem digesta (PA) e a superfície absortiva do abomaso (SA).  $SA = 1685,51 + 2,9704 * PA; r^2 = 0,85; P < 0,01.$ 

O fato de ter sido possível detectar correlações significativas, inclusive com  $r^2$  mais alto, entre peso de mucosa + submucosa e superfície absortiva nas

regiões do abomaso (TABELA 3) pode ser explicado pela razão entre o peso de mucosa + submucosa/restante da parede ser de 2,11 na região de pregas espirais, maior que o valor de 0,73 para o ceco e 0,84 para a APCA. Isso indica que a massa tecidual do abomaso reflete mais a superfície absortiva desse órgão do que no caso do ceco e APCA.

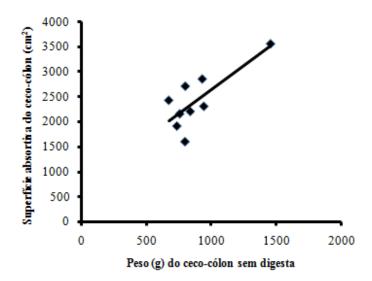


FIGURA 4 Correlação entre peso do ceco-cólon sem digesta (PC) e a superfície absortiva do ceco-cólon (SC).  $SC = 703,492 + 1,936 * PC; r^2 = 0,60; P = 0,01.$ 

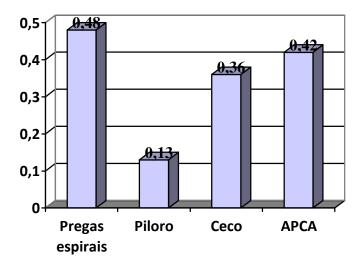


FIGURA 5 Valores médios dos índices mitóticos das regiões de pregas espirais, pilórica, ceco e APCA de bovinos adultos.

Os valores dos IM das regiões estudadas podem ser visualizados na FIGURA 5. Na região de pregas espirais, o maior IM na mucosa do abomaso indica uma maior proliferação de células quando comparado ao IM da região pilórica do abomaso, resultante de uma maior taxa de renovação celular (Samuelson, 2007) e provavelmente também de uma maior absorção de AGV, como já observado no rúmen (Sakata & Tamate, 1976; Gálfi et al., 1986), visto que, a região de pregas espirais corresponde a 91% da superfície absortiva do abomaso. O IM entre as duas regiões do abomaso mostrou correlação positiva e alta (0.81, P < 0.05), indicando que os fatores estimulatórios da proliferação da mucosa podem ser os mesmos para o órgão como um todo. Já os IM do ceco e da APCA não apresentaram diferenças significativas entre si e não foram correlacionados. No entanto, não é seguro inferir que as variações de IM nesses órgãos não dependem dos mesmos fatores. Certamente será necessário um

experimento com amostragem maior para se estabelecer a relação dessa variável entre esses órgãos.

As concentrações de AGV e pH do fluido provocam alterações na taxa fracional de absorção de AGV (Dijkstra et al., 1993; Melo, 2007) e no IM (Sakata & Tamate, 1976; Gálfi et al., 1986), do epitélio ruminorreticular. O mesmo parece ocorrer no ceco-cólon. Ao isolar o ceco de carneiros e realizar infusões de AGV (in vivo) através de uma cânula, implantada cirurgicamente, Myers et al. (1967) observaram alterações na taxa fracional de absorção quando houve alterações no ph do fluido e nas concentrações de AGV. Não existem pesquisas que demonstrem alterações na proliferação celular do ceco-cólon de ruminantes, mas a influência da dieta e de infusões diretas de AGV no IM, no peso de mucosa e no tamanho das criptas já foram demonstradas no ceco e APCA de ratos (Sakata & Engelhardt, 1983; Sakata, 1987; Edwards et al., 1992; Ichikawa & Sakata, 1997), e provavelmente o mesmo deve ocorrer no cecocólon de ruminantes. Entretanto, há de se considerar que o aporte de energia para a câmara de fermentação distal varia principalmente com fatores relacionados ao manejo alimentar. Sendo assim, dietas mais energéticas não necessariamente levariam ao maior aporte de matéria orgânica fermentável no ceco e APCA, resultando em maior concentração de AGV. Por outro lado, a proliferação epitelial induzida por AGV tem o envolvimento de fatores indiretos como insulina (Sakata et al., 1980) e IGF-1 (Shen et al., 2004). Daniel (2007), trabalhando in vitro com fragmentos de estômago de bovinos encontrou correlação positiva e alta entre IM e taxa fracional de absorção no omaso, mas não no rúmen. O conhecimento desse comportamento na câmara de fermentação distal traria um incremento importante nessa área de conhecimento.

## 6 CONCLUSÕES

A superfície absortiva da região de pregas espirais correspondem a aproximadamente 91 % da superfície absortiva total do abomaso. Observou-se uma correlação positiva entre a massa tecidual do abomaso e a área de superfície absortiva.

O ceco-cólon correspondeu a 3,5 % da superfície do rúmen e a 10 % da superfície do omaso e possui alta eficiência em produção de energia metabolizável por superfície absortiva.

O índice mitótico entre os diferentes segmentos estudados foram diferentes. Os valores observados para as regiões de pregas espirais, pilórica, ceco e alça proximal do cólon ascendente foi respectivamente de 0,48 %; 0,14 %; 0,36 % e 0,41 %.

Foi possível estabelecer regressões, com alta significância, entre o peso da mucosa + submucosa da região de pregas espirais, o peso da mucosa + submucosa total do abomaso e o peso do abomaso sem digesta e a superfície absortiva total do abomaso. Essas regressões podem facilitar metodologicamente trabalhos posteriores que necessitem da mensuração da superfície absortiva dos órgãos estudados.

# 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGMAN, E. N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 70, n. 2, p. 567-590, Apr. 1990.

BOLTON, J. R.; MERRIT, A. M.; CARLSON, G. M.; DONAWICK, W. J. Normal abomasal electromyography and emptying in sheep and the effects of intraabomasal volatile fatty acid infusion. **American Journal of Veterinary Reserch**, Shaumburg, v. 37, n.12, p. 1387-1392, Dec. 1976.

- DANIEL, J. L. P. Avaliação morfofisiológica da absorção e metabolização de ácidos graxos voláteis pelo proventrículo de bovinos. 2007. 147 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- DANIEL, J. L. P.; RESENDE JÚNIOR, J. C.; CRUZ, F. J. Participação do ruminorretículo e omaso na superfície absortiva total do proventrículo de bovinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 5, p. 688-694, Out. 2006.
- DEPENBUSCH, B. E.; NAGARAJA, T. G.; SARGEANT, J. M.; DROUILLARD, J. S.; LOE, E. R.; CORRIGAN, M. E. Influence of processed grains on fecal pH, starch concentration, and shedding of Escherichia coli O157 in feedlot cattle. **Journal of Animal Science**, Champaing, v. 86, n. 3, p. 632-639, Mar. 2008.
- DIJKSTRA, J.; BOER, H.; BRUCHEM, J. van.; BRUINING, M.; TAMMINGA, S. Absorption of volatile fatty acids from the rumen of lactating dairy cows as influenced by volatile fatty acid concentration, pH and rumen liquid volume. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 69, n. 2, p. 385-396, Mar. 1993.
- EDWARDS, C. A.; WILSON, R. G.; HANLON, L.; EASTWOOD, M. A. Effect of the dietary fiber content of lifelong diet on colonic cellular proliferation in the rat. **Gut**, London, v. 33, p. 1076-1079, Aug. 1992
- ELSDEN, S. R.; HITCHCOCK, M. W. S.; MARSHALL, R. A.; PHILLIPSON, A. T. Volatile acid in the digesta of ruminants and other animals. **The Journal of Experimental Biology**, London, v. 22, n. 3/4, p. 191-202, May 1946.
- GÁLFI, P.; NEOGRÁDY, S.; KUTAS, F. Dissimilar ruminal epithelial response to short-term and continuous intraruminal infusion of sodium n-butyrate. **Zentralblatt für Veterinärmedizin A**, Berlin, v. 33, n. 1, p. 47-52, Jan. 1986.
- GETTY, R. **Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos.** 5. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. 2000 p.
- ICHIKAWA, H.; SAKATA, T. Effect of L-lactic acid, short-chain fatty acids, and pH in cecal infusate on morphometric and cell kinetic parameters of rat cecum. **Digestive Diseases Sciences**, Amsterdam, v. 42, n. 8, p. 1598-1610, Aug. 1997.

- MELO, L. Q. Morfometria ruminal e efeito do pH e do volume da digesta sobre a absorção de ácidos graxos voláteis. 2007. 60 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) Universidade Federal de Lavras, Lavras.
- MYERS, L. L.; JACKSON, H. D.; PACKETT, L. V. Absorption of volatile fatty acids from the cecum of sheep. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 26, n. 6, p. 1450-1458, Nov. 1967.
- NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. The viscera of the domestic mammals. 2. ed. Berlim, Hamburg: Verlag P. Parey, 1979. v. 2, 403 p
- PETERS, J. P.; SHEN, R. Y. W.; CHESTER, S. T. Propionic acid disappearance from the foregut and small intestine of the beef steer. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 68, n. 11, p. 3905-3913, Nov. 1990.
- REINOLDS, C. K.; DÜRST, B.; LUPOLI, B.; HUMPHRIES, D. J.; BEEVER, D. E. Visceral tissue mass and rumen volume in dairy cows during the transition from late gestation to early lactation. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 87, n. 4, p. 961-971, Apr. 2004.
- RESENDE JÚNIOR, J. C.; ALONSO, L. S.; PEREIRA, M. N.; ROCA, M. G. M.; DUBOC, M. V.; OLIVEIRA, E. C.; MELO, L. Q. Effect of the feeding pattern on rumen wall morphology of cows and sheep. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 526-536, July/Aug.. 2006a.
- RESENDE JÚNIOR, J. C.; PEREIRA, M. N.; BÔER, H.; TAMMINGA, S. Comparison of techniques to determine the clearance of ruminal volatile fatty acids. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 89, n. 8, p. 3096-3106, Aug. 2006b.
- RUPP, G. P.; KREIKEMEIER, K. K.; PERINO, L. J.; ROSS, G. S. Measurement of volatile fatty acid disappearance and fluid flux across the abomasum of cattle, using an improved omasal cannulation technique. **American Journal of Veterinary Research**, Schaumburg, v. 55, n. 4, p. 522-529, Apr. 1994.
- SAKATA, T.; ENGELHARDT, W. V. Stimulatory effect of short chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in rat large intestine. **Comparative Biochemitry and Physiology**, Oxford, v. 74, n. 2, p. 459-462, 1983.

SAKATA, T.; HIKOSAKA, K.; SHIOMURA, Y.; TAMATE, H. Stimulatory effect of insulin on ruminal epithelium cell mitosis in adult sheep. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 44, n. 3, p. 325-331, Nov. 1980.

SAKATA, T. Stimulatory effect of short chain fatty acids on the epithelial cell proliferation in rat large intestine: a possible explanation for trophic effects of fermentable fiber, gut microbes and luminal trophic factors. **The British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 58, n. 1, p. 95-103, July 1987.

SAKATA, T.; TAMATE, H. Effect of intraruminal injection of n-sodium butyrate on the mitotic indices in sheep ruminal epithelium. **Tohoku Journal of Agricultural Research**, Sendai-shi, v. 27, n. 3/4, p. 133-135. Dec. 1976.

SAMUELSON, D. A. **Tratado de histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 527 p.

SHEN, Z.; SEYFERT, H. M.; LÖHRKE, B.; SCHNEIDER, F.; ZITNAN, R.; CHUDY, A.; KUHLA, S.; HAMMON, H. M.; BLUM, J. W.; MARTENS, H.; HAGEMEISTER, H; VOIGT, J. An energy-rich diet causes rumen papillae proliferation associated with more IGF type 1 receptors and increased plasma IGF-1 concentrations in young goats. **The Journal of Nutrition**, Bethesda, v. 134, n. 1, p. 11-17, Jan. 2004.

SICILIANO-JONES, J.; MURPHY, M. R. Production of volatile fatty acids in the rumen and cecum-colon of steers as affected by forage: concentrate and forage physical form. **Journal of Dairy Science**, Champaign, v. 72, n. 2, p. 485-492, Feb. 1989.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEMS. **SAS/STAT Users Guide:** version 6.12. Cary, 1999. 842 p.

SVENDSEN, P. Etiology and pathogenesis of abomasal displacement in cattle. **Nordisk Veterinary Medicine**, Copenhagen, v. 21, p. 1, 1969. Supplement 1.

VOELKER, J. A.; ALLEN, M. S. Pelleted beet pulp substituted for high-moisture corn: 3. effects on ruminal fermentation, pH, and microbial protein efficiency in lactating dairy cows. **Journal of Dairy Science**, Savoy, v. 86, n. 11, p. 3562-3570, Nov. 2003.

WHEELER, W. E.; NOLLER, C. H. Gastrointestinal tract pH and starch in feces f ruminants. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 44, n. 1, p. 131-135, Jan. 1977.

# 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As superfícies absortivas do abomaso e ceco-cólon são menores que as do rúmen e do omaso, no entanto, o significado dessa informação na cinética de absorção de AGV é obscuro até que se elucidem os parâmetros fisiológicos envolvidos.

Estudos que comparem as taxas fracionais de absorção de AGV entre os sítios de produção e absorção de AGV devem ser realizados para que se possa efetivamente correlacionar a morfologia dos órgãos com a cinética de absorção de AGV no TGI.