



AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E MORFOMÉTRICA DE EXPLANTES INTESTINAIS DE SUÍNOS SUBMETIDOS AO QUITO- OLIGOSSACARÍDEO

Gerez, J. R.¹; Maidana, L. G.¹; Marutani, V. H.¹; Pinho, F.¹; Calliari, C. M.²; Bracarense, A. P. F. R. L.^{1*}

¹Laboratório de Patologia Animal, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva,

Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. *e-mail: anapaula@uel.br

²Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Campus Londrina, Paraná, Brasil

Saúde Única.

Palavras-chave: Quito-oligossacarídeo, morfologia intestinal, suíno.

Introdução

Antibióticos têm sido utilizados amplamente na dieta de suínos para promover o desempenho de crescimento e reduzir a incidência de diarreia. Entretanto, a resistência de patógenos a antibioticoterapia na produção animal tem induzido um crescente interesse pelo uso de substâncias funcionais alternativas a antibióticos (WANG et al., 2007). O quito-oligossacarídeo (QOS) é um polímero natural alcalino de glucosamina obtido do quitosano por hidrólise química e enzimática. Assim como o quitosano, os oligossacarídeos derivados têm em sua composição grupos funcionais reativos como hidroxilas e aminoácidos (ZHOU et al., 2014). Em leitões desmamados, QOS resultou em efeito positivo no desempenho de crescimento devido aumentar a digestibilidade de nutrientes, diminuir a incidência de diarreia e aumentar a altura de vilosidades intestinais (LIU et al., 2008). Em contraste, em recente estudo, leitões submetidos à uma dieta suplementada com uma baixa dose de QOS (30 mg/kg) não apresentaram nenhum incremento no crescimento, na altura de vilosidades e na profundidade de criptas (XIONG et al., 2015). Considerando estes resultados variáveis sobre a morfologia intestinal e a necessidade de ampliar os conhecimentos sobre os efeitos QOS no tecido intestinal de leitões desmamados, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da exposição deste produto em diferentes doses sobre a morfologia intestinal, utilizando o modelo *ex vivo* de explantes jejunais de suínos.

Material e métodos

Cinco leitões (Landrace x Large White x Duroc) de 24 dias foram usados para a colheita de explantes. Os animais foram desmamados aos 21 dias de idade e



submetidos a uma dieta padrão após o desmame em baias separadas. Ao final do 24º dia foi realizada a eutanásia dos leitões com a administração intravenosa de pentobarbital (40mg/kg p.v.). Os explantes de jejuno (30 explantes por animal) foram expostos durante quatro horas aos seguintes tratamentos: controle, QOS em concentrações equivalentes a 25 mg/kg de ração (25QOS), 50 mg/kg de ração (50QOS), 100mg/kg de ração (100QOS) e 150mg/kg de ração (150QOS). Um total de 150 explantes foi processado e corado com hematoxilina e eosina (HE) e para análise histológica e morfométrica. Os cortes foram também corados com ácido periódico de Schiff (PAS) para avaliação da densidade de células caliciformes. As alterações histológicas foram avaliadas utilizando um escore morfológico adaptado de acordo com a intensidade e gravidade das lesões. Para a avaliação morfométrica um mínimo de 10 vilosidades intactas e bem orientadas foram mensuradas da abertura da cripta até o ápice da vilosidade e todas as mensurações (altura de vilosidade e profundidade de cripta) foram realizadas com o auxílio do software Motic Image Plus 2.0 usando aumento de 20x. O número de células caliciformes foi contado em 10 vilosidades e criptas aleatórias com auxílio da objetiva de 40x.

Resultados e Discussão

Após 4 horas de incubação, explantes do grupo controle apresentaram um escore morfológico de $32,82 \pm 1,67$, enquanto as amostras expostas a 25QOS, 50QOS, 100QOS e 150QOS apresentaram um escore morfológico de $26,07 \pm 2,05$, $24,54 \pm 0,79$, $27,11 \pm 3,87$ e $25,97 \pm 2,86$, respectivamente. Lesões histológicas discretas foram observadas nos explantes expostos as diferentes concentrações de QOS, entretanto nenhuma diferença no escore morfológico, altura de vilosidades, profundidade de criptas foi observada entre os grupos experimentais e controle (Tabela 1). Similarmente, suínos desmamados aos 21 dias de idade e expostos por 14 dias às dietas suplementadas com QOS nas concentrações de 200 mg/kg, 400 mg/kg e 600 mg/kg (YANG et al., 2012), respectivamente, não mostraram alterações na morfologia intestinal. Considerando que a síntese e a secreção de mucina pelas células caliciformes desempenham um importante papel na barreira física da mucosa intestinal (PELASEYED et al., 2014), o número de células caliciformes foi avaliado nas amostras expostas aos diferentes tratamentos. Neste estudo, o número de células caliciformes nas vilosidades e criptas dos explantes intestinais expostos a diferentes concentrações de QOS não apresentou diferença significativa com o grupo controle (Tabela 1). Estes resultados são similares a estudo prévio *in vivo* em que leitões alimentados com dieta suplementada com 30 mg QOS/kg não induziu nenhum efeito no número de células caliciformes, altura de vilosidades e profundidade de criptas no jejuno (XIONG et al., 2015).



Tabela 1 – Efeito da exposição de QOS sobre a morfologia de explantes intestinais de suínos.

Tratamentos	Altura de vilosidades, μm	Profundidade de criptas, μm	Nº de células caliciformes nas vilosidades	Nº de células caliciformes nas criptas
Controle	139,11 $\pm$ 8,48a	129,20 $\pm$ 8,54a	4,32 $\pm$ 0,48a	6,98 $\pm$ 0,74a
25QOS	116,73 $\pm$ 13,09a	138,94 $\pm$ 14,52a	3,91 $\pm$ 0,75a	6,96 $\pm$ 0,89a
50QOS	111,58 $\pm$ 14,92a	113,79 $\pm$ 4,35a	3,99 $\pm$ 0,27a	6,15 $\pm$ 0,48a
100QOS	123,38 $\pm$ 14,16a	135,05 $\pm$ 1,34a	4,89 $\pm$ 0,80a	5,80 $\pm$ 0,27a
150QOS	116,48 $\pm$ 2,65a	128,30 $\pm$ 7,37a	4,24 $\pm$ 0,63a	5,95 $\pm$ 0,34a

Os dados são apresentados como média $\pm$ desvio padrão. Médias seguidas de mesma letra na coluna não difere a um nível de significância de 5% através do teste de Tukey.

Conclusões

Em conclusão, este estudo demonstra que QOS não afeta a morfologia de explantes intestinais de suíno. Além do mais, com base no fato que suínos são fisiologicamente aos humanos, os resultados podem ser relevantes a espécie humana.

Suporte financeiro

Este projeto foi financiado pela Fundação Araucária e CAPES.

Referências

- LIU, P.; PIAO, X. S.; KIM, S. W.; WANG, L.; SHEN, Y. B.; LEE, H. S.; LI, S. Y. Effects of chito-oligosaccharide supplementation on the growth performance, nutrient digestibility, intestinal morphology, and fecal shedding of *Escherichia coli* and *Lactobacillus* in weaning pigs. **Journal of Animal Science**, v.86, p. 2609–2618.
- PELASEYED, T.; BERGSTRÖM, J.H.; GUSTAFSSON, J.K.; ERMUND, A.; BIRCHENOUGH, G.M.; SCHÜTTE, A.; VAN DER POST, S.; HANSSON, G.C. The mucus and mucins of the goblet cells and enterocytes provide the first defense line of the gastrointestinal tract and interact with the immune system. **Immunological Reviews**, v. 260, p. 8-20, 2014.
- WANG, Y. Z.; SHAN, T. Z.; XU, Z. R.; FENG, J.; WANG, Z. Q. Effects of the lactoferrin (LF) on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, p. 263–272, 2007.
- YANG, C. M.; FERKET P. R.; HONG Q. H.; ZHOU J.; CAO G. T.; ZHOU L.; CHEN A. G. Effect of chito-oligosaccharide on growth performance, intestinal barrier function, intestinal morphology and cecal microflora in weaned pigs. **Journal of Animal Science**, v. 90, p. 2671–2676, 2012.



XIONG, X.; YANG, H. S.; WANG, X. C.; HU, Q.; LIU, C. X.; WU, X.; DENG, D.; HOU, Y. Q.; NYACHOTI, C. M.; XIAO, D. F.; YIN, Y. L. Effect of low dosage of chito- oligosaccharide supplementation on intestinal morphology, immune response, antioxidant capacity, and barrier function in weaned piglets. **Journal of Animal Science**, v.93, p.1089–1097, 2015.

ZHOU X. L., KONG X. F., LIAN G. Q., BLACHIER F., GENG M. M. & YIN Y. L. Dietary supplementation with soybean oligosaccharides increases short-chain fatty acids but decreases protein-derived catabolites in the intestinal luminal content of weaned Huanjiang mini-piglets. **Nutrition Research**, v. 34, p. 780-788, 2014.