

Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”

Efeito de IgG e IGF-I das primeiras refeições lácteas sobre a flutuação sérica e características do epitélio intestinal em bezerros recém-nascidos

Liris Kindlein

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba

2006

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Liris Kindlein
Médico Veterinário

Efeito de IgG e IGF-I das primeiras refeições lácteas sobre a flutuação sérica e características do epitélio intestinal em bezerros recém-nascidos

Orientador:
Prof.Dr.**RAUL MACHADO NETO**

Tese apresentada para obtenção do título de Doutor em Agronomia. Área de concentração: Ciência Animal e Pastagens

Piracicaba
2006

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP**

Kindlein, Liris

Efeito de IgG e IGF-I das primeiras refeições lácteas sobre a flutuação sérica e características do epitélio intestinal em bezerros recém-nascidos / Liris Kindlein. - - Piracicaba, 2006.

100 p. : il.

Tese (Doutorado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2006.
Bibliografia.

1. Bezerros 2. Colostro 3. Imunoglobina 4. Liofilização 5. Morfologia animal
6. Morfometria 7. Trato digestivo de animal I. Título

CDD 636.2084

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

À minha amada e admirável mãe,

Veris Regina Kindlein,
por todo amor, amizade, cumplicidade, exemplo, incentivo, confiança e por
estar tão perto estando tão longe,

Aos meus queridos irmãos, afilhada e sobrinho,

Mário, Daniele, Katherine e Leonardo,
pelo amor, união e pela compreensão da minha ausência,

E à meu falecido pai,

Luiz Alberto Kindlein,
por ter me dado uma família maravilhosa,

DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Raul Machado Neto, pela amizade, pela oportunidade, por acreditar e confiar em mim, pelo apoio, pelo exemplo como excelente profissional e pela insubstituível orientação,

Ao Prof. Dr. Raul Dantas d'Arce, pelo carinho, sugestões e co-orientação,

Ao Prof. Dr. Irineu U.Packer, pela paciência, boa vontade, disposição e ensinamentos nas análises estatísticas,

Ao Prof. Dr. Dante P.D.Lanna, pelo apoio, pelo consentimento do uso do laboratório LNCA e pela co-orientação,

Ao Prof. Dr. Elliot W.Kitajima, pelo consentimento e facilidades colocadas a disposição permitindo a realização das análises no NAP/MEPA,

Aos professores do Departamento de Zootecnia, em especial, José F.M.Menten, Wilson R.S.Mattos, Valdomiro S.Miyada, Sila C.da Silva e José Eurico P.Cyrino, pelos ensinamentos e carinho durante todos esses anos,

À amiga Dr. Patrícia Pauletti, pela cumplicidade, exemplo, pelo apoio em momentos tão difíceis e pela disposição na co-autoria deste trabalho,

À Adriana, pela confiança e apoio desde o início do curso,

Ao querido Aleksander da Silva, pela paciência, carinho e companheirismo que tanto me ajudou,

Ao Mário M.de Carvalho, amigo de todas as horas, pelo ombro e pelas palavras de incentivo,

Ao querido Tadeu V.Voltoline, personagem importante na minha fase de campo,

À querida amiga e estagiária Ana Paula Oeda, pela ajuda nas atividades laboratoriais e pela dedicação e respeito para comigo,

Aos funcionários do departamento de Zootecnia, em especial José Luiz F.Piedade (Zé), Giovana M.de Oliveira e amiga Maria Antônia L.Etchegaray (Tuka), pelo carinho e atenção,

À Granja Leiteira Santa Rita, ao Sr. Roberto Jank Jr., pelo consentimento para realização desse trabalho, e aos funcionários da Granja, pela ajuda e carinho,

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo,

À FAPESP pelo apoio financeiro destinado a este trabalho,

E a todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta tese.

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	12
1 INTRODUÇÃO.....	13
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	14
2.1 Imunidade passiva.....	14
2.2 Imunoglobulinas.....	15
2.3 Coloostro – Formação, características e importância.....	16
2.4 Aquisição inicial de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos.....	18
2.5 Fornecimento prolongado de colostro.....	20
2.6 Transporte e absorção de anticorpos no trato intestinal.....	21
2.7 IGF-I.....	26
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 Local de coleta e de processamento das amostras.....	29
3.2 Liofilização do colostro.....	29
3.3 Animais e tratamentos.....	30
3.4 Manejo dos animais.....	30
3.5 Coleta das amostras.....	31
3.5.1 Sangue.....	31
3.5.2 Tecido intestinal.....	31
3.5.3 Refeições lácteas.....	31
3.6 Análises laboratoriais.....	32
3.6.1 Imunoglobulina G – IgG.....	32
3.6.2 Proteína total sérica – PT.....	33
3.6.3 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I – IGF-I.....	33
3.6.4 Análise bromatológica das refeições.....	34
3.6.5 Microscopia óptica.....	35
3.6.5.1 Análises morfométricas: morfometria quantitativa e estereologia.....	35

3.6.6 Microscopia eletrônica.....	37
3.6.6.1 Microscopia eletrônica de varredura – MEV.....	37
3.6.6.2 Microscopia eletrônica de transmissão – MET.....	38
3.7 Análise Estatística.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	40
4.1 Variáveis Séricas.....	40
4.1.1 Imunoglobulina G – IgG.....	40
4.1.2 Proteína total sérica – PT.....	48
4.1.3 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I – IGF-I.....	52
4.2 Aspectos qualitativos e quantitativos da mucosa intestinal.....	56
4.2.1 Morfologia intestinal.....	56
4.2.2 Morfometria intestinal.....	60
4.3 Ultraestrutura das células intestinais.....	68
4.3.1 Morfologia ultraestrutural dos enterócitos.....	68
4.3.2 Morfometria ultraestrutural dos enterócitos.....	79
5 CONCLUSÕES.....	83
REFERÊNCIAS.....	84

Efeito de IgG e IGF-I das primeiras refeições lácteas sobre a flutuação sérica e características do epitélio intestinal em bezerros recém-nascidos

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos de diferentes manejos de fornecimento de colostro sobre a aquisição sérica de imunoglobulina G (IgG) e do fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I), bem como as modificações morfológicas e morfométricas do epitélio intestinal em bezerros recém-nascidos. Foi utilizado o fornecimento prolongado de colostros de diferentes concentrações, incluindo colostro enriquecido com colostro liofilizado e acompanhada a flutuação dos níveis séricos de IgG e proteína total (PT) nas primeiras 72 horas de vida, com diferentes condições iniciais de aquisição de imunidade passiva. Também foi estudada a relação da massa de IGF-I ingerida com possíveis alterações na morfologia entérica e nos enterócitos. Oitenta e dois bezerros da raça Holandesa receberam, ao nascimento, colostro com concentrações variáveis de IgG. Com base na avaliação sérica das imunoglobulinas realizada na décima hora de vida, os animais foram distribuídos em dois grupos, IgG sérica abaixo ou acima de 12 mg mL^{-1} . Cada grupo foi submetido à três tratamentos de acordo com a refeição fornecida às 12 horas de vida, colostro baixo (concentração de IgG inferior a 30 mg mL^{-1}), colostro alto (superior a 100 mg mL^{-1}) ou colostro enriquecido de colostro liofilizado (superior a 120 mg mL^{-1}). Às 0, 10-12, 24, 36, 48 e 72 horas de vida foi coletado sangue dos bezerros para análise de IgG, PT e IGF-I, e amostras do duodeno; jejuno proximal, médio e distal; e íleo para análise histomorfológica. Para análise das variáveis séricas, considerou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com medidas repetidas no tempo. Para análise das variáveis morfométricas dos segmentos intestinais foi considerado um arranjo fatorial $3 \times 3 + 1$, correspondendo à massa total de IGF-I fornecida via colostro, às idades de abate (10, 24-36 e 72 horas de vida) e o grupo controle (nascimento). O fornecimento prolongado de colostro enriquecido em bezerros com alta aquisição inicial não apresentou efeito significativo sobre a flutuação sérica de IgG. A ingestão de sólidos totais acima de 150 g determinou menores valores de IgG sérica. Os animais com baixa aquisição inicial mostraram uma maior eficiência de absorção de anticorpos comparados aos com alta aquisição inicial. A massa de IGF-I consumida não influenciou os níveis séricos desta variável, porém influenciou o comportamento da densidade dos vilos ileais e a altura dos microvilos do duodeno, jejuno proximal e médio. Os valores do volume parcial da mucosa absorptiva do nascimento às 10 horas de vida apresentaram diferenças significativas. O fornecimento prolongado de colostro de alta concentração de imunoglobulinas e IGF-I influenciou a morfologia da mucosa entérica.

Palavras-chave: Imunoglobulina; Colostro liofilizado; Imunidade passiva; Enterócitos; Vilos; Morfometria, Morfologia; Microscopia; Intestino

Effects of IgG and IGF-I of the first milky meals on the serum fluctuation and characteristics of the intestinal epithelium in the newborn calves

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the effects of different colostrum supply on the serum immunoglobulin G (IgG) acquisition and the insulin-like growth factor-I (IGF-I), as well as the morphologic and morphometric modifications of the intestinal epithelium in the newborn calves. The prolonged supply of colostrum with different concentrations was used, including colostrum enriched with lyophilized colostrum, and was accompanied the fluctuation of serum IgG and total protein (TP) of calves in the first 72 hours of life, according to initial passive immunity acquisition. It was also studied the relation of IGF-I mass ingested with possible alterations in the intestinal morphology and enterocytes. Eighty two Holstein calves received at birth colostrum with different concentrations of IgG. Based on serum immunoglobulins evaluation at ten hour of life, the animals were distributed in two groups, serum IgG below or above 12 mg mL^{-1} . Each group received three treatments in agreement with the meal supplied at 12 hours of life, low colostrum (IgG inferior to 30 mg mL^{-1}), high colostrum (superior to 100 mg mL^{-1}) or enriched with lyophilized colostrum (superior to 120 mg mL^{-1}). At 0, 10-12, 24, 36, 48 and 72 hours of life blood was collected from calves for IgG, TP and IGF-I analysis, and samples from duodenum; proximal, middle and distal jejunum, and ileum for histomorphologic analysis. A completely randomized design was used with the serum variables analyzed as repeated measures on time. The morphometric variables of the intestinal segments were considered a factorial arrangement $3 \times 3 + 1$, corresponding to the total mass of IGF-I supplied in colostrum and the slaughter ages (10, 24-36 and 72 hours of life) plus the control group (birth). The prolonged supply of enriched colostrum in calves with high initial acquisition did not present significant effects on the serum IgG fluctuation. The ingestion of total solids above 150 g determined lower values of serum IgG. The animals with low initial acquisition showed better absorption efficiency of antibodies compared to high initial acquisition. The mass of IGF-I consumed did not influence the serum levels of this variable; however it influenced the behavior of the density of the ileum villi and the height of the microvillus from duodenum, proximal and middle jejunum. The values of the partial volume of the absorptive mucous membrane from birth to 10 hours of life presented significant differences. The prolonged supply of colostrum with high immunoglobulins and IGF-I concentrations influenced the morphology of the intestinal mucosa.

Keywords: Immunoglobulins; lyophilized Colostrum; Immunity Passive; Enterocytes; Villi; Morphometry, Morphology; Microscopy; Intestine

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Representação esquemática do sistema teste de arcos ciclóides.....	36
Figura 2 - Flutuação da concentração média de IgG sérica (mg mL^{-1}) nos grupos com baixa aquisição inicial.....	42
Figura 3 - Flutuação da concentração média de IgG sérica (mg mL^{-1}) nos grupos com alta aquisição inicial.....	42
Figura 4 - Concentração sérica de IgG (mg mL^{-1}) e eficiência aparente de absorção (EAA %) às 24 horas de idade.....	46
Figura 5 - Valores médios de PT e IgG sérica (mg mL^{-1}) e porcentagem da fração protéica de IgG sérica sobre PT (%) dos grupos.....	51
Figura 6 - Vilosidades do duodeno de bezerro recém-nascido.....	58
Figura 7 - Vilosidade do duodeno de bezerro com 10 horas de vida.....	58
Figura 8 - Topo do vilo de duodeno de bezerro com 24 horas de vida.....	58
Figura 9 - Jejuno proximal de bezerro recém-nascido.....	58
Figura 10 - Jejuno proximal de bezerro com 10 horas de idade.....	58
Figura 11 - Duodeno de bezerro com 24 horas de vida.....	58
Figura 12 - Jejuno proximal de bezerro com 24 horas de vida.....	59
Figura 13 - Jejuno distal de bezerro com 24 horas de vida.....	59
Figura 14 - Jejuno médio de bezerro com 72 horas de vida.....	59
Figura 15 - Reentrâncias nos vilos.....	59
Figura 16 - Duodeno de bezerro com 24 horas de vida.....	59

Figura 17 - Duodeno de bezerro com 24 horas de vida.....	59
Figura 18 - Jejunio distal de bezerro com 24 horas de vida (grupo 2).....	60
Figura 19 - Jejunio médio de bezerro com 24 horas de vida (grupo1).....	60
Figura 20 - Valores médios da altura (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado no período experimental.....	63
Figura 21 - Valores médios da profundidade de cripta (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado no período experimental.....	65
Figura 22 - Valores médios do perímetro (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado no período experimental.....	66
Figura 23 - Valores médios da espessura da túnica muscular da mucosa (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado no período experimental.....	67
Figura 24 - Pólo apical de enterócito duodenal de bezerro recém-nascido.....	72
Figura 25 - Citoplasma apical de enterócito de bezerro com 24 horas de vida.....	72
Figura 26 - Superfície apical da célula absorptiva do jejunio distal de bezerro com 36 horas de vida.....	73
Figura 27 - Microscopia de luz de vilos do íleo de bezerro com 24 horas de vida.....	73
Figura 28 - Jejunio médio de bezerro com 36 horas de vida.....	74
Figura 29 - Íleo de bezerro com 36 horas de vida.....	74
Figura 30 - Jejunio proximal de bezerro com 24 horas de vida.....	74
Figura 31 - Jejunio proximal de bezerro com 24 horas de vida.....	75
Figura 32 - Enterócito de jejunio distal de bezerro com 24 horas de vida.....	75
Figura 33 - Enterócito de jejunio distal de bezerro com 24 horas de vida com diferentes fases do processo de micropinocitose.....	76

Figura 34 - Jejuno médio de bezerro com 24 horas de vida na fase final do processo de micropinocitose.....	77
Figura 35 - Jejuno proximal de bezerro com 36 horas de vida.....	77
Figura 36 - Célula caliciforme disposta entre as células epiteliais do duodeno.....	78
Figura 37 - Microscopia de luz de vilo do duodeno com células caliciformes.....	78
Figura 38 - Microscopia de luz de vilos do íleo de bezerro ao nascimento.....	78
Figura 39 - Valores da altura (nm) dos microvilos do duodeno.....	79
Figura 40 - Valores da altura (nm) dos microvilos do jejuno proximal.....	80
Figura 41 - Valores da altura (nm) dos microvilos do jejuno médio.....	80
Figura 42 - Valores da altura (nm) dos microvilos do jejuno distal.....	81
Figura 43 - Valores da altura (nm) dos microvilos do íleo.....	81

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Características físicas e composição do colostro e das secreções lácteas subseqüentes de vacas Holandesas.....	17
Tabela 2 - Valores médios de sólidos totais (ST), proteína bruta (PB), IGF-I e IgG referente as duas primeiras refeições.....	34
Tabela 3 - Composição do colostro liofilizado.....	34
Tabela 4 - Concentrações séricas de IgG (mg mL^{-1}) dos bezerros nas primeiras 72 horas de vida.....	41
Tabela 5 - Concentrações séricas de IgG (mg mL^{-1}) dos bezerros nas primeiras 72 horas de vida em função dos tratamentos.....	44
Tabela 6 - Concentrações séricas de PT ($\text{g } 100\text{mL}^{-1}$) dos bezerros do nascimento até 72 horas de vida em função da aquisição inicial de imunidade passiva e dos tratamentos.....	49
Tabela 7 - Concentrações séricas de IGF-I (ng mL^{-1}) dos bezerros após 12 horas de vida.....	54
Tabela 8 - Valores médios \pm desvio padrão da densidade dos vilos dos segmentos do intestino delgado dos bezerros.....	61
Tabela 9 - Volume parcial (Vv%) da mucosa absorptiva dos segmentos do intestino delgado dos bezerros.....	68

1 INTRODUÇÃO

A necessidade da ingestão de colostro para a espécie bovina já é conhecida de longa data. O colostro bovino constitui-se na única fonte de anticorpos para proteção dos recém-nascidos desta espécie, pois nestes não ocorre transferência de imunoglobulinas pela placenta.

Além dos anticorpos, o colostro bovino contém um complexo de nutrientes constituído por proteínas, carboidratos, lipídios, vitaminas e minerais, além de uma série de moléculas biologicamente ativas, associadas à maturação do trato digestivo e ao desenvolvimento do recém-nascido.

O nível sérico de imunoglobulinas encontrado em bezerros recém-nascidos após receberem o colostro varia consideravelmente, podendo este ser afetado por vários fatores, sendo os principais: o tempo decorrido do nascimento até a primeira refeição, a concentração e a quantidade total de imunoglobulina ingerida por unidade de peso vivo.

O estudo dos eventos relacionados com o intestino delgado na fase inicial de vida reveste-se de grande importância, pois trata-se de um período crítico para a sobrevivência do recém-nascido, justificando a procura de informações que vão desde a avaliação de manejos alternativos até mecanismos histofisiológicos.

O fornecimento de colostro após ter ocorrido à fase principal de absorção de imunoglobulinas pelas células intestinais, entre 24 e 48 horas de vida, tem sido recomendado. Baseado em dados disponíveis na literatura, vê-se imprescindível o estudo de novas estratégias de manejo que assegurem adequada aquisição de imunoglobulinas do colostro.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar o efeito da suplementação de colostro com diferentes concentrações de imunoglobulinas, com adição ou não de colostro liofilizado, sobre os níveis séricos de IgG e PT, bem como avaliar o processo de internalização e o comportamento morfológico do trato intestinal. Este estudo contribuiu para explicar e avaliar manejos com o fornecimento de colostro de alta qualidade por períodos prolongados para animais em diferentes condições de aquisição inicial de imunidade passiva. Além disso, relacionar as concentrações de IGF-I e IgG presentes no colostro com alterações na morfologia intestinal de bezerros nas primeiras horas de vida.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Imunidade Passiva

A proteção transferida da mãe para o filho, via placenta, colostro, ou por ambos, recebe a denominação de imunidade passiva, não tendo participação do sistema de defesa do recém-nascido (Jeffcott, 1972; Argenzio, 1984). A permeabilidade da placenta é inversamente proporcional ao número de camadas de tecidos interpostas entre a circulação materna e a fetal (McCoy et al., 1970; Jeffcott, 1972; Simpson e Smeaton, 1972; Porter, 1976). Por este motivo, não ocorre a transferência passiva no período fetal de espécies que apresentam um maior número de camadas (Brambell, 1958).

A placenta sindesmocorial, presente em ruminantes, formada por cinco membranas teciduais impede a passagem de anticorpos da circulação materna para a fetal. Portanto, o bezerro neonato, em função do tipo de placenta e da inexperiência do seu sistema imunológico, apresenta-se sem proteção contra os desafios existentes no seu novo ambiente, necessitando de imunoglobulinas sintetizadas e oriundas da mãe, transferidas via colostro (Morris, 1968; McCoy et al., 1970; Porter, 1976). O colostro constitui o único veículo de transporte dos anticorpos nos bovinos, sendo o responsável pela proteção e modulação da resposta imune do recém-nascido (Blum e Hammon, 2000).

Além das imunoglobulinas, o colostro é constituído por outros componentes imunológicos e nutrientes provenientes da corrente sangüínea materna, que podem potencialmente ser absorvidos pelas células do trato intestinal durante as primeiras horas de vida e transferidos à corrente sangüínea do recém-nascido (Brambell, 1958; Lecce e Morgan, 1962; Hammon e Blum, 1999).

No neonato a imunidade passiva derivada do colostro alcança um pico de concentração sérica entre 12 e 48 horas, sendo que após esse pico a concentração média das imunoglobulinas tende a decrescer, refletindo o catabolismo do material ou transferência para outros *pools* metabólicos (McCoy et al., 1970; Kruse, 1983; Machado Neto e Packer, 1986; Pauletti, 1999). Passado o período de declínio, verifica-se um aumento gradativo das imunoglobulinas devido a síntese endógena de anticorpos que atingem níveis normais (20 mg mL⁻¹ de IgG) na circulação do

animal (Tennant et al., 1969; Husband et al., 1972; Ribeiro et al., 1983; Machado Neto e Packer, 1986).

2.2 Imunoglobulinas

As imunoglobulinas são glicoproteínas globulares com elevado peso molecular, cuja unidade básica é formada por duas cadeias polipeptídicas leves e duas cadeias pesadas, interligadas por pontes dissulfídicas, que se dobram firmemente adquirindo estrutura compacta, sendo classificadas como proteínas de estrutura quaternária, podendo ser encontradas nas formas de monômero ou polímero (Porter, 1975; Ferri et al., 1979). As classes mais importantes são IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, as quais são diferenciadas pela seqüência de aminoácidos que apresentam, por sua função e pela distribuição relativa na circulação. Segundo Porter (1972), as imunoglobulinas IgG, IgM e IgA adquiridas passivamente, possuem meia vida de 20, quatro e dois dias, respectivamente.

Independente da forma de aquisição da imunidade passiva pelas diferentes espécies animais, a imunoglobulina G é priorizada no processo de transferência e perfaz a maior parte dos anticorpos maternos presentes no colostro e transferidos passivamente (Butler, 1969; Kramer e Cho, 1970). Ela é dividida em duas subclasses, IgG₁ e IgG₂, diferenciadas por características estruturais e antigênicas. A IgG perfaz entre 65 e 80% do total de imunoglobulinas presentes no soro, o que garante a transferência de quantidades significativas para o colostro (Butler, 1969; Sasaki et al., 1976).

Cada molécula de IgG é constituída de uma unidade com quatro cadeias, possuindo dois sítios de combinação, específicos para o determinante antigênico que induziu sua síntese. Age principalmente contra antígenos solúveis e neutraliza toxinas provenientes de bactérias podendo conferir imunidade antibacteriana e antiviral e participar da identificação e apresentação de microrganismos e substâncias estranhas às células que executam fagocitose (Avrech et al., 1994).

A IgG é transferida seletivamente da circulação sanguínea materna, através do epitélio alveolar, para o colostro (Dixon et al., 1961; Jeffcott, 1972; Porter, 1979). Nas últimas semanas pré-parto, cerca de 700 g de imunoglobulinas são transportadas para a glândula mamária (Brandon e Lascelles, 1971; Foley e Otterby, 1978). A concentração de imunoglobulinas no colostro é alta no momento do parto e decresce a cada aleitamento sucessivo, apresentando queda

de até 40% nas primeiras 16 horas após o parto (Kruse, 1970; Oyeniyi e Hunter, 1978; Muller e Ellinger, 1981; Stott et al., 1981; Newby et al., 1982; Michanek et al., 1989; Perino e Rupp, 1994).

2.3 Colostro – Formação, características e importância

O colostro é a primeira secreção láctea produzida após o parto e, nos bovinos, assim como nos demais animais dependentes desta via para aquisição da imunidade passiva, consiste de produtos sintetizados pela glândula mamária e de elementos oriundos da corrente sanguínea, principalmente as imunoglobulinas (Foley e Otterby, 1978).

Diversos fatores influenciam a composição e características físicas do colostro, sendo os principais a raça, a idade, o número de parições, a conformação de úberes e tetos e a duração do período seco (Oyeniyi e Hunter, 1978; Muller e Ellinger, 1981; Donovan et al., 1986). O efeito do número de parições já foi constatado em bovinos e suínos, quanto maior o número de partos maior a tendência das lactantes produzirem colostro mais rico em anticorpos (Inoue et al., 1980; Norman et al., 1981; Donovan et al., 1986; Klobasa et al., 1987). Machado Neto et al. (2001), trabalhando com quatro diferentes raças nacionais, Caracu, Gir, Nelore e Guzerá, também evidenciaram maior concentração de imunoglobulinas no colostro das vacas com idade superior à 3 anos.

O manejo utilizado e os métodos de armazenamento também podem alterar a qualidade do colostro fornecido. Entre os métodos de armazenamento de colostro mais utilizados encontram-se o congelamento (Holloway et al., 2001), a refrigeração (Valenta, 1982), a liofilização (Larson et al., 1974; Meyer et al., 1982; Husu et al., 1993; Klobasa et al., 1998) e a adição de substâncias com capacidade tamponante ou acidificantes (Muller e Syhre, 1975; Jenny et al., 1984). Segundo Anema (2000), o processo de congelamento do colostro não tem influência significativa sobre a concentração de IgG, provavelmente porque a baixa temperatura mantém íntegra as moléculas das globulinas não comprometendo sua estrutura.

Argüello et al. (2004), estudando o efeito da refrigeração, congelamento e pasteurização sobre o valor imunológico do colostro, verificaram que a refrigeração por até 90 dias não influenciou significativamente a concentração de IgG. Além disso, não encontraram diferença

no uso de métodos distintos de descongelamento do colostro (banho-maria, temperatura ambiente, refrigeração ou centrifugação).

Klobasa et al. (1998) compararam dois métodos de armazenamento de colostro, liofilização e congelamento, sobre a concentração sérica de IgG₁, IgG₂, IgM, e IgA em bezerros às 12, 18, 24 e 72 horas de vida. Para os dois tratamentos, a concentração sérica de imunoglobulinas foi similar, demonstrando que as duas formas de armazenamento são eficientes para preservar a qualidade imunológica do colostro. Holloway et al. (2001) também não observaram diferença significativa na concentração sérica de IgG de bezerros que receberam colostro congelado ou resfriado.

Durante a lactação ocorrem várias mudanças na composição do leite e colostro conforme ilustrado na Tabela 1. Nas primeiras horas após o parto, o colostro contém alta concentração de matéria seca com alto conteúdo de substâncias protéicas (Gajdusek et al., 2003), especialmente imunoglobulinas (Csapo et al., 1998), lactoferrina (Abd-El-Gawad et al., 1996), gordura (Hadjipanayiotou, 1995) e minerais (Fantová e Zíková, 1988). Após 24 horas do parto, o nível da maior parte dos componentes decresce significativamente, tornando-se estáveis após cinco dias da parição (Csapo et al., 1998). Mateo et al. (2004) verificaram diminuição significativa dos sólidos totais das secreções lácteas a partir do parto até o sétimo dia de lactação e valores constantes até o vigésimo oitavo dia.

Tabela 1 - Características físicas e composição do colostro e das secreções lácteas subseqüentes de vacas Holandesas

	Secreção láctea					
	(número de ordenhas pós-parto)					
	colostro	2	3	4	5	leite
Densidade específica	1,056	1,040	1,035	1,033	1,033	1,032
Sólidos Totais (ST) (%)	23,90	17,90	14,10	13,90	13,60	12,90
Gordura (%)	6,70	5,40	4,90	4,40	4,30	4,00
ST não gordurosos (%)	16,70	12,20	9,80	9,40	9,50	8,80
Proteína Total (%)	14,00	8,40	5,10	4,20	4,10	3,10
Vit.A ($\mu\text{g } 100\text{mL}^{-1}$)	295	190	113	76	74	34

Foley e Otterby (1978).

Vários autores correlacionaram taxas de mortalidade com níveis de anticorpos séricos oriundos do colostro, indicando que a resistência dos animais à doenças infecciosas neonatais, principalmente septicemia, diarreia e doenças respiratórias, depende da ingestão de níveis

adequados de imunoglobulinas (Smith e Little, 1922; Gay et al., 1965; Husband et al., 1972; Ribeiro et al., 1983; Nocek et al., 1984; Wittum e Perino, 1995; Ramin, 1996; Arthington, 1997).

2.4 Aquisição inicial de imunidade passiva em bezerros recém-nascidos

Morin et al. (1997), estudando os efeitos da qualidade, quantidade e tempo de administração de colostro, encontraram um efeito significativo da suplementação de colostro em maior volume e maior massa de IgG ingerida sobre a absorção de IgG.

Davenport et al. (2000), estudando a absorção de IgG em bezerros, observaram que, exceto as imunoglobulinas, as proteínas presentes no colostro não afetaram a absorção intestinal de IgG a menos que a quantidade de proteína total ingerida ultrapassasse 500g. Quigley et al. (2001) mostraram que produtos que fornecem menos que 100g de IgG não devem ser usados como substitutos do colostro. Um fator limitante foi verificado por Besser e Osborn (1993) que, ao adicionarem albumina no colostro fornecido a bezerros neonatos, encontraram redução da absorção de IgG₁ de 59 para 36%, sugerindo que a alta concentração de albumina pode estar competindo com a absorção de IgG.

Rajala e Castrén (1995), comparando animais com altas e baixas concentrações iniciais de IgG sérica, concluíram que a concentração de imunoglobulinas dos animais com baixa imunidade inicial começou a aumentar por volta de duas semanas, mas a concentração dos animais com alta imunidade inicial continuou decrescendo até as duas semanas de idade. Resultados similares foram encontrados por Machado Neto e Packer (1986), Daniele et al. (1994), Baracat et al. (1997) e Pauletti (1999), as quais, trabalhando com animais com alta concentração inicial de imunoglobulinas passivas, em média 40 mg mL⁻¹, verificaram um maior período de declínio durante a fase de catabolismo.

Sobre a queda na concentração de IgG que ocorre após ter alcançado os níveis máximos, Baracat et al. (1997) sugeriram que essa fase é consequência de uma taxa de catabolismo das imunoglobulinas exógenas relativamente constante. De acordo com o trabalho de Husband et al. (1972), foi concluído que a produção endógena de IgG₁, IgG₂ e IgM inicia-se entre 8 a 16 dias após o nascimento e aos 64 dias para IgA. Ainda sobre o início da produção de imunoglobulinas em recém-nascidos, Devery et al. (1979) quantificaram a produção endógena de IgG₁ em

bezerros, encontrando uma taxa de um grama/dia, nas três primeiras semanas de vida e sugeriram que a mesma depende do desafio antigênico ao qual o animal é exposto no início da vida.

Níveis adequados de imunoglobulinas passivas modulam a resposta imune através de mecanismos que inibem o crescimento precoce das células produtoras de anticorpos (Husband e Lascelles, 1975; Machado Neto e Packer, 1986; Baracat et al., 1997; Pauletti, 1999). Pauletti (1999) constatou que o tempo de atividade anabólica e catabólica das imunoglobulinas para se atingir níveis normais depende dos valores iniciais adquiridos desta variável.

A baixa ativação do sistema imune pode influenciar o desempenho do animal, considerando a fase inicial de crescimento. No entanto, Ramin et al. (1996) sugeriram que a concentração de imunoglobulinas recebidas da mãe não pode ser usada como uma variável apropriada para prever o desempenho animal à longo prazo. Fato também verificado por Edwards et al. (1982) e Nocek et al. (1984) que afirmaram que níveis séricos iniciais de anticorpos passivos não afetam o ganho de peso corporal. Nocek et al. (1984), estudando a suplementação de colostro em bezerros, verificaram que o fornecimento de colostro com altas concentrações de imunoglobulina não influenciou no ganho de peso de bezerros até o quarto dia de idade, porém apresentou vantagens, pois os animais que receberam colostro com concentrações mais baixas perderam peso. Por outro lado, Zanetti (1990), trabalhando com bezerros que receberam colostro suplementar até o quinto dia de vida, não encontrou qualquer correlação entre ganho de peso no período e o nível de imunoglobulina, sugerindo existir outros fatores de maior importância atuando nessa fase.

A proteína total (PT) sérica em bezerros, a partir do nascimento, apresenta um padrão de flutuação semelhante ao padrão encontrado para as imunoglobulinas séricas. Estudos mostram correlações positivas nos valores entre PT e IgG séricos (Nocek, et al., 1984; Baracat et al., 1995; Bessi, 1996; Pauletti, 1999). Ao nascer, o bezerro apresenta níveis baixos de PT, atingindo o pico, em média, no quarto dia de vida, diminuindo em seguida até se estabilizar (Nocek et al., 1984; Daniele et al., 1994; Bessi, 1996). Tennant et al. (1969), estudando a concentração de PT sérica em bezerros leiteiros, não encontraram diferença significativa entre a segunda e sexta semanas de vida, mas a concentração alcançou valor máximo aos três dias de idade para os bezerros da raça Jersey e aos cinco dias para os da raça Holandesa.

Avaliando o efeito do fornecimento de colostro prolongado em bezerros até o terceiro ou sétimo dia de idade, Rauprich et al. (2000) verificaram maiores concentrações séricas de proteína

total e albumina ($P < 0,05$) no 7º dia, e de IgG, no 2º e 3º dia nos animais suplementados até o 7º dia, sugerindo que o colostro prolongado é uma eficiente alternativa de manejo.

2.5 Fornecimento prolongado de colostro

O fornecimento prolongado de colostro ao recém-nascido tem sido sugerido na literatura como um manejo de aleitamento com o objetivo principal de suprir falhas quanto à quantidade total de imunoglobulinas G ingeridas (Besser et al., 1991; Gay, 1994; Rajala e Castrén, 1995; Morin et al., 1997).

Os efeitos positivos verificados, como diminuição das situações patológicas entéricas e respiratórias, redução da mortalidade e morbidez, são considerados conseqüências da presença de anticorpos no trato intestinal agindo como proteção local independente da sistêmica, além de o colostro ser um alimento de alto valor nutricional (Nocek et al., 1984; Machado Neto et al., 1989; Daniele et al., 1994; Baracat et al., 1997). Nesses estudos foram fornecidos colostros com alta concentração de imunoglobulinas, colostro adicionado ao leite, colostro enriquecido com hormônios e, até mesmo, imunoglobulinas na forma injetável por períodos além dos usuais (Quigley et al., 1995; Kühne et al., 2000; Pedersen et al., 2000; Rauprich et al., 2000).

Daniele et al. (1994) e Baracat et al. (1997), ao trabalharem com suplementação de colostro em bezerros com concentração inicial em torno de 40 mg mL^{-1} , obtiveram menor incidência de diarreia quando os animais foram suplementados com colostro duas vezes ao dia, sugerindo que a frequência sucessiva do fornecimento de colostro permite uma contínua presença de imunoglobulinas no trato digestivo. Os autores sugeriram que a proteção local pode ser tão importante quanto a sistêmica e que as altas concentrações de anticorpos séricos contribuíram para que doenças neonatais não atingissem elevados níveis de severidade. Machado Neto et al. (1989) também demonstraram que o fornecimento de colostro de alta qualidade (superior a 40 mg mL^{-1}) promove uma redução na incidência e na severidade das diarreias que se verificam nas primeiras semanas de vida. Resultados similares foram encontrados por Snodgrass e Wells (1978) e Nocek et al. (1984).

Machado Neto et al. (2004), avaliando o fornecimento adicional de colostro às 12 horas de vida para bezerros leiteiros, verificaram que em animais com baixa aquisição inicial de imunoglobulinas este manejo resultou em elevação da concentração de anticorpos séricos, porém,

não encontraram diferença significativa na utilização da suplementação em animais que já possuíam níveis adequados de IgG sérico inicial ($>20 \text{ mg mL}^{-1}$). Entretanto, em trabalho realizado por Wittum e Perino (1995), utilizando animais com falha na transferência de imunidade passiva, foi determinado o efeito do colostro suplementar oferecido até as dez horas de vida. Os autores concluíram que o colostro suplementar, administrado aos animais com baixa concentração de proteína sérica, às dez horas de vida, não teve efeito sobre valores séricos de PT ou IgG às 24 horas ou ainda na mortalidade e morbidez pré-desmama.

Pedersen et al. (2000) avaliaram o efeito da administração subcutânea de IgG bovino ($0,031 \text{ g kg}^{-1}$ de PV) sobre a eficiência de absorção e níveis de IgG sérica às 24 horas de vida de bezerros leiteiros que ingeriram colostro. Os animais que receberam aplicação de IgG bovino apresentaram um valor de eficiência absorptiva 42% maior comparado aos bezerros que receberam apenas colostro (28,6% e 20,2%, respectivamente) e, além disso, a concentração sérica de IgG destes animais, às 24 horas, também foi superior (30%).

Arthington et al. (2000), trabalhando com bezerros recém-nascidos, administraram, ao nascimento e às 12 horas de vida, três diferentes tratamentos, colostro, colostro adicionado de soro bovino ou de soro suíno e estudaram o efeito sobre a transferência de imunidade passiva. Os animais que receberam IgG derivada de soro bovino apresentaram maior concentração de IgG sérica às 24 horas de vida comparado aos que receberam suplementação de colostro ou de colostro com soro suíno. Assim, os autores sugeriram que o soro bovino adicionado ao colostro atua efetivamente sobre a transferência de imunidade passiva em bezerros neonatos apresentando maior eficiência absorptiva.

Avaliando a influência de diferentes fontes de imunoglobulinas para bezerros recém-nascidos, Santoro et al. (2004) verificaram concentrações séricas de IgG, às 24 horas de idade, mais baixas nos animais que consumiram imunoglobulina suplementar derivada de soro ao invés de colostro; no entanto, a eficiência absorptiva aparente de IgG foi similar nos dois tratamentos.

2.6 Transporte e absorção de anticorpos no trato intestinal

No início do período pós-natal, há uma curta fase em que a mucosa intestinal é altamente permeável a macromoléculas, estimado entre 24 e 48 horas para animais dependentes exclusivamente de colostro para adquirir imunidade passiva (Brambell, 1958; Jeffcott, 1972). A

presença de receptores que mediam a transferência de IgG em animais recém-nascidos, originalmente proposta por Brambell et al. (1958), foi confirmada por Rodewald (1973), nas membranas das células epiteliais do jejuno de ratos, que em estudos ultraestruturais demonstraram que a ligação e internalização de IgG ocorrem por um mecanismo de transporte seletivo e exige a presença de receptores específicos, localizados na membrana basal ou intercelular da célula acinar epitelial. As IgG maternas ligam-se ao receptor das células do intestino delgado (pH 6,0) ocorrendo, em seguida, invaginação da membrana celular e formação de vesículas tubulares na base das microvilosidades que transportam as imunoglobulinas através do citoplasma. As IgG incorporadas nas vesículas são transferidas para a região citoplasmática próxima à membrana apical dos enterócitos, migrando para a região basolateral da célula, onde o complexo dissocia-se no pH do meio interno (pH 7,4) (Rodewald, 1973; Rodewald, 1976; Rodewald, 1980), para posterior liberação no lúmen dos alvéolos através de exocitose (Watson, 1980).

Estudos mais recentes sugerem que um receptor similar ao encontrado no epitélio intestinal de roedores, humanos e ovinos pode estar envolvido no processo de transferência de IgG em bovinos (Dickinson et al., 1999; Antohe et al., 2001; Mayer et al., 2002). No entanto, achados importantes abordados por Bessi et al. (2002ab) relataram a não participação ou presença evidente de receptores nas células intestinais de bezerros recém-nascidos.

Staley et al. (1972), estudando a morfologia ultraestrutural do intestino delgado de bezerros neonatos, sugeriram que as células intestinais destes animais são permeáveis a muitas proteínas heterólogas, porém verificaram que a ferritina não é transportada pelas células epiteliais intestinais absorptivas para a circulação. Isto demonstra que o epitélio intestinal dos bezerros recém-nascidos apresenta seletividade na absorção de proteínas com diferentes pesos moleculares.

Bessi et al. (2002ab), comparando os enterócitos de bezerros logo após o nascimento com bezerros aos três dias de vida, observaram uma rápida renovação celular no intestino delgado, uma vez que, aos três dias de idade, o epitélio intestinal encontrava-se diferenciado com células não pinocíticas e grande redução de vacúolos, podendo representar um diferente estágio de maturação que determine o término da transferência de anticorpos maternos. Assim, o fechamento intestinal está relacionado à presença de uma segunda geração de células epiteliais mais maduras.

Em bezerros recém-nascidos, o mecanismo completo de transferência dos anticorpos maternos inclui a internalização das imunoglobulinas do colostro pelas células epiteliais do intestino; transporte através da célula e extrusão dessas macromoléculas, intactas e biologicamente ativas, para espaços intracelulares, sendo levadas para o sistema linfático e, finalmente, ao sistema circulatório para serem absorvidas no epitélio do intestino delgado (Comline et al., 1951; Lecce e Morgan, 1962).

O término da transferência de macromoléculas parece ser uma característica do fim da permeabilidade da célula intestinal de bezerros, cujo mecanismo de fechamento ainda não está determinado. Em pequenos ruminantes ocorre fechamento e imediata involução dos vilos poucos dias após o nascimento, normalmente com o término de absorção das imunoglobulinas (Trahair e Robinson, 1986). Contudo, se a presença de fatores do colostro, como hormônios e peptídeos bioativos, o início da atividade digestiva no animal ou o fornecimento prolongado de colostro afetam essa substituição e o fechamento, ainda está para ser conclusivamente estabelecido. Vários são os fatores que contribuem para a ocorrência da condição de absorção de anticorpos pelos recém-nascidos e muitos deles também estão associados ao processo de “fechamento” dos enterócitos. Os principais fatores envolvidos com o término da permeabilidade são: troca de geração celular, ação de fatores endócrinos, fatores estressores fisiológicos e do ambiente, prematuridade e restrição alimentar, desenvolvimento gástrico e início da ingestão de sólidos (Bush e Staley, 1980; Kruse, 1983; Machado Neto et al., 1997ab). Além disso, método de fornecimento do colostro (Besser et al., 1991); efeito do número de parições sobre a concentração de IgG no colostro (Kruse, 1970; Oyeniya e Hunter, 1978; Lucci, 1989; Machado Neto et al., 1997a); tempo decorrido entre o nascimento e a primeira refeição (Stott et al., 1979a; Pires et al., 1993; Rajala e Castrén, 1995; Morin et al., 1997) e o efeito da concentração de IgG do colostro (Stott et al., 1979a; Besser et al., 1991; Morin et al., 1997), também são determinantes relacionados, direta ou indiretamente, com o processo de absorção.

Jockins et al. (1994), trabalhando com bezerros, observaram que a quantidade de imunoglobulinas absorvida pelo intestino cresce da região cranial para caudal, sendo o íleo a região de maior absorção, fato também verificado em outras espécies (Van Ginneken et al., 2002; Wiese et al., 2003; Bittrich et al., 2004). Uni et al. (1995), trabalhando com frangos, determinaram que, na primeira semana de vida, o número de enterócitos por vilo aumenta, particularmente na região do jejuno e íleo. Entretanto, Pauletti (2003), estudando o

desenvolvimento intestinal de bezerros na primeira semana de vida, verificou redução do volume parcial da mucosa absorptiva do duodeno, jejuno proximal, jejuno distal e íleo dos animais aos sete dias de idade.

Bittrich et al. (2004) investigaram a morfologia do trato intestinal, a proliferação da mucosa epitelial, apoptoses e atividades de enzimas intestinais em bezerros imediatamente após o nascimento fornecendo a primeira refeição até duas horas de vida e a segunda oito horas após a primeira. Os autores verificaram a presença de células epiteliais intestinais vacuoladas somente no íleo dos bezerros ao nascimento (sem ingestão), característica marcante também abordada por Bessi et al. (2002b) que, nos enterócitos de bezerros recém-nascidos, encontraram a presença de células vacuoladas no citoplasma com acúmulo de proteínas, principalmente na porção distal do intestino delgado. Além disso, Bittrich et al. (2004) observaram diferenças na densidade de vilos e nas medidas morfométricas encontradas nas distintas porções do intestino. Entretanto, segundo Macari (1999) a menor contagem de vilos por área não implica em menor capacidade absorptiva por segmento, mas indica que pode ter ocorrido maior desenvolvimento do vilos, através do processo de estimulação direta ou indireta existente na mucosa.

A taxa da proliferação celular está relacionada com fatores associados à superfície dos vilos e a região do trato intestinal, incluindo possíveis perdas celulares e eficiência absorptiva das células produzidas. Quanto mais distante a região intestinal estiver do estômago, maior a taxa proliferativa, sendo no íleo significativamente superior comparada ao duodeno e jejuno (Wiese et al., 2003). Além disso, a taxa de proliferação celular diminui gradativamente da cripta para a região apical dos vilos. As divisões mitóticas nas criptas correspondem a cerca de 55% da proliferação celular no intestino, a região média dos vilos por 32% e a região apical por 8% (Applegate et al., 1994). Por esta razão, são as criptas, primariamente, responsáveis pela reposição e manutenção da integridade das células epiteliais.

Van Ginneken et al. (2002) observaram que, independente do estágio de desenvolvimento dos animais, o volume parcial (Vv) da mucosa intestinal foi menor no duodeno, sugerindo que os vilos do jejuno e do íleo podem ser maiores e mais numerosos, aliado ao fato de possuírem uma parede intestinal mais delgada. Resultados similares foram observados por Pauletti (2003), avaliando o Vv da mucosa entérica de bezerros, verificou que todos os segmentos do intestino dos animais aos sete dias de idade tiveram seu volume reduzido em comparação aos animais aos dois dias, com exceção do jejuno médio, o qual se manteve inalterado e apresentou maior Vv em

relação aos outros segmentos. Esse fato pode estar relacionado à fase transitória do epitélio ligada à primeira geração de células. Bessi et al. (2002a), estudando a morfologia da mucosa intestinal em bezerros recém-nascidos, notaram que grandes mudanças ocorrem em um curto período de tempo pois, ao compararem a forma e tamanho das vilos, observaram que o duodeno, em apenas três dias, passa a apresentar vilos baixos, com superfície aparentemente plana e o jejuno mostra vilos menores e mais uniformes em relação aos animais recém-nascidos.

De acordo com Hedemann et al. (2003) o início da alongação da cripta e aumento do índice mitótico é concomitante com o aumento da quantidade de digesta no trato gastrointestinal, que ocorre a partir do terceiro dia de vida. As mudanças morfológicas do intestino delgado, em resposta à mudanças na dieta, estão relacionadas com trocas das atividades enzimáticas da mucosa, enquanto que o encurtamento do vilo está associado com perda de enterócitos maduros.

O encurtamento dos vilos resulta em redução da área de absorção de nutrientes, porém Attaix e Meslin (1991), estudando alterações na morfologia intestinal de cordeiros em diferentes idades, encontraram uma marcante redução da taxa de migração das células intestinais, entre a primeira e quinta semana de idade após o nascimento, sendo menor no duodeno comparado ao jejuno e íleo. O preciso mecanismo responsável pela involução de vilos intestinais ainda não está bem esclarecido, sendo uma possível alternativa, o término da endocitose de macromoléculas em nível luminal (fechamento).

As respostas do trato gastrointestinal à dieta são críticas para a sobrevivência e desenvolvimento do animal. O colostro apresenta nutrientes essenciais e não-essenciais e a sua ingestão determina a aquisição de imunidade passiva e tem um papel importante frente às mudanças no estado nutricional, metabólico e endócrino de bezerros recém-nascidos (Blum e Hammon, 2000; Blum e Baumrucker, 2002). Além disso, o consumo de colostro por um período prolongado também vem sendo relacionado por vários autores com o desenvolvimento do intestino na fase inicial da vida dos animais (Odle et al., 1996; Xu, 1996; Bühler et al., 1998; Blättler et al., 2001) e com a digestão e capacidade absorptiva do trato gastrointestinal (Zhang et al., 1997; Guilloteau et al., 1997; Hammon e Blum, 1997; Sauter et al., 2004). Acredita-se que ainda há muito para se conhecer sobre o término da permeabilidade das células intestinais, bem como sobre o efeito da presença de imunoglobulinas no lume do intestino durante a fase inicial da vida (Porter, 1979; Bush e Staley, 1980; Nocek et al., 1984; Sheldrake e Husband, 1985).

Blätter et al. (2001) evidenciaram diferenças na morfologia intestinal em bezerros alimentados com quantidades e composições diferentes de colostro. Os autores observaram diferença significativa na superfície epitelial (tamanho e área de vilo, relação vilo:cripta, taxa de proliferação celular) e além disso, verificaram que a ingestão de quantidades elevadas (100 g kg^{-1} de PV) de colostro aumentou a sobrevivência das células epiteliais maduras do duodeno e, a ingestão de menores quantidades (60 g kg^{-1} de PV) reduziu o crescimento epitelial.

Yamauchi e Tarachai (2000), analisando a influência de uma condição de jejum sobre o intestino delgado de frangos através de microscopia óptica, verificaram mudanças na altura dos vilos, área celular e índice mitótico. Além disso, através de microscopia eletrônica, encontraram correlação entre as alterações nas medidas morfométricas e o número de vacúolos intracelulares presentes.

2.7 IGF-I

Em adição aos nutrientes e imunoglobulinas, o colostro também contém outras proteínas, hormônios e fatores de crescimento que possuem atividades biológicas, possivelmente associadas à maturação do trato digestivo e ao desenvolvimento do recém-nascido. A presença de elevadas concentrações de hormônios e fatores de crescimento no colostro e leite regulam o crescimento e desenvolvimento de órgãos do neonato, com maior ênfase ao trato gastrointestinal (Grosvenor et al., 1993; Odle et al., 1996; Shen e Xu, 1996; Blum e Hammon, 1999; MacDonald, 1999). Dentre estes fatores, o IGF-I, um peptídeo bioativo, pode potencializar o crescimento e as funções do trato gastrointestinal (Simmen et al., 1988; Baumrucker e Blum, 1993; Bühler et al., 1998; Howarth, 2003).

O IGF-I é um polipeptídeo de cadeia simples com peso molecular de 5 a 10 kDa que possui uma estrutura homóloga a pró-insulina e age, reconhecidamente, como mediador do crescimento, desenvolvimento e diferenciação celular (LeRoith et al., 1999).

A concentração de IGF-I no leite bovino varia de acordo com o estágio de lactação. No colostro encontra-se, em média, 300 ng mL^{-1} , a cada semana esta concentração cai em média 7 ng mL^{-1} até alcançar um valor de $1\text{-}2 \text{ ng mL}^{-1}$ e, no final na lactação, a concentração de IGF-I na secreção láctea tende a aumentar até 20 ng mL^{-1} (Sejrsen et al., 2003).

Blättler et al. (2001), fornecendo colostro suplementar à bezerros por sete dias, verificaram maior desenvolvimento apenas nos vilos da porção proximal do intestino delgado. No entanto, observaram menores taxas de proliferação celular na mucosa intestinal, indicando que, ainda que haja um aumento no tamanho dos vilos, a densidade celular não é alterada, sugerindo que a ingestão prolongada de colostro pode aumentar a sobrevivência das células epiteliais intestinais e reduzir a taxa de *turnover*, fato possivelmente mediado por fatores do crescimento.

Já Bühler et al. (1998), comparando efeitos do fornecimento de colostro, colostro prolongado, leite reconstituído, IGF-I fornecido oralmente e injeções de hormônio do crescimento, verificaram maior circunferência, área e altura de vilo, principalmente no duodeno, em bezerros recém-nascidos que receberam mais de uma refeição de colostro. O uso de IGF-I fornecido oralmente não apresentou influência sobre a morfologia do intestino e as injeções de rbST reduziram as variáveis relacionadas à morfometria da mucosa intestinal. Os autores concluíram que a suplementação prolongada de colostro tem influência sobre a morfologia da mucosa intestinal, pois houve aumento significativo do tamanho dos vilos intestinais. Similarmente, Roffler et al. (2003) também verificaram que o fornecimento de componentes bioativos (como IGF-I), através de extrato de colostro, mostrou efeito positivo sobre o trato intestinal de bezerros neonatos que apresentou maior tamanho de vilos.

Nos recém-nascidos os fatores de crescimento atuam diretamente nas células intestinais e sua ação depende da interação com receptores específicos de membrana. Morgan et al. (1996), estudando a expressão de receptores de IGF-I na mucosa do intestino delgado de leitões, verificaram um declínio na expressão destes receptores entre o nascimento e a desmama o que pode justificar menor resposta com o tempo e evidenciar um perfeito sincronismo entre receptores e disponibilidade de IGF-I nas dietas lácteas.

Houle et al. (1997), trabalhando com leitões privados de colostro e suplementados oralmente com rhIGF-I ($200 \mu\text{g kg}^{-1}$ por dia) até os 7 e 14 dias de idade, verificaram que a administração oral de IGF-I, mesmo em doses suprafisiológicas, não influenciou as concentrações circulantes dos animais. Entretanto, os leitões suplementados apresentaram aumento da atividade das dissacaridases intestinais e aumento de 40 a 60% na altura dos vilos na porção do íleo aos 14 dias de idade, sugerindo um efeito na maturação do epitélio absorptivo.

Burrin et al. (1996), trabalhando com suínos consumindo rhIGF-I ($3500 \mu\text{g kg}^{-1}$ de PV) por quatro dias, verificaram aumento significativo da altura dos vilos do jejuno e íleo. No

entanto, não foram encontradas diferenças quanto a profundidade de cripta e espessura da camada muscular. Já Roffler et al. (2003), suplementando bezerros com hIGF-I em quantidades supra-fisiológicas, não observaram diferenças histomorfológicas nas células das criptas em relação aos animais controle (sem hIGF-I). Burrin et al. (1995) observaram que leitões consumindo colostro até 24 horas de vida apresentaram maior taxa de síntese protéica no jejuno em comparação aos animais consumindo leite.

Hadorn et al. (1997) encontraram maiores concentrações séricas de IGF-I, albumina, insulina e glucose em bezerros que ingeriram colostro nas primeiras 24 horas de idade comparados com animais que ingeriram colostro entre 24 e 48 horas de idade, indicando que a ingestão nas primeiras 24 horas de vida pode estimular processos anabólicos. Hammon e Blum (1997) e Egli e Blum (1998) verificaram aumento na concentração sérica de IGF-I de bezerros aleitados com colostro *ad libitum* até os quatro dias de vida. Já Pauletti (2003) não encontrou diferença significativa nos níveis séricos de IGF-I de bezerros que ingeriram colostro com concentrações de IGF-I variando de 200 a 3000 ng mL⁻¹ durante a primeira semana de vida, sugerindo que o IGF-I fornecido não foi absorvido pelos enterócitos, sendo seu efeito principal o de mediador do desenvolvimento local.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de coleta e de processamento das amostras

A fase experimental de campo foi realizada na Fazenda Agrindus S.A., município de Descalvado, Estado de São Paulo e as análises laboratoriais foram executadas nos laboratórios de Anatomia e Fisiologia Animal (LAFA), Histologia Animal, Nutrição e Crescimento Animal (LNCA) e Bromatologia do Departamento de Zootecnia da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiróz”, Universidade de São Paulo -ESALQ/USP. As avaliações ultraestruturais foram realizadas no Núcleo de Apoio à Pesquisa à Microscopia Eletrônica Aplicada à Pesquisa Agropecuária (NAP/MEPA, ESALQ/USP) com a colaboração do Prof. Elliot Watanabe Kitajima. Também foram realizadas análises nos laboratórios Labtron/NUTRON, Itatiba/SP e Hermes Pardini, Campinas/SP.

3.2 Liofilização do colostro

A coleta de colostro foi iniciada seis meses antes do início do experimento. O colostro bovino foi coletado somente de vacas multíparas e armazenado a 4°C por no máximo cinco dias. Antes do congelamento, o colostro foi centrifugado duas vezes a 12000 g por 10 minutos a 4°C para a retirada parcial da fração lipídica. Os *pools* de colostro parcialmente desnatados foram homogeneizados, acondicionados em formas de alumínio e armazenados a -20°C. O colostro congelado foi encaminhado ao ITAL (Instituto Tecnológico de Alimentos, Campinas/SP) para o processo de liofilização. Após liofilizado, o material foi homogeneizado, acondicionado e armazenado a -20°C. Aproximadamente 50 g do colostro liofilizado foi utilizado para análise bromatológica e quantificação de IgG e IGF-I.

3.3 Animais e tratamentos

Foram utilizados 82 bezerros machos da raça Holandesa distribuídos ao acaso. Destes, cinco foram abatidos imediatamente após o nascimento (zero hora) e considerados grupo controle. Os demais foram distribuídos em dois grupos considerando o valor de IgG sérico às 10 horas de vida, inferior ou superior à 12 mg mL^{-1} . Os animais de cada grupo receberam aleatoriamente um dos tratamentos de acordo com a segunda refeição administrada às 12 horas de vida: colostro baixo (concentração de IgG inferior à 30 mg mL^{-1} de IgG), colostro alto (concentração de IgG superior à 100 mg mL^{-1} de IgG) e colostro enriquecido (colostro adicionado de colostro liofilizado com concentração de IgG superior à 120 mg mL^{-1}). Os bezerros foram abatidos entre 24 e 36 horas ou às 72 horas de vida. Além disso, 10 animais foram abatidos às 10 horas de vida, sem ingestão da segunda refeição (cinco animais com IgG sérico inicial até 12 mg mL^{-1} e cinco com IgG sérico inicial acima de 12 mg mL^{-1}). Assim o experimento contou com 6 ± 1 bezerros dentro de cada tratamento (segunda refeição) para cada data de abate.

3.4 Manejo dos animais

Imediatamente após o nascimento os animais foram separados das mães, pesados, identificados e receberam a primeira refeição de colostro referente a 5% do peso vivo (PV) com concentração variável de IgG. Os animais que apresentaram dificuldade em mamar receberam o colostro através de sonda esofagiana. Os bezerros foram alocados em baias coletivas. Às dez horas de vida, coletaram-se amostras sanguíneas dos animais para quantificar a aquisição inicial de IgG e assim foram definidos os grupos que receberam a segunda refeição (5% do PV). Após a ingestão desta refeição, os animais passaram a receber dois litros de leite integral, duas vezes ao dia.

A segunda refeição fornecida aos bezerros, tratamento, foi constituída de colostro *in natura* ou colostro *in natura* adicionado do colostro liofilizado. A determinação da concentração de imunoglobulinas do colostro foi estimada pela densidade obtida com o emprego de um hidrômetro específico (Fleenor e Stott, 1980). O colostro liofilizado era adicionado ao colostro até atingir a concentração desejada, maior que 120 mg mL^{-1} . As temperaturas dos colostros foram

registradas durante o procedimento para ajustes na concentração final de imunoglobulinas de acordo com Mechor et al. (1991).

3.5 Coleta das amostras

3.5.1 Sangue

Às 0, 10-12, 24, 36, 48 e 72 horas de vida foram coletadas amostras de sangue dos animais para análises de IgG e PT. As amostras foram retiradas da veia jugular (aproximadamente 10 mL), centrifugadas e o soro resultante transferido para três frascos devidamente identificados e mantidos à -20°C. Além disso, uma amostra de soro de cada bezerro, idade de abate, foi destinada para análise de IGF-I.

3.5.2 Tecido intestinal

Nas datas de abate (0, 10, 24-36 e 72 horas), os bezerros eram pesados, anestesiados e exsangüinados. As cavidades abdominal e torácica eram imediatamente abertas ventralmente desde a região inguinal até a xifóide. Retirava-se o trato gastrintestinal e, por dissecação, separava-se o mesentério que estava aderido ao intestino. Amostras dos segmentos do duodeno, jejuno proximal, jejuno médio, jejuno distal e íleo foram coletadas.

3.5.3 Refeições lácteas

Amostras dos colostros (primeira e segunda refeição) foram coletadas e transferidas para três frascos devidamente identificados e mantidos à -20°C para análises de IgG, IGF-I e bromatológica.

3.6 Análises laboratoriais

3.6.1 Imunoglobulina G – IgG

A fração de IgG sérica dos bezerros foi quantificada através de dois métodos, “Zinc Sulfate Turbidity” (ZST) e Imunodifusão Radial (IDR).

Para estimar a aquisição inicial dos bezerros às 10 horas de vida foi utilizado o método de ZST, descrito por McEwan et al. (1970), que se baseia na leitura da turvação obtida da reação das imunoglobulinas com o sulfato de zinco. Amostras de 100 μ L de soro foram misturadas com 6 mL de sulfato de zinco 0,02% ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) em tubo de ensaio e após 60 minutos de incubação à 22°C, procedeu-se a leitura em espectrofotômetro com comprimento de onda ajustado para 625 nm.

Para executar a metodologia da IDR, utilizou-se a técnica descrita por Mancini et al. (1965). O método baseia-se na leitura do diâmetro do anel de precipitação formado pela reação do anticorpo da amostra com o anti-IgG em meio de ágar, comparando-se com diâmetros de padrões previamente estabelecidos. Para a construção da curva padrão foi utilizado IgG e anti-IgG bovino (Sigma Chemical Company- USA). O ágar empregado foi preparado com concentração de 1,2% de agarose em tampão TRIS-HCl (pH 8,0) com anti-IgG (Sigma Chemical Company- USA). Além das placas para as curvas padrão, todas as placas das amostras tiveram duas concentrações padrão para avaliar variações entre placas.

A amostra de soro era diluída (1:10) em TRIS-HCl (pH 8,0) à 5°C. Após homogeneização, uma alíquota de 5 μ L foi aplicada, em duplicata, nas placas as quais foram incubadas em câmara úmida à 5°C por 24 horas. As leituras dos diâmetros das reações de precipitação foram medidas em milímetros. As amostras cujas repetições variaram acima de 5% foram novamente analisadas.

Para a quantificação da fração de IgG das refeições e do colostro liofilizado também foi utilizado o método de IDR descrito por Mancini et al. (1965) modificado por Besser et al. (1985). As amostras foram diluídas 1:100 em TRIS-HCl (pH 8,0). Nas Tabelas 3 e 4 encontram-se os valores médios totais de IgG nas refeições e no colostro liofilizado, respectivamente.

As equações obtidas seguiam o modelo abaixo:

$$Y = aX + b$$

Em que:

Y = log concentração de IgG em mg mL^{-1} ;

X = diâmetro da reação em mm.

3.6.2 Proteína total sérica - PT

A quantificação de PT sérica foi determinada pelo método de biureto, segundo Reinhold (1953). Misturou-se 20 μL da amostra de soro com 980 μL de NaOH (0,75N) e 200 μL de biureto reativo. Após 20 minutos, procedeu-se a leitura da absorvância em espectrofotômetro UV-1601 PC SHIMADZU com comprimento de onda ajustado em 545 nm. Para cada bateria de amostras estabeleceu-se uma curva padrão que relacionava concentrações conhecidas de proteína padrão (albumina bovina-Sigma Chemical Company) a valores de absorvância obtidos das amostras. As amostras foram analisadas em duplicata, sendo o valor médio utilizado para se obter as concentrações de PT em $\text{g } 100\text{mL}^{-1}$ de soro.

3.6.3 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I - IGF-I

Além das amostras das refeições e do colostro liofilizado, as amostras de soro coletadas no abate de cada animal também foram analisadas para quantificação de IGF-I pelo Laboratório Hermes Pardini, Campinas/SP. As amostras foram quantificadas por ensaio imunoradiométrico pós-extração utilizando-se o kit DSL-5600 (Diagnostic Systems Laboratories, Inc.). As amostras foram analisadas em duplicata, sendo o valor médio utilizado para se obter as concentrações de IGF-I em ng mL^{-1} . Nas Tabelas 3 e 4 encontram-se os valores médios total de IGF-I nas refeições e no colostro liofilizado, respectivamente.

3.6.4 Análise bromatológica das refeições

As amostras das refeições foram analisadas para quantificação de matéria seca e proteína bruta de acordo com A.O.A.C. (2000) pelo laboratório Labtron/NUTRON -Itatiba/SP, e em uma amostragem do colostro liofilizado foi quantificado a porcentagem de matéria seca, proteína bruta e extrato etéreo analisadas no laboratório de Bromatologia -ESALQ/USP.

Na Tabela 2 encontram-se os valores médios de sólidos totais e proteína bruta fornecidos nas duas primeiras refeições (somatório) e na Tabela 3 encontram-se os valores médios da composição bromatológica do colostro liofilizado.

Tabela 2 - Valores médios de sólidos totais (ST), proteína bruta (PB), IGF-I e IgG referente as duas primeiras refeições

Composição	Tratamentos			
	Sem 2ª refeição ³	Baixo	Alto	Enriquecido
	Média (R1+R2) ¹ ±DP ²			
ST (mg)	433,41±46,90	837,50±33,16	1198,92±29,66	1853,72±246,90
PB (g)	84,80±11,87	144,73±7,66	225,37±6,85	447,00±10,84
IGF-I (µg)	260,80±105,49	442,10±60,90	948,85±356,38	1990,16±286,13
IgG (mg)	76745±1961	131677±11993	216912±10727	423458±16961

¹Valores encontrados no somatório dos componentes fornecidos nas duas primeiras refeições (nascimento e tratamento). ²Desvio padrão da média. ³Valores médios dos componentes ingeridos apenas na primeira refeição.

Tabela 3 - Composição do colostro liofilizado

Composição	Média
Matéria Seca (%)	95,49
Proteína Bruta (%)	68,52
Extrato Etéreo (%)	15,00
Matéria Mineral (%)	3,69
IgG (mg g ⁻¹)	560
IGF-I (ng g ⁻¹)	972

3.6.5 Microscopia óptica

Após coletados, os segmentos intestinais foram abertos transversalmente, estendidos em placas de Petri e fixados com alfinetes nas extremidades. Em seguida, sua superfície foi lavada com solução salina 0,9% e pré-fixada por imersão em solução de Karnovsky (2,5% glutaraldeído, cacodilato de sódio 0,1M e CaCl_2 0,001M) por duas horas. Transcorrida esta etapa, os segmentos intestinais foram reduzidos à secções de 3X3 mm.

Em seguida, as amostras passaram por três lavagens de 20 minutos com tampão cacodilato de sódio 0,1M pH 7,2 à 5°C e, posteriormente, sofreram um processo de desidratação lenta em concentrações crescentes de etanol, 30 até 100%, por dez minutos em cada concentração, finalizando em três lavagens de dez minutos em etanol 100%. Seguiu-se à pré-infiltração com solução de resina glicol metacrilato (JB4, Polyscience Inc.) diluída em etanol 100% na proporção de 1:1, na qual o tecido permaneceu por quatro horas. Na etapa seguinte os tecidos foram embebidos em resina pura e armazenados à 5°C até serem emblocados por inclusão em histomoldes com resina plástica (glicol metacrilato) em condições de anaerobiose (Bühler et al., 1998).

Os blocos, contendo os tecidos incluídos, foram seccionados por navalha de aço em um micrótomo Leica RM 2045, fez-se a microtomia semi-seriada (espaçamento de 125 μm) e obtiveram-se secções histológicas de 5 μm de espessura. Os cortes foram estirados em água, colocados em lâminas, corados com hematoxilina-eosina (HE) e montados entre lâmina e lamínula com resina sintética. As lâminas foram montadas com no mínimo 15 cortes não-sequenciais (Bühler et al., 1998).

3.6.5.1 Análises morfométricas: morfometria quantitativa e estereologia

As avaliações das variáveis morfométricas altura do vilão, profundidade de cripta, perímetro do vilão e espessura da túnica muscular foram realizadas através do sistema analisador de imagens (Axio-Zeiss) acoplado a um microscópio Zeiss. Cento e vinte leituras/lâmina foram efetuadas (30 leituras/variável) em aumento constante de 5 X.

A altura do vilão foi medida a partir da região basal do vilão, coincidente com a porção superior das criptas, até seu ápice. O mesmo procedimento foi efetuado para as determinações do perímetro. As criptas foram medidas da sua base até o início do vilão adjacente (região de transição cripta/vilão).

Para complementar as informações obtidas com as análises morfométricas de medidas lineares utilizou-se a estereologia, técnica morfométrica usada para quantificar estruturas tridimensionais (Baddeley et al., 1986).

A análise estereológica para determinação do volume parcial (V_v) ocupado pela mucosa dos segmentos intestinais foi realizada por meio de sobreposição de um sistema teste do tipo ciclóide às imagens dos cortes. Esse sistema teste (Figura 1) conta com 35 arcos ciclóides e 70 pontos teste, fotocopiado em uma transparência e sobreposto sobre cada campo da secção selecionada. O volume parcial da mucosa foi expresso como porcentagem e obtido pelo número de pontos teste que caíam sobre a superfície da mucosa e o número total de pontos na grade. O volume parcial foi obtido pela equação mostrada a seguir:

$$V_v = \frac{\sum P(\text{MUCOSA})}{\sum P(\text{VOLUME REFERENCIAL})} \cdot 100$$

Em que:

$\sum P(\text{mucosa})$ = número de pontos do sistema teste caindo sobre a camada específica;

$\sum P(\text{volume referencial})$ = número total de pontos na grade.

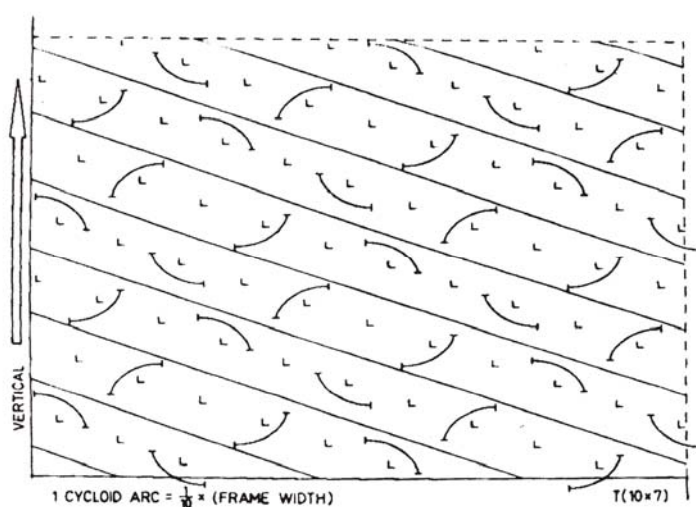


Figura 1 - Representação esquemática do sistema teste de arcos ciclóides

Fonte: Baddeley et al. (1986)

3.6.6 Microscopia eletrônica

Os segmentos intestinais coletados foram abertos transversalmente, estendidos em placas de Petri com parafina sob papel filtro e fixados com alfinetes nas extremidades. Em seguida, lavados com solução salina 0,9% à 5°C e pré-fixados por imersão em solução de Karnovsky (2,5% glutaraldeído, cacodilato de sódio 0,1M e CaCl₂ 0,001M) por duas horas. Transcorrida esta etapa, os segmentos intestinais passaram por um processo de pós-fixação em solução de tetróxido de ósmio 1% em cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2 por duas horas. Depois de fixados, as secções intestinais foram lavadas em tampão cacodilato de sódio 0,1 M pH 7,2 e desidratadas em soluções de concentrações crescentes (30 até 100%) de acetona, por dez minutos em cada concentração, finalizando em três lavagens de dez minutos em acetona 100%.

3.6.6.1 Microscopia eletrônica de varredura - MEV

Após desidratados, um aparelho de secagem de ponto crítico (Balzers CPD-030) foi usado para secar as secções intestinais. Este procedimento torna-se necessário com este tipo de material para, após secagem ao CO₂ e alcançar o ponto crítico, cada espécime encontrar o equilíbrio e materiais estranhos não se depositarem no tecido (Anderson, 1951).

Para processar os tecidos, as secções eram fixadas em stubs de alumínio e metalizadas com ouro paládio (40 nm) à vácuo usando o equipamento Balzers MED-010 (Ferrer et al., 1995). As amostras foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura Zeiss DSM-940A, usando voltagem de 5kV e um intervalo de aumento de 90 até 200 X, e as imagens captadas foram selecionadas e fotografadas.

Através deste procedimento foram feitas análises morfológicas das amostras levando-se em consideração o tratamento e o período de cada tecido (data de abate).

Além desta avaliação, foram feitas mensurações do número de vilos em 20 campos distintos por amostra. Após verificar a escala da fotografia, foi mensurado o campo de observação, feita a determinação da área e calculada a densidade de vilos por área (vilos/cm²).

3.6.6.2 Microscopia eletrônica de transmissão - MET

Os segmentos, já fixados e desidratados em soluções crescentes de acetona, foram incluídos em resina Spurr para confecção dos blocos. Em seguida foram seccionados em ultramicrotomo (Reicher, Ultracut E) com navalha de vidro ou de diamante. Com o uso de telas de cobre, as secções prateadas foram contrastadas utilizando-se acetato de uranila e citrato de chumbo (Reinholds, 1953).

As amostras destinadas à imunocitoquímica, após desidratadas em soluções de concentrações crescentes de etanol, foram embebidas em resina RL White e, através do uso do ultramicrotomo, secções douradas foram coletadas em telas de níquel e incubadas sucessivamente em albumina bovina (BSA) por 30 minutos, anti-IgG bovino (Sigma Chemical Co.) diluído 1:1000 em PBS por 10 horas à 4°C, e proteína A conjugada a ouro (Sigma Chemical Co.) em partículas de 20 nm na diluição de 1:50 em PBS por uma hora. A contrastação também foi feita em acetato de uranila e citrato de chumbo. Todas as telas confeccionadas foram observadas ao microscópio Zeiss EM900, usando voltagem de 50kV e um intervalo de aumento de 3000 até 12000X. As imagens captadas foram selecionadas, fotografadas e fez-se medição de altura de microvilos.

3.7 Análise Estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado. As flutuações das variáveis séricas foram analisadas como medidas repetidas, no mesmo bezerro, no tempo. O modelo de análise incluiu os efeitos fixos de tratamento, período e interação tratamento e período, e efeitos aleatórios de bezerro dentro de tratamento e resíduo.

Para execução das análises estatísticas das variáveis séricas foi utilizado o procedimento PROC MIXED do programa SAS (1991), utilizando no modelo a estimativa de covariância tipo AR(I). Para avaliação de diferenças entre médias foram efetuados contrastes entre pares de médias utilizando-se o método de Tukey. Para todas as análises utilizou-se o nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

Análises de correlação de Pearson, utilizando o procedimento PROC CORR do programa SAS (1991), foram realizadas para verificar associações de interesse entre as variáveis séricas.

Para a análise das variáveis morfométricas, considerou-se um arranjo fatorial 3x3+1, tendo como efeitos principais a massa total de IGF-I ingerida nas primeiras refeições e as três idades de abate; 10, 24-36 e 72 horas; além do grupo considerado controle, ao nascimento. Através de contrastes ortogonais foram testados os efeitos de tratamento (massa de IGF-I ingerida), datas de abate (10, 24-36 e 72 horas) e segmentos, bem como um contraste comparando-os com o grupo controle (nascimento) utilizando-se o método de Tukey. Para todas as análises utilizou-se o nível de significância de 5% ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Variáveis séricas

4.1.1 Imunoglobulina G - IgG

Considerando o nível de IgG sérica às 12 horas de vida e o tratamento fornecido, a Tabela 4 mostra os valores médios da concentração sérica de IgG encontrados nos animais durante a fase experimental. As Figuras 2 e 3 ilustram o comportamento desta variável em função dos tratamentos fornecidos.

As médias de IgG sérica não apresentaram diferença entre os tratamentos ($P=0,70$). Verificou-se efeito significativo de período ($P<0,0001$) e da interação entre período, tratamento e valores de IgG sérica ($P<0,0001$).

Os animais com baixa aquisição inicial que receberam colostro adicionado de colostro liofilizado apresentaram valores médios de IgG sérica, a partir das 24 horas, superiores ($P<0,05$) aos encontrados às 12 horas de vida. Entretanto, esta situação não foi evidenciada nos animais que receberam o mesmo tratamento e apresentavam alta aquisição inicial, pois os valores séricos de IgG encontrados às 72 horas de vida não diferiram dos encontrados às 12 horas.

Nos bezerros com baixa aquisição inicial que receberam colostro de baixa qualidade imunológica, os valores médios de IgG sérica apresentaram uma elevação significativa entre 12 e 72 horas ($P=0,03$), enquanto os de alta aquisição inicial não a apresentaram ($P=0,62$), sugerindo que o fornecimento de colostro de baixa qualidade imunológica pode determinar uma ação compensatória sobre a flutuação sérica de IgG em animais que apresentaram baixa aquisição inicial de anticorpos. Este comportamento de recuperação da variável IgG sérica também foi verificado por Pauletti (1999), avaliando animais com níveis iniciais baixos desta proteína. Sugere-se, que a utilização de colostro como segunda refeição pode atuar de forma positiva nos animais que apresentam baixa aquisição inicial de IgG, pois a capacidade dos enterócitos em internalizar anticorpos é limitada e, assim, a baixa disponibilidade de imunoglobulinas na primeira refeição permite que as células intestinais mantenham por mais tempo a capacidade de absorção destas macromoléculas.

Tabela 4 - Concentrações séricas de IgG (mg mL^{-1}) dos bezerros nas primeiras 72 horas de vida

		Períodos Experimentais (horas)					P ³				
		12	24	36	48	72	Md ⁵	Trat ¹	PE ⁶	Trat x PE ⁶ xIgG ²	
IgG ²	Trat ¹	IgG sérica média (mg mL^{-1}) \pm DP ⁴									
baixo	Baixo	8,69 \pm 1,08 ^{Aa}	11,27 \pm 1,29 ^{Ba}	13,56 \pm 1,78 ^{Ba}	11,24 \pm 1,61 ^{ABa}	11,91 \pm 1,29 ^{Ba}	8,48 \pm 0,75	0,70	<0,0001	<0,0001	
alto	Baixo	17,45 \pm 0,96 ^{Ab}	17,76 \pm 1,06 ^{Ab}	18,39 \pm 1,15 ^{Abf}	16,93 \pm 1,46 ^{Ab}	16,74 \pm 1,28 ^{Ab}	14,40 \pm 0,62				
baixo	Alto	7,84 \pm 1,24 ^{ACa}	12,46 \pm 1,39 ^{Ba}	12,68 \pm 1,63 ^{Ba}	11,42 \pm 2,50 ^{BCac}	10,71 \pm 2,07 ^{ABa}	8,82 \pm 0,99				
alto	Alto	17,59 \pm 0,96 ^{Ab}	15,78 \pm 1,15 ^{ACbc}	16,53 \pm 1,21 ^{ADdef}	14,64 \pm 1,46 ^{BCDab}	13,88 \pm 1,36 ^{BCDab}	13,22 \pm 0,64				
baixo	Enriquecido	7,11 \pm 1,18 ^{Aa}	14,17 \pm 1,39 ^{BCac}	14,14 \pm 1,39 ^{Cac}	11,83 \pm 2,51 ^{Cac}	12,95 \pm 1,79 ^{Ca}	9,96 \pm 3,53				
alto	Enriquecido	15,31 \pm 1,52 ^{Ab}	18,53 \pm 1,66 ^{Bb}	18,41 \pm 1,21 ^{Bbd}	18,14 \pm 3,49 ^{ABbe}	15,16 \pm 2,09 ^{ABab}	12,14 \pm 2,68				

¹Tratamento: Baixo- colostro de baixa qualidade imunológica (<49,71 mg mL^{-1}); Alto- colostro de alta qualidade imunológica (>49,71 mg mL^{-1}); Enriquecido- colostro adicionado de colostro liofilizado (>120 mg mL^{-1}).

²IgG sérico inicial às 10 horas de vida: baixo:<12 mg mL^{-1} ; alto:>12 mg mL^{-1} .

³P: probabilidade, ⁴DP: desvio padrão, ⁵Md: média, ⁶PE: período experimental.

^{abcdef}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

^{ABCD}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

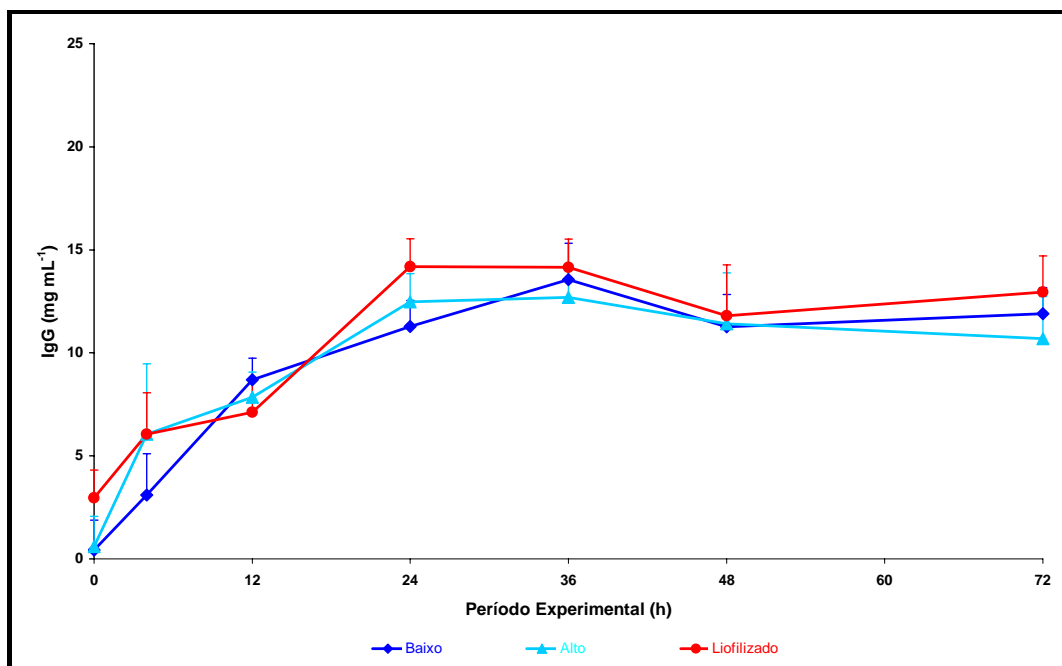


Figura 2 - Flutuação da concentração média de IgG sérica (mg mL^{-1}) nos grupos com baixa aquisição inicial

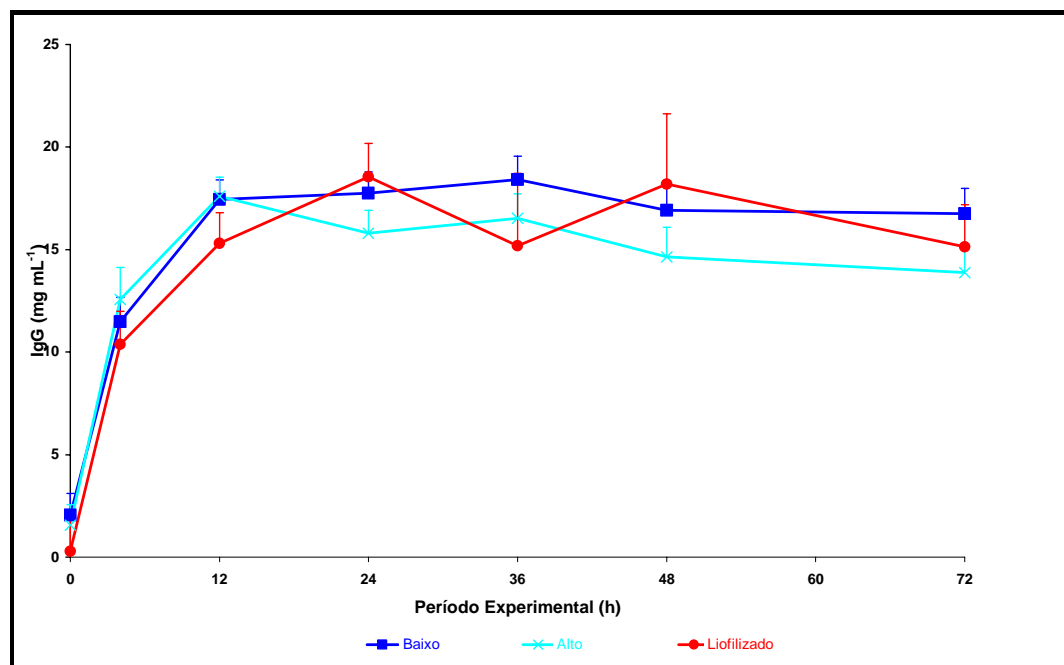


Figura 3 - Flutuação da concentração média de IgG sérica (mg mL^{-1}) nos grupos com alta aquisição inicial

Reagrupando os animais somente em função da concentração de imunoglobulinas presente no colostro fornecido às 12 horas de vida (grupo 1-colostro baixo ($<49,71 \text{ mg mL}^{-1}$), 2-colostro alto ($>49,71 \text{ mg mL}^{-1}$) e 3- colostro adicionado de colostro liofilizado ($> 120 \text{ mg mL}^{-1}$)) foi verificada diferença significativa apenas entre os períodos ($P<0,0001$), não tendo sido encontrada diferença entre os grupos ($P=0,16$), ou na interação entre tratamento e período ($P=0,67$). Na Tabela 5 são apresentados os valores médios de IgG séricas (mg mL^{-1}) encontrados nos diferentes grupos.

Jaster (2005) não encontrou diferença significativa na concentração sérica de IgG entre os períodos 12, 24 e 48 horas, fornecendo colostro de baixa qualidade imunológica (31 mg mL^{-1}) ao nascimento e às 12 horas de vida, sugerindo que uma segunda refeição de baixa qualidade não proporciona proteção de IgG adequada (valor máximo de $10,91 \text{ mg mL}^{-1}$). Por outro lado, os bezerros alimentados com duas refeições de colostro de alta concentração de IgG (84 mg mL^{-1}) apresentaram maiores concentrações de IgG sérica alcançando um valor de $45,83 \text{ mg mL}^{-1}$.

A importância do fornecimento de colostro nas primeiras horas de vida já foi amplamente constatada e reconhecida por vários autores (Brambell, 1958; Stott et al., 1979a; Gay, 1994; Rajala e Castrén, 1995; Morin et al., 1997), com recomendações de manejo cada vez mais rigorosas em relação ao tempo decorrido entre o nascimento e a primeira refeição e a concentração de IgG desta.

O fornecimento de colostro suplementar, considerado de grande valia (Besser et al., 1991; Gay, 1994; Morin et al., 1997; Machado Neto et al., 2004), é um procedimento que pode ser mais significativo na correção de manejos deficientes. A presença de elevada concentração de IgG no trato intestinal, mesmo após o período absorptivo, pode ter uma importante ação local de proteção e de relevante significado nutricional já apontado por diversos autores (Schmidt, 1971; Brignole e Stott, 1980; Nocek et al., 1984; Machado Neto et al., 1989; Morin et al., 1997; Kühne et al., 2000).

De acordo com os dados encontrados neste trabalho, o uso de colostro liofilizado para aumentar a disponibilidade de IgG em animais que já garantiram imunidade inicial nas primeiras horas após o nascimento não apresentou efeito significativo sobre a flutuação sérica de IgG, indicando que o período inicial de absorção é determinante para o comportamento da mesma na fase inicial da vida.

Tabela 5 - Concentrações séricas de IgG (mg mL^{-1}) dos bezerros nas primeiras 72 horas de vida em função dos tratamentos

Trat ¹	Períodos Experimentais (horas)					P ²			
	12	24	36	48	72	Média Trat ¹	Período	Trat ¹ xPeríodo	
	IgG sérica média (mg mL^{-1}) \pm DP ³								
1-Baixo	13,69 \pm 0,86	14,15 \pm 0,99	15,42 \pm 1,14	13,26 \pm 1,22	13,19 \pm 1,0 ^a	11,19	0,16	<0,0001	0,67
2-Alto	13,50 \pm 0,98	15,74 \pm 1,12	16,61 \pm 1,15	15,43 \pm 1,57	15,45 \pm 1,29	12,81			
3-Enriquecido	10,59 \pm 1,15	15,31 \pm 1,25	13,64 \pm 1,72	14,06 \pm 2,33	12,97 \pm 1,72	10,76			
Média	12,59 \pm 0,58 ^a	15,07 \pm 0,65 ^b	15,22 \pm 0,79 ^b	14,25 \pm 1,02 ^{ab}	13,87 \pm 0,80 ^{ab}				

¹Tratamento: Baixo- colostro de baixa qualidade imunológica (<49,71 mg mL^{-1}); Alto- colostro de alta qualidade imunológica (>49,71 mg mL^{-1}); Enriquecido- colostro adicionado de colostro liofilizado (>120 mg mL^{-1}).

²P: probabilidade. ³DP: desvio padrão.

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A eficiência aparente de absorção (EAA) é um importante valor expresso em porcentagem, que depende da massa de IgG ingerida (g), do tempo decorrido entre o nascimento e a primeira mamada e da % ingerida em relação ao peso vivo do bezerro (Stott et al., 1979a).

Na Figura 4 estão apresentados os valores de EAA encontrados nos animais às 24 horas de vida em função da aquisição inicial e do tratamento. Não foi observado efeito entre os tratamentos ($P=0,41$) e entre os níveis de IgG sérica às 12 horas de vida ($P=0,26$), porém foi significativa a interação entre tratamento e nível de IgG sérica inicial ($P=0,002$). Os animais com baixa IgG sérica inicial que receberam colostro de baixa qualidade imunológica apresentaram o valor médio de EAA (36,75%) 56,65% superior ($P=0,002$) comparado com aqueles que apresentaram alta aquisição inicial que receberam o mesmo tratamento (20,82%). Porém, avaliando a EAA dos animais que receberam colostro de alta qualidade imunológica, os que apresentavam alta aquisição inicial de IgG sérica mostraram EAA de 31,12%, valor 56,22% mais elevado em relação aos com baixa aquisição inicial, EAA de 19,92% ($P=0,04$). Assim, os dados indicam que bezerros com baixa aquisição inicial que receberam uma segunda refeição às 12 horas de vida com quantidade inferior de IgG apresentaram maior eficiência de absorção de anticorpos. Em contraste, nos animais que apresentaram alta imunidade inicial os valores de EAA às 24 horas encontrados nos tratamentos baixo (concentração média de $23,93 \text{ mg mL}^{-1}$), alto (concentração média de $94,11 \text{ mg mL}^{-1}$) ou liofilizado (concentração média de $158,37 \text{ mg mL}^{-1}$) foram $20,82 \pm 2,79$; $31,12 \pm 3,04$ e $20,95 \pm 4,11$, respectivamente.

O valor de EAA depende basicamente da concentração de imunoglobulinas disponíveis e da capacidade de absorção dos enterócitos. Como esta capacidade apresenta limites para o processo de internalização, elevadas concentrações de imunoglobulinas no colostro podem não refletir a verdadeira capacidade absorptiva. A média de eficiência de absorção de IgG do colostro encontrada no presente trabalho está dentro da variação de valores encontrada por Lopez et al. (1988) (2 a 46%); Quigley e Drewry (1998) (30 a 35%) e Arthington et al. (2000) (25 a 38%). Entretanto, Machado Neto et al. (2001) mostraram valores de EAA superiores (58 a 62%), pois avaliaram a absorção específica relacionada a uma única refeição fornecida nas primeiras 4 horas de vida, e encontraram resultados que refletem a atividade máxima de absorção de IgG.

A massa de IgG recomendada para evitar a falha de transferência de imunidade passiva tem sido 100 g nas primeiras horas de vida (Gay, 1994). Entretanto, de acordo com Quigley e Drewry (1998), que consideram que a eficiência aparente de absorção de bezerros consumindo

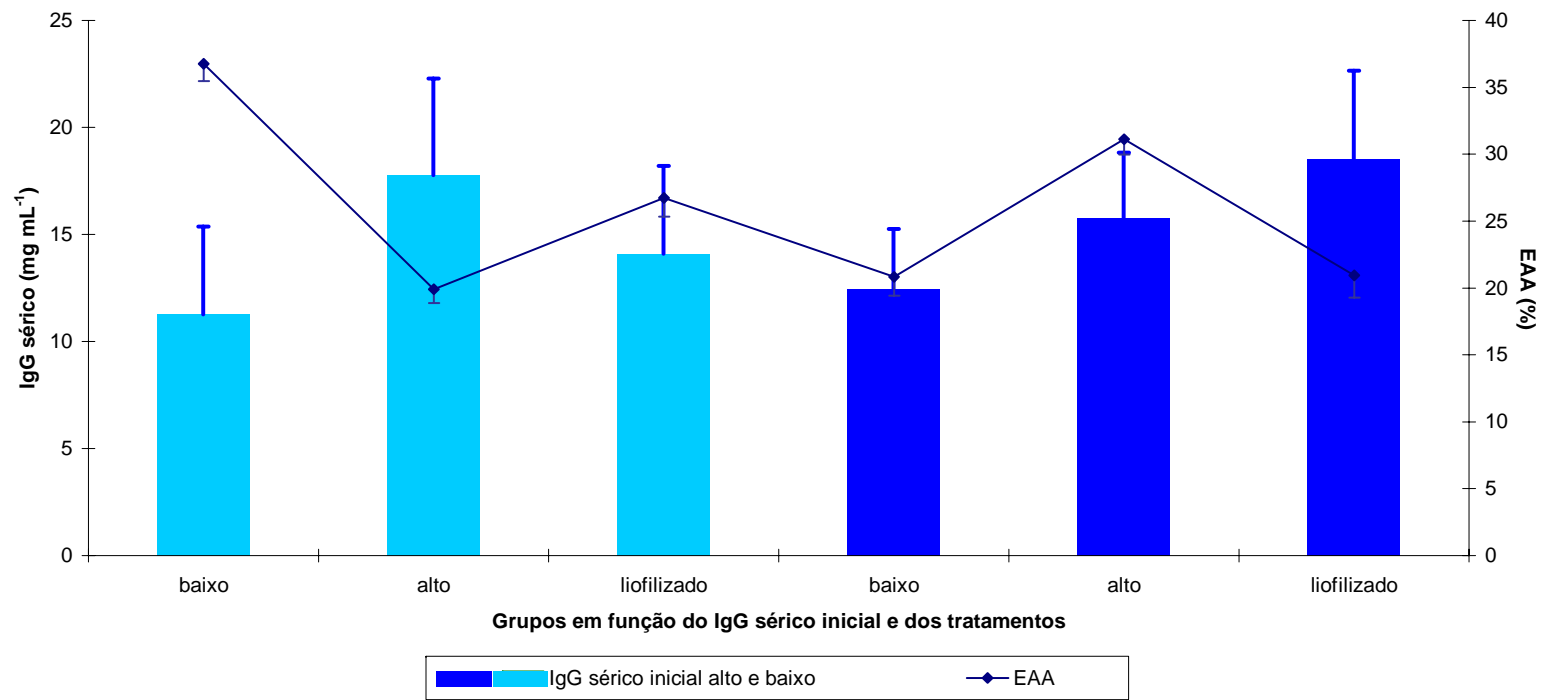


Figura 4 - Concentração sérica de IgG (mg mL⁻¹) e eficiência aparente de absorção (EAA %) às 24 horas de idade

colostro varia entre 20 a 35%, a ingestão de 100 g pode não ser suficiente para evitar falhas de transferência. Assim, Quigley et al. (2002), considerando as informações sobre EAA de imunoglobulinas em bezerros recém-nascidos, sugerem que a recomendação mais adequada seria o consumo de 150-180 g de IgG nas primeiras 24 horas de vida.

A maior concentração de sólidos totais pode limitar o processo de incorporação de anticorpos, restringindo ou utilizando mais rapidamente o mecanismo de internalização destas macroproteínas e conseqüentemente precipitando o “fechamento” dos enterócitos. Este fenômeno ocorre após o plasmalema das células do epitélio intestinal fazer contato com os sólidos totais ingeridos, estimulando, de forma inespecífica, o encerramento da capacidade finita de pinocitose das células (Lecce e Broughton, 1973; Mee et al., 1996; Morin et al., 1997). Na mesma linha de investigação, Bush e Staley (1980) sugeriram que fatores presentes no colostro podem aumentar a taxa de internalização pinocítica de imunoglobulinas, como também acelerar o fechamento do transporte e diminuir a eficiência de absorção das mesmas. Pode-se, assim, sugerir que a ingestão de proteína ou IgG acima do limite de transporte máximo de moléculas pelos enterócitos faz decrescer a relação entre IgG oferecido e o absorvido. Este limite de aproveitamento da proteína disponível pela primeira geração de células intestinais também foi observado por Besser e Osbourn (1993), que alimentando bezerros recém-nascidos com 36 e 149 g de albumina bovina verificaram diminuição no valor de EAA e da concentração de IgG sérica nos animais que receberam a maior quantidade de proteína.

Davenport et al. (2000) verificaram também uma redução significativa na absorção de IgG e, conseqüentemente na EAA, quando adicionaram altas doses de proteína de soro ao colostro. Resultados similares foram encontrados por Garry et al. (1996) quando aumentaram a massa total de IgG fornecida acrescentando IgG liofilizado e verificaram redução na eficiência de absorção.

No presente estudo, os animais que ingeriram quantidade de sólidos totais até às 24 horas de vida inferior à 100 g não apresentaram diferenças significativas nos níveis séricos de IgG em todo período experimental, ao passo que os animais que ingeriram mais de 100 g apresentaram diferença significativa entre os períodos ($P < 0,05$). Entre 36-72 horas, os animais que ingeriram uma quantidade de sólidos totais de 101 à 149 g apresentaram uma queda de 16,74% nos valores médios de IgG séricas ($P = 0,05$), comparado com a média dos animais que receberam colostro com mais de 150 g, que apresentaram uma queda de 38,41% ($P = 0,03$), confirmando que a

ingestão elevada de sólidos totais, acima de 150 g, pode influenciar o processo de absorção de IgG pelos enterócitos.

4.1.2 Proteína total sérica - PT

Os níveis médios de proteína total sérica ($\text{g } 100\text{mL}^{-1}$) dos bezerros, distribuídos em grupos definidos com base na concentração sérica de IgG às 12 horas de vida e no tratamento fornecido, são apresentados na Tabela 6.

As médias de PT sérica apresentaram efeito significativo de período ($P < 0,0001$) e tendência em diferir significativamente entre os grupos ($P = 0,06$). Da mesma forma, também verificou-se efeito significativo da interação entre grupo e período ($P = 0,05$).

Os valores médios encontrados no presente estudo estão de acordo com os observados por Tennant et al. (1969); Husband et al. (1972); Machado Neto e Packer (1986) e Pauletti (1999).

As concentrações médias de PT às 24 horas de vida dos animais que ingeriram colostro de baixa qualidade imunológica, independente da aquisição inicial de IgG, não diferiram significativamente ($P = 0,42$), porém a partir das 36 horas foi verificada tendência em diferir ($P = 0,07$), com valores 34,14% superiores nos animais que apresentavam alta aquisição inicial de imunidade passiva. Pode-se atribuir este resultado a diferença da disponibilidade de IgG proveniente da primeira refeição de colostro fornecida ao nascimento.

As imunoglobulinas adquiridas passivamente do colostro são as principais determinantes na variação de PT sérica no início da vida dos animais por perfazer 20 a 40% da fração proteica (Smith, 1946; Bush et al., 1973; Ribeiro et al., 1983; Nocek et al., 1984; Pauletti et al., 2002; Machado Neto et al., 2004).

De acordo com os dados da Tabela 6, às 24 horas, os bezerros com baixo nível sérico inicial de imunoglobulinas que receberam colostro de baixa qualidade imunológica, apresentaram média de PT sérica inferior à $5,00 \text{ g } 100\text{mL}^{-1}$ ($4,44 \pm 0,42 \text{ g } 100\text{mL}^{-1}$), valor que tem sido citado na literatura como indicador de falha na transferência de imunidade passiva (Naylor e Kronfeld, 1977; Donovan et al., 1986; Tyler et al., 1999). Dados similares foram verificados por Jaster (2005) que encontrou menor concentração de PT sérica às 24 horas em bezerros que ingeriram colostro de baixa qualidade imunológica ao nascimento e às 12 horas de vida ($4,00 \pm 0,71 \text{ g } 100\text{mL}^{-1}$), comparados com animais que ingeriram colostro de alta qualidade ($6,10 \pm 0,34 \text{ g } 100$

Tabela 6 - Concentrações séricas de PT ($\text{g } 100\text{mL}^{-1}$) dos bezerros do nascimento até 72 horas de vida em função da aquisição inicial de imunidade passiva e dos tratamentos

Gp ⁵	IgG ²	Trat ¹	Períodos Experimentais (horas)						P ³		
			0	12	24	36	48	72	Md ⁴	Gp ⁵	PE ⁶
			PT sérico médio (mg mL^{-1}) \pm DP ⁷						0,0679	<0,0001	0,0517
1	Baixo	Baixo	4,17 \pm 0,57 ^{Ac}	4,84 \pm 0,52 ^{Aa}	4,83 \pm 0,71 ^{Aac}	4,57 \pm 0,72 ^{Aa}	3,79 \pm 0,70 ^{Aa}	4,46 \pm 0,57 ^{Aa}	4,44 \pm 0,42		
2	Alto	Baixo	3,59 \pm 0,45 ^{Aac}	5,10 \pm 0,45 ^{Ba}	5,53 \pm 0,47 ^{Bc}	6,13 \pm 0,48 ^{Cbc}	6,60 \pm 0,58 ^{Cb}	7,07 \pm 0,53 ^{Cb}	5,67 \pm 0,36		
3	Baixo	Alto	4,95 \pm 0,64 ^{Abc}	5,45 \pm 0,58 ^{Ada}	6,60 \pm 0,61 ^{BDe}	6,72 \pm 0,68 ^{BDbc}	6,54 \pm 0,96 ^{ABCb}	6,95 \pm 0,96 ^{Db}	6,21 \pm 0,51		
4	Alto	Alto	4,03 \pm 0,48 ^{Ac}	5,53 \pm 0,49 ^{Ba}	5,89 \pm 0,51 ^{Bc}	7,10 \pm 0,57 ^{CDbc}	6,32 \pm 0,69 ^{BDb}	5,98 \pm 0,59 ^{BDb}	5,81 \pm 0,37		
5	Baixo	Enriquecido	5,09 \pm 0,59 ^{Cbc}	4,71 \pm 0,54 ^{BCa}	5,39 \pm 0,56 ^{ABCc}	6,03 \pm 0,66 ^{ACab}	6,77 \pm 0,96 ^{Ab}	5,95 \pm 0,72 ^{ACb}	5,65 \pm 0,45		
6	Alto	Enriquecido	4,32 \pm 0,72 ^{Ac}	6,18 \pm 0,72 ^{Ba}	7,25 \pm 0,86 ^{Bbc}	7,32 \pm 0,66 ^{Bc}	7,22 \pm 0,92 ^{Bb}	7,53 \pm 0,86 ^{Bb}	6,63 \pm 0,31		

¹Tratamento: Baixo- colostro de baixa qualidade imunológica ($\text{IgG} < 49,70 \text{ mg mL}^{-1}$); Alto- colostro de alta qualidade imunológica ($\text{IgG} > 49,70 \text{ mg mL}^{-1}$); Enriquecido- colostro adicionado de colostro liofilizado ($\text{IgG} > 120 \text{ mg mL}^{-1}$).

²IgG inicial: aquisição inicial às 12 horas de vida: Baixo- $< 12 \text{ mg mL}^{-1}$; Alto- $> 12 \text{ mg mL}^{-1}$.

³P: probabilidade, ⁴Md: média, ⁵Gp: grupo, ⁶PE: período, ⁷DP: desvio padrão.

^{abc}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

^{AOCD}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($P < 0,05$).

mL⁻¹).

No presente estudo, entre 12 e 24 horas, os animais que apresentavam baixa aquisição inicial de IgG mostraram uma elevação significativa ($P=0,04$) dos teores de PT após receberem uma segunda refeição alta (grupo 3) às 12 horas de vida, sugerindo uma possível influência das imunoglobulinas da segunda refeição de colostro rico em anticorpos sobre a concentração sistêmica de proteína total concordando com Nocek et al. (1984) e Machado Neto e Packer (1986).

As concentrações de proteína sérica em bezerros a partir do nascimento seguem um padrão de flutuação semelhante ao que ocorre com as imunoglobulinas. Ao nascer, o animal apresenta níveis baixos de PT sérica, os quais aumentam após a ingestão do colostro atingindo pico de concentração em média no 5º dia de vida. A partir do pico de concentração, os níveis decrescem gradativamente, em parte função do catabolismo das imunoglobulinas adquiridas passivamente, até atingir a estabilidade (Machado Neto e Packer, 1986; Pauletti et al., 2002).

Vários autores citam correlações positivas entre PT e IgG sérica nos primeiros dias de vida (Tennant et al., 1969; Boyd, 1972; Husband et al., 1972; Fagliari et al., 1983; Nocek et al., 1984; Machado Neto e Packer, 1986; Baracat et al., 1997; Pauletti et al., 2002; Pauletti, 2003). As flutuações das concentrações médias de PT, IgG séricas (mg mL⁻¹) e a porcentagem de IgG na fração de PT (%) podem ser observadas na Figura 5. Independente do tratamento, os valores médios de PT e IgG séricas apresentaram correlação significativa ($P<0,0001$) com valor de $r=0,36$, em todo período experimental.

Nos animais que já apresentavam alta imunidade inicial e receberam colostro adicionado de colostro liofilizado foi verificado efeito significativo sobre a variável PT sérica ao nascimento para os demais períodos ($P<0,0001$). O nível de PT destes animais, comparado aos demais, tendeu a valores superiores na maioria das datas experimentais, comportamento semelhante ao encontrado na variável IgG sérica ao longo da fase experimental, concordando com Davenport et al. (2000), que utilizando colostro suplementar nas primeiras refeições de bezerros registraram elevação na concentração sérica de PT. Estes autores sugeriram que a concentração de PT depende em grande parte, no período inicial da vida, de outras proteínas além das imunoglobulinas, pois encontraram uma correlação de PT e IgG de 0,20.

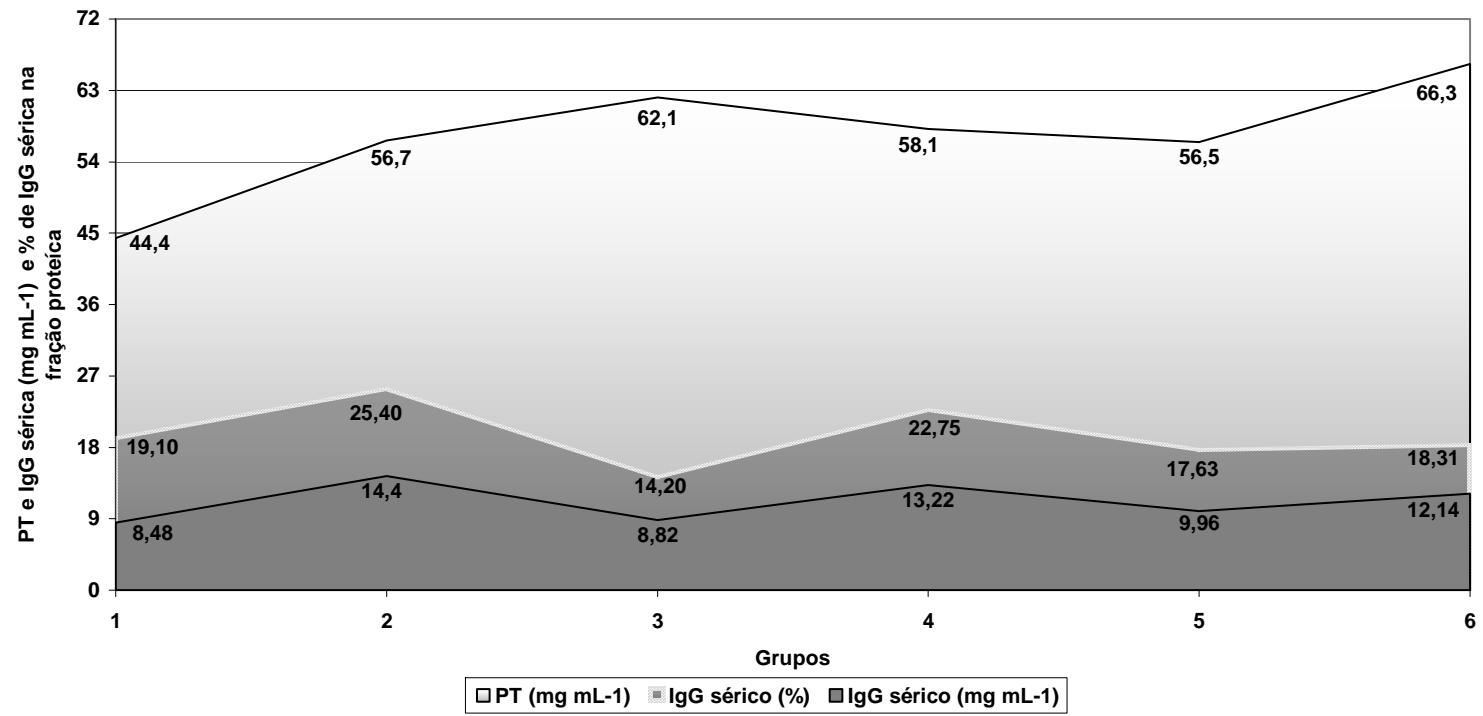


Figura 5 – Valores médios de PT e IgG sérica (mg mL^{-1}) e porcentagem da fração protéica de IgG sérica sobre PT (%) dos grupos

Mee et al. (1996), fornecendo imunoglobulinas de soro bovino à bezerras, encontraram menores valores de PT sérica e menores taxas de absorção de IgG nestes animais comparados com bezerras que ingeriram apenas colostro. Fato que pode estar relacionado a um limite de aproveitamento da proteína fornecida, caracterizando um suposto “*threshold*” de absorção da proteína proposto por Naylor et al. (1977) e Perino e Rupp (1994). Os autores sugeriram que há um aproveitamento finito da quantidade de proteína ingerida e que valores superiores ao limite aproveitável podem prejudicar a absorção de anticorpos provenientes do colostro, ocasionando o fracasso da transferência de imunidade passiva e, conseqüentemente, aumentando a predisposição à doenças neonatais e mortalidade.

Considerando a ingestão total de proteína fornecida nas duas primeiras refeições, ao nascimento e às 12 horas de vida, foi verificado que os animais que receberam mais de 180 g de proteína até às 24 horas de idade mostraram níveis médios mais baixos de PT circulante comparado aos que ingeriram menos ($P=0,0017$). Este resultado está de acordo com os obtidos com IgG na mesma situação experimental, cuja ingestão de uma quantidade de proteína e sólidos totais acima da aproveitada também evidenciou menores valores de IgG sérica. Estas proteínas, não imunoglobulinas, permanecem sobre a superfície dos vilos intestinais, competindo com os anticorpos e determinando, conseqüentemente, menor absorção de IgG. Além disso, o maior número de partículas sólidas tende a aumentar a velocidade de passagem da ingesta, diminuindo a permanência das macromoléculas do colostro no trato intestinal. Isto poderia explicar os valores mais baixos de IgG sérica média ($P<0,05$) encontrados nos animais com baixa aquisição inicial que receberam colostro adicionado de colostro liofilizado ($9,96 \text{ mg mL}^{-1}$), em comparação aos que receberam colostro baixo e alto ($13,22 \text{ mg mL}^{-1}$ e $12,14 \text{ mg mL}^{-1}$, respectivamente) (Figura 5). Os resultados encontrados na proteína total estão, em geral, concordantes, ou até explicando complementarmente, com o comportamento da variável IgG.

4.1.3 Fator de crescimento semelhante à insulina tipo I - IGF-I

Diversos estudos indicam que outros componentes do colostro, além das imunoglobulinas, podem ser importantes para a sanidade e desenvolvimento intestinal de bezerras neonatos, sendo um dos mais relevantes o fator de crescimento semelhante à insulina tipo I (IGF-I) (Baumrucker et al., 1994; Burrin et al., 1996; Quigley e Drewry, 1998; Blum e Baumrucker, 2002).

Para a análise dos valores de IGF-I sérico, levou-se em consideração somente os tratamentos fornecidos: grupo 1-colostro baixo ($\text{IgG} < 49,71 \text{ mg mL}^{-1}$), 2-colostro alto ($> 49,71 \text{ mg mL}^{-1}$) e 3-colostro adicionado de colostro liofilizado ($> 120 \text{ mg mL}^{-1}$). As médias das concentrações séricas de IGF-I (ng mL^{-1}) são apresentadas na Tabela 7. As médias de IGF-I sérico diferiram significativamente entre os tratamentos ($P=0,009$) e entre os períodos ($P=0,007$), além de se observar tendência significativa ($P=0,06$) da interação entre tratamento e período.

Independente do período, os valores médios de IGF-I sérico dos animais que receberam colostro de baixa qualidade imunológica em comparação aos que receberam colostro de alta qualidade diferiram significativamente ($P=0,03$); no entanto, não foi verificada diferença significativa ($P > 0,05$) do tratamento com colostro adicionado de colostro liofilizado com os demais.

Pôde-se observar também, às 24 horas de vida, que os animais que ingeriram colostro de baixa qualidade imunológica apresentaram valores de IGF-I circulante significativamente maiores comparados aos animais que ingeriram colostro de alta qualidade imunológica ou colostro adicionado de colostro liofilizado ($P=0,0008$ e $P=0,04$), provavelmente consequência da elevada flutuação desta variável ao nascimento, desvinculando esta diferença encontrada aos tratamentos.

Hammon et al. (2000) concluíram que os níveis séricos de IGF-I de bezerros recém-nascidos são influenciados nas primeiras 24 horas pela frequência de aleitamento e forma de administração do colostro. Também observaram, assim como no presente estudo, que há uma diminuição da concentração sérica até às 48 horas de vida. Esta queda também foi observada por Hammon e Blum (1997); Hardon et al. (1997); Kühne et al. (2000); Rauprich et al. (2000) e Nussbaum et al. (2002). No presente estudo, independente do tratamento, foi evidenciado, em média, um decréscimo de 58% dos níveis médios circulantes de IGF-I entre 24 e 72 horas de vida.

Considerando apenas a massa total de IGF-I colostrado ingerida ao nascimento e às 12 horas de vida, independente do tratamento, os animais não apresentaram diferenças significativas quanto aos valores médios de IGF-I sérico, diferindo somente entre os períodos ($P=0,0002$). Observou-se, também, que a concentração sérica média de IGF-I às 36 horas se mostrou superior ($P=0,04$) em relação às 72 horas, variando de $59,23 \pm 9,57$ a $34,55 \pm 7,59 \text{ ng mL}^{-1}$, resultado que concorda com os obtidos por Pauletti (2003) fornecendo massa semelhante de IGF-I.

Tabela 7 - Concentrações séricas de IGF-I (ng mL⁻¹) dos bezerros após 12 horas de vida

	Períodos Experimentais (horas)				Média	P ²		
	12	24	36	72		Trat ¹	Período	Trat ¹ xPeríodo
Tratamento¹	IGF-I sérico médio (ng mL ⁻¹) ±DP ³					0,0091	0,0075	0,0666
1-Baixo	*	90,24±11,58 ^{Aa}	66,80±10,57 ^{Aa}	39,60±6,47 ^{Ba}	55,02±12,31 ^a			
2-Alto	*	23,20±14,94 ^{Ab}	66,54±7,80 ^{Ba}	27,90±9,15 ^{Aa}	46,58±11,50 ^b			
3-Enriquecido	*	55,20±12,94 ^{Ac}	50,40±18,30 ^{Aa}	31,20±11,57 ^{Aa}	55,60±8,83 ^{ab}			
Média		72,60±12,13 ^A	56,21±7,64 ^A	61,25±7,61 ^A	32,90±5,37 ^B			

¹Tratamento: Baixo- colostro com concentração de IgG<49,71 mg mL⁻¹; Alto- colostro com concentração de IgG>49,71 mg mL⁻¹; Enriquecido- colostro adicionado de colostro liofilizado com concentração de IgG>120 mg mL⁻¹.

²P: probabilidade, ³DP: desvio padrão.

^{ab}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

^{AB}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Com base nos dados obtidos, verificou-se que a massa de IGF-I consumida não está diretamente relacionada com as mudanças nos níveis séricos observados ($R^2=0,37$ e $P=0,11$), sugerindo que o mesmo não seja absorvido pelos enterócitos, atuando como um mediador local de desenvolvimento, como também foi sugerido por Baumrucker et al. (1994); Donovan et al. (1996); Hammon e Blum (1997); Hammon et al. (2002) e Sparks et al. (2003).

Bühler et al. (1998) verificaram que bezerros alimentados com maior frequência com colostro apresentam maior altura de vilos intestinais quando comparados com bezerros que receberam somente uma refeição, indicando que a ingestão de IGF-I estimula as mudanças observadas.

Embora a absorção de IGF-I do colostro para a circulação sistêmica seja uma possibilidade considerada em alguns trabalhos (Skaar et al., 1994; Nussbaum et al., 2002), os resultados deste estudo, assim como de outros autores (Donovan et al., 1996; Hammon et al., 2002; Sparks et al., 2003), indicam que a concentração de IGF-I sérico não é diretamente afetada pela massa de IGF-I disponível no colostro, embora possa estar relacionada indiretamente com a absorção de um modo geral, pois este peptídeo é conhecido por possuir atividade mitogênica e estimular a proliferação celular em vários tipos de tecido (Burrin et al., 1996). De acordo com Baumrucker et al. (1994), a adição de IGF-I no leite fornecido à bezerros neonatos estimula a proliferação celular e o crescimento da mucosa intestinal, bem como a atividade enzimática. Segundo Sejrsen et al. (2003), a diferença na atividade mitogênica referente ao colostro ou leite maduro está relacionada com a diferente quantidade de IGF-I presente nestas secreções.

Assim, os resultados do presente estudo evidenciam que a massa de IGF-I fornecida pelas refeições administradas ao nascimento e às 12 horas de vida pode influenciar a absorção dos nutrientes ingeridos, como também, existe a possibilidade de alterar características morfológicas do intestino delgado e estruturas peculiares dos enterócitos em bezerros neonatos, condições que serão apresentadas no capítulo seguinte.

4.2 Aspectos qualitativos e quantitativos da mucosa intestinal

4.2.1 Morfologia intestinal

Avaliando a morfologia da mucosa intestinal por microscopia eletrônica de varredura (MEV), observou-se que ao nascimento os vilos duodenais mostravam-se digitiformes, achatados, largos, curtos, com uniformidade de altura e com grande presença de anastomoses (Figura 6), apresentando-se mais atrofiados quando comparados aos vilos duodenais às 24 horas de idade (Figura 16,17), características que também foram observadas por Bessi et al. (2002a), trabalhando com bezerros neonatos.

Ao nascimento, o estrato circular da muscular da mucosa do duodeno encontrava-se pouco desenvolvido e já, às 10 horas de vida, este segmento apresentou uma túnica muscular espessa e com a presença de glândulas de Brunner bem definidas (Figura 7), não estando as mesmas tão aparentes às 24 horas de vida (Figura 11).

Às 72 horas, a presença de anastomoses diminuiu e os vilos duodenais continuaram a apresentar uniformidade de tamanho, exceto nos animais que ingeriram colostro adicionado de colostro liofilizado os quais apresentaram estratificação (Figura 8).

Ao nascimento, os vilos do jejuno proximal apresentavam-se digitiformes, com alturas uniformes e sem presença de anastomoses (Figura 9). Também observou-se vilos mais altos e delgados e criptas de Lieberkühn bem definidas. Dez horas após o nascimento, os vilos permaneceram com alturas uniformes e assumiram formatos irregulares, forma de língua ou folha (Figura 10), características que persistiram até 72 horas de vida.

No jejuno, principalmente nas regiões média e distal, independente do tratamento e da idade, observaram-se vilos dispostos em forma de onda, resultados similares aos obtidos por Loddi (2003), trabalhando com frangos de corte. Segundo Yamauchi e Yshiki (1991), esta forma de organização entre os vilos pode possibilitar uma absorção de nutrientes mais eficiente, promovendo um maior contato do bolo alimentar com a superfície absorptiva do epitélio intestinal.

Em todas as idades, os vilos do jejuno médio apresentaram formato único de língua com diferentes direcionamentos (Figura 14) e espessa submucosa (Figura 19).

Ao nascimento, os vilos do jejuno distal encontravam-se delgados, em forma de língua (Figura 13), e o estrato circular da túnica muscular apresentava-se mais desenvolvido comparado

aos segmentos mais craniais. Às 24 horas de idade, os animais que receberam colostro com concentração de IgG superior à 100 mg mL^{-1} apresentavam os vilos do jejuno distal mais compactados e desordenados (Figura 18) quando comparados às outras idades e tratamentos.

Ao nascimento, os vilos do segmento ileal apresentavam-se em formato de dedos de luva e mais delgados em relação às outras regiões. Com a idade, observaram-se vilos mais largos e em forma de língua. A segunda refeição com colostro adicionado de colostro liofilizado, com concentração de IgG superior à 120 mg mL^{-1} , afetou a morfologia do íleo em todas as idades experimentais. Os vilos desta região apresentaram-se mais aglomerados e com conformação menos organizada comparados aos demais tratamentos. Estas observações sugerem que o fornecimento de colostro de alta concentração de imunoglobulinas e, conseqüentemente, de elevadas concentrações de elementos bioativos, por um período prolongado, pode influenciar a morfologia da mucosa entérica promovendo alterações na maturidade das células intestinais de bezerros recém-nascidos. Segundo Bühler et al. (1998), a ingestão de colostro estimula o desenvolvimento do trato gastrintestinal de recém-nascidos, fato também observado por Rauprich et al. (2000), os quais verificaram que a capacidade de absorção intestinal de bezerros neonatos foi menor nos animais que ingeriram leite reconstituído comparados aos que ingeriram colostro.

Em toda a extensão do intestino delgado, os animais que receberam colostro adicionado de colostro liofilizado apresentaram vilos com maior heterogeneidade e variabilidade de formas comparada aos animais que receberam colostro de baixa qualidade imunológica. Além disso, os vilos de todos os segmentos e tratamentos apresentaram superfícies enrugadas com numerosos sulcos transversais entre eles (Figura 12,15), especialmente nos bezerros que ingeriram colostro com alta concentração de IgG. Também foram observadas depressões na ponta dos vilos, chamadas de zonas de extrusão (Figura 12), característica também descrita por Mebus et al. (1975). Com a idade, os vilos de todos os segmentos do intestino delgado, independente do tratamento, mostraram maior organização e características morfológicas mais uniformes.

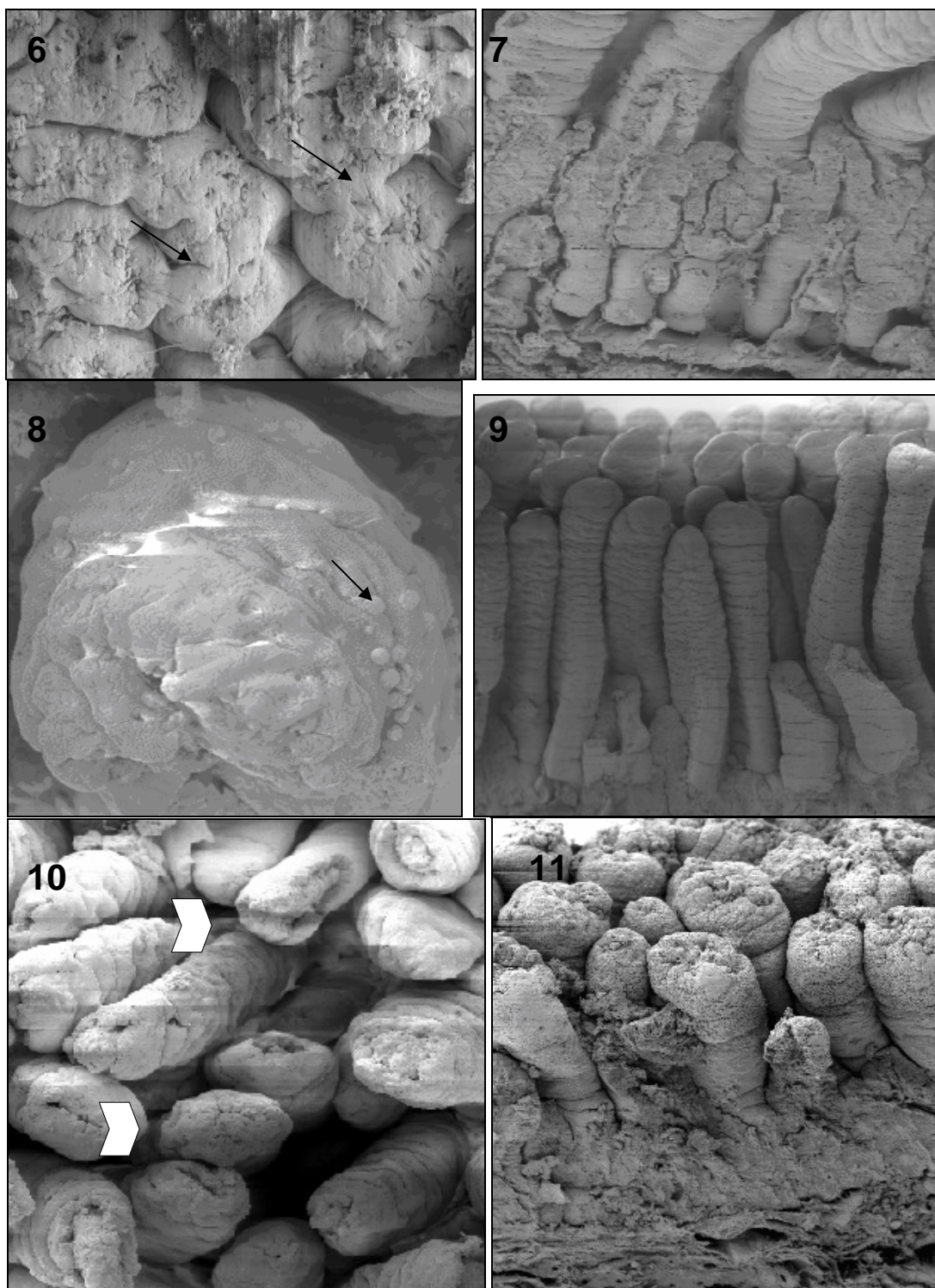


Figura 6 - Vilosidades do duodeno de bezerro recém-nascido (X 130), seta: anastomoses duodenais; Figura 7 - Vilosidades do duodeno de bezerro com 10 horas de vida com glândulas de Brunner (X 200); Figura 8 - Topo do viló de duodeno de bezerro com 24 horas de vida que ingeriram colostro adicionado de colostro liofilizado, a seta indica o estrato circular (X 310); Figura 9 - Jejunó proximal de bezerro recém-nascido (X 74); Figura 10 - Jejunó proximal de bezerro com 10 horas de idade (X 115); Figura 11 - Duodeno de bezerro com 24 horas de vida (X 100)

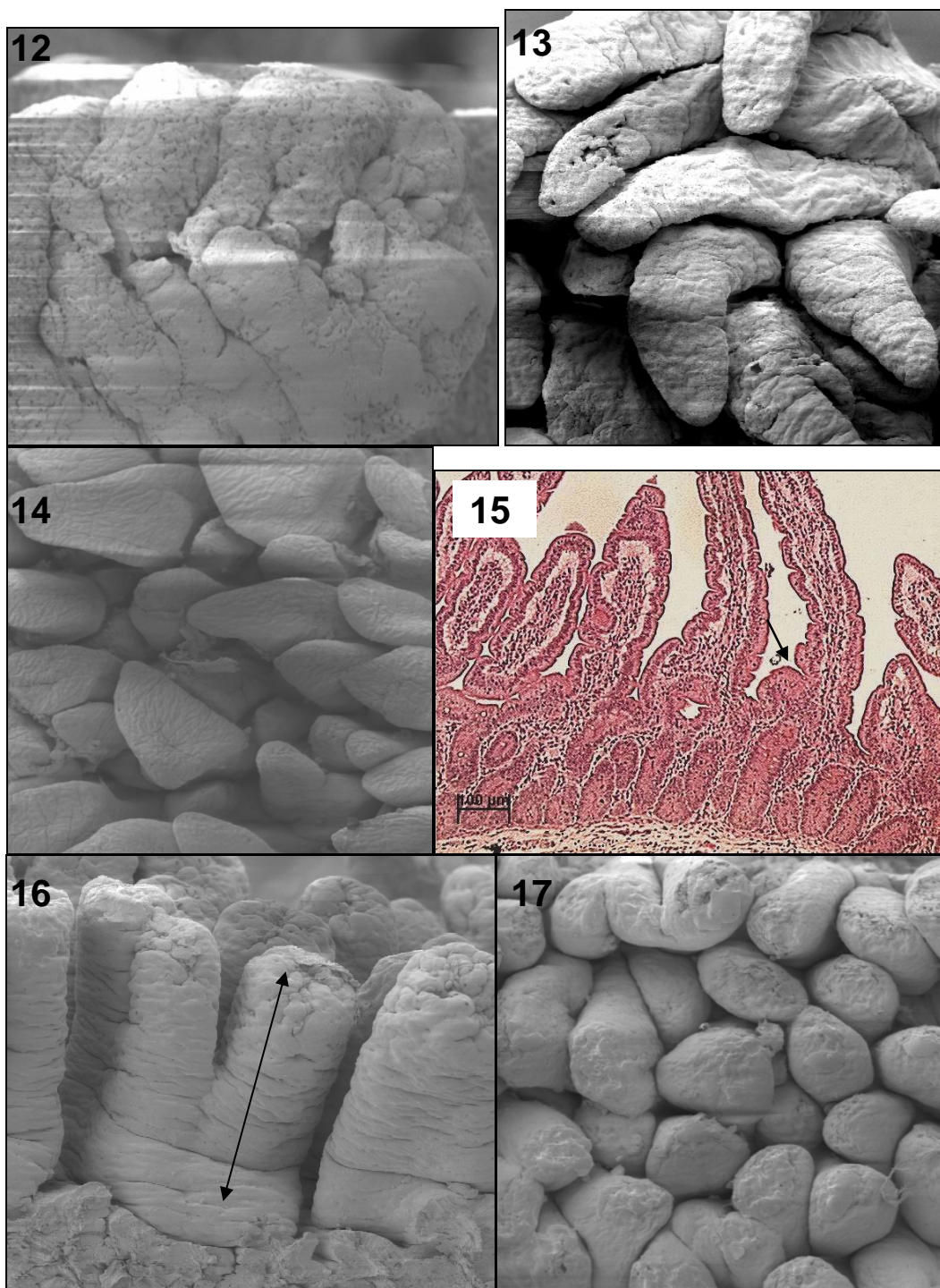


Figura 12 - Jejunum proximal de bezerro com 24 horas de vida (X 900); Figura 13 - Jejunum distal de bezerro com 24 horas de vida que ingeriu colostro alto (X 105); Figura 14 - Jejunum médio de bezerro com 72 horas de vida (X 100); Figura 15 - Reentrâncias nos vilos; Figura 16 - Duodeno de bezerro com 24 horas de vida (X 130); Figura 17 - Duodeno de bezerro com 24 horas de vida (X130)

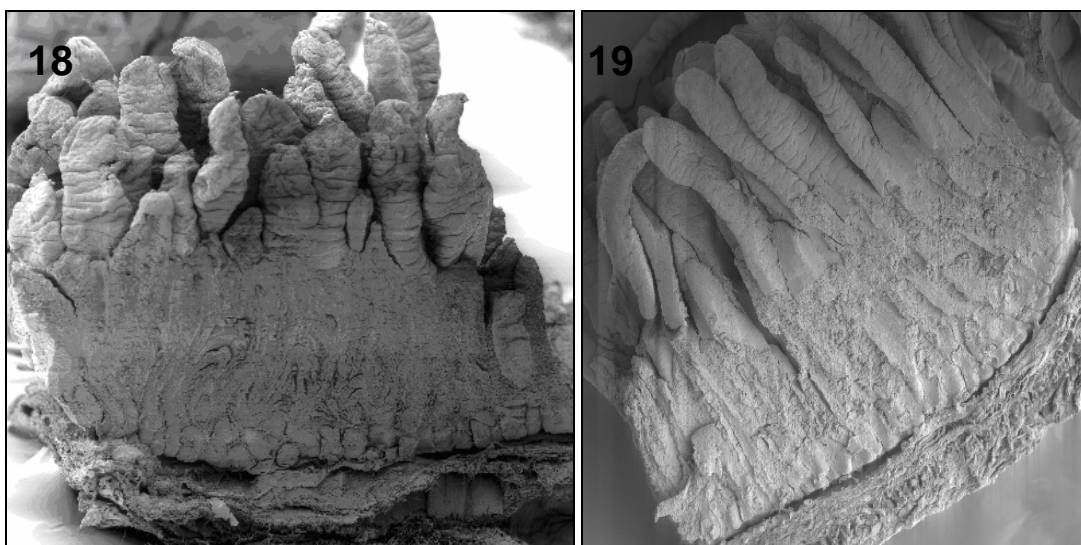


Figura 18- Jejunum distal de bezerro com 24 horas de vida - grupo 2 (X46); Figura 19 - Jejunum médio de bezerro com 24 horas de vida - grupo 1 (X54)

4.2.2 Morfometria intestinal

Vários estudos demonstram que o desenvolvimento pós-natal do trato gastrointestinal é influenciado pela ingestão de colostro. Estudos sugerem que a magnitude da resposta ao IGF-I presente no colostro depende da dose administrada e da duração da exposição (Xu et al., 1994; Burrin et al., 1996).

A Tabela 8 mostra os valores médios da densidade de vilos (número de vilos/cm²) encontrados nos segmentos em função da massa total de IGF-I ingerida (μg) das duas primeiras refeições. Foram observadas diferenças significativas entre tratamentos, segmentos, períodos, como também na interação entre tratamento e período dentro de cada segmento (P<0,0001).

No período do nascimento até 24 horas de vida, pôde-se verificar que, independente da quantidade de IGF-I ingerida, 0 a 500, 500 a 1500 e de 1500 a 2500 μg, todos os animais apresentaram aumento significativo (P<0,0001; P=0,003 e P<0,0001, respectivamente) nos valores de densidade dos vilos do jejunum distal, com acréscimos de 56%, 58% e 76%, respectivamente.

Os animais que receberam quantidades de IGF-I inferiores à 500 μg apresentaram decréscimo significativo (P=0,006) na densidade dos vilos do íleo com valores variando de 21,05±1,90 vilos/cm² ao nascimento para 15,72±2,26 vilos/cm² às 24 horas, representando uma queda de 25%. Nos bezerros que ingeriram entre 500 a 1500 μg, não foi encontrada diferença

Tabela 8 - Valores médios \pm desvio padrão da densidade dos vilos dos segmentos do intestino delgado dos bezerros

Segmentos	IGF-I ingerido(μ g)	Períodos Experimentais (horas)			P ¹
		0	24	72	Trat X Período
		Média (vilos/cm ²) \pm DP ²			
Duodeno	0-500	25,17 \pm 2,57 ^{Aa}	38,77 \pm 2,38 ^{Ba}	23,61 \pm 2,01 ^{Aa}	<0,0001
	500-1500	25,17 \pm 2,57 ^{Aa}	24,11 \pm 3,02 ^{Ab}	29,98 \pm 3,18 ^{Bb}	
	1500-2500	25,17 \pm 2,57 ^{Aa}	23,50 \pm 3,13 ^{Ab}	25,25 \pm 2,97 ^{Aa}	
Jejuno proximal	0-500	37,00 \pm 3,74 ^{Ab}	37,71 \pm 3,42 ^{Aa}	31,87 \pm 2,09 ^{Aab}	
	500-1500	37,00 \pm 3,74 ^{Ab}	27,85 \pm 1,86 ^{Bb}	35,29 \pm 1,00 ^{Aa}	
	1500-2500	37,00 \pm 3,74 ^{Ab}	28,32 \pm 3,15 ^{Bb}	29,33 \pm 2,03 ^{Bb}	
Jejuno médio	0-500	20,26 \pm 0,38 ^{Ac}	22,80 \pm 2,09 ^{Aa}	22,10 \pm 1,89 ^{Aa}	
	500-1500	20,26 \pm 0,38 ^{Ac}	26,05 \pm 1,99 ^{Bb}	24,51 \pm 3,11 ^{Ca}	
	1500-2500	20,26 \pm 0,38 ^{Ac}	26,99 \pm 2,59 ^{Bb}	22,40 \pm 2,19 ^{ABa}	
Jejuno distal	0-500	19,13 \pm 1,10 ^{Ac}	29,98 \pm 2,98 ^{Ba}	18,36 \pm 2,72 ^{Aa}	
	500-1500	19,13 \pm 1,10 ^{Ac}	30,23 \pm 1,74 ^{Ba}	14,77 \pm 1,36 ^{Ca}	
	1500-2500	19,13 \pm 1,10 ^{Ac}	33,78 \pm 0,78 ^{Bb}	24,77 \pm 1,81 ^{Cb}	
Íleo	0-500	21,05 \pm 1,90 ^{Ac}	15,72 \pm 2,26 ^{Ba}	12,50 \pm 1,18 ^{Ba}	
	500-1500	21,05 \pm 1,90 ^{Ac}	20,57 \pm 1,59 ^{Ab}	13,83 \pm 2,71 ^{Ba}	
	1500-2500	21,05 \pm 1,90 ^{Ac}	31,11 \pm 1,80 ^{Bc}	22,25 \pm 1,13 ^{Ab}	

¹P: probabilidade, ²DP: desvio padrão.

^{abcd}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, no mesmo segmento, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

^{ABCD}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

significativa (P=0,78) nos valores de densidade do íleo durante este período; já nos animais que ingeriram de 1500 a 2500 μ g de IGF-I foi observado acréscimo (P<0,0001) de 48%, apresentando valores médios de 31,11 \pm 1,18 vilos/cm² às 24 horas de vida. Estes resultados sugerem que a quantidade de IGF-I fornecida até às 24 horas de vida influenciou o comportamento da densidade dos vilos ileais, pois a presença de elevadas quantidades deste componente bioativo favoreceu a manutenção ou aumento do número de vilos/área deste segmento, uma das regiões onde ocorre maior absorção intestinal.

Às 24 horas, a densidade de vilos do duodeno dos animais que receberam de 500 a 1500 μ g de IGF-I não diferiu dos valores encontrados nos animais que ingeriram mais que 1500 μ g de IGF-I (P>0,05), porém diferiu dos que ingeriram menores concentrações (P<0,05), cuja densidade duodenal neste período foi a mais elevada.

Entre 24 e 72 horas de vida, foram observadas importantes variações relacionadas aos diferentes segmentos e tratamentos. No duodeno e jejuno distal dos bezerros que receberam baixa quantidade de IGF-I foram encontradas quedas de 39% (P<0,0001) e 38% (P<0,0001), respectivamente, porém os vilos do jejuno proximal, jejuno médio e íleo não diferiram

significativamente. No mesmo período, o jejuno proximal dos animais que receberam entre 500 e 1500 μg de IGF-I apresentou um aumento de 27%, variando de $27,85 \pm 1,86$ a $35,29 \pm 1,00$ vilos/ cm^2 ($P < 0,0001$).

Segundo Macari (1995) e Macari (1999), uma menor contagem de vilos por área não significa, necessariamente, menor capacidade absorptiva, pois pode haver uma compensação na altura dos mesmos. Assim, a capacidade absorptiva pode ser considerada dependente da densidade e altura dos vilos e microvilos.

Às 24 horas, a densidade dos vilos dos animais que ingeriram entre 500 a 1500 μg de IGF-I diferiu dos que ingeriram maiores quantidades apenas no íleo ($P < 0,0001$), apresentando valores 34% menores. Entretanto, às 72 horas, estes animais apresentaram densidades 18% ($P = 0,01$) e 20% ($P = 0,002$) superiores nas regiões mais craniais, duodeno e jejuno proximal, respectivamente, e densidades 40% ($P < 0,0001$) e 38% menores ($P < 0,0001$) no jejuno distal e no íleo, respectivamente.

As regiões do intestino delgado apresentam diferentes potenciais de absorção, sendo as regiões mais caudais do jejuno e o íleo, as mais ativas (Kaup et al., 1996). Nas primeiras 24 horas de vida, foram registradas importantes alterações da mucosa intestinal envolvidas com os processos absorptivos, sem necessariamente estarem relacionadas com a eficiência de absorção.

Sabe-se que o equilíbrio entre os processos de renovação celular, resultante das divisões mitóticas de células totipotentes localizadas principalmente nas criptas e de perda celular que ocorre normalmente no ápice dos vilos, caracterizam um *turnover* celular constante, isto é, um equilíbrio entre proliferação e extrusão celular (Applegate et al., 1994; Uni et al., 1998). Entretanto, se ocorrer um aumento na taxa de mitose com ausência, diminuição ou manutenção da taxa de extrusão, conseqüentemente haverá aumento na altura e no perímetro dos vilos. Por outro lado, se ocorrer um aumento na taxa de extrusão, havendo manutenção ou diminuição na taxa de proliferação, ocorrerá uma redução na altura dos vilos e, conseqüentemente, diminuição em sua capacidade de absorção (Pluske et al., 1997).

Considerando os dados de densidade de vilos em função da concentração de IgG consumida, verifica-se que animais que consumiram colostro de baixa qualidade imunológica apresentaram um comportamento similar aos que receberam menos de 500 μg de IGF-I até às 24 horas de vida e os animais que receberam colostro com mais de 100 mg mL^{-1} de IgG (com ou sem colostro liofilizado) comportaram-se semelhantemente aos que ingeriram de 500 a 2500 μg de IGF-I.

Avaliando a altura dos vilos (μm), os valores médios encontrados não apresentaram diferença significativa em função da massa de IGF-I ingerida, tendo sido observados efeitos significativos apenas entre os períodos ($P=0,0007$) e entre os segmentos ($P<0,0001$).

Independente do segmento, a altura dos vilos aumentou 24% ($P=0,04$) do nascimento às 10 horas de vida com valores médios de $390,59\pm 29,21$ e $469,80\pm 26,67$ μm , respectivamente. Porém entre 10 e 24 horas de vida esta diferença não foi verificada, confirmando a ausência de influência da massa de IGF-I colostrado ingerida sobre a altura dos vilos nas primeiras horas de vida. Entre 24 e 72 horas, foi observada queda significativa de 14% ($P=0,003$) com valores variando de $460,02\pm 16,54$ a $393,61\pm 15,40$ μm , respectivamente.

A Figura 20 ilustra o comportamento da altura dos vilos dos diferentes segmentos em função da idade, independente da massa de IGF-I fornecida. Independente do tratamento, em todos os períodos, os valores médios de altura diferiram significativamente ($P<0,05$) entre o duodeno e os demais segmentos, confirmando a análise morfológica encontrada na MEV que revelou altura dos vilos duodenais mais curtas comparadas aos demais segmentos do intestino delgado.

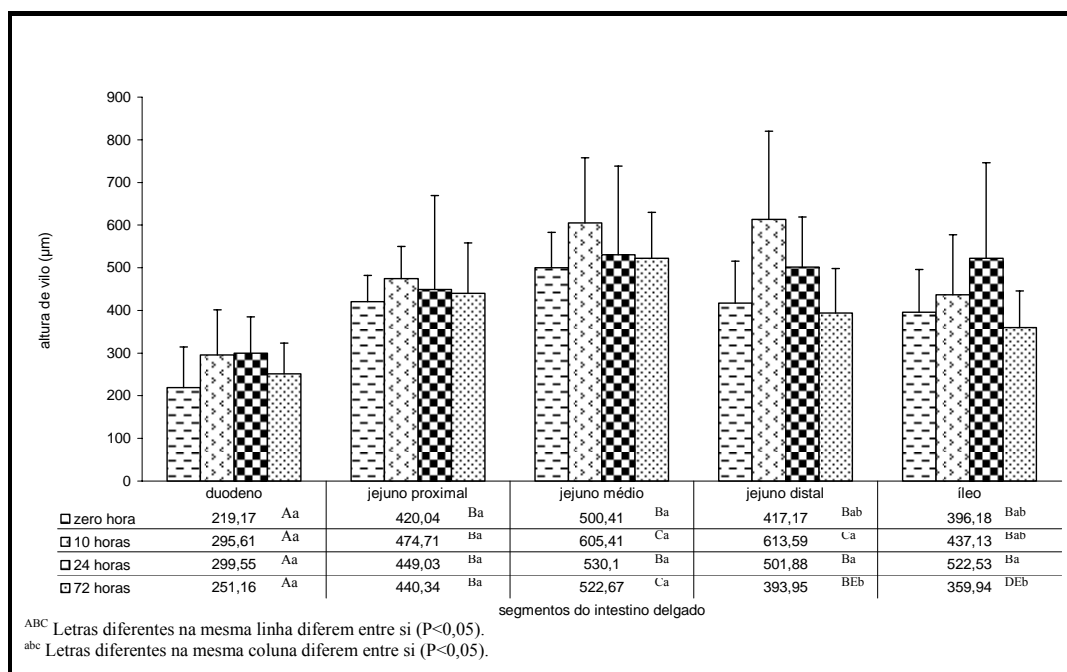


Figura 20 – Valores médios da altura (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado nos período experimental

Às 10 horas de vida, a altura dos vilos do jejuno médio e distal foram significativamente superiores ($P=0,04$ e $P=0,05$, respectivamente) aos encontrados no íleo. Já às 24 horas, os valores de altura dos vilos destes 3 segmentos não diferiram, podendo caracterizar um período com maior proliferação celular no íleo.

Analisando os valores médios de profundidade de cripta (μm) em função da massa de IGF-I ingerida (μg), não foi observado efeito significativo de tratamento ($P=0,13$), revelando apenas efeitos de segmento ($P=0,0008$), período ($P=0,0001$), interação entre tratamento e período ($P=0,0002$), e tendência em diferir na interação entre segmento e período ($P=0,09$).

Independente do segmento, entre 24 e 72 horas de vida, os animais que ingeriram entre 0 e 500 μg e entre 500 e 1500 μg de IGF-I apresentaram queda significativa de 32% ($P=0,03$) e 48% ($P<0,0001$) no valor de profundidade de cripta, variando de $95,85\pm 6,73$ a $65,06\pm 4,36$ μm e de $145,15\pm 13,58$ a $74,82\pm 3,71$ μm , respectivamente. Nos animais que receberam níveis acima de 1500 μg de IGF-I, os valores de profundidade de cripta mantiveram-se inalterados, sugerindo que a ingestão de altas quantidades de IGF-I pode estar associada não só a proliferação celular, mas também ao aumento da sobrevivência, conseqüentemente com uma maior permanência das células epiteliais no intestino. O mesmo foi sugerido por Peterson et al., (1997); Blättler et al., (2001) e Dahly et al., (2002) para resultados semelhantes.

Na Figura 21 estão apresentados os valores de profundidade de cripta dos segmentos em função do período. Às 72 horas, todos os segmentos tenderam a apresentar queda dos valores de profundidade de cripta, sugerindo que as primeiras horas de vida se constituam em um importante período de crescimento celular, pois a cripta é o local onde ocorre a atividade mitogênica.

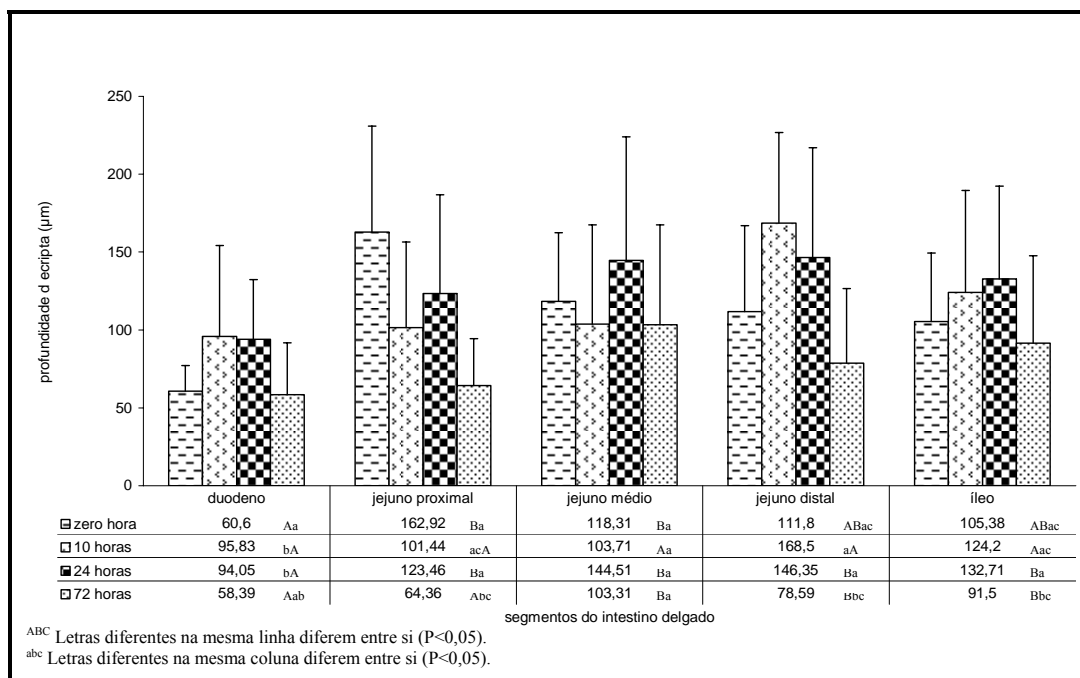


Figura 21 – Valores médios da profundidade de cripta (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado no período experimental

Na análise dos valores médios do perímetro dos vilos (μm), foi verificado efeito significativo entre os períodos ($P=0,005$) e entre os segmentos ($P<0,0001$), não sendo encontradas diferenças em função da massa de IGF-I ingerida ($P=0,97$). Independente do segmento, entre o nascimento e às 10 horas de vida foi verificado acréscimo significativo ($P=0,04$) no perímetro do vilos de 17% variando de $867,24\pm 54,38$ a $1014,67\pm 73,62$ μm e entre 24 e 72 horas, uma queda de 15% ($P=0,06$), variando de $976,52\pm 30,85$ a $830,04\pm 29,14$ μm não tendo sido verificadas diferenças entre 10 e 24 horas.

Os valores de perímetro encontrados nos segmentos em função do período estão apresentados na Figura 22. Em todos os períodos, o perímetro dos vilos do duodeno apresentou-se significativamente menor ($P<0,0001$) em relação aos encontrados nos outros segmentos.

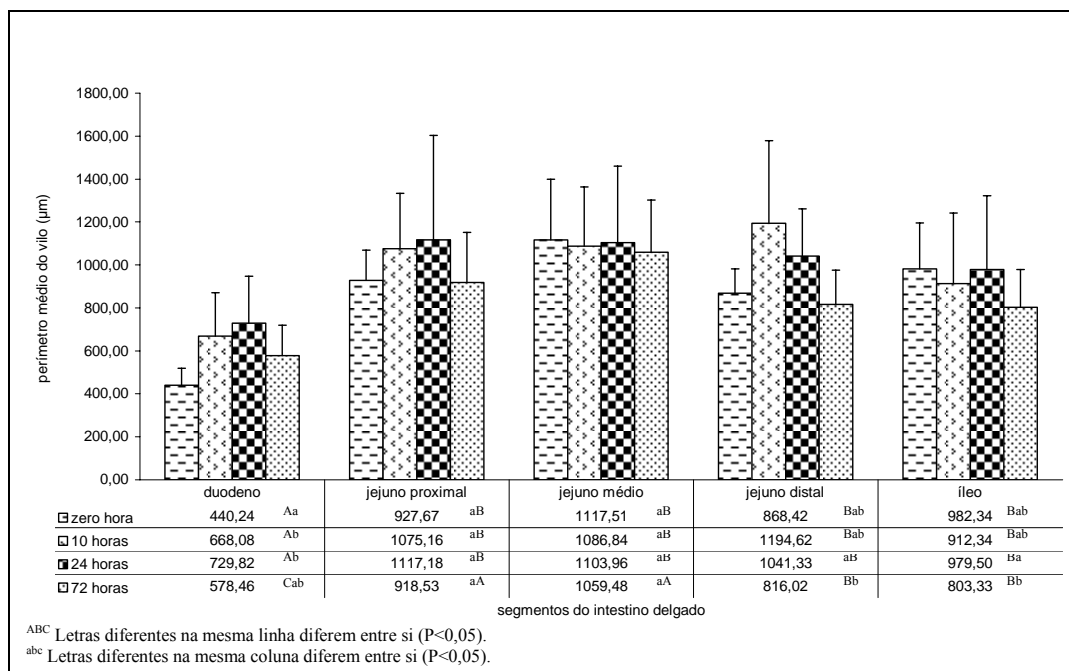


Figura 22 – Valores médios do perímetro (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado no período experimental

A quantidade de IGF-I ingerida (μg) não mostrou influência sobre a espessura da túnica muscular (μm). Esta medida apresentou diferença significativa somente entre os segmentos ($P=0,08$) e entre os períodos ($P<0,0001$). Desconsiderando o período experimental, todos os segmentos diferiram significativamente, exceto entre jejuno distal e íleo ($P=0,52$) e entre jejuno proximal e médio ($P=0,61$). Os valores médios encontrados no duodeno foram $565,58\pm 54,07 \mu\text{m}$, no jejuno proximal e médio, $289,37\pm 56,59$ e $248,39\pm 57,20 \mu\text{m}$, respectivamente, e no jejuno distal e íleo, $724,38\pm 55,34$ e $774,01\pm 55,97 \mu\text{m}$, respectivamente. Assim foi verificada uma espessura de túnica muscular mais pronunciada ($P<0,05$) nas extremidades do intestino delgado. Independente do segmento, durante a fase experimental, apenas entre o nascimento e às 10 horas de vida, foi verificado um acréscimo ($P=0,04$) médio de 35% nos valores da camada muscular variando de $412,43\pm 54,22$ a $556,78\pm 49,05 \mu\text{m}$. Nos demais períodos, não foram encontradas diferenças significativas.

Na Figura 23 estão apresentados os valores da espessura da túnica muscular dos segmentos em função do período, independente da massa de IGF-I ingerida.

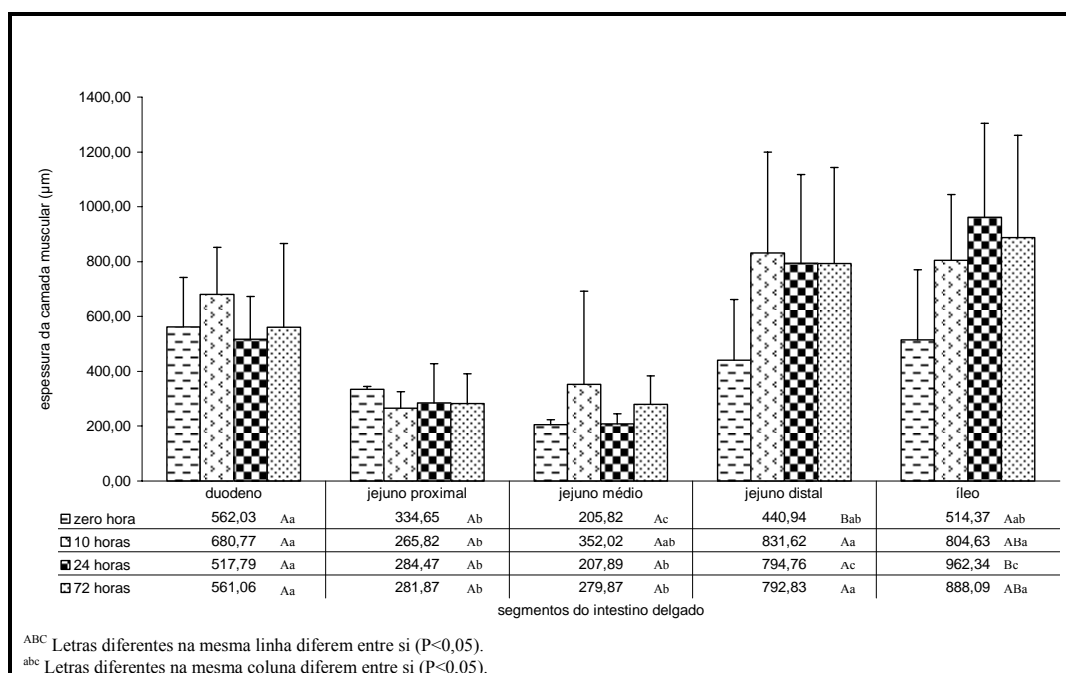


Figura 23 – Valores médios da espessura da túnica muscular da mucosa (μm) dos vilos dos segmentos do intestino delgado nos período experimental

Utilizando-se esterologia, técnica desenvolvida por Baddeley et al. (1986) para quantificar estruturas tridimensionais, foi calculado o volume parcial (V_v) da superfície absorptiva da mucosa dos diferentes segmentos do intestino delgado e relacionado com a quantidade de IGF-I ingerida. Os valores de V_v (%) encontrados são apresentados na Tabela 9. Foi encontrado efeito significativo ($P=0,06$) na interação entre tratamento e período dentro de cada segmento.

Ao nascimento, foi verificado menor volume parcial da mucosa na região do duodeno ($P<0,0001$), com $25,44\pm 9,79\%$, caracterizando uma menor capacidade absorptiva, resultado que pode estar relacionado com a baixa densidade de vilos por área e menor perímetro encontrados neste segmento, condições que também foram identificadas no presente estudo.

Desconsiderando a ingestão de IGF-I, os valores de V_v encontrados, do nascimento até às 10 horas de vida, apresentaram acréscimo significativo ($P<0,0001$) de 153% no duodeno, 39% no jejuno proximal, 35% no jejuno médio, 51% no jejuno distal e 47% no íleo, apresentando valores médios às 10 horas de $64,60\pm 5,67$; $71,83\pm 3,78$; $79,55\pm 5,49$; $82,02\pm 9,41$ e $75,36\pm 7,02\%$, respectivamente. Estas diferenças encontradas podem estar relacionadas à troca de gerações celulares que ocorrem nas primeiras horas de vida de bezerros.

Tabela 9 - Volume parcial (Vv %) da mucosa absorptiva do intestino delgado dos bezerros

Segmentos	IGF-I ingerido(μ g)	Período Experimental (horas)			P ¹ Trat X Período
		0	24	72	
		Média \pm DP ²			
Duodeno	0-500	25,44 \pm 9,79 ^{Aa}	49,74 \pm 9,25 ^{Ba}	30,75 \pm 8,91 ^{Ca}	0,06
	500-1500	25,44 \pm 9,79 ^{Aa}	56,75 \pm 5,64 ^{Ba}	44,52 \pm 11,12 ^{Ba}	
	1500-2500	25,44 \pm 9,79 ^{Aa}	46,23 \pm 4,55 ^{Ba}	35,43 \pm 5,80 ^{Ba}	
Jejuno proximal	0-500	51,64 \pm 12,17 ^{Ab}	71,42 \pm 5,37 ^{Bb}	51,28 \pm 7,02 ^{Aa}	
	500-1500	51,64 \pm 12,17 ^{Ab}	59,38 \pm 8,18 ^{Aa}	53,03 \pm 14,76 ^{Aa}	
	1500-2500	51,64 \pm 12,17 ^{Ab}	64,18 \pm 7,87 ^{Bab}	63,38 \pm 10,72 ^{Ba}	
Jejuno médio	0-500	58,88 \pm 9,67 ^{Ac}	78,39 \pm 4,39 ^{Ba}	73,65 \pm 7,94 ^{Ba}	
	500-1500	58,88 \pm 9,67 ^{Ac}	73,02 \pm 7,34 ^{Ab}	74,23 \pm 14,06 ^{Aa}	
	1500-2500	58,88 \pm 9,67 ^{Ac}	73,31 \pm 6,17 ^{Bb}	71,50 \pm 7,32 ^{Ba}	
Jejuno distal	0-500	54,39 \pm 11,67 ^{Ad}	73,36 \pm 4,52 ^{Bb}	57,85 \pm 6,77 ^{Aa}	
	500-1500	54,39 \pm 11,67 ^{Ad}	67,45 \pm 5,81 ^{Aab}	53,33 \pm 8,09 ^{Aa}	
	1500-2500	54,39 \pm 11,67 ^{Ad}	64,31 \pm 3,40 ^{Ba}	54,79 \pm 5,49 ^{Ba}	
Íleo	0-500	51,14 \pm 9,61 ^{Ad}	71,07 \pm 5,20 ^{Ba}	53,28 \pm 9,93 ^{Aa}	
	500-1500	51,14 \pm 9,61 ^{Ad}	53,45 \pm 8,93 ^{Ab}	52,51 \pm 10,63 ^{Aa}	
	1500-2500	51,14 \pm 9,61 ^{Ad}	50,33 \pm 2,22 ^{ABb}	48,27 \pm 5,01 ^{Ba}	

¹P: probabilidade, ²DP: desvio padrão.

^{abcd}Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna, no mesmo segmento, diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

^{ABCD}Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

Entre 24 e 72 horas de vida, os animais que ingeriram de 0 a 500 μ g de IGF-I apresentaram queda significativa nos valores de Vv em todos os segmentos (P<0,0001), exceto no jejuno médio (P=0,15). Nos animais que ingeriram de 500 a 1500 e de 1500 a 2500 μ g, os valores do volume parcial da mucosa absorptiva não diferiram durante este período, indicando menor perda ou maior proliferação celular, sugerindo que o IGF-I pode favorecer uma redução da taxa de *turnover* ou uma maior permanência dos enterócitos na mucosa intestinal.

4.3 Ultraestrutura das células intestinais

4.3.1 Morfologia ultraestrutural dos enterócitos

As características ultraestruturais do epitélio intestinal de bezerros neonatos, relacionadas com o processo de absorção de imunoglobulina G do colostro, ainda não estão completamente esclarecidas. Avaliando a ultraestrutura dos enterócitos de bezerros, observou-se que, ao nascimento, os microvilos do duodeno apresentaram-se desenvolvidos e filamentosos. Estes filamentos, localizados no pólo apical, atravessavam a trama terminal podendo alcançar o citoplasma (Figura 24). Nesta região não se observou sinal de invaginações, vesículas ou túbulos.

No jejuno, as células intestinais apresentaram-se colunares, com a presença de túbulos e vacúolos vazios na porção supranuclear e com o complexo de Golgi na posição subnuclear. No íleo, ao nascimento, as características mais marcantes foram a presença de grandes vacúolos vazios (Figura 38) e o complexo de Golgi pouco aparente, estruturas dispostas na posição supranuclear.

Nos enterócitos do duodeno de bezerros com 24 horas de vida, foram encontradas pequenas vesículas na região basal da célula. No jejuno, as vesículas e túbulos localizavam-se ao redor do núcleo, situado na região apical do citoplasma. Já no íleo, os túbulos também apareceram dispostos em torno do núcleo, porém o mesmo se encontrava na região basal da célula.

Às 24 horas, foram encontrados enterócitos com duas características bastante distintas, células “mais escuras”, com presença de pequenas vesículas, e células “mais claras” apresentando túbulos e grandes vacúolos com elevada quantidade de material elétrico-denso (Figura 25). A função fisiológica destes vacúolos está relacionada com o armazenamento de IgG oriundo do colostro (Figura 27). De acordo com Smeaton e Simpson-Morgan (1985), estas duas características dos enterócitos estão relacionadas com diferentes graus de maturação das células. Clarke e Hardy (1971), trabalhando com leitões recém-nascidos em aleitamento, verificaram mudanças nas características celulares do intestino delgado, como número e tamanho de vacúolos e localização nuclear, após declínio da passagem de macromoléculas da célula para a circulação, sugerindo uma segunda geração de células incapaz de internalizar macromoléculas presentes no lume. Alterações celulares em condições experimentais semelhantes foram observadas por Hardy et al. (1971) que, trabalhando com enterócitos de leitões do nascimento até três semanas de idade, encontraram até 28 horas de vida vacúolos relativamente grandes e claros com material elétrico-denso e, após esta idade, verificaram que estas estruturas apresentavam-se em diferentes fases de regressão. Segundo Staley (1969a), a ultraestrutura das células intestinais de leitões sofre uma transição nas primeiras 36 horas após o nascimento. Outros estudos relacionados com absorção intestinal de IgG nas primeiras horas de vida também relataram formação de túbulos e presença de vacúolos em diferentes estágios celulares (Comline et al., 1951; Versess e Baintner, 1969).

No presente estudo, o clareamento das células pode representar evidências de envelhecimento em decorrência de uma possível lise das membranas vesiculares, provavelmente relacionada com a liberação de IgG presente nas mesmas. Com a idade, foi verificada uma

diminuição de células com característica clara sendo substituídas por enterócitos com característica mais escura. Esta interpretação está de acordo com a teoria da substituição celular de Oudar et al. (1976) e Smeaton e Simpson-Morgan (1985).

O fechamento intestinal pode ser interpretado como um evento multifatorial que inclui a substituição dos enterócitos fetais capazes de absorver macromoléculas por uma população mais madura, segunda geração, com o término da internalização, transferência e absorção de IgG (Clarke e Hardy, 1971).

Às 24 horas, as células jejunais permaneceram colunares com microvilos desenvolvidos e os complexos de Golgi tenderam a ser subnucleares ou distribuídos ao redor do núcleo. Os núcleos apresentavam canais citoplasmáticos entre as dobras da membrana nuclear, rodeados de mitocôndrias e restritos, principalmente, às porções basais da célula. Também neste período, foram verificadas, em grande número, pequenas vesículas situadas adjacientemente às membranas basais das células. Estas células também possuíam vesículas tubulares apicais bem desenvolvidas (Figura 32). O complexo tubular formado encontrava-se na região apical do citoplasma e na trama terminal (Figura 33), mostrando diferentes graus de invaginação na superfície da membrana. Já às 36 horas, este complexo não estava mais presente na trama terminal, apenas nas regiões apical e lateral do citoplasma dos enterócitos (Figura 28,29).

Os túbulos surgem de invaginações na base dos microvilos formados pela trama terminal. Na região supranuclear encontrou-se grande quantidade de vacúolos com material elétrico denso no interior, os quais se apresentavam conectados diretamente com os túbulos (Figura 30).

Similarmente às células jejunais, os microvilos das células ileais também apresentavam-se curtos, porém a diferença mais aparente encontrada foram os grandes vacúolos supranucleares (Figura 26), chegando a ocupar, às 36 horas, dois-terços das células apicais do íleo e estendendo-se até próximo da trama terminal. Às 72 horas, no íleo, não foi mais evidenciado presença de túbulos, vesículas ou vacúolos, características de células mais maduras. No íleo, os vacúolos apresentaram-se maiores em comparação com as outras regiões, característica também encontrada por Staley et al. (1972) e Stair et al. (1973) que a relacionaram com o mecanismo de internalização por micropinocitose. No presente estudo, os resultados sugerem que a vacuolação ocorrida nos enterócitos foi crescente, da região cranial para caudal. Jockins et al. (1994) sugeriram que o processo de internalização da IgG nos enterócitos aumenta do duodeno para o íleo, condição também encontrada no presente estudo.

Às 10 e 24 horas após o nascimento, foi verificado o início do processo de micropinocitose, com invaginações da membrana citoplasmática e formação de vesículas (Figura 34), não sendo mais observado às 36 horas (Figura 35). Estas vesículas dão origem a túbulos que se deslocam para a região basal da célula e, subsequentemente, tornam-se vacúolos. Foi observado que as membranas dos túbulos são continuidades das dos microvilos. A exocitose não foi observada em nenhum segmento intestinal durante o período experimental.

A partir das 24 h de vida, verificou-se a presença de células caliciformes (Figura 36,37), principalmente no duodeno, bem como estruturas com material elétrico-denso (Figura 33) sugerindo ser lisossomos com IgG no citoplasma do duodeno, jejuno proximal, médio e distal, o que pode indicar a ocorrência de atividade proteolítica intracelular. Além disso, a partir das 36 horas, não foi mais observada endocitose em fase inicial (Figura 28), sugerindo o término da permeabilidade à macroproteínas.

Com relação aos tratamentos, a diferença mais pronunciada foi a maior presença de estruturas com material elétrico-denso, supostamente lisossomos, no grupo que recebeu acima de 120 mg mL^{-1} , às 24 e 36 horas de vida, comparado com os animais dos demais grupos. Em revisão sobre o processo de internalização e transferência de IgG em enterócitos, Junghans (1997) cita a sugestão descrita por Fahey e Robinson (1963) de um mecanismo que pode justificar os resultados do presente estudo, cujos autores verificaram que a disponibilidade de baixas concentrações de IgG ao enterócito faz com que todas as IgG sejam endocitadas, impedindo a degradação nos lisossomos, enquanto com altas concentrações, o sistema fica saturado por IgG e uma fração é catabolisada e degradada pelos lisossomos.

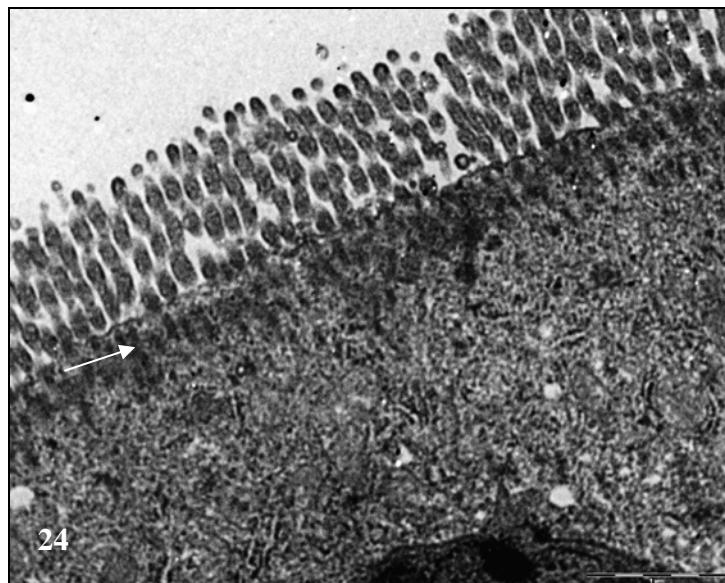


Figura 24 - Pólo apical de enterócito duodenal de bezerro recém-nascido apresentando trama terminal com prolongamento dos filamentos dos microvilos (seta), X7000

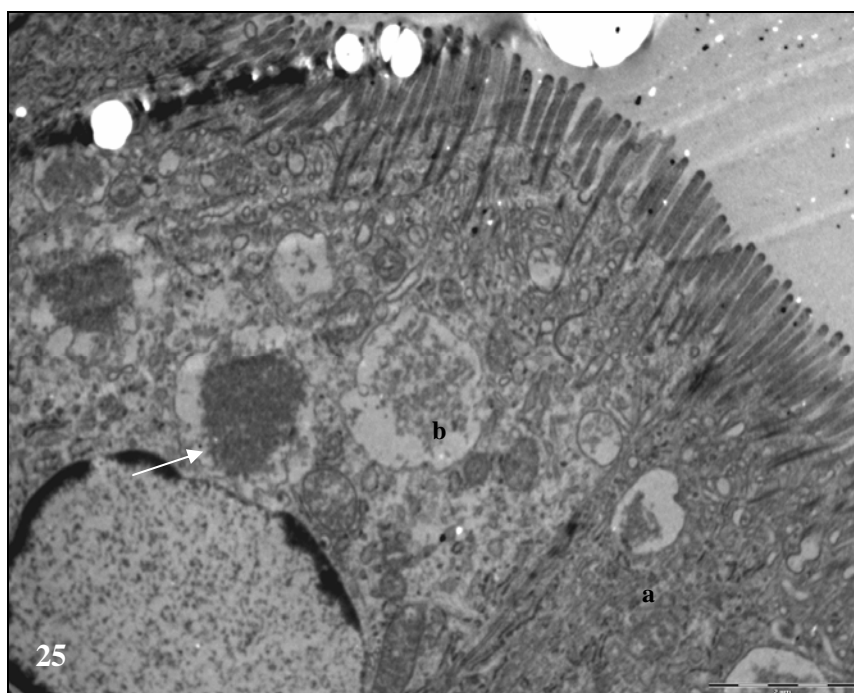


Figura 25 - Citoplasma apical de enterócito, às 24 horas, com presença de vacúolos com material elétrico-denso (seta), apresentando célula mais “escura” (a) e célula mais “clara” (b), X4400

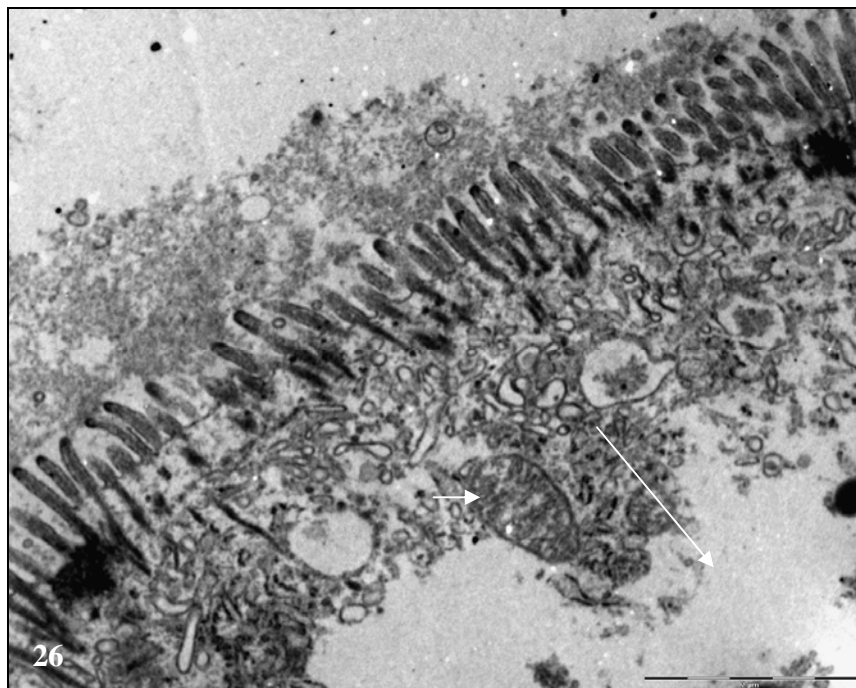


Figura 26 - Superfície apical da célula absorptiva do jejuno distal de bezerro com 36 horas de vida. O glicocálice não se encontra evidente e há presença de mitocôndrias (seta menor) e vacúolos na região supranuclear (seta maior), X4400

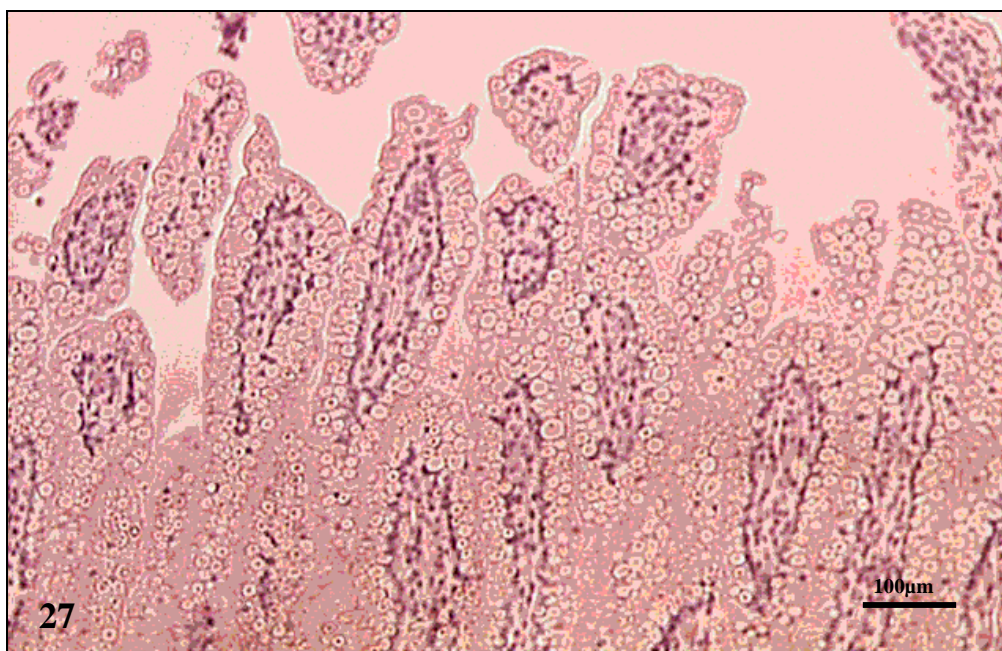


Figura 27 - Microscopia de luz de vilos do íleo de bezerro com 24 horas de vida apresentando grande quantidade de vesículas com colostro, X10

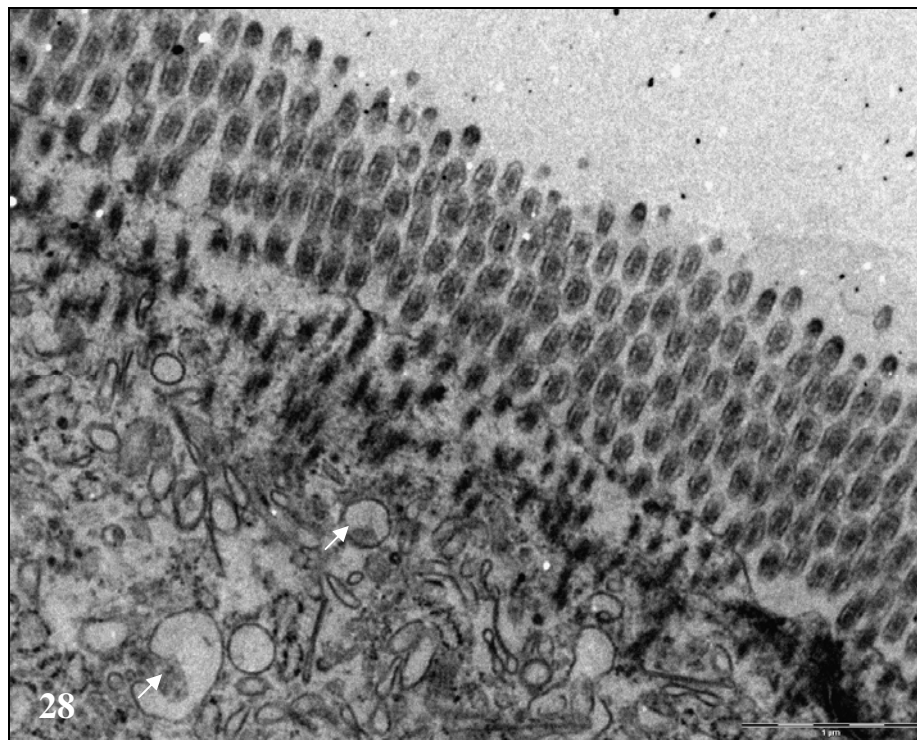


Figura 28 - Jejunum médio de bezerro com 36 horas de vida com túbulos dilatados situados na região apical do citoplasma (seta) e ausentes na trama terminal, X7000

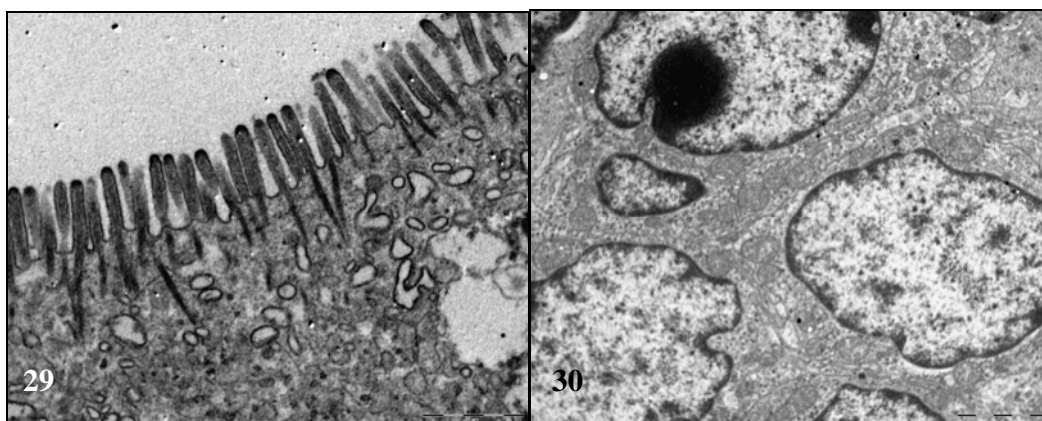


Figura 29 - Íleo de bezerro com 36 horas de vida com túbulos localizados no citoplasma na região supranuclear e ausentes na trama terminal, X7000

Figura 30 - Jejunum proximal de bezerro com 24 horas de vida com grande quantidade de vacúolos com material elétron denso situados na região supranuclear, X3000

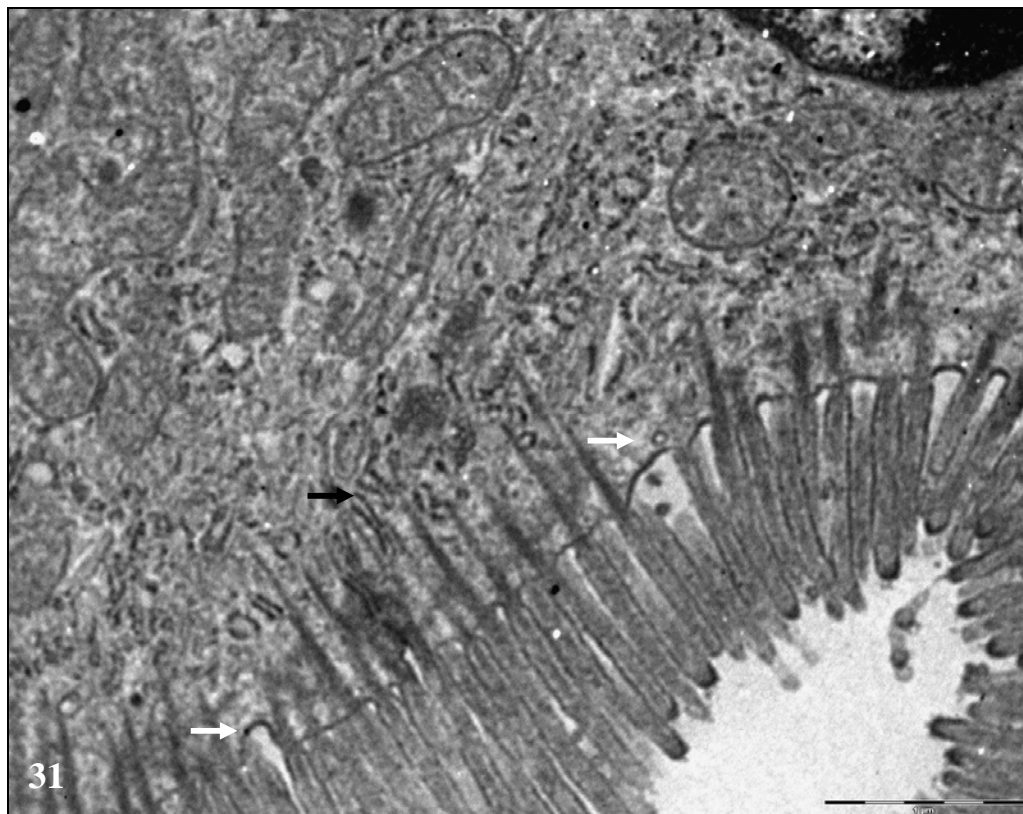


Figura 31 - Jejunum proximal de bezerro com 24 horas de vida apresentando invaginação da membrana, formação de pequenas vesículas (seta branca) e presença de túbulos (seta preta), X 7000

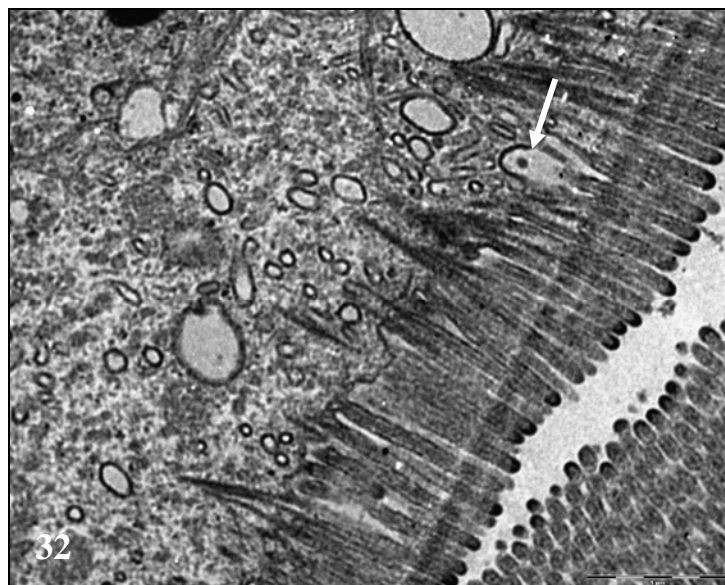


Figura 32 - Enterócito de jejunum distal de bezerro com 24 horas de vida com formação de vesícula (seta), processo de micropinocitose, X7000

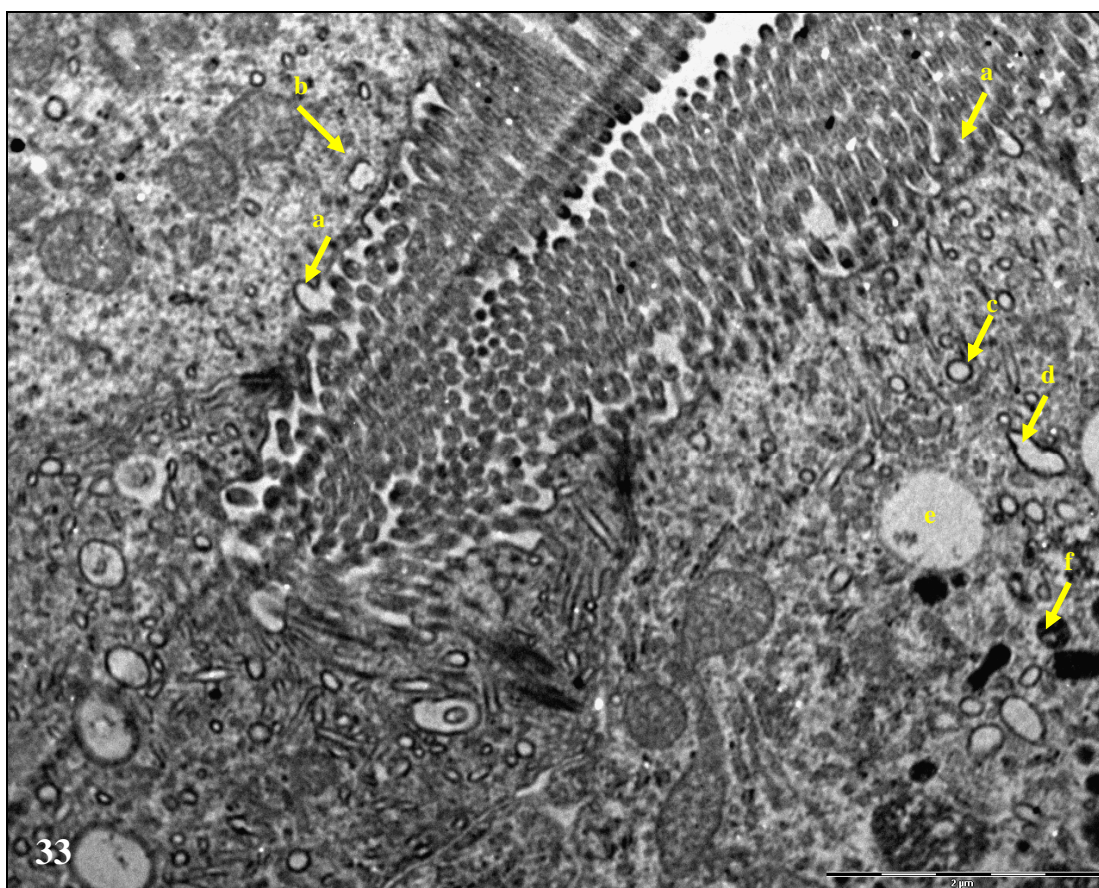


Figura 33 - Enterócito de jejuno distal de bezerro com 24 horas de vida mostrando diferentes fases do processo de absorção através de micropinocitose: a-formação de vesícula (seta); b-vesículas no pólo apical; c-vesículas deslocando-se no citoplasma para a região basal; d-vesículas dilatadas no citoplasma; e-vacúolos maiores e f-estrutura com material elétrico-denso

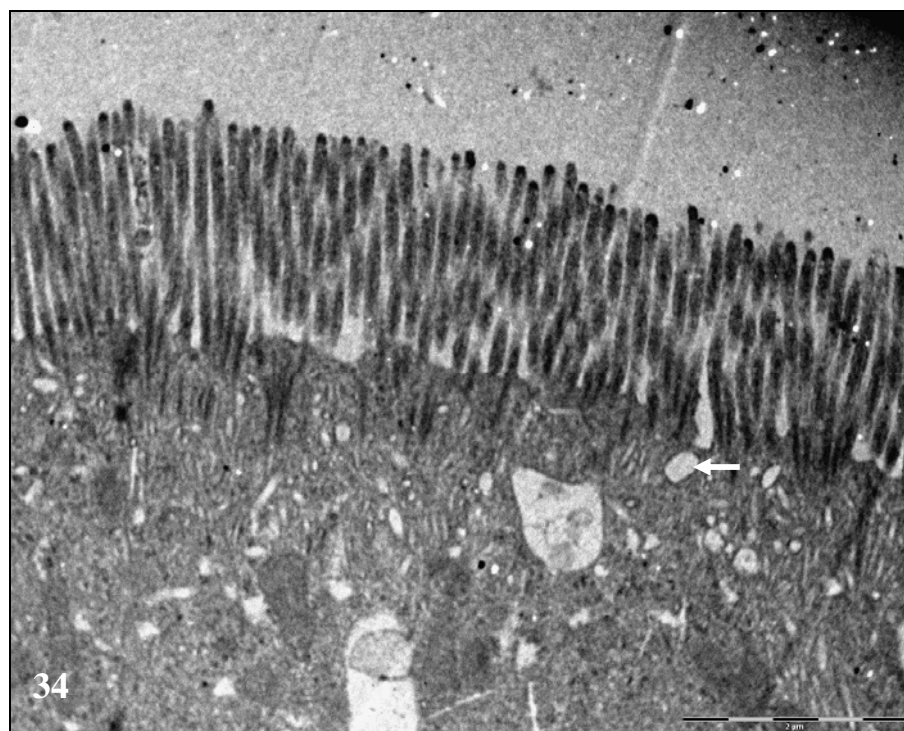


Figura 34 - Jejunum médio de bezerro com 24 horas de vida mostrando a fase final do processo de micropinocitose na região da trama terminal (seta), com formação e fechamento de vesícula, X3000

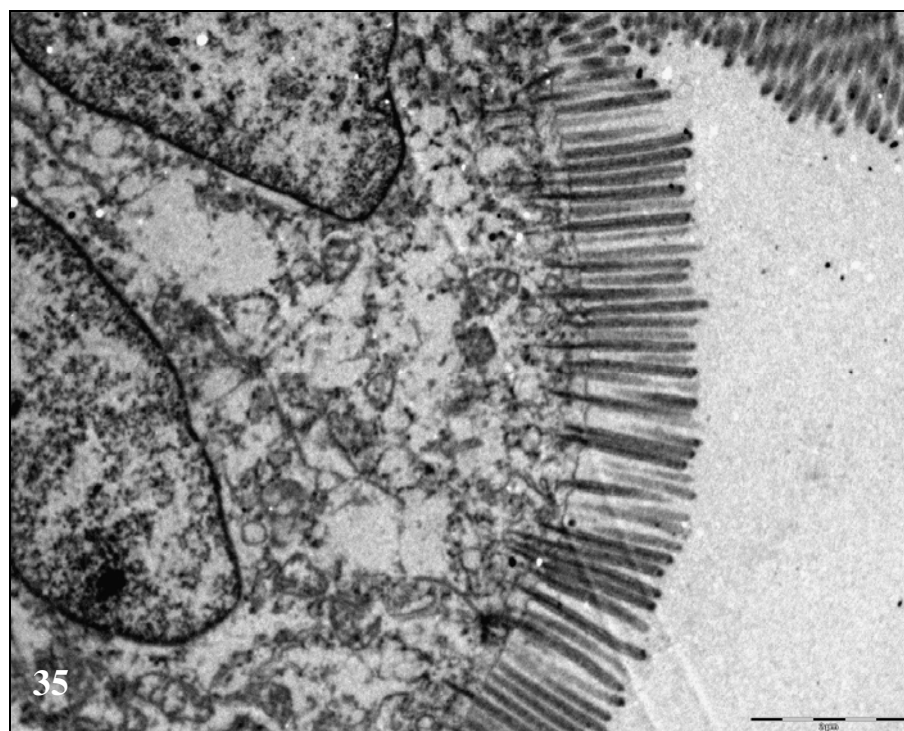


Figura 35 - Jejunum proximal de bezerro com 36 horas de vida, sem a presença de túbulos, X3000

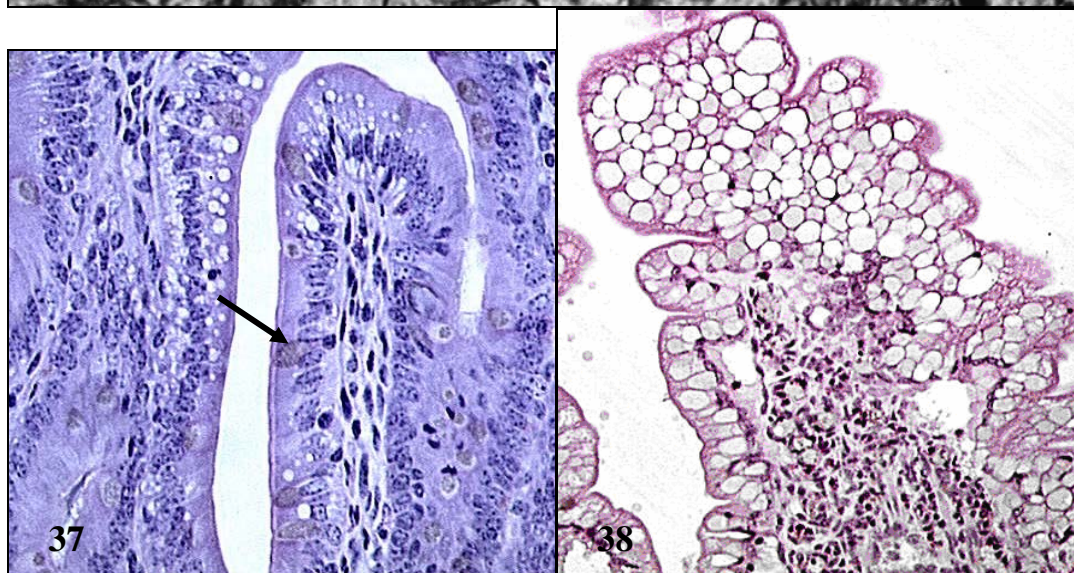
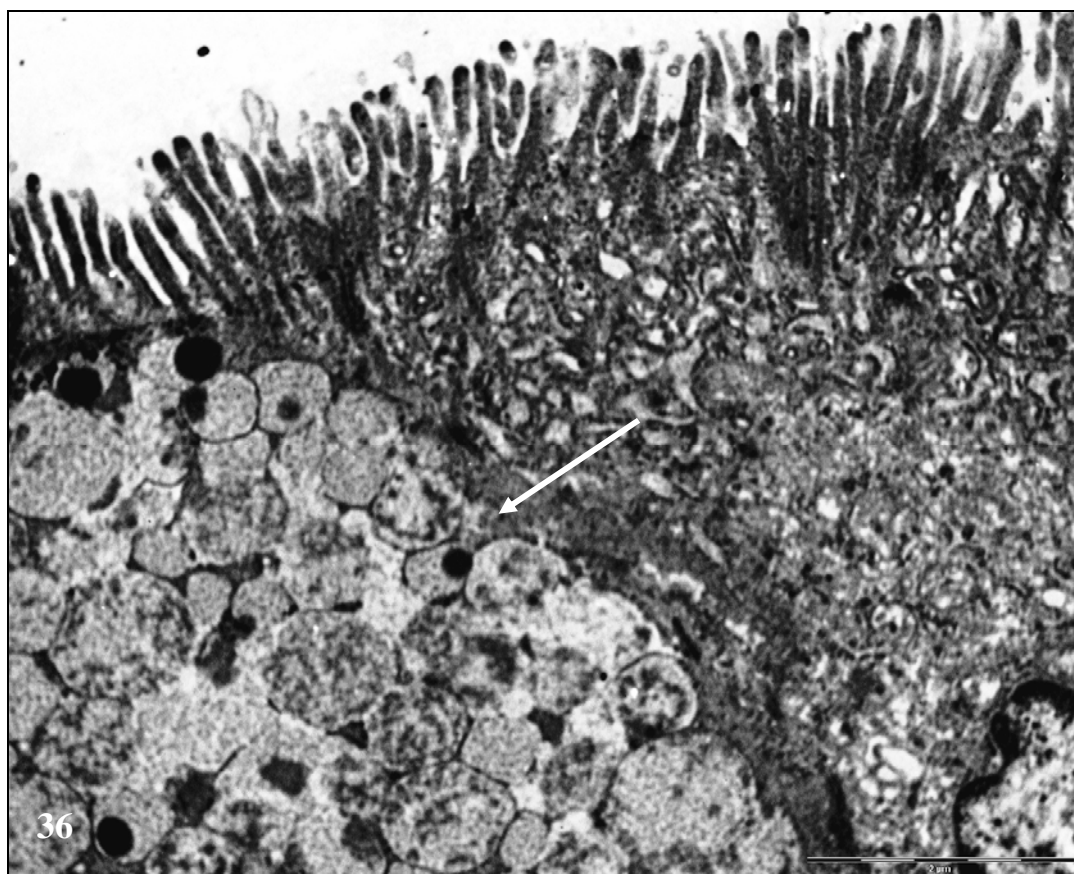


Figura 36 - Citoplasma apical de enterócito duodenal de bezerro com 24 horas de vida sem a presença de vesículas e túbulos. Células caliciformes com grânulos mucinógenos (seta), dispostas entre células epiteliais do intestino, X4400

Figura 37 - Microscopia de luz de vilos do duodeno de bezerro com 24 horas de vida com presença de células caliciformes (seta), X20

Figura 38 - Microscopia de luz de vilos do íleo de bezerro ao nascimento, com presença de vacúolos vazios, X40

4.3.2 Morfometria ultraestrutural dos enterócitos

Na análise dos valores médios da altura dos microvilos (nm), foi verificado efeito significativo de período ($P<0,0001$), segmentos ($P<0,0001$) e interação entre a massa total de IGF-I ingerida (μg) e os segmentos dentro de cada período ($P<0,0001$).

Na Figura 39, às 72 horas de vida, pode-se observar que os animais que ingeriram entre 500-1500 μg e 1500-2500 μg de IGF-I apresentaram maiores valores de altura dos microvilos do duodeno, $1111,48\pm 78,76$ ($P=0,01$) e $1138,67\pm 108,72$ nm ($P=0,0018$), respectivamente, comparado aos animais que receberam entre 0-500 μg , $991,35\pm 43,84$ nm.

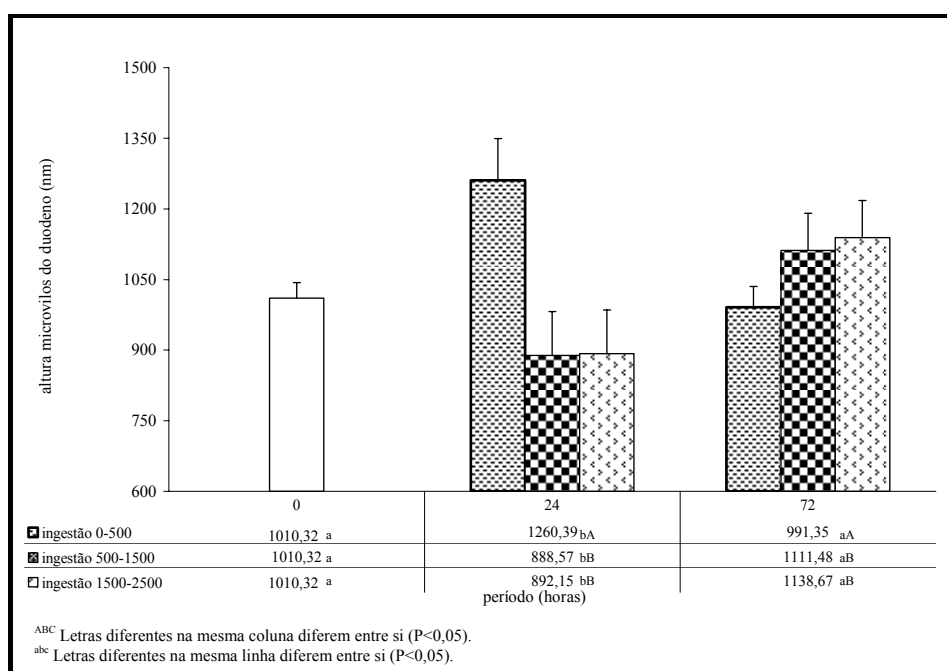


Figura 39 - Valores da altura (nm) dos microvilos do duodeno

Assim como no duodeno, no jejuno proximal (Figura 40), os animais que ingeriram entre 500-1500 e 1500-2500 μg de IGF-I apresentaram maiores ($P=0,0002$ e $P<0,0001$, respectivamente) valores de altura de microvilos comparado aos que ingeriram baixa quantidade (0-500 μg) apresentando valores, às 72 horas, de $1323,87\pm 58,82$ e $1358,21\pm 97,12$ nm, respectivamente.

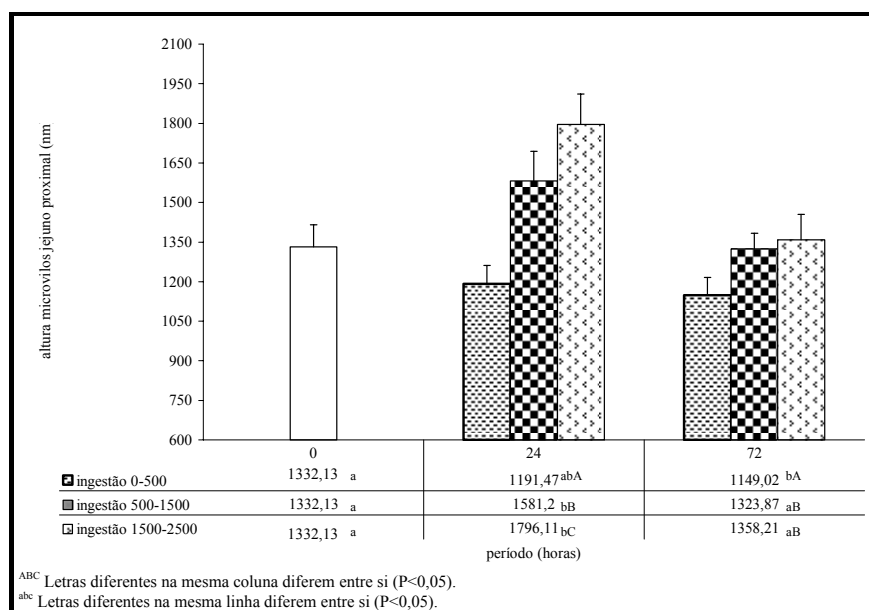


Figura 40 - Valores da altura (nm) dos microvilos do jejuno proximal

Analisando os valores, às 72 horas, da altura dos microvilos do jejuno médio (Figura 41) verificou-se diferença significativa ($P=0,05$) entre os animais que receberam entre 0-500 μg de IGF-I e os que receberam mais que 1500 μg , entretanto, os animais que ingeriram entre 1500-2500 μg de IGF-I não diferiram dos demais ($P=0,15$ e $P=0,22$, respectivamente).

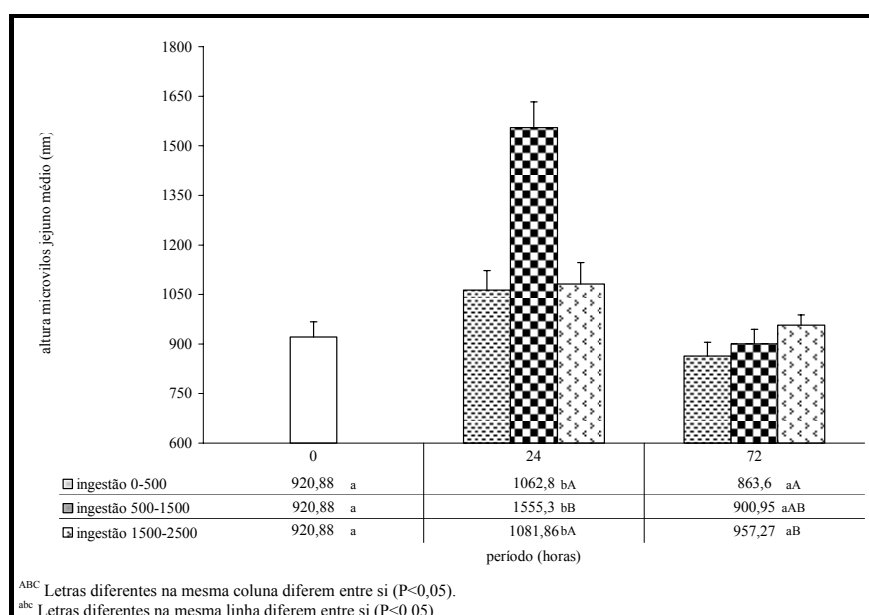


Figura 41 - Valores da altura (nm) dos microvilos do jejuno médio

No jejuno distal (Figura 42) e íleo (Figura 43), às 72 horas de vida, não foram encontradas diferenças significativas entre os valores de altura dos microvilos em função da massa de IGF-I ingerida (μg).

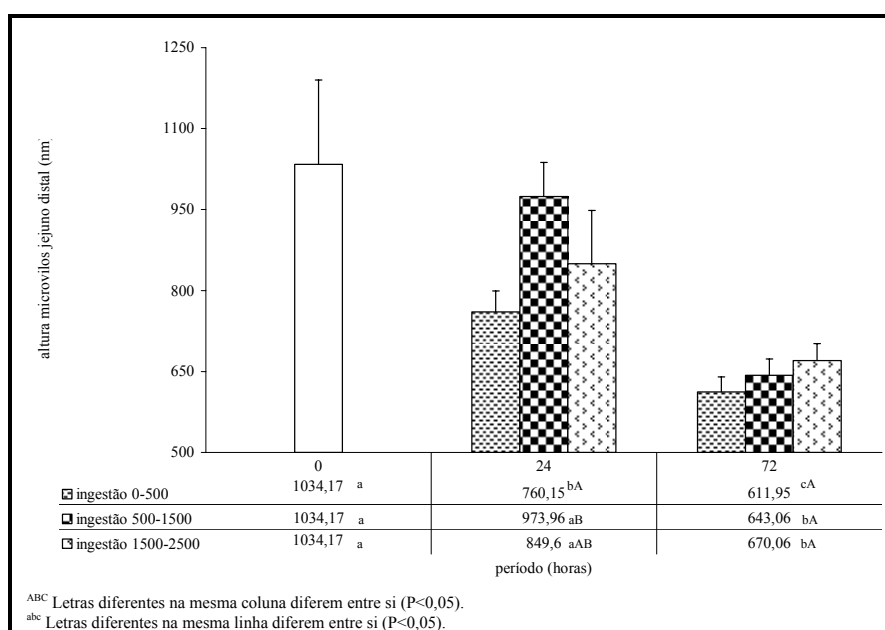


Figura 42 - Valores da altura (nm) dos microvilos do jejuno distal

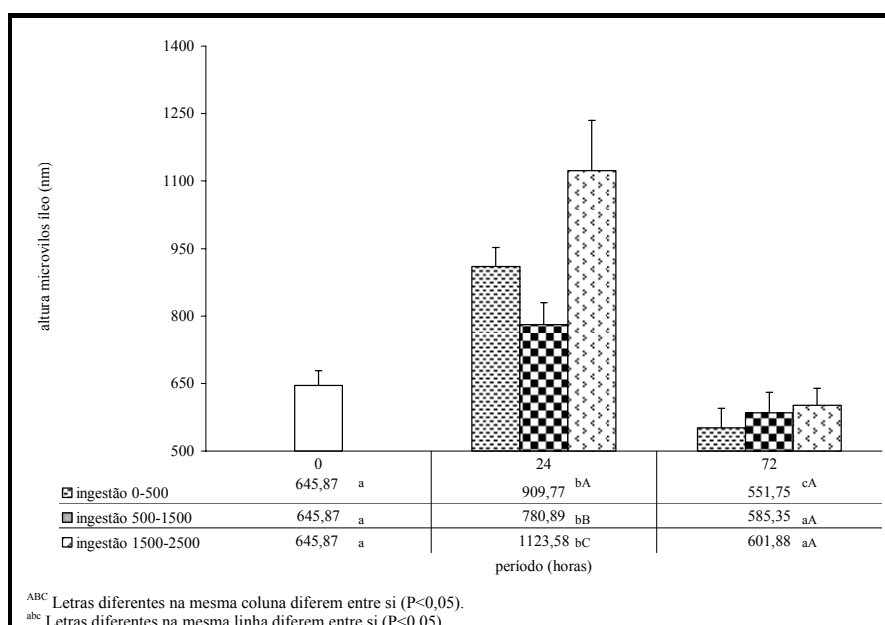


Figura 43 - Valores da altura (nm) dos microvilos do íleo

As discrepâncias nos valores de altura dos microvilos, do nascimento às 24 horas de vida, podem ter sido observadas pela diferença de gerações celulares presentes às 24 horas de idade.

Comparando o comportamento da altura dos microvilos do nascimento às 72 horas, os dados indicam que a massa de IGF-I ingerida influenciou a altura dos microvilos dos segmentos mais craniais (duodeno, jejuno proximal e jejuno médio) sugerindo um efeito local positivo sobre o desenvolvimento celular.

5 CONCLUSÕES

A flutuação sérica de IgG não foi afetada pela adição de colostro liofilizado à segunda refeição de colostro.

A ingestão de elevada quantidade de sólidos totais influenciou o processo de absorção de IgG.

A concentração de IGF-I sérico não foi afetada pela massa de IGF-I disponível no colostro.

O fornecimento de colostro com altas concentrações de imunoglobulinas e IGF-I por um período prolongado influenciou a morfologia da mucosa entérica de bezerros neonatos.

REFERÊNCIAS

ABD-EL-GAWAD, I.A.; EL-SAYED, E.M.; MAHFOUZ, M.B.; ABD-EL-SALAM, A.M. Changes of lactoferrin concentration in colostrum and milk from different species. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.24, n.9, p.297-308, 1996.

ANDERSON, T.F. Techniques for the preservation three-dimensional structures in preparing specimens for the electron microscope. Trans NY **Academic Science**, New York, US, v.13, p.130-134, 1951.

ANEMA, S.G. Effects of milk concentration on the irreversible thermal denaturation and disulfide aggregation of beta-lactoglobulin. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, London, GB, v.48, n.9, p.4168-4175, 2000.

ANTOHE, F.; RADULESCU, L.; GAFENCU, A.; GHETIE, V.; SIMIONESCU, M. Expression of functionally active FcRn and the differentiated bidirectional transport of IgG in human placental endothelial cells. **Human Immunology**, New York, US, v.62, n.2, p.93-105, 2001.

APPLEGATE, T.J.; DIBNER, J.J.; KITCHELL, M.L.; UNI, Z.; LILBURN, M.S. Effect of turkey (*Meleagris gallopavo*) breeder hen age and egg size on poult development. 2. Intestinal villus growth, enterocyte migration and proliferation of the turkey poult. **Comparative Biochemistry and Physiology**, New York, US, v.124, n.4, p.381-389, 1994.

ARGENZIO, A. Digestão, absorção e metabolismo. In: SWENSON, M.J. **Dukey's Fisiologia dos Animais Domésticos**. 10th ed., Ithaca: Cornell University Press, 1984, cap.3, p.263-264.

ARGÜELLO, A.; CASTRO, N.; ZAMORANO, M.J.; CASTROALONSO, A.; CAPOTE, J. Passive transfer of immunity in kid goats fed refrigerated and frozen goat colostrum and comercial sheep colostrum. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, NL, v.54, n.3, p.237-241, 2004.

ARTHINGTON, J. Managing colostrum in the newborn calf. **Large Animal Practice**, Mission Viego, Califórnia, US, v.18, n.5, p.29-33, 1997.

ARTHINGTON, J.D.; CATTELL, M.B.; QUIGLEY, J.D.; McCOY, G.C.; HURLEY, W.L. Passive immunoglobulin transfer in newborn calves fed colostrum or spray-dried serum protein alone or as a supplement to colostrum of varying quality. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.83, n.12, p.2834-2838, 2000.

ATTAIX, D.; MESLIN, J.C. Changes in small intestinal mucosa morphology and cell renewal in suckling, prolonged-suckling, and weaned lambs. **American Journal of Physiology**, Baltimore, Md., US, v.261, n.4, p.811-818, 1991.

AVRECH, O.M.; SAMRA, Z.; LAZAROVICH, Z.; CASPI, E.; JACOBOVICH, A.; SOMPOLINSKY. Efficacy of the placental barrier for immunoglobulins: correlations between maternal, paternal and fetal immunoglobulins levels. **International Archives of Allergy and Immunology**, Basel, Suíça, CH, v.103, n.8, p.160-165, 1994.

BADDELEY, A.; GUNDERSEN, H.J.G.; CRUZ-ORIVE, L.M. Estimation of surface area from vertical sections. **Journal of Microscopy**, Oxford, Inglaterra, GB, v.42, n.3, p.259-276, 1986.

BARACAT, R.S.; MACHADO NETO, R.; DANIELE, C.; BESSI, R.; PACKER, I.U. Influência do fornecimento prolongado de colostro sobre a flutuação de proteínas séricas em bezerros com diferentes níveis de imunidade passiva sérica. **Scientia Agricola**, Piracicaba, SP, v.52, n.3, p.537-542, 1995.

BARACAT, R.S.; MACHADO NETO, R.; DANIELE, C.; BESSI, R.; PACKER, I.U. Fornecimento prolongado de colostro e proteção passiva em bezerros recém-nascidos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, RJ, v.32, n.11, p.215-1220, 1997.

BAUMRUCKER, C.R.; BLUM, J.R. Secretion of insulin-like growth factors in milk and their effect on the neonate. **Livestock Production Science**, Amsterdam, NL, v.35, n.1/2, p.49-72, 1993.

BAUMRUCKER, C.R.; HADSELL, D.L.; BLUM, J.W. Effects of dietary insulin-like growth factor I on growth and insulin-like growth factor receptors in neonatal calf intestine. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.72, n.2, p.428-433, 1994.

BESSER, T.E.; OSBORN, D. Effect of bovine serum albumin on passive transfer of immunoglobulin G₁ to newborn calves. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, NL, v.37, n.3/4, p.321-327, 1993.

BESSER, T.E.; GARMEDIA, A.E.; McGUIRE, T.C. Effects of colostrum immunoglobulin G₁ and immunoglobulin M concentrations on immunoglobulin absorption in calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.68, n.8, p.2033-2037, 1985.

BESSER, T.E.; GAY, C.C.; PRITCHETT, L. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, Ill., US, v.198, n.3, p.419-422, 1991.

BESSI, R. **Efeito de selênio e vitamina E sobre o desenvolvimento imunológico de bezerros**. 1996. 102p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.

BESSI, R.; PAULETTI, P.; d'ARCE, R.D.; MACHADO NETO, R. Absorção de anticorpos do colostro em bezerros. I. Estudo no intestino delgado proximal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.31, n.6, p.2314-2324, 2002a.

BESSI, R.; PAULETTI, P.; d'ARCE, R.D.; MACHADO NETO, R. Absorção de anticorpos do colostro em bezerros. II. Estudo no intestino delgado distal. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.31, n.6, p.2325-2331, 2002b.

BITTRICH, S.; PHILIPONA, C.; HAMMON, H.M.; ROMÉ, V.; GUILLOTEAU, P.; BLUM, J.W. Preterm as compared with full-term neonatal calves are characterized by morphological and functional immaturity of the small intestine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.87, n.6, p.1786-1795, 2004.

BLÄTTLER, U.; HAMMON, H.M.; MOREL, C.; PHILIPONA, C.; RAUPRICH, A.; ROMÉ, V.; HUËROU-LURON, I.; GUILLOTEU, P.; BLUM, J.W. Feeding colostrum, its composition and feeding variably modify proliferation and morphology of the intestine and digestive enzyme activities of neonatal calves. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.131, n.4, p.1256-1263, 2001.

BLUM, J.W.; HAMMON, H. Endocrine and metabolic aspects in milk-fed calves. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, Mass, US: Butterworth Heinemann, v.17, n.2/3, p.219-230, 1999.

BLUM, J.W.; HAMMON, H. Colostrum effects on the gastrointestinal tract, and on, nutritional, endocrine and metabolic parameters in neonatal calves. **Livestock Production Science**, Amsterdam, NL, v.66, n.2, p.151-159, 2000.

BLUM, J.W.; BAUMRUCKER, C.R. Colostral and milk insulin-like growth factors and related substances: Mammary gland and neonatal (intestinal and systemic) targets. **Domestic Animal Endocrinology**, Stoneham, Mass, US: Butterworth Heinemann, v.23, n.1/2, p.101-110, 2002.

BOYD, J.W. The relationship between serum immune globulin deficiency and disease in calves: a farm survey. **Veterinary Record**, London, GB, v.90, n.23, p.645-649, 1972.

BRAMBELL, F.W.R. The passive immunity of the young mammal. **Biological Reviews**, Cambridge, Inglaterra, GB, v.33, n.4, p.488-531, 1958.

BRANDON, M.R.; LASCELLES, A.K. Relative efficiency of absorption of IgG₁, IgG₂, IgA and IgM in the newborn calves. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, Adelaide, Austrália, AU, v.49, n.6, p.629-633, 1971.

BRIGNOLE, T.J.; STOTT, G.H. Effect of suckling followed by bottle feeding colostrum on immunoglobulin absorption and calf survival. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.63, n.3, p.451-456, 1980.

BÜHLER, C.; HAMMON, H.; ROSSI, G.L.; BLUM, J.W. Small intestinal morphology in eight-day-old calves fed colostrum for different durations or only milk replacer and treated with long-R₃-insulin-like growth factor-I and growth hormone. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.76, n.3, p.758-765, 1998.

BURRIN, D.G.; WESTER, T.J.; DAVIS, T.A.; AMICK, S. Orally administered insulin-like growth factor-I increases mucosal growth in formula fed neonatal pigs. **American Journal of Physiology**, Baltimore, Md., US, v.270, n.5, p.1085-1091, 1996.

BURRIN, D.G.; DAVIS, T.A.; EBNER, S.; SCHOKNECHT, P.A.; FIOROTTO, M.L.; REEDS, P.J.; McAVOY, S. Nutrient-independent and nutrient-dependent factors stimulate protein synthesis in colostrum-fed newborn pigs. **Pediatric Research**, Baltimore, Md., US, v.37, n.5, p.593-599, 1995.

BUSH, L.J.; STALEY, T.E. Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.63, n.4, p.672-680, 1980.

BUSH, L.J.; MUNGLE, M.B.; CORLEY, L.D.; ADAMS, G.D. Factors affecting absorption of immunoglobulins by newborn dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.56, n.2, p.312, 1973.

BUTLER, J.E. Bovine immunoglobulins: A review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.52, n.12, p.1895-1909, 1969.

CLARKE, R.M.; HARDY, R.N. Histological changes in the small intestine of the young pig and their relation to macromolecular uptake. **Journal of Anatomy**, London, GB, v.108, Pt.1., p.63-77, 1971.

COMLINE, R.S.; ROBERTS, R.E.; TITCHEN, D.A. Histological changes in the epithelium of the small intestine during protein absorption in the newborn animal. **Nature**, London, GB, v.168, n.4263, p.84-85, 1951.

CSAPO, J.J.; KESZTHELYIL, T.; CSAPO-KISS, Z.; LENGYEL, A.; ANDRASSY-BAKA, B.; VARGA-VISI, E. Composition of colostrum and milk of different breeds of ewes. **Acta Agraria Kaposvariensis**, Praha, CS, v.2, p.1-21, 1998.

DAHLY, E.M.; GUO, Z.W.; NEY, D.M. Alterations in enterocyte proliferation and apoptosis accompany TPN-induced mucosal hyperplasia and IGF-I-induced hyperplasia in rats. **Journal of Nutrition**, Champaign, Ill., US, v.132, p.2010-2014, 2002.

DANIELE, C.; MACHADO NETO, R.; BARACAT, R.S.; BESSI, R.; PACKER, I.U. Efeito de diferentes manejos no fornecimento prolongado de colostro sobre o comportamento imunológico e desempenho de bezerros leiteiros recém-nascidos. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.23, n.2, p.211-222, 1994.

DAVENPORT, D.F.; QUIGLEY, J.D.; MARTIN, J.E.; HOLT, J.A.; ARTHINGTON, J.D. Addition of casein or whey protein to colostrum or a colostrum supplement product on absorption of IgG in neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.83, n.12, p.2813-2819, 2000.

DEVERY, J.E.; DAVIS, C.L.; LARSON, B.L. Endogenous production of immunoglobulin IgG₁ in newborn calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.62, n.11, p.1814-1818, 1979.

DIBNER, J.J.; KITCHELL, M.C.; ATWELL, C.A.; IVEY, E.I. Antinutritional factors. **Journal Applied Poultry Research**, Athens, Ga., US, v.5, n.1, p.70-77, 1996.

DICKINSON, B.L.; BADIZADEGAN, K.; WU, Z.; AHOUSE, J.C.; ZHU, X.; SIMISTER, N.E.; BLUMBERG, R.S.; LENCER, W.I. Bidirectional FcRn-dependent IgG transport in a polarized human intestinal epithelial cell line. **Journal of Clinical Investigation**, New York, US, v.104, n.7, p.903-911, 1999.

DIXON, F.J.; WEIGLE, W.O.; VAZQUEZ, J.J. Metabolism and mammary secretion of serum proteins in the cow. **Laboratory Investigation**, Hagerstown, Md., US, v.10, n.2, p.216-236, 1961.

DONOVAN, S.M.; CHAO, C.-J.; ZILSTRA, R.T.; ODLE, J. Orally administered iodinated recombinant human insulin-like growth factor-I (¹²⁵I-rhIGF-I) is poorly absorbed by the newborn piglet. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.24, n.2, p.174-182, 1996.

DONOVAN, G.A.; BADINGA, L.; COLLIER, R.J.; WILCOX, C.J.; BRAUN, R.K. Factors influencing passive transfer in dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.69, n.3, p.754-759, 1986.

EDWARDS, S.A.; BROOM, D.M.; COLLIS, S.C. Factors affecting levels of passive immunity in dairy calves. **British Veterinary Journal**, London, GB, v.138, n.3, p.233-240, 1982.

EGLI, C.P.; BLUM, J.W. Clinical, hematological, metabolic and endocrine traits during the first three months of life of suckling Simmentaler calves held in a cow-calf operation. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, Ill., US, v.45, n.2, p.99-118, 1998.

FAGLIARI, J.J.; FERREIRA NETO, J.M.; LUCAS, A.; NETO, J.A. Proteína total e fracionamento eletroforético do soro de bezerros Guzerá passivamente imunizados contra paratifo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v.35, n.3, p.317-332, 1983.

FAHEY, J.L.; ROBINSON, A.G. Factors controlling serum γ -globulin concentration. **Journal of Experimental Medicine**, New York, US, v.118, n.5, p.845-868, 1963.

FANTOVA, M.; ZIKOVA, E. Spectrum of minerals in the colostrum of ewes. **Zivocisna Vyroba**, Praha, CS, v.33, n.7, p.635-642, 1988.

FERRER L.; FONDEVILA D.; RABANAL R.M.; VILAFRANCA M. Immunohistochemical detection of CD31 antigen in normal and neoplastic canine endothelial cells. **Journal of Comparative Pathology**, Edinburgh, Inglaterra, GB, v.112, n.4, p.319-326, 1995.

FERRI, R.B.; CALICH, V.L.G.; COPPI VAZ, C.A. **Imunologia**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1979. 317p.

FLEENOR, W.A.; STOTT, G.H. Hydrometer test for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.63, n.6, p.973-977, 1980.

FOLEY, J.A.; OTTERBY, D.E. Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrum: A review. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.61, n.8, p.1033-1060, 1978.

GAJDŮSEK, S.; KRAÈMAR, S.; KUČTÍK, J.; JELÍNEK, P. Changes in basic composition of sheep colostrum (during first 72 hours after parturition). **Acta University Agricultural et Silvicural Mendel**, Praha, CS, v.51, n.1, p.55-60, 2003.

GARRY, F; ADAMS, R.; CATTELL, M.B.; DINSMORE, R.P. Comparison of passive immunoglobulin transfer to dairy calves fed colostrum or commercially available colostrum-supplement products. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, Ill., US, v.208, n.1, p.107-110, 1996.

GAY, C.C. Colostrum research says fed 4 quarts for healthier calves. **Hoard's Dairyman**. Fort Atkinson, Wis., US, v.139, n.6, p.256, 1994.

GAY, C.C.; ANDERSON, N.; FISHER, E.W.; McEWAN, A.D. Gammaglobulin levels and neonatal mortality in market calves. **Veterinary Record**, London, GB, v.77, n.34, p.148-149, 1965.

GROSVENOR, C.E.; PICCIANO, M.F.; BAUMRUCKER, C.R. Hormones and growth factors in milk. **Endocrine Reviews**, Baltimore, Md., US, v.14, n.6, p.710-728, 1993.

GUILLOTEAU, P.; HUÈROU-LURON, I.; CHAYVIALLE, A.; TOULLEC, R.; ZABIELSKI, R.; BLUM, J.W. Gut regulatory peptides in young cattle and sheep. **Journal of Veterinary Medicine Series A-Physiology Pathology Clinical Medicine**, Berlin, DE, v.44, n.1, p.1-23, 1997.

HADJIPANAYIOTOU, M. Composition of ewe, goat and cow milk and of colostrum of ewes and goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, NL, v.18, n.3, p.255-262, 1995.

HADORN, U.; HAMMON, H.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Delaying colostrum intake by one day has important effects on metabolic traits and on gastrointestinal and metabolic hormones in neonatal calves. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.127, n.10, p.2011-2023, 1997.

HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. The somatotrophic axis in neonatal calves can be modulated by nutrition, growth hormone, and long-R3-IGF-I. **American Journal of Physiology**, Baltimore, Md., US, v.273, n.1, p.E130-E138, 1997.

HAMMON, H.M.; ZANKER, I.A.; BLUM, J.W. Delayed colostrum feeding affects IGF-I and insulin plasma concentrations in neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.83, n.1, p.85-92, 2000.

HAMMON, H.M.; SCHIESSLER, G.; NUSSBAUM, A.; BLUM, J.W. Feed intake patterns, growth performance, and metabolic and endocrine traits in calves fed unlimited amounts of colostrum and milk by automate, starting in the neonatal period. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.85, n.12, p.3352-3362, 2002.

HARDON, U.; HAMMON, H.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Delaying colostrum intake by one day has important effects on metabolic traits and on gastrointestinal and metabolic hormones in neonatal calves. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.127, n.10, p.2011-2023, 1997.

HARDY, R.N.; HOCKADAY, A.R.; TAPP, R.L. Observations on the structure of the small intestine in foetal, neo-natal and suckling pigs. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London**, Series B., London, GB, v.259, n.834, p.517-531, 1971.

HEDEMANN, M.S.; HOJSGAARD, S.; JENSEN, B.B. Small intestinal morphology and activity of intestinal peptidases in piglets around weaning. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, Berlin, DE, v.87, n.1/2, p.32-41, 2003.

HOLLOWAY, N.M.; TYLER, J.W.; LAKRITZ, J.; CARLSON, S.; HOLLE, J. Serum immunoglobulins G concentrations in calves fed fresh and frozen colostrum. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, Ill., US, v.219, n.3, p.357-359, 2001.

HOULE, V.M.; SCHROEDER, E.A.; ODLE, J.; DONOVAN, S.M. Small intestinal disaccharidase activity and ileal villus height are increased in piglets consuming formula containing recombinant human insulin-like growth factor-I. **Pediatric Research**, Baltimore, Md., US, v.42, n.1, p.78-86, 1997.

HOWARTH, G.S. Insulin-like growth factors-I and the gastrointestinal system: Therapeutic indications and safety implications. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.133, n.7, p.2109-2112, 2003.

HUSBAND, A.J.; LASCELLES, A.K. Antibody responses to neonatal immunization in calves. **Research in Veterinary Science**, London, GB, v.18, n.2, p.201-207, 1975.

HUSBAND, A.J.; BRANDON, M.R.; LASCELLES, A.K. Absorption and endogenous production of immunoglobulins in calves. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, Adelaide, Australia, AU, v.50, n.4, p.491-498, 1972.

HUSU, J.; SYVÄOJA, E.L.; AHOLA-LUTTILA, H.; KALSTA, H.; SIVELÄ, S.; KOSUNEN, T.U. Production of hyperimmune bovine colostrum against *Campylobacter jejuni*. **The Journal of applied Bacteriology**, England, v.74, n.5, p.564-569, 1993.

- INOUE, T.; KITANO, K.; INOUE, K. Possible factors influencing the immunoglobulin G concentration in swine colostrum. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.41, n.7, p.1134-1136, 1980.
- JASTER, E.H. Evaluation of quality, quantity and timing of colostrum feeding on immunoglobulin G₁ absorption in Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.88, n.1, p.296-302, 2005.
- JEFFCOTT L.B. Passive immunity and its transfer with special reference to the horse. **Biological Reviews**, Cambridge, Inglaterra, GB, v.47, n.4, p.439-464, 1972.
- JENNY, B.F.; HODGE, S.E.; O'DELL, G.D.; ELLERS, J.E. Influence of colostrum preservation and sodium bicarbonate on performance of dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.67, n.2, p.313-318, 1984.
- JOCHIMS, K.; KAUP, F.J.; DROMMER, W. Immunoelectron microscopical demonstration of the absorption of colostrum IgG by small intestinal enterocytes in newborn rats. **Research in Veterinary Science**, London, GB, v.57, n.2, p.146-151, 1994.
- JUNGHANS, R.P. Finally! The Brambell receptor (FcRB). **Immunologic Research**, Basel, Suíça, CH, v.16, n.1, p.29-57, 1997.
- KAUP, F.-K.; TSEN, M.-F.; GHETIE, V.; WARD, E.S. Ultrastructure of pre and postcolostral enterocytes of the newborn calf. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, Berlin, DE, v.25, n.4, p.249-255, 1996.
- KLOBASA, F.; GOEL, M.C.; WERHAHN, E. Comparison of freezing and lyophilizing for preservation of colostrum as a source of immunoglobulins for calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.76, n.4, p.923-926, 1998.
- KLOBASA, F.; WERHAHM, E.; BUTLER, J.E. Composition of sow milk during lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.64, n.5, p.1458-1466, 1987.
- KRAMER, T.T.; CHO, H.C. Transfer of immunoglobulins and antibodies in the hen's egg. **Immunology**, Oxford, Inglaterra, GB, v.19, n.1, p.157-167, 1970.
- KRUSE, P.E. Absorption of immunoglobulin from colostrum in newborn calves. **Animal Production**, Bletchley, Inglaterra, GB, v.12, n.4, p.627-638, 1970.
- KRUSE, P.E. The importance of colostrum immunoglobulin and their absorption from the intestine of the newborn animals. **Annales de Recherches Veterinaires**, Versailles, França, FR, v.14, n.4, p.349-353, 1983.
- KÜHNE, S.; HAMMON, H.M.; BRUCKMAIER, R.M.; BLUM, J.W. Growth performance, metabolic and endocrine traits, and absorptive capacity in neonatal calves fed either colostrum or milk replacer at two levels. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.78, n.3, p.609-620, 2000.

LARSON, R.E.; WARD, A.C.S.; FREDERIKSEN, K.R.; ARDREY, W.B.; FRANK, F.W. Capability of lambs to absorb immunoproteins from freeze-dried bovine colostrum. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.35, n.8, p.1061-1063, 1974.

LECCE, J.G.; MORGAN, D.O. Effect of dietary regime on cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in the neonatal pig and lamb. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.78, n.3, p.263-268, 1962.

LECCE, J.G.; BROUGHTON, C.W. Cessation of uptake of macromolecules by neonatal guinea pig, hamster and rabbit intestinal epithelium (closure) and transport into blood. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.103, p.744-750, 1973.

LeROITH, D.L. Insulin-like growth factor. **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart, Alemanha, DE, v.31, n.2/3, p.41-42, 1999.

LODDI, M.M. **Probióticos, prebióticos e acidificante orgânico em dietas para frangos de corte**. 2003. 52p. Tese (Doutorado em Zootecnia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Jaboticabal, 2003.

LOPEZ, J.W.; STANLEY, D.A.; MITCHELL, J.; QUINN, M. Rotavirus and cryptosporidium shedding in dairy calf feces and its relationship to colostrum immune transfer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.71, n.5, p.1288-1294, 1988.

LUCCI, C. **Bovinos leiteiros jovens**. São Paulo: Nobel / EDUSP, 1989. 371p.

MACARI, M. Mecanismos de proliferação e reparação da mucosa gastrintestinal em aves. **In: SIMPÓSIO DE COCCIDIÓSE E ENTERITE**, 1995, Campinas. **Anais...Campinas:CBNA**, 1995. p. 29-48.

MACARI, M. A Fisiologia do sistema digestivo das aves (I). **Aves e Ovos**, Campinas, n.8/9, p.12-20, 1999.

MacDONALD, R.S. The role of insulin-like growth factors in small intestinal cell growth and development. **Hormone Metabolic Research**, Stuttgart, Alemanha, DE, v.31, n.2/3, p.103-113, 1999.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U. Flutuação de imunoglobulina sérica em bezerros da raça holandesa submetidos a diferentes regimes de aleitamento. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.15, n.5, p.439-447, 1986.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; SUSIN, I. Concentração de imunoglobulina sérica, peso corporal e diarreia em bezerros da raça Holandesa aleitados com diferentes dietas. **Turrialba**, San José, Costa Rica, v.39, n.1, p.51-55, 1989.

MACHADO NETO, R.; CASSOLI, L.D.; BESSI, R.; PAULETTI, P. Avaliação do fornecimento adicional de colostro para bezerros. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.33, n.2, p.420-425, 2004.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; MENTEN, J.F.; LAVORENTI, A. Efeito da raça, dieta, época e ordem de parição na concentração de imunoglobulina G no colostro de suínos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v.36, n.10, p.1295-1299, 2001.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BONILHA, L.M.; FIGUEIREDO, L.A.; RAZZOK, A.G.; CÂNDIDO, J.G. Concentração de IgG sérica em bezerros das raças Nelore, Guzerá, Gir e Caracu. 1. Estatísticas descritivas e causas de variação. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.26, n.5, p.914-919, 1997a.

MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BONILHA, L.M.; FIGUEIREDO, L.A.; RAZZOK, A.G.; CÂNDIDO, J.G. Concentração de IgG sérica em bezerros das raças Nelore, Guzerá, Gir e Caracu. 2. Efeitos sobre crescimento e mortalidade até a desmama. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.26, n.5, p.920-923, 1997b.

MANCINI, G; CARBONARA, A.O.; HERMANS, J.F. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. **Immunochemistry**, Oxford, Inglaterra, GB, v.2, n.3, p.253-254, 1965.

MATEO, CD; PETERS, DN; STEIN, H.H. Nucleotides in sow colostrum and milk at different stages of lactation. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.82, n.5, p.1339-1342, 2004.

MAYER, B.; ZOLNAI, A.; FRENYO, L.V.; JANCSIK, V.; SZENTIRMAY, Z.; HAMMARSTROM, L.; KACSKOVICS, I. Localization of the sheep FcRn in the mammary gland. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, NL, v.87, n.3/4, p.327-330, 2002.

McCOY, G.C.; RENEAU, J.K.; HUNTER, A.G.; WILLIAMS, J.B. Effects of diet and time on blood serum proteins in the newborn calf. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.53, n.3, p.358-362, 1970.

McEWAN, A.D.; FISHER, E.W.; SELMAN, I.E.; PENHALE, W.J. A turbidity test for the estimation of immunoglobulin levels in neonatal calf serum. **Clínica Chimica Acta**, Amsterdam, NL, v.27, p.155-163, 1970.

MEBUS, C.A.; NEWMAN, L.E.; STAIR, E.L. Scanning electron, light, and transmission electron microscopy of intestine of gnotobiotic calf. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.36, n.7, p.985-993, 1975.

MECHOR, G.D.; GRÖHN, Y.T.; VAN SAUN, R.J. Effect of temperature on colostrometer readings for estimation of immunoglobulin concentration in bovine colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.74, n.11, p.3940-3943, 1991.

MEE, J.F.; FARRELL, K.J.; RATSMA, P.; MEHRA, R. Effect of a whey protein concentrate used as a colostrum substitute or supplement on calf immunity, weight gain, and health. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.79, n.5, p.886-894, 1996.

MEYER, H.; LUSTERMANN, H.; STEINBACH, G.; LEIRER, R.; TOTTENBORN, W.; REICHARD, S. Konservierung von Rinderkolostrum. **Mh. Veterinary Medicine**, Lenexa, Ks., US, v.37, p.27-33, 1982.

MICHANEK, P.; VENTORP, M.; WESTROM, B. Intestinal transmission of colostrum antibodies in newborn dairy calves - Initiation of closure by feeding colostrum. **Swedish Journal of Agricultural Research**, Stockholm, SE, v.19, p.125-127, 1989.

MORGAN, C.J.; COUTTS, A.G.P.; McFADIEN, M.C.; KING, T.P.; KELLY, D. Characterization of IGF-I receptors in the porcine small intestine during postnatal development. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, Stoneham, Mass., US, v.7, n.6, p.339-347, 1996.

MORIN, D.E.; McCOY, G.C.; HURLEY, W.L. Effects of quality, quantity, and timing of colostrum feeding and addition of a dried colostrum supplement on immunoglobulin G₁ absorption in Holstein bull calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.80, n.4, p.747-753, 1997.

MORRIS, I.G. Gama globulin absorption in the newborn. In: CODE, C.F. **Handbook of Physiology: Alimentary canal**. American Physiology Society: Baltimore: 1968. chap.3, p.1491-1512.

MULLER, L.D.; SYHRE, D.R. Influence of chemicals and bacterial cultures on preservation of colostrum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.58, n.6, p.957-961, 1975.

MULLER, L.D.; ELLINGER, D.K. Colostral immunoglobulin concentration among breeds of dairy cattle. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.64, n.8, p.1727-1730, 1981.

NAYLOR, J.M.; KRONFELD, D.S. Refractometry as a measure of the immunoglobulin status of the newborn calf: Comparison with the zinc turbidity test and single radial immunodiffusion. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.38, n.9, p.1331-1334, 1977.

NEWBY, T.J.; STOKES, C.R.; BOURNE, F.J. Immunological activities of milk. A review. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, Amsterdam, NL, v.3, n.1/2, p.67-94, 1982.

NOCEK, J.E.; BRAUND, D.G.; WARNER, R.G. Influence of neonatal colostrum administration, immunoglobulin, and continued feeding of colostrum on calf gain, health and serum protein. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.67, n.2, p.319-333, 1984.

NORMAN, L.M.; HOHENBOKEN, W.D.; KELLEY, K.W. Genetic differences in concentration of immunoglobulins G₁ and M in serum and colostrum of cows and in serum of neonatal calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.53, n.6, p.1465-1472, 1981.

NUSSBAUM, A.; SCHIESSLER, G.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Growth performance and metabolic and endocrine traits in calves pair-fed bucket or by automate starting in the neonatal period. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.80, n.6, p.1545-1555, 2002.

ODLE, J.; ZIJLSTRA, R.T.; DONOVAN, S.M. Intestinal effects of milk borne growth factors in neonates of agricultural importance. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.74, n.10, p.2509-2522, 1996.

OUDAR, J., LARVOR, P., DARDILLAT, J.; RICHARD, Y. L'immunité d'origine colostrale chez le veau. **Recueil de Médecine Vétérinaire**, Maisons, França, FR, v.127, p.1309-1346, 1976.

OYENIYI, O.O.; HUNTER, A.G. Colostral constituents including immunoglobulins in the first three milkings postpartum. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.61, n.1, p.44-48, 1978.

PAULETTI, P. **Efeito de diferentes níveis iniciais de imunoglobulinas adquiridas do colostro sobre a flutuação de proteínas séricas e desempenho de bezerras da raça Holandesa**. 1999. 104p. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1999.

PAULETTI, P. **Fator de crescimento semelhante à insulina-I no período de formação e transferência de imunidade passiva para bezerros recém-nascidos**. 2003. 123p. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2003.

PAULETTI, P.; MACHADO NETO, R.; PACKER, I.U.; BESSI, R. Avaliação de níveis séricos de imunoglobulina, proteína e o desempenho de bezerras da raça Holandesa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Rio de Janeiro, RJ, v.37, n.1, p.89-94, 2002.

PEDERSEN, R.E.; PAULRUD, C.O.; TUCKER, W.B. Influence of bovine antiserum (Bo-Bac 2X) injection on colostral immunoglobulin G absorption in neonatal dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.83, n.12, p.2829-2833, 2000.

PERINO, L.J.; RUPP, G.P. Immunization of the beef cow and its influence on fetal and neonatal calf health. **The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, Philadelphia, Pa., US, v.10, n.1, p.15-34, 1994.

PETERSON, C.A.; CAREY, H.V.; HINTON, P.L.; LO, H.C.; NEY, D.M. GH elevates serum IGF-I levels but does not alter mucosal atrophy in parenterally fed rats. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and liver Physiology**, Baltimore, Md., US, v.272, p.G1100-G1108, 1997.

PIRES, M.F.A.; CAMPOS, de F.O.; CHARLES, T.N.P.; DURÃES, M.C. Alguns fatores que afetam o nível das imunoglobulinas no soro dos bezerros de rebanhos leiteiros. **Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, MG, v.22, n.6, p.984-992, 1993.

PLUSKE, J.R.; HAMPSON, D.J. e WILLIAMS, I.H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. **Livestock Production Science**, Amsterdam, NL, v.51, n.1/3, p.215-236, 1997.

PORTER, P. Immunoglobulins in bovine mammary secretions. Quantitative changes in early lactation and by the neonatal calf. **Immunology**, Oxford, Inglaterra, GB, v.23, n.2, p.225-238, 1972.

PORTER, P. The immune system. In: DUNNE, H. W.; LEMAN, A. D. **Disease of swine**, 1975. 1212p.

PORTER, P. Immunoglobulin mechanisms in health and nutrition from birth to weaning. **Proceedings of the Nutrition Society**, Cambridge, Inglaterra, GB, v.35, n.3, p.273-282, 1976.

PORTER, P. Structural and functional characteristics of immunoglobulins of the common domestic species. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, San Diego, Califórnia, US, v.23, p.1-21, 1979.

QUIGLEY, J.D.; DREWRY, J.J. Nutrient and immunity transfer from cow to calf pre- and postcalving. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.81, n.10, p.2779-2790, 1998.

QUIGLEY, J.D.; KOST, C.J.; WOLFE, T.M. Absorption of protein and IgG in calves fed a colostrum supplement or replacer. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.85, n.5, p.1243-1248, 2002.

QUIGLEY, J.D.; STROHBEHN, R.E.; KOST, C.J.; O'BRIE, M.M. Formulation of colostrum supplements, colostrum replacers and acquisition of passive immunity in neonatal calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.84, n.9, p.2059-2065, 2001.

QUIGLEY, J.D.III; MARTIN, K.R.; BEMIS, D.A.; POTGIETER, L.N.D.; REINEMEYER, C.R.; ROHRBACH, B.W.; DOWLEN, H.H.; LAMAR, K.C. Effects of housing and colostrum feeding on serum immunoglobulin growth, and fecal scores of Jersey calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.78, n.4, p.893-901, 1995.

RAJALA, P.; CASTRÉN, H. Serum immunoglobulin concentrations and health of dairy calves in two management systems from birth to 12 weeks of age. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.78, n.12, p.2737-2744, 1995.

RAMIN, A.G.; DANIEL, R.C.W.; FENWICK, D.C; VERRAL, R.G. Serum immunoglobulin concentrations in young dairy calves and their relationships with weight gain, onset of puberty and pelvic area at 15 months of age. **Livestock Production Science**, Amsterdam, NL, v.45, n.2/3, p.155-162, 1996.

RAUPRICH, A. B.E.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Effects of feeding colostrums and a formula with nutrient contents as colostrum on metabolic and endocrine traits in neonatal calves. **Biology of the Neonate**, Basel, Suíça, CH, v.78, n.1, p.53-64, 2000.

REINHOLD, J.G. Total protein, albumin and globulin. In: REINER, M. **Standard Methods of Clinical Chemistry**. New York: Academic Press, 1953. v.1, p.88.

RIBEIRO, M.F.B.; BELEM, P.A.D.; PATARROYO, J.H.S.; de FARIA, J.E. Hipogamaglobulinemia em bezerros. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, MG, v.35, n.4, p.537-546, 1983.

RODEWALD, R. Intestinal transport of antibodies in the newborn rat. **Journal of Cell Biology**, New York, US, v.58, n.1, p.189-211, 1973.

RODEWALD, R. pH-dependent binding of immunoglobulins to intestinal cells of the neonatal rat. **Journal of Cell Biology**, New York, US, v.71, n.2, p.666-670, 1976.

RODEWALD, R. Distribution of immunoglobulin G receptors in the small intestine of the young rat. **Journal of Cell Biology**, New York, US, v.85, n.1, p.18-32, 1980.

ROFFLER, B.; FAH, A.; SAUTER, S.N.; HAMMON, H.M.; GALLMANN, P.; BREM, G.; BRUM, J.W. Intestinal morphology, epithelial cell proliferation, and absorptive capacity in neonatal calves fed milk-borne insulin-like growth factor-I or a colostrum extract. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.86, n.5, p.1797-1806, 2003.

SANTORO, HM; ERICKSON, PS; WHITEHOUSE, NL; MCLAUGHLIN AM, SCHWAB CG, QUIGLEY JD. Evaluation of a colostrum supplement, with or without trypsin inhibitor, and an egg protein milk replacer for dairy calves. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.87, n.6, p.1739-1746, 2004.

SAS INSTITUTE. SAS/STAT: **user's guide**, release 6.08 ed. Cary, 1991. 1028p.

SASAKI, M.; DAVIS, C.L.; LARSON, B.L. Production and turnover of IgG₁ and IgG₂ immunoglobulins in the bovine around parturition. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.59, n.12, p. 2046-2055, 1976.

SAUTER, S.N.; ROFFLER, B.; PHILIPONA, C.; MOREL, C.; ROME, V.; GUILLOTEAU, P.; BLUM, J.W.; HAMMON, H.M. Intestinal development in neonatal calves: Effects of glucocorticoids and dependence on colostrum feeding. **Biology of the Neonate**, Basel, Suíça, CH, v.85, n.2, p.94-104, 2004.

SCHIMIDT, G.H. **Biology of lactation**. San Francisco: W.H.Freeman, 1971. 317p.

SEEGRABER, F. J.; MORRIL, J. L. Effect of protein source in calf milk replacers on morphology and absorptive ability of small intestine. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.69, n.2, p.460-469, 1986.

SEJRSEN, K.; PEDERSEN, L.O.; VESTERGAARD, M.; PURUP, S. Biological activity of bovine milk contribution of IGF-I and IGF binding proteins. **Livestock Production Science**, Amsterdam, NL, v.70, n.1/2, p.79-85, 2003.

- SHELDRAKE, R.F.; HUSBAND, A.T. Immune defenses at mucosal surfaces in ruminants. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.52, n.4, p.599-613, 1985.
- SHEN, W.H.; XU, R.J. Stability of epidermal growth factor in the gastrointestinal lumen of suckling and weaned pigs. **Life Sciences**, Elmsford, Ny., US, v.59, n.3, p.197-208, 1996.
- SIMMEN, F.A.; SIMMEN, R.C.M.; REINHART, G. Maternal and neonatal somatomedin C/insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding proteins during early lactation in the pig. **Developmental Biology**, San Diego, Califórnia, US, v.130, n.1, p.16-27, 1988.
- SIMPSON, M.M.W.; SMEATON, T.C. The transfer of antibodies by neonates and adults. **Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine**, San Diego, Califórnia, US, v.16, p.355-381, 1972.
- SKAAR, T.C.; BAUMRUCKER, C.R.; DEEVER, D.R.; BLUM, J.W. Diet effects and ontogeny of alterations of circulating insulin-like growth factor binding proteins in newborn dairy calves. **Journal of Animal Science**, Champaign, Ill., US, v.72, p.421-427, 1994.
- SMEATON, T.C.; SIMPSON-MORGAN, M.W. Epithelial cell renewal and antibody transfer in the intestine of the fetal and neonatal lamb. **Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science**, Adelaide, Austrália, AU, v.63, n.1, p.41-51, 1985.
- SMITH, E.L. The immune proteins of bovine colostrum and plasm. **Journal of Biology Chemical**, Baltimore, v.164, n.1, p.345-358, 1946.
- SMITH, T.; LITTLE, R.B. The significance of colostrum to the newborn calf. **Journal of Experimental Medicine**, New York, US, v.36, n.2, p.181-198, 1922.
- SNODGRASS, D.R.; WELLS, P.W. The influence of colostrum on neonatal rotaviral infection. **Annales de Recherches Veterinaires**, Versailles, França, FR, v.9, n.2, p.335-336, 1978.
- SPARKS, A.L.; KIRKPATRICK, J.G.; CHAMBERLAIN, C.S.; WALDNER, D.; SPICER, L.J. Insulin-like growth factor-I and its binding proteins in colostrum compared to measures in serum of Holstein neonates. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.86, n.6, p.2022-2029, 2003.
- STAIR, E.L.; MEBUS, C.A.; TWIEHAUS, M.J.; UNDERDAHL, N.R. Neonatal calf diarrhea. **Veterinary Pathology**, Washington, US, v.10, p.155-170, 1973.
- STALEY, T.E. Fine structure of duodenal absorptive cells in the newborn pig before and after feeding colostrum. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.30, n.4, p.567-581, 1969a.
- STALEY, T.E.; CORLEY, L.D.; BUSH, L.J.; JONES, E.W. The ultrastructure of neonatal calf intestine and absorption of heterologous proteins. **The Anatomical Record**, New York, US, v.172, n.3, p.559-580, 1972.

STOTT, G.H.; FLEENOR, W.A.; KLESE, W.C. Colostral immunoglobulin concentrations in two fractions of first milking post-partum and five additional milkings. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.64, n.3, p.459-465, 1981.

STOTT, G.H.; MARX, D.B.; MENEFEE, B.E.; NIGHTENGALE, G.T. Colostral immunoglobulin transfer in calves I. Period of absorption. **Journal of Dairy Science**, Champaign, Ill., US, v.62, n.10, p.1632-1638, 1979a.

TENNANT, D.V.M.; HARROLD, D.B.S.; REINA-GUERRA, M.B.S.; LABEN, R.C. Neonatal alterations in serum gamma globulin levels of Jersey and Holstein-Friesian calves. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.30, n.3, p.345-354, 1969.

TRAHAIR, J.F.; ROBINSON, P.M. Perinatal development of the small intestine of the sheep. **Reproduction Nutrition Development**, Melbourne, Austrália, AU, v.26, n.6, p.1255-1263, 1986.

TYLER, J.W.; STEEVENS, B.J.; HOSTELER, D.E.; HOLLE, J.M.; DENBIGH, J.L. Colostral immunoglobulin concentrations in Holstein and Guernsey cows. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.60, n.9, p.1136-1139, 1999.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch changes in morphology and function of the small-intestines in heavy-strain and light-strain chicks. **Poultry Science**, Champaign, Ill., US, v.74, n.10, p.1622-1629, 1995.

UNI, Z.; PLATIN, R.; SKLAN, D. Cell proliferation in chicken intestinal epithelium occurs both in the crypt and along the villus. **Journal of Comparative Physiology [B]**, New York, US, v.168, n.4, p.241-247, 1998.

VALENTA, J. Short term preserved colostrum in the rearing of calves. **Veterinarstvi**, Praha, CS, v.32, p.410-411, 1982.

VAN GINNEKEN, C.; VAN MEIR, F.; SYS, S.; WEYNS, A. Stereologic characteristics of pig small intestine during normal development. **Digestive Diseases and Sciences**, New York, US, v.47, n.4, p.868-878, 2002.

VERSESS, B.; BAINNER, K, JÚNIOR Histochemical and electron microscopic study of intestinal epithelium from young ruminants with special regard to protein absorption. **Acta Morphology Agriculturae Scandinavica**, Copenhagen, DK, v.17, p.356, 1969.

WATSON, D.L. Immunological functions of the mammary gland and its secretion- A comparative review. **Australian Journal of Biological Science**, Adelaide, Austrália, AU, v.33, n.4, p.403-422, 1980.

WIESE, F.; SIMON, O.; WEYRAUCH; K.D. Morphology of the small intestine of weaned piglets and a novel method for morphometric evaluation. **Anatomy Histology Embryology Journal of Veterinary Medicine**, Berlin, DE, v.32, n.2, p.102-109, 2003.

WITTUM , T.E.; PERINO, L.J. Passive immune status at postpartum hour 24 and long-term health and performance of calves. **American Journal of Veterinary Research**, Chicago, Ill., US, v.56, n.9, p.1149-1154, 1995.

XU, R.J. Development of the newborn GI tract and its relation to colostrum/milk intake: A review. **Reproduction Fertility and Development**, Melbourne, Austrália, AU, v.8, n.1, p.35-48, 1996.

XU, R.J.; MELLOR, D.J.; BIRTLES, M.J.; BREIER, B.H.; GLUCKMAN, P.D. Effects of oral IGF-I or IGF-II on digestive organ growth in newborn piglets. **Biology of the Neonate**, Basel, Suíça, CH, v.66, n.5, p.280-287, 1994.

YAMAUCHI K.E.; ISHIKI, Y. Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing White Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age. **British Poultry Science**, London, GB, v.32, p.67-78, 1991.

YAMAUCHI, K.E.; TARACHAI, P. Changes in intestinal villi, cell area and intracellular autophagic vacuoles related to intestinal function in chickens. **British Poultry Science**, London, GB, v.41, n.4, p.416-423, 2000.

ZANETTI, M.A. Influência da suplementação de colostro no balde do 2° ao 5° dia de vida sobre o nível sérico de imunoglobulina de bezerros. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, SP, v.27, n.2, p.267-283, 1990.

ZHANG, H.; MALO, C.; BUDDINGTON, R.K. Suckling induces rapid intestinal growth and changes in brush border digestive functions of newborn pigs. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, Pa., US, v.127, n.3, p.418-426, 1997.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)