



MARSEILE REIS JUNQUEIRA

**CARACTERÍSTICAS
HISTOMORFOMÉTRICAS DO INTESTINO
DELGADO DE FETOS SUÍNOS**

**LAVRAS – MG
2015**

MARSEILE REIS JUNQUEIRA

**CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOMÉTRICAS DO INTESTINO
DELGADO DE FETOS SUÍNOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Vinícius de Souza Cantarelli

Coorientador

Dr. Márvio Lobão Teixeira de Abreu

**LAVRAS – MG
2015**

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo (a) próprio (a) autor (a).

Junqueira, Marseile Reis.

Características histomorfométricas do intestino delgado de
fetos suínos / Marseile Reis Junqueira. – Lavras: UFLA, 2015.
61 p. : il.

Dissertação (mestrado acadêmico) – Universidade Federal de
Lavras, 2015.

Orientador(a): Vinícius de Souza Cantarelli.
Bibliografia.

1. Leitões. 2. Gestação. 3. Crescimento intrauterino. 4.
Duodeno. 5. Jejuno. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

MARSEILE REIS JUNQUEIRA

**CARACTERÍSTICAS HISTOMORFOMÉTRICAS DO INTESTINO
DELGADO DE FETOS SUÍNOS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, área de concentração em Nutrição e Produção de Não Ruminantes, para obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 25 de fevereiro de 2015.

Dra. Fernanda Radicchi Campos Lobato de Almeida	UFMG
Dr. Gregório Corrêa Guimarães	UFLA
Dr. Márvio Lobão Teixeira de Abreu	UFLA
Dr. Rony Antônio Ferreira	UFLA

Dr. Vinícius de Souza Cantarelli
Orientador

Dr. Márvio Lobão Teixeira de Abreu
Coorientador

**LAVRAS – MG
2015**

DEDICO

Ao meu vô Zizinho (in memorian), que partiu faltando tão pouquinho pra me ver tornar mestre.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus. Àquele que me deu sabedoria para descobrir minha vocação, me encorajou dia após dia enchendo meu coração de gratidão.

Sem palavras pra agradecer ao meu amado Renato. Obrigada por tanto amor, paciência, incentivo e carinho! Obrigada por me fazer feliz todos os dias de minha vida.

Agradeço à minha família, sempre tão presente, que me acompanhou sempre orgulhosa e me apoiou em cada decisão tomada. Papai e mamãe, exemplos de honestidade e simplicidade. Murilo e Lívia, sempre positivos e amorosos. Agradeço também à minha segunda família de Mogi Mirim, que sempre me recebeu com muito carinho.

Às queridas amigas/irmãs, Mariana, Marilane, Mírian e Anaise. Obrigada pelos melhores anos da minha faculdade. Eu não teria chegado até aqui se não tivesse vocês ao meu lado.

Agradeço à amiga, companheira e parceira, Carolina Fernandes, pela amizade, confiança, por tantos pensamentos semelhantes compartilhados e por me alegrar mesmo a quilômetros de distância. Sempre te levarei em meu coração.

Agradeço à querida amiga, Raquel Pereira, pela ajuda a qualquer custo e conhecimento compartilhado dentro e fora do Laboratório de Histologia. Obrigada por ouvir pacientemente minhas ideias e meus argumentos, mesmo quando você já sabia que você tinha toda razão.

Aos amigos do NESUI, que ajudaram a despertar em mim o amor pela suinocultura, em especial, ao Rafael Betarelli por permitir utilizar parte de seu trabalho, à Letícia Amaral por encabeçar grandes ideias, ao Cesar Garbossa pelo apoio e principalmente ao Hebert Silveira pelos conselhos preciosos e ajuda sem tamanho do começo ao fim dessa etapa.

Ao meu orientador, Professor Vinícius de Souza Cantarelli, ao qual dedico um grande respeito e gratidão, por acreditar em mim quando eu mesma já não acreditava. Por me incentivar a “sair da caixinha” e fazer a diferença.

Ao meu coorientador, professor Márvio Lobão Teixeira de Abreu, que através do carinho pela sua profissão nos transmite uma enorme confiança.

Aos professores, Rony Ferreira, Gregório Corrêa e Fernanda Almeida pela presença e ajuda nesse momento tão importante.

Aos professores Márcio Zangeronimo e Raimundo Sousa por sempre estarem disponíveis.

Aos professores do programa de Pós-Graduação da UFLA, pela formação.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA) e ao Departamento de Zootecnia, pela oportunidade de realização do mestrado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Assim, me despeço da Universidade Federal de Lavras, onde aprendi acima de tudo muito sobre humildade, respeito, dedicação e admiração. Obrigada a todos que de alguma forma contribuíram pra que eu chegasse até aqui!

“É muito melhor arriscar coisas grandiosas, alcançar triunfos e glórias, mesmo expondo-se a derrota, do que formar fila com os pobres de espírito que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem nessa penumbra cinzenta que não conhece vitória nem derrota”.

Theodore Roosevelt

RESUMO GERAL

Objetivou-se com este trabalho avaliar a influência do peso de fetos oriundos de primíparas sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de suínos em diferentes períodos gestacionais (50, 80 e 106 dias). Foram utilizados os fetos provenientes de 15 fêmeas, sendo cinco fêmeas por período gestacional em um delineamento experimental inteiramente casualizado, no qual fetos de cada período gestacional foram divididos em quatro diferentes classes, em função do peso, caracterizando quatro tratamentos (C1, C2, C3, C4). Cada feto representou uma unidade experimental. As médias de peso foram: aos 50 dias C1 34,90 g; C2 40,07 g; C3 46,91 g; C4 50,81 g; aos 80 dias: C1 281,71 g; C2 380,94 g; C3 423,81 g; C4 509,29 g / e aos 106 dias: C1 919,64 g; C2 1090,36 g; C3 1214,36 g; C4 1380,86 g. Após o abate e retirada do trato reprodutivo os fetos foram pesados e abertos longitudinalmente para coleta de duodeno e jejuno. Para as análises de morfometria e área foram utilizados os programas Axion Vision v4.8 e ImageJ v1.46, respectivamente. Foi possível observar que aos 50 dias a C1 apresentou menor área de duodeno ($P<0,05$). No mesmo período a área de jejuno foi maior nos fetos da C4. Aos 80 dias os fetos da C1 e C4 apresentaram a menor e a maior área de duodeno, respectivamente ($P<0,05$) enquanto o jejuno teve maior área em C3 e C4 ($P<0,05$). Aos 106 dias, a área de jejuno é maior na C2 e C3 em relação à C1, sendo que apenas na C3 a superfície absorptiva é melhor em relação à C1 ($P<0,05$). Aos 50 dias a menor e a maior largura de cripta do duodeno são de C1 e C2, respectivamente. Aos 80 dias é observada diferença apenas no duodeno, sendo a profundidade de cripta da C1 maior que da C2 ($P<0,05$). Aos 106 dias a profundidade de cripta é maior na C1 e menor na C2 sendo a menor relação da C2 e a maior da C1 ($P<0,05$). No jejuno maior altura das vilosidades foi observada na C3 e menores alturas na C1 e C4 ($P<0,05$), houve uma maior relação vilo/cripta na C2 e menor na C1 e C4 ($P<0,05$). Desta forma pode-se concluir que o peso fetal influencia o desenvolvimento intestinal, havendo, em determinadas etapas gestacionais, correlações entre o peso e as variáveis analisadas. Portanto, um baixo peso fetal pode afetar o desenvolvimento da mucosa intestinal.

Palavras-chave: Leitões. Gestação. Crescimento intrauterino. Duodeno. Jejuno.

GENERAL ABSTRACT

In this study aimed to evaluate fetuses' weight influence from primiparous on development of swine intestinal mucosa in different gestational periods (50, 80 and 106 days). Fetuses from 15 females were used, five for each gestational period in a completely randomized design in which fetuses from each gestational period were divided into four different classes, depending on the weight, featuring four treatments (C1, C2, C3, C4). Each fetus constituted one experimental unit. The average weight were: at 50 days: C1 34.90 g; C2 40.07 g; C3 46.91 g; C4 50.81 g; at 80 days: C1 281.71 g; C2 380.94 g; C3 423.81 g; C4 509.29 g/ and at 106 days: C1 919.64 g; C2 1090.36 g; C3 1214.36 g; C4 1380.86 g. After slaughter and reproductive tract removal the fetuses were weighed and longitudinally open for duodenum and jejunum collection. For morphometry analysis and area were used the Axion Vision v4.8 and ImageJ v1.46 programs, respectively. Thus, it was observed that at 50 days the C1 presented a lower duodenal area ($P<0.05$). In the same period the jejunum area was higher in fetuses of C4. At 80 days fetuses of C1 and C4 had the lowest and the highest duodenal area, respectively ($P<0.05$) while the jejunum had larger area C3 and C4 ($P<0.05$). At 106 days, the jejunum area is larger at the C2 and C3 in relation to C1 and only in C3 the absorptive surface is better compared to C1 ($P<0.05$). At 50 days the smallest and the largest width of duodenal crypt are in C1 and C2, respectively. At 80 days it is observed difference only in duodenum, being C1 crypt depth greater than C2 ($P<0.05$). At 106 days crypt depth is greater in C1 and smaller in C2, being the lowest C2 relation and greater C1 ($P<0.05$). In the jejunum greater villus height was observed in C3 and lower heights in C1 and C4 ($P<0.05$), there was a greater villous/crypt ratio in C2 and smaller in C1 and C4 ($P<0.05$). Thus, it can be concluded that fetal weight influences the intestinal development, there are, in certain gestational stages, correlation between weight and the analyzed variables. So, a low fetal weight can affect the intestinal mucosa development.

Keywords: Piglets. Pregnancy. Intrauterine growth. Duodenum. Jejunum.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE

- Figura 1** Crescimento fetal de suínos..... 17
Figura 2 Evolução do conteúdo proteico de fetos suínos..... 17

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

- Figura 1** Esquema da segmentação intestinal de fetos suínos..... 38
Figura 2 Segmento intestinal com a camada muscular e o fundo da lâmina recortados através do software Adobe Photoshop CS4... 38
Figura 3 Segmentos intestinais sendo preparados para análise de área através do software ImageJ..... 39

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

Tabela 1	Área e superfície absorptiva aumentada de duodeno e jejuno de acordo com a classe de peso dos fetos em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias).....	41
Tabela 2	Morfometria de duodeno e jejuno de acordo com a classe de peso dos fetos em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias).....	43
Tabela 3	Valores de correlação de Pearson (R^2) e respectivos valores de probabilidade (P) entre as variáveis de duodeno em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias).....	45
Tabela 4	Valores de correlação de Pearson (R^2) e respectivos valores de probabilidade (P) entre as variáveis de jejuno em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias).....	47

SUMÁRIO

	PRIMEIRA PARTE.....	14
1	INTRODUÇÃO.....	14
2	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
2.1	Período gestacional da fêmea suína.....	16
2.2	Capacidade intrauterina e sua relação com o tamanho da leitegada.....	17
2.3	Peso ao nascimento e desenvolvimento pós-natal.....	19
3	ONTOGENIA DO TRATO DIGESTÓRIO.....	22
	REFERÊNCIAS.....	26
	SEGUNDA PARTE ARTIGO.....	31
	ARTIGO 1.....	31
	Características histomorfométricas do intestino delgado de fetos suínos de diferentes classes de peso.....	31
1	INTRODUÇÃO.....	34
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	35
2.1	Animais e instalações.....	35
2.2	Delineamento experimental.....	35
2.3	Procedimento experimental.....	36
2.4	Análises de morfometria, área e superfície absortiva aumentada.....	37
2.5	Análises estatísticas.....	40
3	RESULTADOS.....	41
4	DISCUSSÃO.....	49
4.1	Área e superfície absortiva aumentada dos segmentos de duodeno e jejuno.....	49
4.2	Morfometria dos segmentos de duodeno e jejuno.....	52
5	CONCLUSÕES.....	56
	REFERÊNCIAS.....	57

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O trato gastrointestinal (TGI) desempenha um papel crucial no desenvolvimento animal, atuando na obtenção de nutrientes para todas as células. Além de ser o principal órgão para digestão e absorção, o intestino atua ainda como barreira de defesa contra os patógenos e substâncias indesejáveis provenientes da dieta. Seu desenvolvimento e maturação embrionária, fetal e até mesmo pós-natal apresenta uma estreita relação com suas funções de digestão, secreção, motilidade, absorção e defesa.

A fim de satisfazer as metas produtivas do suinocultor, o melhoramento genético focou em linhagens de fêmeas com taxas de ovulação superiores. Entretanto, o acréscimo na taxa de ovulação e a possível limitação da capacidade uterina levam ao nascimento de leitões mais leves, de crescimento lento e com prejuízo no desenvolvimento de alguns de seus órgãos vitais. Portanto, embora o crescimento e o desenvolvimento do feto e de seus órgãos sejam guiados pelo genoma, alterações e anormalidades no ambiente intrauterino podem alterar a expressão do genoma fetal. Nesses casos em que o crescimento fetal é alterado ou deficiente, o TGI é afetado antes mesmo do surgimento de deficiências de quaisquer outros órgãos fetais, estando as anomalias no desenvolvimento intestinal entre um dos principais fatores que contribuem para a mortalidade de neonatos.

Há uma carência de estudos que abordem a relação entre o peso dos leitões em diferentes períodos gestacionais e o desenvolvimento e a maturação do TGI. Portanto, há necessidade de pesquisas que nos permitam conhecer e compreender os fatores envolvidos no desenvolvimento do intestino e entender quais são os recursos necessários para otimizá-lo, contribuindo assim para adoção de estratégias mais eficientes na melhoria da saúde intestinal e na adaptação nutricional dos animais na fase pós-natal.

Desta forma, objetivou-se com este trabalho avaliar a influência do peso de fetos oriundos de primíparas sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de suínos em diferentes períodos gestacionais (50, 80 e 106 dias).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Período gestacional da fêmea suína

O período gestacional da fêmea suína dura em média 114 dias, sendo normalmente subdividido em terços.

O primeiro terço é caracterizado pelo reconhecimento materno da gestação, ocorrendo uma série de eventos desde a clivagem da primeira célula, originada a partir da fertilização, até a completa implantação dos conceptos e a placentação (PANZARDI et al., 2007).

Por volta do 35º dia gestacional (aproximadamente) a organogênese se completa com a deposição de cálcio nos ossos, tendo início o terço médio gestacional correspondente à fase fetal (PANZARDI et al., 2007). É nessa fase que o número de fibras musculares dos fetos é estabelecido, podendo determinar a eficiência do crescimento pós-natal (DWYER; FLETCHER; STICKLAND, 1993). É também durante o terço médio da gestação que se observa o desenvolvimento alométrico de diferentes tecidos e órgãos fetais (SILVA et al., 2012). Mc Pherson et al. (2004) estudando as taxas de deposição de nutrientes em tecidos fetais, observaram um aumento (segundo uma curva cúbica) de massa corporal dos fetos (figura 1). Ocorrendo um rápido aumento das taxas diárias de deposição proteica (de 0,25g/d para 4,63g/d, (figura 2) a partir do dia 69 de gestação.

Já o terço final da gestação é marcado pelo desenvolvimento da glândula mamária (76 a 90 dias) e pelo acelerado crescimento fetal (a partir de 91 dias), ocorrendo rápidos aumentos, principalmente na massa do trato gastrintestinal dos fetos (BUDDINGTON; MALO, 1996; FOXCROFT et al., 2006 ; POND; MERSMANN, 2001; WU et al., 1999).

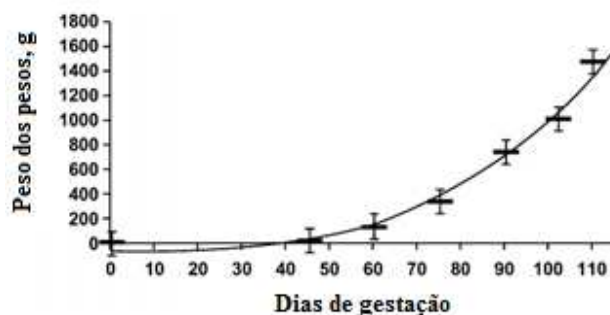


Figura 1 Crescimento fetal de suínos

Fonte: Mc Pherson et al., (2004)

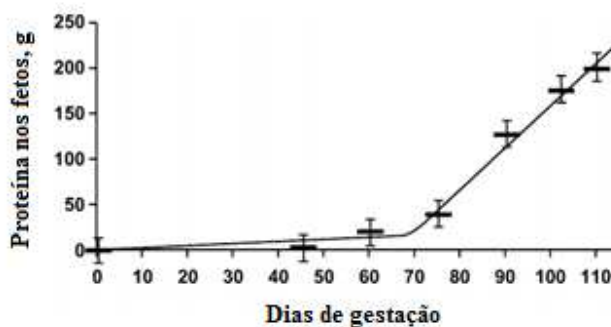


Figura 2 Evolução do conteúdo proteico de fetos suínos

Fonte: Mc Pherson et al. (2004)

2.2 Capacidade intrauterina e sua relação com o tamanho da leitegada

Perdas significativas de embriões e fetos podem ocorrer durante o início, meio e final da gestação da fêmea suína (GEISERT; SCHMITT, 2002; JONKER, 2004; VAN DER LENDE; VAN RENS, 2003), sendo o número de fetos vivos mantidos pelo útero denominado como capacidade uterina (FORD; VONNAHME; WILSON, 2002). A capacidade intrauterina pode ser definida também em termos de área de superfície de ligação endométrio-placentária necessária para suportar as exigências de nutrientes de um feto durante o período gestacional (FORD; VONNAHME; WILSON, 2002).

A capacidade intrauterina passa a ser um fator limitante à sobrevivência fetal quando a placenta de cada concepto começa a expandir-se rapidamente, entre os dias 30 e 40 de gestação, gerando uma competição pelo espaço intrauterino (FORD; VONNAHME; WILSON, 2002; VALLET, 2000). Embora a fase com o maior índice de perdas de conceptos (30%) ocorra entre os dias 11 e 18 de gestação, no período de peri-implantação, após os 90 dias de gestação, são registrados índices de 5 a 10% de mortalidade e tal fato deve-se ao pico de crescimento fetal e aumento da competição pelo espaço uterino limitado (FORD; VONNAHME; WILSON, 2002).

Nos estudos realizados por Dziuk (1985) é sugerido que quando o número de embriões excede a quatorze, a lotação uterina torna-se um fator limitante para o tamanho da leitegada devido à uma limitação de área para troca de nutrientes materno/fetal. Assim, o espaçamento adequado entre os conceptos seria necessário para garantir o crescimento dos fetos e permitir o desenvolvimento de cada unidade da placenta, de forma que haja o mínimo de concorrência pelos vasos sanguíneos maternos disponíveis. Portanto, o tamanho da leitegada está associado com peso ao nascimento (HOLANDA et al., 2005), taxas de leitões natimortos e de mumificados e sobrevivência pré-desmame (CUTLER et al., 1999; DIAL et al., 1992; LEENHOUWERS et al., 2002).

De acordo com Ashworth et al. (2001), leitões mais leves teriam desenvolvimento assimétrico dos órgãos, com alterações que comprometem sua função já na vida intrauterina. Portanto, qualquer fator que provoque um espaçamento desuniforme pode restringir não só o crescimento da placenta, mas também dos fetos e de seus órgãos vitais (DZIUK, 1985).

Dessa forma, fica evidente que o baixo peso ao nascimento, resultante da alta prolificidade das fêmeas modernas associada à limitação da capacidade uterina, podem comprometer o potencial de crescimento dos animais dentro do sistema de produção.

2.3 Peso ao nascimento e desenvolvimento pós-natal

Diversos fatores podem influenciar o crescimento dos fetos e de seus órgãos e contribuir para o aumento da mortalidade pré-desmame.

A genética dos pais, a nutrição materna, má absorção intestinal materna, prestação inadequada de nutrientes pelo líquido amniótico e alantoide, a ingestão de substâncias tóxicas, temperatura ambiental e estresse, distúrbios no metabolismo materno ou fetal, mecanismos de homeostase, tamanho e capacidade funcional da placenta e do útero, transferência útero-placentária de nutrientes e oxigênio estão entre os fatores que predispõem a um grau de atraso no desenvolvimento e na maturação fetal (MELLOR, 1983; REDMER; WALLACE; REYNOLDS, 2004; WU et al., 2004). As consequências das condições estressantes no útero são dependentes da sua natureza, gravidade, fase da gestação e duração (WU et al., 2006).

O crescimento dos leitões na fase intrauterina determina o peso ao nascer e este está diretamente relacionado com a sobrevivência e o crescimento pós-natal dos suínos (QUINIOU; DAGORN; GAUDRÉ, 2002). Embora não exista um limiar de peso abaixo do qual os leitões tenham uma probabilidade acrescida morrer (LE DIVIDICH et al., 1991), alguns estudos apontam fatores que podem acarretar a sobrevida desses animais. De acordo com Casellas et al. (2004) e Le Dividich et al. (1991), leitões que nascem com peso inferior a 1,0 kg possuem menores níveis de reservas energéticas corporais, maior dissipação de calor por contato e, portanto, maior dificuldade em manter a homeotermia. Demoram mais tempo para atingir o complexo mamário e apresentam menor competitividade na mama (LE DIVIDICH et al., 1991; QUINIOU; DAGORN; GAUDRÉ, 2002; SCHEEL; GRAVES; SHERRITT, 1977), ingerindo menos colostro e adquirindo menor imunidade passiva (LE DIVIDICH et al., 1981; QUINIOU; DAGORN; GAUDRÉ, 2002). Portanto, leitões com baixo peso ao nascimento podem ter sofrido um *imprinting* genômico, ou seja, uma regulação

na expressão gênica que pode resultar em uma programação pré-natal dos tecidos, alterando a expressão do genoma fetal e resultando em efeito prejudicial sobre seus órgãos corporais internos mais vulneráveis (como tecidos de crescimento rápido) (ALVARENGA et al., 2011). Assim, leitegadas de baixo peso podem apresentar o intestino, fígado, pâncreas, baço e rins mais leves, sendo o crescimento de “órgãos-chave” como o cérebro relativamente preservado, resultando em medidas desproporcionais do corpo (WANG et al., 2014; WLADMIROFF; TONGE; STEWART, 1986). Embora, devido a um menor fluxo sanguíneo, podem ser observadas alterações no metabolismo e na função cerebral, resultando em alterações no comportamento animal.

Um comprometimento no desenvolvimento e na maturação dos ossos em fetos mal nutridos foi relatado por Adams (1971). Outros autores descreveram uma imaturidade funcional relacionada a parâmetros hematológicos e cardiovasculares, em que os leitões recém-nascidos de baixo peso apresentavam uma contagem de leucócitos, o nível de proteína do plasma e de glicose no sangue significativamente mais baixo em relação aqueles de peso normal (DEROTH; DOWNIE, 1978). Além disso, foram descritas alterações na função renal acompanhadas de uma redução na frequência cardíaca e na pressão arterial, além de um aumento na concentração de hemácias.

Alterações no metabolismo energético e no balanço hormonal foram também encontradas na literatura. Leitões com um crescimento intrauterino prejudicado apresentaram uma redução nas concentrações plasmáticas de glicose, reduzindo sua resposta à insulina e glucagon, além de baixas concentrações de IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina) (WANG; XU, 2005).

Em sua pesquisa, Wang et al. (2014) observaram que leitões mais leves tiveram o desenvolvimento do músculo esquelético comprometido em relação àqueles leitões mais pesados. De acordo com Foxcroft et al. (2006), um reduzido potencial de crescimento e uma qualidade de carcaça inferior estariam

justamente relacionados à diferenciação, quantidade e à taxa de crescimento das fibras musculares ao nascimento. Evidências apontam também que esses leitões nascidos leves necessitariam de mais dias para atingirem o peso de abate em relação aos seus irmãos mais pesados (ALVARENGA et al., 2011).

Entre um dos principais fatores que podem afetar o potencial de crescimento pós-natal dos animais está o desenvolvimento e a maturação do TGI. Como resultado de alterações na homeostase endócrina associada a mudanças morfológicas, leitões que nascem leves acabam tendo órgãos desproporcionalmente menores e menos eficientes, principalmente aqueles envolvidos na digestão e utilização de nutrientes, como o intestino delgado.

Portanto, alterações no crescimento fetal intrauterino possuem estreita relação com a taxa de mortalidade após o nascimento, estando relacionada ao grau de atraso no desenvolvimento fetal e conseqüentemente na maturação de seus órgãos vitais.

3 ONTOGENIA DO TRATO DIGESTÓRIO

O ID é responsável pela continuidade do processo de digestão e absorção de nutrientes. Seu desenvolvimento inicia-se na fase pré-natal e pode ser definido como um aumento na massa de tecidos, resultante do aumento no número e tamanho das células (WIDDOWSON, 1980).

Ao nascer, o intestino deve estar capacitado para lidar com a mudança de nutrição parenteral (via placenta) para nutrição enteral (via colostro e leite) (ZABIELSKI; GODLEWSKI; GUILLOTEAU, 2008). Em preparação para este acontecimento, nas 3 ou 4 semanas que antecedem o nascimento, o trato digestório cresce e amadurece muito rapidamente, sendo influenciado por uma série de fatores hormonais e tróficos não totalmente esclarecidos (SANGILD, 2001).

Durante a gestação, o desenvolvimento do trato digestório dos fetos divide-se em três principais etapas, sendo elas: (1) organogênese, (2) diferenciação e (3) crescimento e maturação. As fases seguintes, que ocorrem após o nascimento, estão associadas com a sucção de leite e com a adaptação do sistema digestório em utilizar alimentos sólidos, fase correspondente ao pós-desmame (ZABIELSKI; GODLEWSKI; GUILLOTEAU, 2008).

O processo de desenvolvimento do intestino inclui a morfogênese da mucosa intestinal, que passa de um simples tubo formado por células mesenquimais para um tubo composto por um lúmen, de diâmetro variável, revestido por células epiteliais maduras, envolto por quatro camadas distintas: mucosa, submucosa, muscular e serosa (DEKANEY; BAZER; JAEGER, 1997; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

A diferenciação de um epitélio imaturo em quatro principais tipos de células epiteliais é controlada para se ter um desenvolvimento totalmente regulamentado (DEKANEY; BAZER; JAEGER, 1997; WU et al., 2006). Portanto, o comprimento e diâmetro de vilosidades e criptas, da camada muscular própria, submucosa, de nervos, vasos sanguíneos e células do sistema

imunológico, devem coordenar o seu desenvolvimento durante o crescimento do órgão inteiro (SANGILD, 2001).

De acordo com Dekaney, Bazer e Jaeger (1997), aos 35 dias de gestação, inicia-se a formação das primeiras vilosidades, responsáveis por aumentar a área de superfície luminal e, portanto, maximizar a eficiência do intestino. Esse processo, que corresponde à diferenciação epitelial, é mais marcado no duodeno. De fato, de acordo com Trahair e Robinson (1986), diversas características são observadas, primeiramente no duodeno e só depois do jejuno, ocorrendo uma maturação no sentido da porção proximal para a porção distal, seguindo a orientação *polar* de sentido *céfalo-caudal* que ocorre em muitos eventos de desenvolvimento no período embrionário. Essa mesma particularidade pode ser observada aos 40 dias de gestação. Nessa fase, tanto as vilosidades já formadas como os espaços entre elas é constituído por um epitélio colunar simples (DEKANEY; BAZER; JAEGER, 1997).

Aos 60 dias de gestação, além da presença de criptas, já pode ser notada no duodeno uma comunicação destas com a camada de células da submucosa, além da presença de algumas células caliciformes e enteroendócrinas (DEKANEY; BAZER; JAEGER, 1997). Nessa mesma fase em todas as três regiões do intestino delgado as vilosidades apresentam-se vacuoladas. A ocorrência de vacúolos citoplasmáticos é uma característica única do enterócito do tipo fetal. Aparecem primeiramente na parte superior das vilosidades do intestino delgado proximal e ampliam lentamente para o restante do intestino (TRAHAIR; SANGILD, 2002). Após o nascimento, a presença desse tipo de enterócito permite a absorção temporária de imunoglobulinas e outras moléculas biologicamente ativas de forma intacta através do sistema canalicular apical (SANGILD et al., 2001). Os enterócitos com vacúolos digestivos desaparecem gradualmente sendo observados, na fase pós-natal, somente durante os primeiros 2 a 3 dias de vida do leitão. Tal fato justifica a maior capacidade de

transporte de glicose que leitões recém-nascidos prematuros possuem quando comparados com os que nasceram dentro do prazo (GRAND; WATKINS; TORTI, 1976; SANGILD et al., 2001).

Essa diferença nas populações de enterócitos também é responsável pela mudança existente no transporte de nutrientes entre o intestino de neonatos e o de adultos. Enquanto em neonatos o transporte de nutrientes ocorre ao longo de todo eixo vilosidade-cripta, em adultos a absorção é deslocada para a parte superior das vilosidades (SMITH, 1981). Além disso, após o nascimento, as únicas células epiteliais maduras com capacidade para transporte do conteúdo intestinal, como nos enterócitos do tipo fetal, são as células M que cobrem a placa de Peyer (TRAHAIR; SANGLID, 2002). De acordo com Baintner (1994) a velocidade em que ocorre o desaparecimento do vacúolo nos enterócitos está estritamente associada à maturação intestinal. A esse processo dá-se o nome de encerramento fetal, sendo uma exclusividade dos mamíferos.

Aos 90 dias de gestação a camada muscular da mucosa, no duodeno, encontra-se bem desenvolvida. É possível observar um aumento visível de glândulas duodenais e a presença da borda em escova. Além disso, células caliciformes e enteroendócrinas encontram-se presentes em todo o epitélio intestinal e nas criptas, respectivamente (DEKANEY; BAZER; JAEGER, 1997).

Aos 110 dias de gestação, tanto as vilosidades quanto as criptas já estão bem desenvolvidas, principalmente no intestino proximal. As microvilosidades apresentam-se uniformes e alongadas. São observados enterócitos vacuolados apenas na parte mais distal do jejuno e as células caliciformes encontram-se maduras, podendo inclusive ser observada a presença de gotículas de mucina (DEKANEY; BAZER; JAEGER, 1997).

Uma das características mais marcantes do intestino delgado dos leitões é a notada capacidade absorptiva de nutrientes já na vida intrauterina (SANGILD et al., 2001). A atividade absorptiva dos enterócitos pode ser identificada a partir

de sete semanas de gestação, apresentando um rápido aumento nas semanas subsequentes (BUDDINGTON; MALO, 1996). De acordo com Buddington et al. (2012) o transporte ativo de glicose e aminoácidos em fetos suínos pode ser notado quando a gestação encontra-se apenas 40% concluída.

Neste mesmo período podem ser observados, no intestino delgado proximal, dois tipos de transportadores de glicose dependentes de Na^+ (BUDDINGTON; MALO, 1996). Ao final da gestação a atividade absorptiva de monossacarídeos apresenta um aumento significativo, sendo máxima ao nascimento. Já a atividade absorptiva de aminoácidos permanece inalterada durante o mesmo período (SANLGILD et al., 2001).

Na verdade, há poucas informações a respeito das mudanças que ocorrem no desenvolvimento da capacidade de absorção, principalmente de minerais, peptídeos e vitaminas no período pré-natal (XU; CRANWELL, 1993). Até mesmo porque antes do nascimento, o trato gastrointestinal é exposto somente a pequenas quantidades de nutrientes complexos via ingestão de fluido amniótico (TRAHAIR; SANGILD, 2002).

Apesar das mudanças graduais, que ocorrem após o nascimento, a maior parte dos eventos do desenvolvimento do TGI acontece no período perinatal (SANGILD, 2001), portanto um menor crescimento e maturação do TGI durante esta fase pode comprometer o desenvolvimento animal como um todo, e ainda o predispor a uma menor adaptação nutricional na vida pós-natal.

REFERÊNCIAS

ADAMS, P. H. Intra-uterine growth retardation in the pig: II. Development of the skeleton. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 19, p. 341-353, 1971.

ALVARENGA, A. L. N. **Implicações da programação pré-natal sobre o desempenho subsequente, características de carcaça e qualidade de carne em suínos**. 2011. 154 p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

ASHWORTH, C. J. et al. Causes and consequences of fetal growth retardation in pigs. **Reproduction**, Cambridge, v. 58, p. 233-246, July 2001. Suppl.

BAINTNER, K. Demonstration of acidity in intestinal vacuoles of the suckling rat and pig. **Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, Baltimore, v. 42, p. 231-238, 1994.

BUDDINGTON, R. K. et al. Prenatal gastrointestinal development in the pig and responses after preterm birth. **Journal Animal Science**, Champaign, v. 90, n. 4, p. 290-298, 2012.

BUDDINGTON, R. K.; MALO, C. Intestinal brush-border membrane enzyme activities and transport functions during prenatal development of pigs. **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**, Philadelphia, v. 23, p. 51-64, 1996.

CASELLAS, J. et al. Viability of Iberian x Meishan F2 newborn Pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 1919-1924, 2004.

CUTLER, R. S. et al. Preweaning mortality. In: STRAW, B. E. et al. (Ed.). **Diseases of swine**. Ames: Iowa State University, 1999. p. 985-1002.

DEKANEY, C. M.; BAZER, F. W.; JAEGER, L. A. Mucosal morphogenesis and cyto differentiation in fetal porcine small intestine. **The Anatomical Record**, New York, v. 249, p. 517-523, 1997.

DEROTH, L.; DOWNIE, H. G. Basic cardiovascular parameters in the underweight neonatal swine. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 34, p. 155–160, 1978.

DIAL, G. D. et al. Reproductive failure: differential diagnosis. In: LEMAN, A. D. et al. (Ed.). **Diseases of swine**. London: Wolfe, 1992. p. 88-137.

DWYER, C. M.; FLETCHER, J. M.; STICKLAND, N. C. Muscle cellularity and postnatal growth in the pig. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 71, n. 12, p. 3339-3343, Dec. 1993.

DZIUK, P. J. Effect of migration, distribution and spacing of pig embryos on pregnancy and fetal survival. **Journal of Reproduction and Fertility**, Cambridge, v. 33, p. 57-63, 1985.

FORD, S. P.; VONNAHME, K. A.; WILSON, M. E. Uterine capacity in the pig reflects a combination of uterine environment and conceptus genotype effects. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, n. 1, p. 66-73, Jan. 2002.

FOXCROFT, G. R. et al. The biological basis for prenatal programming of postnatal performance in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 13, p. 105-112, Apr. 2006.

GEISERT, R. D.; SCHMITT, R. A. M. Early embryonic survival in the pig: Can it be improved? **Journal Animal Science**, Champaign, v. 80, p. E54–E65, 2002. Suppl.

GRAND, R. J.; WATKINS, J. B.; TORTI, E. M. Development of the human gastrointestinal tract. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 70, p. 790-810, 1976 .
HOLANDA, M. C. R. et al. Tamanho da leitegada e pesos médios, ao nascer e aos 21 dias de idade, de leitões da raça Large White. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 57, p. 539-544, 2005.

JONKER, F. H. Fetal death: comparative aspects in large domestic animals. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 82, p. 415–430, 2004.

LE DIVIDICH, J. et al. Body composition and cold resistance of the neonatal pig from European (Large White) and Chinese (Meishan) breeds. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 59, p. 268-277, 1991.

LE DIVIDICH, J.; NOBLET J. Colostrum Intake and thermoregulation in the neonatal pig relation to environmental temperature. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 40, p. 167-174, 1981.

LEENHOUWERS, J. I. et al. Fetal development in the pig in relation to genetic merit for piglet survival. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 80, p. 1759-1770, 2002.

MCPHERSON, R. L. et al. Growth and compositional changes of fetal tissues in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 82, p. 2534-2540, 2004.

MELLOR, D. J. Nutritional and placental determinants of fetal growth rate in sheep and consequences for the newborn lamb. **British Veterinary Journal** 139:307–324, 1983.

PANZARDI, A. et al. Eventos cronológicos da gestação: da deposição dos espermatozoides no trato reprodutivo feminino ao desenvolvimento dos fetos. In: _____. **Suinocultura em ação: a fêmea suína gestante**. 4. ed. Porto Alegre: UFRS, p. 43-71, 2007.

POND, W. G.; MERSMANN, H. J. General characteristics. In: _____. **Biology of the domestic pig**. Ithaca: Cornell University, p. 1-40, 2001.

QUINIQU, N.; DAGORN, J.; GAUDRÉ, D. Variation of piglet's birth weight and consequences on subsequent performance. **Livestock Production Science**. Amsterdam, v. 78, p. 63–70, 2002.

REDMER, D. A.; WALLACE, J. M.; REYNOLDS, L. P. Effect of nutrient intake during pregnancy on fetal and placental growth and vascular development. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, v. 27, p. 199–217, 2004.

SANGILD, P.T. **Transitions in the life of the gut at birth**. In: LINDBERG, J. E.; OGLE, B. Digestive physiology of pigs. London: CAB Internacional, 2001. Disponível em: <http://books.google.com.br/books?id=_oewagVhYWkC&printsec=frontcover&dq=Biology+of+the+Intestine+in+Growing+Animals&lr=&source=gbs_similar_books_s&cad=1#v=onepage&q&f=false>. Acesso em: 3 mar. 2014.

SCHEEL, D. E.; GRAVES, H. B.; SHERRITT, G. W. Nursing order, social dominance and growth in swine. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 45, n. 2, p. 219-229, 1977.

SILVA, A. A. et al. Viabilidade do uso de leitões natimortos nos estudos de miogênese e desenvolvimento de órgãos vitais. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 33, p. 3353-3360, 2012. Supl.

SMITH, M.W. Autoradiographic analysis of alanine uptake by newborn pig intestine. **Experientia**, Basel, v. 37, p. 868-870, 1981.

TRAHAIR, J. F.; ROBINSON, P. M. Perinatal development of the small intestine of the sheep. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 26, p. 1255-1263, 1986.

TRAHAIR, J. F.; SANGILD, P. T. Studying the development of the small intestine: philosophical and anatomical perspectives. In: ZABIELSKI, R., GREGORY, P. C.; WESTRÖM, B. (Ed.). **Biology of the intestine in growing animals**. Amsterdam: Elsevier, 2002. p. 1-54.

VALLET, J. L. Fetal erythropoiesis and other factors which influence uterine capacity in swine. **Journal of Applied Animal Research**, Izatnagar, v. 17, n. 1, p. 1-26, Feb. 2000.

VAN DER LENDE, T.; VAN RENS, B. T. T. M. Critical periods for foetal mortality in gilts identified by analyzing the length distribution of mummified foetuses and frequency of non-fresh stillborn piglets. **Animal Reproduction Science**, Amsterdam, v. 75, p. 141–150, 2003.

WANG, T.; XU, R. J. Effects of colostrum feeding on intestinal development in newborn pigs. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 70, p. 339–348, 2005.

WANG, X. et al. Temporal proteomic analysis reveals defects in small intestinal development of porcine fetuses with intrauterine growth restriction. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 25, n. 7, p. 785-795, 2014.

WIDDOWSON, E. M. Definitions of growth. In: LAWRENCE, T. L. J. (Ed.). **Growth in Animals**. London: Butterworths, 1980. p. 1-9.

WLADMIROFF, J. W.; TONGE, H. M.; STEWART, P. A. Doppler ultrasound assessment of cerebral blood flow in the human fetus. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, London, v. 93, n. 5, p. 471-475, 1986

WU, G. et al. Amino acid composition of the fetal pig. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 5, p. 1031-1038, May 1999.

WU, G. et al. Intrauterine growth retardation: implications for the animal sciences. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, p. 2316-2337, 2006.

WU, G. et al. Maternal nutrition and fetal development. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 134, p. 2169–2172, 2004.

ZABIELSKI, R.; GODLEWSKI, M. M.; GUILLOTEAU, P. Control of development of gastrointestinal system in neonates. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Krakow, v. 59, p. 35-54, 2008.

SEGUNDA PARTE – ARTIGO

ARTIGO 1

Características histomorfométricas do intestino delgado de fetos suínos de diferentes classes de peso

Junqueira, M. R. et al.

Características histomorfométricas do intestino delgado de fetos suínos de diferentes classes de peso

RESUMO

Com o objetivo de avaliar a influência do peso de fetos oriundos de primíparas sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de suínos em diferentes períodos gestacionais (50, 80 e 106 dias), um estudo foi realizado utilizando todos os fetos provenientes de 15 fêmeas, sendo cinco fêmeas por período gestacional em um delineamento experimental inteiramente casualizado, onde os fetos de cada período foram divididos em quatro diferentes classes, de acordo com o peso, caracterizando quatro tratamentos (C1, C2, C3, C4). Cada feto representou uma unidade experimental. As médias de peso foram: aos 50 dias C1 34,90 g; C2 40,07 g; C3 46,91 g; C4 50,81 g; aos 80 dias: C1 281,71 g; C2 380,94 g; C3 423,81 g; C4 509,29 g / e aos 106 dias: C1 919,64 g; C2 1090,36 g; C3 1214,36 g; C4 1380,86 g. Após o abate e retirada do trato reprodutivo os fetos foram pesados e abertos longitudinalmente para coleta de duodeno e jejuno. Para as análises de morfometria e área foram utilizados os programas Axion Vision v4.8 e ImageJ v1.46, respectivamente. Aos 50 dias o C1 apresentou menor área de duodeno ($P < 0,05$). No mesmo período a área de jejuno foi maior na C4. Aos 80 dias os fetos da C1 e C4 apresentaram a menor e a maior área de duodeno, respectivamente ($P < 0,05$). O jejuno teve maior área na C3 e C4 ($P < 0,05$). Aos 106 dias as maiores áreas de jejuno foram de C2 e C3 em relação à C1, sendo que apenas C3 apresenta superfície absorptiva melhor que C1 ($P < 0,05$). Aos 50 dias a menor e a maior largura de cripta do duodeno são de C1 e C2, respectivamente. Aos 80 dias a profundidade de cripta do duodeno da C1 é maior que da C2 ($P < 0,05$). Aos 106 dias a profundidade de cripta é maior na C1 e menor na C2, sendo a menor relação de C2 e a maior em C1 ($P < 0,05$). No jejuno maior altura das vilosidades foi observada na C3 e menores alturas na C1 e C4 ($P < 0,05$), houve uma maior relação vilo/cripta na C2 e menor em C1 e a C4 ($P < 0,05$). Desta forma pode-se concluir que o desenvolvimento intestinal é influenciado pelo peso fetal, havendo, em determinadas etapas gestacionais, correlações entre o peso e as variáveis analisadas. Portanto, o desenvolvimento intestinal pode ser prejudicado em função de um baixo peso dos fetos.

Palavras-chave: Leitões. Gestação. Crescimento intrauterino. Duodeno. Jejuno.

Histomorphometric features of small intestine fetuses swine from different weight classes

ABSTRACT

In order to assess the influence of the fetuses' weight influence from primiparous on development of swine intestinal mucosa in different gestational periods (50, 80 and 106 days), a study was performed using all fetuses from 15 females, five of each gestational period, in a completely randomized experimental design, in which fetuses from each gestational period were divided into four different classes, depending on the weight, featuring four treatments (C1, C2, C3, C4). Each fetus constituted one experimental unit. The average weight were: at 50 days: C1 34.90 g; C2 40.07 g; C3 46.91 g; C4 50.81 g; at 80 days: C1 281.71 g; C2 380.94 g; C3 423.81 g; C4 509.29 g/ and at 106 days: C1 919.64 g; C2 1090.36 g; C3 1214.36 g; C4 1380.86 g. After slaughter and reproductive tract removal the fetuses were weighed and longitudinally open for duodenum and jejunum collection. For morphometry analysis and area were used the Axion Vision v4.8 and ImageJ v1.46 programs, respectively. At 50 days the C1 presented a lower duodenal area ($P<0.05$). In the same period the jejunum area was higher in C4. At 80 days fetuses of C1 and C4 had the lowest and the highest duodenal area, respectively ($P<0.05$). The jejunum had larger area in C3 and C4 ($P<0.05$). At 106 days the largest jejunum areas were C2 and C3 in relation to C1 and only in C3 the absorptive surface is better than C1 ($P<0.05$). At 50 days the smallest and the largest width of duodenal crypt are in C1 and C2, respectively. At 80 days the depth of duodenal crypt C1 is greater than C2 ($P<0.05$). At 106 days crypt depth is greater in C1 and smaller in C2, being the lowest C2 relation and greater C1 ($P<0.05$). In the jejunum greater villus height was observed in C3 and lower heights in C1 and C4 ($P<0.05$), there was a greater villous/crypt ratio in C2 and smaller in C1 and C4 ($P<0.05$). Thus, it can be concluded that intestinal development is influenced by fetal weight, there are, in certain gestational stages, correlation between weight and the analyzed variables. So, the intestinal development may be harmed due to low fetuses' weight.

Keywords: Piglets. Pregnancy. Intrauterine growth. Duodenum. Jejunum.

1 INTRODUÇÃO

A fim de satisfazer as metas produtivas do suinocultor, o melhoramento genético focou em linhagens de fêmeas com taxas de ovulação superiores. Entretanto, o incremento na taxa de ovulação e a provável limitação da capacidade uterina levam ao nascimento de leitões de baixo peso, com menores chances de sobrevivência e de crescimento lento (BORGES et al., 2008, QUINIOU; DAGORN; GAUDRÉ, 2002; VAN RENS et al., 2005). Portanto, embora o programa genético estabeleça especificações ontogênicas e uma sequência temporal de eventos de um tecido, o crescimento do feto e de seus órgãos vitais pode ser altamente modulado por uma complexa interação de fatores intrínsecos e extrínsecos, que pode resultar em leitões com desenvolvimento assimétrico de órgãos e com alterações que comprometem sua função já na vida intrauterina (BORGES et al., 2008). Nesses casos o trato gastrintestinal é gravemente afetado antes mesmo do surgimento de deficiências de quaisquer outros órgãos fetais (BARKER; CLARK, 1997).

O intestino é responsável por desempenhar um papel crucial no desenvolvimento animal, apresentando uma estreita relação entre seu grau de maturação e suas funções de digestão, secreção, motilidade, absorção e defesa. Portanto, um trato digestório suficientemente desenvolvido e íntegro é fundamental para se atingir melhor potencial de crescimento e a competitividade econômica dos animais dentro do sistema de produção (GUILLOTEAU et al., 2010).

Desta forma, entender como o peso dos fetos pode influenciar no desenvolvimento do intestino em diferentes etapas da gestação, contribuirá para adoção de estratégias mais eficientes na melhoria da saúde intestinal e na adaptação nutricional dos animais na fase pós-natal. Com isso objetivou-se com este trabalho avaliar a influência do peso de fetos oriundos de primíparas sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal de suínos em diferentes períodos gestacionais (50, 80 e 106 dias).

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Animais e Instalações

Os procedimentos descritos neste trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras (protocolo número 076/14). Foram utilizados 171 fetos provenientes de 15 fêmeas suínas primíparas ($153,7 \pm 11,9$ kg, de aproximadamente 240 dias de idade, DB-90, Genética Suína DB-DanBred, Patos de Minas, MG). As matrizes foram alojadas em gaiolas de gestação individuais no Centro Experimental de Suínos da Universidade Federal de Lavras, e o abate foi realizado no Frigorífico Ipê no município de Lavras, MG.

2.2 Delineamento Experimental

Foi utilizado um delineamento experimental inteiramente casualizado, em que os fetos de cada período gestacional foram divididos em quatro classes de acordo com o peso, caracterizando quatro tratamentos.

Para a formação das classes os fetos foram ordenados em função do peso, de forma crescente, e então feita a divisão em quatro grupos dentro de cada idade gestacional. O critério para a escolha da quantidade de classes foi baseado no menor desvio padrão entre elas. As médias de peso de cada classe foram: aos 50 dias: C1 34,90g; C2 40,07g; C3 46,91g; C4 50,81g; aos 80 dias: C1 281,71g; C2 380,94g; C3 423,8 g; C4 509,29g / e aos 106 dias: C1 919,64g; C2 1090,36g; C3 1214,36g; C4 1380,86g.

Cada feto representou uma unidade experimental, sendo aos 50 dias N= 48, aos 80 dias N=67 e aos 106 dias N=56.

2.3 Procedimento Experimental

A partir dos 150 dias de idade das primíparas foi realizado o manejo de detecção de cio duas vezes ao dia, com auxílio de dois machos com aproximadamente 18 meses de idade em atividade reprodutiva e com alta libido, que passavam na frente das gaiolas e eram alternados a cada turno. Ao quarto cio detectado, as marrãs foram inseminadas artificialmente com sêmen de um único reprodutor (Large White) de fertilidade comprovada por meio de completa avaliação andrológica. Em cada fêmea foram feitas três inseminações, sendo a primeira no momento da constatação do reflexo de tolerância ao homem (0 hora), a segunda 12 horas e a terceira 24 horas após a primeira. A última inseminação foi considerada como o dia 0 da gestação.

Todos os animais receberam água *ad libitum* e ração farelada, duas vezes ao dia, à base de milho e farelo de soja, suplementadas com vitaminas, minerais e aminoácidos, formuladas de acordo com as exigências nutricionais para animais em crescimento (pré-experimento) e gestação (ROSTAGNO et al., 2011).

A distribuição das fêmeas foi feita de forma aleatória em três grupos de cinco fêmeas cada, definidos pela idade gestacional de abate: 50,80 e 106 dias de gestação. Durante todo o experimento foi realizado o acompanhamento diário da temperatura ambiente com auxílio de termômetros de máxima e mínima.

O abate foi realizado por meio de insensibilização elétrica e sangria, de acordo com as normas da Portaria Nº 711, de 1º de novembro de 1995 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1995).

Após o abate, todo o trato reprodutivo foi retirado e levado ao Laboratório de Fisiologia do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras para a coleta de material.

Primeiramente foi realizada a avaliação da viabilidade fetal, em que os fetos que exibiram características morfológicas anormais, tais como coloração

esbranquiçada, esverdeadas ou até enegrecida e consistência friável ou amolecida (OKERE; HACKER; WERCHOLA, 1997) foram considerados inviáveis.

Os fetos foram pesados em balança de precisão (Micronal ®, modelo B400, São Paulo, Brasil), e abertos longitudinalmente para coleta, dissecação e segmentação do intestino delgado. A porção central do duodeno, identificado a partir do esfíncter pilórico até o início da flexura duodenojejunal, e do jejuno, identificado a partir da flexura duodenojejunal, foi fixada em formol tamponado a 10% e armazenada em etanol 70%.

2.4 Análises de morfometria, área e superfície absorptiva aumentada

Para as análises de morfometria os segmentos intestinais foram então desidratados e diafanizados e incluídos em parafina. Após a montagem das lâminas, os cortes de 4 µm foram submetidos às técnicas de coloração histológicas com hematoxilina e eosina conforme Luna (1968).

As imagens das lâminas histológicas foram obtidas em um sistema de captura de imagens, constituído por microscópio trinocular (CX31, Olympus Optical do Brasil Ltda., São Paulo, SP) e câmera de captura de imagens digital (SC30, Olympus Optical do Brasil Ltda., São Paulo, SP).

Os estudos morfométricos foram desenvolvidos utilizando-se o programa de análise de imagens Axion Vision versão 4.8.

Para cada feto foram feitas quatro lâminas de cada segmento e avaliada toda a extensão da área histológica disponível em uma seção transversal, sendo contadas 15 vilosidades e 15 criptas em cada uma das lâminas.

Os vilos tiveram suas alturas obtidas mensurando-os desde o ápice até a sua base, sendo o limite a área adjacente da zona de criptas. Os vilos tiveram suas larguras determinadas medindo-os desde o topo de um enterócito – incluindo os microvilos- até o topo dos enterócitos do lado oposto. Esta medição foi feita no terço médio da altura dos vilos. A profundidade e a largura da cripta

foram obtidas medindo-se a cripta que se encontrava mais próxima do vilão medido. Foi calculada a relação altura de vilosidade por profundidade de cripta, sendo todas medidas obtidas expressas em μ .

Para as análises de área de mucosa de duodeno e jejuno foram realizadas várias fotos da extensão total da área histológica do segmento. Todas as fotos de cada seção foram agrupadas automaticamente pelo Photomerge no software Adobe Photoshop CS4 (figura 01). Após serem agrupadas tiveram a parte correspondente à muscular recortada no software Adobe Photoshop CS4 (figura 02) e então foram analisadas através do software ImageJ, versão 1.46. Todo o fundo da lâmina foi também recortado para evitar a influência de pixels fora da área de interesse.

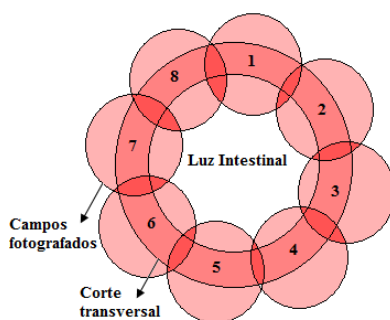


Figura 1 Esquema da segmentação intestinal de fetos suínos

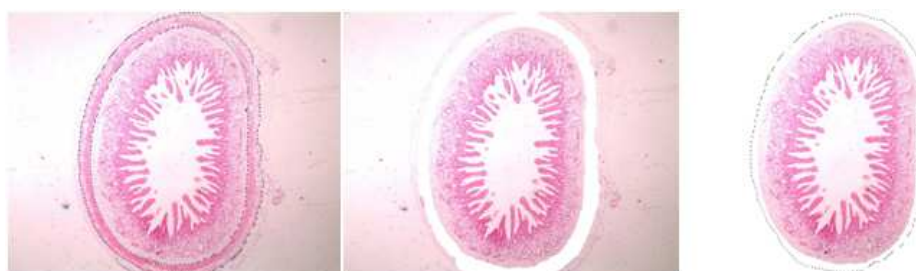


Figura 2 Segmento intestinal com a camada muscular e o fundo da lâmina recortados através do software Adobe Photoshop CS4

Para a análise de área da mucosa os procedimentos realizados foram semelhantes à forma descrita por Inman et al. (2005). A partir de um comprimento conhecido (1000 μ) foi realizada uma fixação de escala e registrada a quantidade de pixels. Após esta etapa de calibração a imagem da lâmina foi aberta no programa, sendo sua cor modificada para escalas de cinza (figura 03). Posteriormente foi realizada uma limiarização automática, transformando a imagem em preto e branco sem tonalidades intermediárias de cinza, tomando o devido cuidado para que todas as áreas de interesse tivessem sido definidas (figura 03). Sendo então fornecida a área do segmento a partir da análise de cada pixel da imagem em μ^2 .

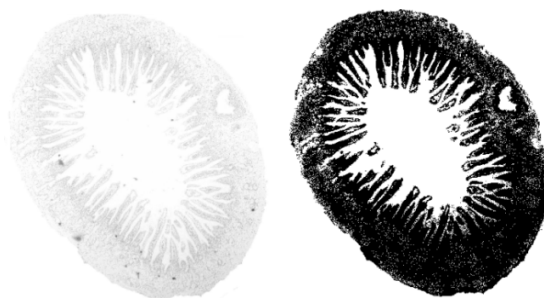


Figura 3 Segmento intestinal sendo preparados para análise de área através do software ImageJ

Para o cálculo de área de superfície absorptiva aumentada (M) (expresso em mm) foi empregado o modelo matemático adaptado de Harris (1988), proposto por Kisielinski et al. (2002), que leva em consideração a largura do vilos, a largura da cripta e o comprimento das vilosidades. Empregando-se a seguinte fórmula:

$$M = \frac{LV \cdot CV + \left(\frac{LV+LC}{2}\right)^2 - \left(\frac{LV}{2}\right)^2}{\left(\frac{LV}{2} + \frac{LC}{2}\right)^2}$$

em que: M é igual a área de superfície absorptiva aumentada, LV = largura de vilo, LC=largura de cripta, CV= comprimento do vilo

As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Histologia nas instalações do Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Federal de Lavras.

2.5 Análise Estatística

Os dados obtidos submetidos à análise de variância utilizando PROC MIXED do pacote estatístico do SAS (9.3), sendo as médias obtidas comparadas pelo teste Tukey a 5%. Cada variável obtida nos segmentos de duodeno e jejuno foi correlacionada entre si utilizando o PROC CORR do pacote estatístico do SAS (9.3). Os dados que não atingiram a normalidade foram transformados utilizando o PROC RANK do pacote estatístico do SAS (9.3) e em seguida avaliados pela análise de variância.

3 RESULTADOS

Os resultados referentes às medidas de área e superfície absorptiva aumentada de duodeno e jejuno estão representados na Tabela 1.

As variáveis observadas estão apresentadas em função de quatro diferentes classes de peso fetal de acordo com o período da gestação, 50, 80 e 106 dias.

Tabela 1 Área e superfície absorptiva aumentada de duodeno e jejuno de acordo com a classe de peso dos fetos em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias)

Variável*	Classes de Peso				P
	C1	C2	C3	C4	
			50 dias		
Área Duodeno	575668 b	829844 a	777815 a	830541 a	<0,0001
Superfície					
Duodeno	6,197	6,420	6,474	6,338	0,7657
Área Jejuno	609157 b	656272 ab	696641 ab	743071 a	0,003
Superfície Jejuno	6,591	6,981	6,775	6,946	0,6629
			80 dias		
Área Duodeno	2564738 c	2709523bc	3085561b	3733663 a	<0,0001
Superfície					
Duodeno	12,074	12,984	13,08	13,1	0,3091
Área Jejuno	2544474b	2507578b	3165021a	3548813 a	<0,0001
Superfície Jejuno	12,477	12,065	11,867	12,492	0,792
			106 dias		
Área Duodeno	6656627	7671894	7878650	8370105	0,0779
Superfície					
Duodeno	15,967	15,821	17,528	18,647	0,0698
Área Jejuno	5888618b	7182225a	7463814a	6639726ab	0,0122
Superfície Jejuno	12,991 b	15,501 ab	17,617 a	15,306 ab	0,0015

* Medidas de área: μ^2 . Medidas de Superfície Absorptiva Aumentada: mm^2 .

Média de peso das classes: 50 dias: C1 34,90 g; C2 40,07 g; C3 46,91 g; C4 50,81 g / 80 dias: C1 281,71 g; C2 380,94 g; C3 423,81 g; C4 509,29 g / 106 dias: C1 919,64 g; C2 1090,36 g; C3 1214,36 g; C4 1380,86 g

^{abc} Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem pelo teste Tukey (P<0,05)

Aos 50 dias de gestação, o peso influenciou a área de duodeno ($P < 0,0001$), foi observada menor área nos fetos pertencentes à C1, em comparação as demais classes. Não foram encontradas diferenças ($P = 0,7657$) para o aumento de superfície absorptiva do duodeno.

Nesse mesmo período, os fetos da C1 apresentaram uma menor área de jejuno em relação aos fetos da C4 ($P = 0,003$). Não sendo encontradas diferenças no aumento da superfície absorptiva ($P = 0,6629$).

Aos 80 dias de gestação, os fetos da C1 apresentaram uma menor área de duodeno em relação à C3 e C4, não diferindo de C2, sendo que os fetos de C3 tiveram ainda uma menor área do que C4 ($P < 0,0001$). Entretanto, não houve diferença em relação ao aumento da superfície absorptiva do duodeno ($P = 0,3091$). Os fetos da C3 e C4 apresentaram a área de jejuno significativamente maior em comparação à C1 e C2 ($P < 0,0001$). Não foram observadas diferenças na superfície absorptiva aumentada do jejuno ($P = 0,792$).

Aos 106 dias, pode ser observada uma área de duodeno menor na C1 em comparação a C4, não foi observada diferença entre C4, C3 e C2 e entre as classes C3, C2 e C1 ($P = 0,0779$). A superfície absorptiva aumentada do duodeno não foi influenciada pelo peso ($P = 0,0698$).

Em relação ao jejuno, a C2 e C3 tiveram maiores áreas que C1, porém semelhantes entre si. A C4, entretanto, não diferiu de nenhuma das demais classes ($P = 0,0122$). Os fetos da C1 apresentaram uma menor superfície absorptiva aumentada em comparação à C3, enquanto C2 e C4 não diferiram das demais classes ($P = 0,0015$).

Os resultados referentes à morfometria de duodeno e jejuno estão representados na Tabela 2.

Tabela 2 Morfometria de duodeno e jejuno de acordo com a classe de peso dos fetos em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias)

Variável, (μ)	Classes de Peso *				P
	C1	C2	C3	C4	
Duodeno					
			50 dias		
Largura do vilo	1,756	1,655	1,721	1,743	0,655
Largura da cripta	0,512 a	0,686 b	0,533 ab	0,527 ab	0,0286
Altura do vilo	4,363	4,903	4,504	4,325	0,2126
Profundidade da cripta	1,557	1,723	1,787	1,954	0,1316
Altura/Profundidade	2,996	2,951	2,592	2,29	0,1316
Jejuno					
Largura do vilo	1,778	1,928	1,755	1,86	0,1295
Largura da cripta	0,472	0,513	0,481	0,423	0,3749
Altura do vilo	4,467	5,063	4,515	4,343	0,0766
Profundidade da cripta	1,576	1,71	1,816	1,711	0,4761
Altura/Profundidade	2,917	3,066	2,597	2,744	0,4146
Duodeno					
			80 dias		
Largura do vilo	1,483	1,411	1,539	1,457	0,2455
Largura da cripta	0,514	0,555	0,477	0,518	0,2244
Altura do vilo	7,585	8,192	8,351	8,381	0,0929
Profundidade da cripta	3,877 b	4,296 b	4,810 ab	5,532 a	0,0012
Altura/Profundidade	1,952	1,984	1,921	1,613	0,1959
Jejuno					
Largura do vilo	1,675	1,594	1,624	1,649	0,7439
Largura da cripta	0,571	0,567	0,516	0,597	0,6504
Altura do vilo	8,516	8,507	8,03	9,053	0,1413
Profundidade da cripta	3,164	3,154	3,179	3,44	0,6468
Altura/Profundidade.	2,786	2,791	2,734	2,718	0,9895
Duodeno					
			106 dias		
Largura do vilo	1,57	1,669	1,538	1,642	0,3806
Largura da cripta	0,656	0,658	0,648	0,573	0,0664
Altura do vilo	12,162	12,35	12,786	13,571	0,2598
Profundidade da cripta	6,227 b	8,800 a	7,854 ab	8,546 a	0,0021
Altura/Profundidade	2,075 a	1,447 b	1,698 ab	1,643 ab	0,0059
Jejuno					
Largura do vilo	1,651	1,741	1,572	1,573	0,0857
Largura da cripta	0,651	0,598	0,589	0,594	0,7054
Altura do vilo	10,056 b	11,580 ab	12,569 a	10,202 b	0,0003
Profundidade da cripta	4,218	3,764	4,203	4,381	0,4989
Altura/Profundidade	2,527 b	3,338 a	3,057 ab	2,460 b	0,0129

*Média de peso das classes: 50 dias: C1 34,90 g; C2 40,07 g; C3 46,91 g; C4 50,81 g/ 80 dias: C1 281,71 g; C2 380,94 g; C3 423,81 g; C4 509,29 g /106 dias: C1 919,64 g; C2 1090,36 g; C3 1214,36 g; C4 1380,86 g

^{abc} Médias seguidas por diferentes letras na linha diferem pelo teste Tukey (P<0,05).

Em relação às medidas de morfometria do duodeno, aos 50 dias de gestação, foram observadas diferenças significativas apenas para a largura da cripta ($P=0,0286$). A largura de cripta foi menor na C1 em comparação à C2. Sendo que C3 e C4 não diferiram entre si e entre as demais classes. Não foram observadas diferenças nas medidas morfométricas estudadas no jejuno aos 50 dias.

Aos 80 dias, os fetos da C4, apresentaram no duodeno criptas com maior profundidade em relação aos fetos da C1 e C2. Não houve diferença na profundidade de cripta dos fetos da C3 em relação a nenhuma das outras classes ($P=0,0012$). Nessa mesma etapa não foram observadas diferenças nas medidas morfométricas estudadas no jejuno.

Na fase final da gestação, aos 106 dias, a C1 apresentou uma menor profundidade de cripta no duodeno comparada à C2 e C4, enquanto que C3 não diferiu de nenhuma das demais classes ($P=0,0021$).

Os fetos da C1 tiveram uma maior relação altura / profundidade de cripta no duodeno que a C2. Não houve diferença entre C3 e C4 e entre as demais classes ($P=0,0059$).

No jejuno, pode ser observada uma maior altura de vilo na C3 em relação à C4 e C1. Sendo que a C2 foi semelhante às demais classes ($P=0,0003$). Uma maior relação altura / profundidade pode ser observada na C2 em comparação às C1 e C4, sendo a C3 semelhante as demais classes ($P=0,0129$).

Os valores de correlação entre as medidas de duodeno nos diferentes períodos gestacionais são representados na tabela 3.

Tabela 3 Valores de correlação de Pearson (R^2) e respectivos valores de probabilidade (P) entre as variáveis de duodeno em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias)

Duodeno x Duodeno	Área		Superfície		Largura vilo		Largura cripta		Altura vilo		Profundidade		Relação	
	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P
Variável	50 dias													
Peso	0,75	<,0001	0,33	0,46	0,24	0,70	0,36	0,38	0,35	0,43	0,56	0,03	0,61	0,09
Área	-	-	0,40	0,28	0,22	0,73	0,42	0,21	0,41	0,24	0,55	0,04	0,43	0,20
Superfície	0,40	0,28	-	-	0,57	0,02	0,55	0,04	0,57	0,03	0,35	0,41	0,31	0,51
Largura vilo	0,22	0,71	0,57	0,02	-	-	0,63	0,01	0,63	0,00	0,48	0,12	0,69	0,00
Largura cripta	0,42	0,21	0,55	0,04	0,63	0,01	-	-	0,81	<,0001	0,24	0,67	0,57	0,02
Altura vilo	0,41	0,24	0,57	0,03	0,63	0,00	0,81	<,0001	-	-	0,30	0,53	0,73	<,0001
Profundidade	0,55	0,04	0,35	0,41	0,48	0,12	0,24	0,67	0,30	0,53	-	-	0,87	<,0001
	80 dias													
Peso	0,80	<,0001	0,46	0,09	0,05	0,98	0,22	0,69	0,62	0,00	0,71	<,0001	0,45	0,09
Área	-	-	0,21	0,73	0,43	0,14	0,11	0,92	0,46	0,09	0,66	0,00	0,45	0,09
Superfície	0,21	0,73	-	-	0,44	0,12	0,69	<,0001	0,77	<,0001	0,38	0,25	0,39	0,21
Largura vilo	0,43	0,14	0,44	0,12	-	-	0,07	0,97	0,34	0,36	0,43	0,13	0,48	0,06
Largura cripta	0,11	0,92	0,69	<,0001	0,07	0,97	-	-	0,41	0,18	0,39	0,21	0,38	0,24
Altura vilo	0,46	0,09	0,77	<,0001	0,34	0,36	0,41	0,18	-	-	0,06	0,98	0,68	<,0001
Profundidade	0,66	0,00	0,38	0,25	0,43	0,13	0,39	0,21	0,06	0,98	-	-	0,90	<,0001
	106 dias													
Peso	0,57	0,02	0,62	0,01	0,15	0,88	0,46	0,13	0,61	0,01	0,57	0,02	0,45	0,16
Área	-	-	0,41	0,25	0,73	<,0001	0,30	0,52	0,69	0,00	0,67	0,00	0,42	0,22
Superfície	0,41	0,25	-	-	0,39	0,29	0,76	<,0001	0,89	<,0001	0,51	0,07	0,29	0,57
Largura vilo	0,73	<,0001	0,39	0,29	-	-	0,19	0,80	0,51	0,07	0,27	0,60	0,22	0,74
Largura cripta	0,30	0,52	0,76	<,0001	0,19	0,80	-	-	0,43	0,20	0,37	0,34	0,30	0,53
Altura vilo	0,69	0,00	0,89	<,0001	0,51	0,07	0,43	0,20	-	-	0,47	0,12	0,47	0,12
Profundidade	0,67	0,00	0,51	0,07	0,27	0,60	0,37	0,34	0,47	0,12	-	-	0,93	<,0001

Aos 50 dias houve correlação positiva alta de peso e área do duodeno ($P=0,0001$), e de peso e profundidade de cripta ($P=0,003$).

Houve correlação moderada de área e profundidade de cripta ($P=0,04$). Pode ser observada também uma correlação moderada de superfície com largura de vilão ($P=0,02$), largura de cripta ($P=0,04$) e altura de vilão ($P=0,03$). Houve correlação negativa de largura de cripta e superfície absorptiva aumentada ($P=0,04$) e positiva de largura de cripta e largura de vilão ($P=0,01$). Houve alta correlação de largura de cripta e altura de vilão ($P=0,0001$). Houve correlação entre altura de vilão e largura de vilão ($P=0,0045$). E correlação de relação altura/profundidade com largura de vilão ($P=0,0005$), com largura de cripta ($P=0,02$). Conforme esperado, houve correlação forte negativa com profundidade de cripta.

Aos 80 dias, houve correlação forte de peso e área ($P=0,0001$), fraca de peso e altura do vilão ($P=0,0015$) e moderada de peso e profundidade de cripta ($P=0,0001$).

Houve uma fraca correlação de área e profundidade de cripta ($P=0,0002$). Foi observada correlação negativa de superfície e largura de cripta ($P=0,0001$) e positiva de superfície e altura do vilão ($P=0,0001$), conforme o esperado. Houve correlação de relação altura/profundidade com altura de vilão ($P=0,0001$) e correlação forte negativa com profundidade de cripta ($P=0,001$).

Aos 106 dias, houve correlação de peso com área ($P=0,02$), com superfície ($P=0,01$), com altura de vilão ($P=0,01$) e com profundidade de cripta ($P=0,02$). Houve correlação de área com largura do vilão ($P=0,0001$), com altura do vilão ($P=0,0006$) e com profundidade de cripta ($P=0,0012$). Conforme o esperado houve correlação negativa de superfície absorptiva aumentada com largura de cripta ($P=0,0001$) e positiva com altura de vilão ($P=0,0001$). Além de correlação negativa forte entre profundidade de cripta e relação altura/profundidade ($P=0,0001$).

Os valores de correlação entre as medidas de jejuno nos diferentes períodos gestacionais são representados na tabela 4.

Tabela 4 Valores de correlação de Pearson (R^2) e respectivos valores de probabilidade (P) entre as variáveis de jejuno em diferentes estágios da gestação de primíparas suínas (50, 80, 106 dias)

Jejuno x Jejuno	Área		Superfície		Largura vilo		Largura cripta		Altura vilo		Profundidade		Relação	
	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P	R^2	P
Variável	50 dias													
Peso	0,74	<,0001	0,27	0,61	0,21	0,77	0,34	0,43	0,34	0,44	0,36	0,39	0,36	0,39
Área	-	-	0,53	0,05	0,38	0,33	0,19	0,80	0,45	0,17	0,59	0,01	0,46	0,14
Superfície	0,53	0,05	-	-	0,10	0,95	0,77	<,0001	0,66	0,00	0,36	0,38	0,40	0,28
Largura vilo	0,38	0,33	0,10	0,95	-	-	0,63	0,00	0,83	<,0001	0,27	0,63	0,64	0,00
Largura cripta	0,19	0,80	0,77	<,0001	0,63	0,00	-	-	0,49	0,11	0,10	0,94	0,26	0,65
Altura vilo	0,45	0,17	0,66	0,00	0,83	<,0001	0,49	0,11	-	-	0,28	0,59	0,67	0,00
Profundidade	0,59	0,01	0,36	0,38	0,27	0,63	0,10	0,94	0,28	0,59	-	-	0,90	<,0001
	80 dias													
Peso	0,74	<,0001	0,18	0,81	0,14	0,87	0,36	0,30	0,36	0,31	0,37	0,27	0,23	0,30
Área	-	-	0,32	0,42	0,16	0,83	0,27	0,55	0,49	0,05	0,45	0,10	0,18	0,80
Superfície	0,32	0,42	-	-	0,13	0,90	0,67	0,00	0,84	<,0001	0,41	0,17	0,45	0,10
Largura vilo	0,16	0,83	0,13	0,90	-	-	0,66	0,00	0,46	0,09	0,24	0,63	0,44	0,12
Largura cripta	0,27	0,55	0,67	0,00	0,66	0,00	-	-	0,22	0,71	0,45	0,10	0,44	0,12
Altura vilo	0,49	0,05	0,84	<,0001	0,46	0,09	0,22	0,71	-	-	0,27	0,57	0,67	0,00
Profundidade	0,45	0,10	0,41	0,17	0,24	0,63	0,45	0,10	0,27	0,57	-	-	0,89	<,0001
	106 dias													
Peso	0,49	0,09	0,57	0,02	0,46	0,15	0,06	0,98	0,39	0,29	0,25	0,67	0,21	0,75
Área	-	-	0,66	0,00	0,30	0,54	0,27	0,62	0,76	<,0001	0,47	0,13	0,35	0,41
Superfície	0,66	0,00	-	-	0,60	0,01	0,57	0,02	0,92	<,0001	0,52	0,06	0,49	0,09
Largura vilo	0,30	0,54	0,60	0,01	-	-	0,14	0,89	0,21	0,76	0,22	0,74	0,19	0,81
Largura cripta	0,27	0,62	0,57	0,02	0,14	0,89	-	-	0,33	0,47	0,27	0,60	0,25	0,66
Altura vilo	0,76	<,0001	0,92	<,0001	0,21	0,76	0,33	0,47	-	-	0,58	0,02	0,54	0,04
Profundidade	0,47	0,13	0,52	0,06	0,22	0,74	0,27	0,60	0,58	0,02	-	-	0,86	<,0001

Aos 50 dias houve correlação positiva alta de peso e área do jejuno ($P=0,0001$).

Correlação fraca de área e profundidade de cripta ($P=0,01$). Correlação negativa moderada de superfície absorptiva aumentada com largura de cripta ($P=0,0001$) e positiva com altura de vilo ($P=0,0017$). Houve uma correlação positiva de largura de cripta e largura de vilo ($P=0,0003$). Também houve correlação de altura de vilo e largura de vilo ($P=0,0001$). Pode ser observada correlação da relação vilo/cripta com largura de vilo ($P=0,0043$), com altura de vilo ($P=0,012$) e conforme esperado, correlação forte negativa com profundidade de cripta ($P=0,0001$).

Aos 80 dias, houve correlação moderada de peso e área do jejuno ($P=0,0001$). Foi observada correlação negativa de superfície absorptiva aumentada e largura de cripta ($P=0,0002$) e positiva forte de superfície absorptiva aumentada e altura do vilo ($P=0,0001$), conforme o esperado. Foi observada correlação negativa de largura de vilo com largura de cripta ($P=0,0003$).

Houve correlação de a relação vilo/cripta com altura de vilo ($P=0,0001$) e correlação forte negativa com profundidade de cripta ($P=0,001$).

Aos 106 dias, houve correlação fraca de peso com superfície absorptiva ($P=0,02$). Foi observada correlação de área com superfície absorptiva ($P=0,0016$) e com altura do vilo ($P=0,0001$). Conforme o esperado houve correlação negativa de superfície com largura do vilo ($P=0,01$) e negativa com largura de cripta ($P=0,002$). Houve correlação positiva com altura de vilo ($P=0,0001$) e houve correlação entre profundidade e largura do vilo ($P=0,02$). Conforme esperado houve correlação de relação altura/profundidade com altura do vilo ($P=0,04$) e correlação forte negativa com profundidade de cripta ($P=0,0001$).

4 DISCUSSÃO

4.1 Área e superfície absorptiva aumentada dos segmentos de duodeno e jejuno

Estudos demonstram que, em períodos diferentes da vida intrauterina, qualquer fator que possa comprometer o desenvolvimento animal pode resultar em recém-nascidos com alterações específicas sobre seus órgãos (GURMINI, 2005). Portanto, a menor área de duodeno observada aos 50 dias de gestação, pode ser resultado de um atraso no desenvolvimento dos animais pertencentes à classe de menor peso, resultando em prejuízo no desenvolvimento de seus órgãos vitais, como o TGI. O comportamento semelhante apresentado pelo jejuno nesse mesmo período gestacional demonstra a influência que o peso do feto possui sobre o desenvolvimento da mucosa intestinal. Qualquer diferença de estímulo que venha a ocorrer durante a fase intrauterina pode alterar expressão do genoma fetal, resultando em efeitos permanentes sobre a estrutura, fisiologia e metabolismo corporal, efeito conhecido como “programação fetal” (FOXCRFOT et al., 2006)

Essas diferenças observadas nas áreas de mucosa de duodeno e jejuno entre os extremos de peso podem ser consequência de uma redistribuição do fluxo sanguíneo intrauterino, resultado dos mecanismos metabólicos compensatórios para proteger tecidos importantes, como o cérebro, levando a alterações na composição corporal e diminuindo a secreção de hormônios que atuam no crescimento fetal (BARKER et al., 1998; GODFREY; BARKER, 2001). Como resultado desse mecanismo protetor alguns órgãos como o TGI são prejudicados (GURMINI, 2005), podendo apresentar um menor número de células, ou um menor tamanho das células, resultando em reduções significativas no seu peso (XU et al., 1994). Portanto, os resultados de área de mucosa encontrados podem ser consequência de um menor peso do órgão, embora este parâmetro não tenha sido avaliado.

Embora no presente estudo os leitões não tenham sido classificados em leitões CIUR ou não, D'Inca et al. (2010) e Zhong et al. (2010) estudando leitões CIUR observaram, em vários momentos durante a gestação, que entre as alterações anatômicas no intestino tanto a camada de mucosa quanto a camada muscular foram mais finas, sendo persistente após o nascimento. Essas observações são consistentes com os dados obtidos de outras espécies, tais como ratos (BASERGA et al., 2004) e ovelhas (AVILA; HARDING; REES; ROBINSON, 1989). De acordo com Guilloteau et al. (2010) a redução na espessura de mucosa intestinal pode ser principalmente devido à uma menor altura e um menor número de vilosidades por unidade de área, além de uma maior profundidade de cripta (GUILLOTEAU et al., 2010).

He et al. (2011) ao estudarem leitões de baixo peso observaram que estes possuíam além de uma espessura de mucosa reduzida um atraso na cinética de desaparecimento de enterócitos vacuolizados, demonstrando um atraso na maturação intestinal desses leitões, o que pode acarretar na absorção de macromoléculas prejudiciais e ainda dificultar a adaptação às mudanças alimentares após o nascimento (MICKIEWICZ et al., 2012).

No presente estudo, o coeficiente de correlação foi empregado para verificar se o peso e algumas variáveis apresentavam uma correlação direta. Apesar das diferenças na área intestinal em função do peso aos 50 e 80 dias de gestação, essa não foi suficiente para afetar a superfície aumentada da mucosa e consequentemente sua capacidade absorptiva.

Aos 106 dias, as diferenças observadas na área de jejuno não tiveram correlação com o peso dos fetos, tendo sido influenciada pela superfície absorptiva aumentada do segmento.

De acordo com Pacha et al. (2000), as mudanças no desenvolvimento da área intestinal e de superfície absorptiva são influenciadas pelo rápido turnover celular, no entanto, sabe-se que fetos de baixo peso, nesse caso de crescimento

intrauterino retardado, podem apresentar um proteoma intestinal alterado (WANG et al., 2014). No trabalho de Wang et al. (2014) fetos de baixo peso, apresentaram diferentes proteínas expressas no intestino delgado relacionadas justamente com o crescimento, desenvolvimento e reprogramação intestinal, durante o meio e o final da gestação. Em sua pesquisa foram observados aumentos em proteínas e enzimas associadas ao *stress* oxidativo, apoptose e proteínas de degradação, além de uma diminuição de proteínas que é necessária para manutenção da estrutura celular, motilidade, absorção, transporte de nutrientes, metabolismo energético e síntese de proteína no intestino fetal, podendo essas alterações ser a causa da atrofia, disfunção e da parada do crescimento do intestino fetal (WANG et al., 2014).

Alguns estudos relatam a influência que o baixo peso, consequência de um crescimento intrauterino insuficiente, possui sobre a expressão de IGF-1 (fator de crescimento semelhante à insulina) e receptores de hormônios do crescimento e de insulina na mucosa intestinal. Os efeitos biológicos de GH são, em grande parte, mediados pela produção de IGF-1, resultando na regulação do metabolismo e no crescimento tecidual de forma direta ou indireta (LARON, 2001). Wang e Xu (2005) observaram que os animais acometidos pelo CIUR, além de possuírem menor espessura de mucosa, comprimento e peso significativamente menor do ID, apresentaram também uma menor expressão de RNAm de IGF-I e uma tendência à menor expressão de RNAm de receptores de GH e insulina na mucosa intestinal. Chegando à conclusão que a expressão genética alterada de IGF-1 está associada ao atraso no desenvolvimento do TGI dos leitões. De acordo com os autores, a expressão diminuída de IGF-I talvez esteja relacionada também à diminuição da expressão do receptor de hormônio de crescimento na mucosa intestinal (WANG; XU, 2005).

Diante dos resultados do presente trabalho, podemos afirmar que, durante a vida intrauterina, o peso do feto influencia a área dos segmentos

intestinais, entretanto, essa correlação não persiste aos 106 dias de gestação. Na semana final da gestação o ganho de peso dos fetos é mínimo, dando oportunidade para um aumento acelerado na massa do TGI (BUDDINGTON; MALO, 1996). Talvez o ganho de peso dos fetos nessa fase não tenha sido o suficiente a ponto de apresentar correlação com a área do segmento como ocorreu nas demais fases.

Aos 106 dias, as diferenças observadas na superfície absorptiva aumentada de jejuno tiveram correlação com o peso e também com a sua área. A maturação intestinal remete a fase embrionária, ocorrendo um desenvolvimento do sentido proximal para o distal (TRAHAIR; ROBINSON, 1986). Portanto, a superfície de mucosa afetada apenas no jejuno pode ser consequência de um possível atraso na recuperação do intestino distal quando comparado ao intestino proximal.

Os nutrientes chegam ao feto a partir do sangue materno, através da placenta. Do meio da gestação em diante os fetos também recebem nutrição enteral por engolir líquido amniótico sendo capazes de absorver carboidratos, aminoácidos e proteínas devido à expressão pré-natal de transportadores de nutrientes no trato alimentar (BUCHMILLER et al., 1992; PHILLIPS et al., 1991). Embora o teor de nutrientes do líquido amniótico seja relativamente baixo, o mesmo contribui para 10-20% da energia fetal demandada (MULVIHILL et al., 1985). Como o duodeno está entre um dos primeiros tecidos expostos à entrada de nutrientes, pode recolher substratos suficientes para suportar a função local (FIRMANSYAH et al., 1989), podendo explicar o diferencial de resposta entre os dois segmentos estudados nessa fase gestacional.

4.2 Morfometria dos segmentos de duodeno e jejuno

A avaliação morfométrica dos segmentos de duodeno e jejuno foi realizada como indicadora do desenvolvimento e da maturação intestinal, visto que o desenvolvimento do TGI está associado não apenas com o seu

crescimento, mas também com as alterações que ocorrem nas vilosidades e na transição entre vilosidade e cripta (GUILLOTEAU et al., 2010).

A largura de cripta no duodeno observada aos 50 dias de gestação foi influenciada pela largura de vilo e pela superfície absorptiva da mucosa. Apesar da correlação fraca negativa de largura de cripta e superfície absorptiva, uma maior largura das criptas pode comprometer a área de absorção intestinal.

Os resultados para profundidade de cripta do duodeno aos 80 dias de gestação estão de acordo com os resultados de D'Inca et al. (2010) e Ferenc et al. (2014); nos quais os leitões de baixo peso, apresentaram profundidade das criptas reduzidas. No entanto outros trabalhos associam o baixo peso às criptas mais profundas (ZHONG et al., 2010).

Em relação às medidas morfométricas de jejuno nenhuma das variáveis observadas apresentou diferenças significativas aos 80 dias de gestação. Apesar de a área ter sido afetada em função do peso, não comprometeu a arquitetura da mucosa intestinal.

Na fase final da gestação, aos 106 dias, de forma semelhante aos resultados de 80 dias, uma menor profundidade de cripta foi observada também nos fetos de menor peso. Tal fato foi o responsável pela diferença na relação vilosidade/cripta observada nessa fase.

No que diz respeito ao jejuno, as diferenças observadas na altura do vilo apresentaram correlação com a largura do vilo. Diante da correlação existente entre altura de vilo e área de mucosa nessa fase, podemos observar o impacto que o desenvolvimento anormal de vilosidades pode gerar no TGI.

Sabe-se que uma maior altura dos vilos permite maior superfície de absorção, tal fato pode ser comprovado pela correlação existente entre essas duas variáveis.

Esses resultados diferem dos encontrados na literatura em que apenas os leitões mais leves apresentam menor altura das vilosidades (D'INCA et al.,

2011). De acordo com esses autores, a morfologia intestinal é afetada em função de um baixo peso, podendo ter consequências a longo prazo e sendo dependente da idade dos animais.

De acordo com Wu et al. (1999), menores vilosidades em leitões de baixo peso pode ser um fator subjacente limitante do crescimento pós-natal. A “cripta-vilo” é a unidade funcional básica do intestino (CARUSO; DEMONTE, 2005). A diferenciação e a distribuição de células segue o gradiente cripta vilosidade (ROTH et al., 1991; SIMON; GORDON, 1995), ou seja, várias linhagens epiteliais surgem a partir das células primitivas imaturas na cripta que então migram em direção ao ápice dos vilos, formando um epitélio intestinal especializado que cumpre suas funções de digestão e absorção, incluindo funções endócrinas e imunológicas (PACHA et al., 2000). Dessa forma, fica evidente que qualquer fator que afete a altura de vilosidades, a profundidade de cripta e principalmente a relação altura de vilosidades profundidade de cripta afetarão toda a arquitetura das células distribuídas ao longo das vilosidades.

Conforme esperado, as diferenças observadas na relação vilosidade/cripta possuem correlação com profundidade de cripta e altura de vilo. Zhong et al. (2010), observaram a influência do peso na relação vilosidade/cripta, em sua pesquisa leitões de baixo peso apresentaram uma menor relação.

Uma rediferenciação do intestino, associada a uma proliferação acelerada de enterócitos, contribui para criptas mais profundas acompanhadas de vilosidades mais altas (KLEIN et al., 1989). Entretanto, em casos de turnover celular diminuído, o aumento da profundidade das criptas não é acompanhado por um aumento na altura dos vilos. Tal fato ocorre em momentos críticos como desmame e também em espécies com mais tempo de gestação (cordeiros, leitões, as cobaias, homem) (GUILLOTEAU et al., 2010)

Embora a gestação seja uma fase de rápido crescimento, modificações no desenvolvimento do feto e de seus órgãos são mais intensas e permanentes quanto mais precocemente ocorrem e mais tarde se inicia a sua recuperação nutricional (GURMINI et al., 2005). Portanto, os resultados deste trabalho podem fazer parte das razões para os efeitos permanentes que o baixo peso dos fetos possui sobre o crescimento e desenvolvimento dos animais. Uma má formação do TGI pode limitar a capacidade para digerir e assimilar macromoléculas ingeridas, estando o desenvolvimento adequado do TGI entre os principais fatores que podem influenciar a taxa de crescimento pós-natal dos suínos (KING; ASEM; ADEOLA, 2000).

5 CONCLUSÕES

Pode-se concluir que o desenvolvimento da mucosa intestinal de suínos é afetado pelo peso dos fetos ao início, meio e fim da gestação. O peso dos fetos influencia diretamente a área de mucosa de duodeno e jejuno aos 50 e 80 dias e a área de jejuno, através da superfície absorptiva aumentada, aos 106 dias de gestação. Apenas no duodeno os parâmetros de morfometria são influenciados pelo peso fetal. Aos 50, 80 e 106 dias de gestação o peso dos fetos influencia a profundidade das criptas e aos 80 e 106 dias influencia também a altura dos vilos. Além das correlações existentes nas variáveis histológicas analisadas nos 3 períodos gestacionais e nos dois segmentos analisados.

REFERÊNCIAS

AVILA, C.G.; HARDING, R.; REES, S.; ROBINSON, P.M.; Small intestinal development in growth-retarded fetal sheep. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, New York, v. 8, n. 4, p. 507-515, 1989.

BARKER, D. J.; CLARK, P. M. Fetal undernutrition and disease in later life. **Reviews of Reproduction**, Cambridge, v. 2, p. 105-112, 1997.

BARKER, D. J. In utero programming of chronic disease. **Clinical Science**, London, v. 95, n. 2, p. 115-128, 1998.

BASERGA, M. et al. Uteroplacental insufficiency decreases small intestine growth and alters apoptotic homeostasis in term intrauterine growth retarded rats. **Early Human Development**, Amsterdam, v.79, n. 2, p. 93-105, 2004.

BORGES, V. F. et al. Perfil de natimortalidade de acordo com ordem de nascimento, peso e sexo de leitões. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 60, n. 5, p. 1234-1240, 2008.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria nº 711, de 1 de novembro de 1995**. Aprovação das normas técnicas de instalações e equipamentos para abate e industrialização de suínos. Brasília, 1995. Disponível em: <<http://www.mapa.gov.br>>. Acesso em: 3 de março de 2014.

BUCHMILLER, T. L. et al. Upregulation of nutrient transport in fetal rabbit intestine by transamniotic substrate administration. **Journal Surgical Research**, New York, v. 52, p. 443-447, 1992.

BUDDINGTON, R. K.; MALO, C. Intestinal brush-border membrane enzyme activities and transport functions during prenatal development of pigs. **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**, Philadelphia, v. 23, p. 51-64, 1996.

CARUSO, M.; DEMONTE, A. Histomorfometria do intestino delgado de ratos submetidos a diferentes fontes protéicas. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 2, p. 131-133, abr./jun. 2005.

D'INCA, R. et al. Intrauterine growth restriction delays feeding-induced gut adaptations in term newborn pigs. **Neonatology**, Basel, v. 99, p. 208-216, 2011.

D'INCA, R. et al. Intrauterine growth restriction modifies the developmental pattern of intestinal structure, transcriptomic profile, and bacterial colonization in neonatal pigs. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 140, n. 5, p. 25-31, 2010.

FERENC, K. et al. Intrauterine growth retarded piglet as a model for humans – Studies on the perinatal development of the gut structure and function. **Reproductive Biology**, Olsztyn, v. 14, n. 1, p. 51- 60, 2014.

FIRMANSYAH, A. et al. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. **American Journal Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 50, p. 261-268, 1989.

FOXCROFT, G. R. et al. The biological basis for prenatal programming of postnatal performance in pigs. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 84, n. 13, p. 105-112, Apr. 2006.

GODFREY, K. M.; BARKER, D. J.; Fetal programming and adult health. **Public Health Nutrition**, Wallingford, v. 4, n. 2, p. 611-624, 2001.

GUILLOTEAU, P. et al. Nutritional programming of gastrointestinal tract development. Is the pig a good model for man? **Nutrition Research Reviews**, Cambridge, v. 23, n. 4, p. 22, 2010.

GURMINI, J. et al. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos Wistar ao nascimento e após a lactação. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 41, n. 4, ago. 2005. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-24442005000400009&script=sci_arttext>. Acesso em: 22 jan. 2014.

HARRIS, M. S. et al. Relationship between distension and absorption in rat intestine. **Gastroenterology**, Baltimore, v. 94, p. 1164–1171, 1988

HE, Q. et al. Intrauterine growth restriction alters the metabolome of the serum and jejunum in piglets. **Molecular BioSystems**, Cambridge, v. 7, n. 7, p. 2147-2155, 2011.

INMAN, C. F. et al. Validation of computer-assisted, pixel-based analysis of multiple-colour immunofluorescence histology. **Journal of Immunological Methods**, Amsterdam, v. 302, p. 156–67, 2005.

KING, D. E.; ASEM, E. K.; ADEOLA, O. Ontogenetic development of intestinal digestive functions in White Pekinducks. **Journal of Nutrition**, London, v.130, p. 57–62, 2000.

KISIELINSKI, K. et al. A simple new method to calculate small intestine absorptive surface in the rat. **Clinical and Experimental Medicine**, Milano, v. 2, p. 131–135, 2002.

KLEIN, R. M. Small intestinal cell proliferation during development. In: LEBENTHAL, E. (Ed.). **Human gastrointestinal development**. New York: Raven, 1989. p. 367–392.

LARON, Z. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1): a growth hormone. **Molecular Pathology**, London, v. 54, p. 311-316, 2001.

LUNA, L. G. **Manual of histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3rd ed. New York: McGraw-Hill, 1968. 258 p.

MICKIEWICZ, M. et al. Structural and functional development of small intestine in intrauterine growth retarded porcine offspring born to gilts fed diets with differing protein ratios throughout pregnancy. **Journal of Physiology and Pharmacology**, Krakow, v. 63, n. 3, p. 225-239, 2012.

MULVIHILL, S. J. et al. The role of amniotic fluid in fetal nutrition. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v. 20, p. 668-672, 1985.

OKERE, C.; HACKER, R. R.; WERCHOLA, G. Regulationships between serum IGF-I concentrations and piglet development or neonatal viability following porcine somatotropin (pST) and insulin administration to gestating gilts. **Theriogenology**, Los Angeles, v. 47, n. 7, p. 1403-1412, May 1997.

PACHA, J. Development of intestinal transport function in mammals. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 80, p. 1633-1667, 2000.

PHILLIPS, J. D. et al. Uptake and distribution of continuously infused intraamniotic nutrients in fetal rabbits. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v. 26, p. 374-378, 1991.

QUINIOU, N.; DAGORN, J.; GAUDRÉ, D. Variation of piglet's birth weight and consequences on subsequent performance. **Livestock Production Science**, Amsterdam, v. 78, p. 63-70, 2002.

ROSTAGNO, H. S. et al. **Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais**. 3. ed. Viçosa, MG: UFV, 2011. 252 p.

ROTH, K. A. et al. Expression of liver fatty acid-binding protein/human growth hormone fusiongenes within the enterocyte and enteroendocrine cell populations of fetal transgenic mice. **Journal of Biological Chemistry** Baltimore, v. 266, p. 5949–5954, 1991.

SIMON, T. C.; GORDON, J. I. Intestinal epithelial cell differentiation: new insights from mice, flies and nematodes. **Current Opinion in Genetics and Development**, London, v. 5, p. 577–586, 1995.

TRAHAIR, J. F.; ROBINSON, P. M. Perinatal development of the small intestine of the sheep. **Reproduction Nutrition Development**, Paris, v. 26, 1255-1263, 1986.

VAN RENS, B. T. T. M. et al. Prewaning piglet mortality in relation to placental efficiency. **Journal of Animal Science**, Champaign, v. 83, p. 144–151, 2005.

WANG, T.; XU, R. J. Effects of colostrum feeding on intestinal development in newborn pigs. **Biology of the Neonate**, Basel, v. 70, p. 339–348, 2005.

WANG, X. et al. Temporal proteomic analysis reveals defects in small intestinal development of porcine fetuses with intrauterine growth restriction. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, v. 25, n. 7, p. 785-795, 2014.

WU, G. et al. Amino acid composition of the fetal pig. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 129, n. 5, p. 1031-1038, May 1999.

XU, R. J. et al. Impact of intrauterine growth retardation on the gastrointestinal tract and the pancreas in newborn pigs. **Journal Pediatric Gastroenterology Nutrition**, New York, v. 18, n. 2, p. 231-240, 1994.

ZHONG, G. et al. Heat shock protein 70 is upregulated in the intestine of intrauterine growth retardation piglets. **Cell Stress and Chaperones**, New York, v. 15, n. 3, p. 335-342, 2010.