



UNIVERSIDADE PARANAENSE

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA PAREDE JEJUNAL
DE RATOS DESNUTRIDOS PROTEICAMENTE
SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICOS**

JORGE FERNANDES DE AZEVEDO

UMUARAMA, 2010

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR
Mestrado em Ciência Animal

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA PAREDE JEJUNAL
DE RATOS DESNUTRIDOS PROTEICAMENTE
SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICOS**

JORGE FERNANDES DE AZEVEDO

Orientador: Prof. Dr. EDUARDO JOSÉ DE ALMEIDA ARAÚJO

Dissertação apresentada a Universidade Paranaense como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

UMUARAMA – PR, ABRIL DE 2010

A994a Azevedo, Jorge Fernandes de.

Análise morfométrica da parede jejunal de ratos
desnutridos proteicamente suplementados com probióticos
Jorge Fernandes de Azevedo. – Umuarama: Universidade
Paranaense – UNIPAR,
2010.

44 f.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo José de Almeida Araújo.
Dissertação (Mestrado)-Universidade Paranaense-UNIPAR

1. Desnutrição. 2. Probióticos. 3. Intestino. 4. Morfometria.
5. Histologia. I. Universidade Paranaense – UNIPAR. II. Título.
(21 ed) CDD: 571.3

Bibliotecária Responsável

Inês Gemelli

CRB 9/966



TERMO DE APROVAÇÃO

JORGE FERNANDES DE AZEVEDO

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA PAREDE JEJUNAL DE RATOS DESNUTRIDOS PROTEICAMENTE SUPLEMENTADOS COM PROBIÓTICOS

Trabalho de conclusão aprovado como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, pela seguinte banca examinadora:

Prof. Dr. Eduardo José de Almeida Araújo
Universidade Paranaense - Orientador

Profa. Dra. Maria Raquel Marçal Natali
Universidade Estadual de Maringá

Profa. Dra. Débora de Mello G. Sant'Ana
Universidade Paranaense

Umuarama, 15 de Abril de 2010

Dedico este trabalho a minha esposa e aos meus filhos por tudo que eles representam na minha vida, pois o simples fato de existirem renova a cada dia minhas forças diante de qualquer obstáculo. Ser marido e pai é uma das coisas mais maravilhosas que Deus pode oferecer a um homem. Eu os amo muito e farei tudo que for possível para que vocês tenham uma vida feliz e realizada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus que me deu o maior presente que eu poderia receber a VIDA, abençoando e iluminando todos os passos da minha caminhada, proporcionando-me sabedoria e paciência durante todo este período. Sem ELE nada seria possível e com ELE o melhor será sempre possível.

Aos meus pais José Fernandes de Azevedo e Maria Guedes de Azevedo “*in memoriam*” que me ofereceram tudo que podiam, fazendo o possível para minha formação, amparando-me em todas as situações difíceis, e por toda tranqüilidade que me transmitiram para a conclusão de meus estudos.

A toda minha família, em especial: Meus irmãos Joareis, Roberto e cunhada Leonice, Tia Adriana, Prima Catarina e amigos: Catchia Hermes, Henrique S. Tanaka, sayuri Shiraishi, Carol F. Braga, Sidney B. Júnior por terem aparecido em minha vida no momento em que eu mais precisava. Obrigado por compartilhar minhas angústias e sempre incentivar-me a ser persistente, tornando meus dias melhores e colaborando ativamente com a conclusão desta etapa.

Aos meus chefes Denílson P. Cassita e Cíntia de S. A. Araújo, por terem me dado a oportunidade de realizar o curso, organizando meu horário de trabalho para que eu pudesse participar das aulas e executar meu projeto de pesquisa.

Ao meu orientador Prof. Dr. Eduardo José de Almeida Araújo, agradeço pelo modo como me conduziu neste período, pela dedicação e demonstração de amizade e por fim pela sua vocação inequívoca para a tarefa de multiplicar seu conhecimento, repassando com sabedoria o conteúdo exigido e sendo responsável direto pela realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Aristeu Vieira da Silva, como exemplo de pessoa, com uma forma toda especial atenciosa e pela valiosa contribuição para a realização deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Débora de Mello Gonçalves Sant’Ana, pela contínua colaboração neste trabalho.

Prof^a. Dr^a. Eleniza Adamowski, pelo companheirismo e incentivo.

Ao Prof. Dr. Edilson Ervolino, pela amizade e pela força.

Aos alunos de iniciação científica do Laboratório de Neurogastroenterologia Experimental da UNIPAR: Caroline F. braga, sayuri Shiraishi e à mestranda Catchia Hermes, os quais dedicaram tempo e energia dando auxílio na realização de várias etapas da minha pesquisa. Meus sinceros agradecimentos, sem vocês não seria possível a concretização deste trabalho.

Em especial, às minhas colegas, amigas, companheiras de caminhada, Catchia Hermes e Celina Sayuri Shiraishi, que sempre estiveram por perto, ajudando-me nas mensurações e tabulações dos dados da minha pesquisa, bem como em todo trabalho de cálculos e resultados. Sinto por vocês grande estima e dedico um lugar especial em meu coração.

A Sr^a. Inês Gemelli, bibliotecária da Universidade Paranaense, pela confecção da ficha catalográfica.

A todo o corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UNIPAR, meu muito obrigado.

Aos secretários da Pós-Graduação *Stricto Sensu* pela atenção e dedicação, principalmente ao Antônio, Renata e Tatiane que me orientou sempre em toda parte burocrática.

Meus agradecimentos especiais à Universidade Paranaense (UNIPAR), pela oferta deste programa de mestrado.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a concretização desta pesquisa, expresso minha eterna gratidão. Muito Obrigado!

A cada dia que nasce levanta-se um grupo de pessoas que estão dando de si para fazer uma significativa diferença neste mundo. Elas estão apresentando novas idéias, buscando soluções e evidenciando uma força de compromisso incomum. Essas pessoas simplesmente não sabem o que é desistir; mesmo quando diante de uma iminente derrota, continuam a persistir com os olhos fixos no forte senso de alcançar a tão desejada realização.

São essas pessoas que movem o mundo em vanguarda. Elas não são pessoas famosas e nem trazem consigo a aurora dos astros e das estrelas. Em sua grande maioria continuarão a permanecer no anonimato e sem nenhuma celebração especial. Elas são aquelas pessoas que estão fazendo o que devem fazer. Elas têm a habilidade de ver as possibilidades e simplesmente não conseguem ficar estáticas e, persistentemente, correm em busca das possibilidades que estão à sua frente.

Nós podemos ver com clareza e evidência a realização do trabalho dessas pessoas através do seu compromisso e das suas realizações. Essa gente é gente muito especial. Elas são especiais porque sinceramente estão buscando por uma real e significativa diferença e estão a pagar o preço por criar um legado significativo e de máximo valor.

Essa gente especial nos ensina que coisas significativas e valiosas é aquilo que qualquer pessoa pode fazer, bastando simplesmente a evidência de um compromisso para com esse fim.

(Gilson Hino)



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR

Mestrado em Ciência Animal

AZEVEDO, J.F.; ARAÚJO, E. J. A. Análise morfométrica da parede jejunal de ratos desnutridos proteicamente suplementados com probióticos. DISSERTAÇÃO (MESTRADO). MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL. UNIVERSIDADE PARANAENSE, 2010, 44p.

RESUMO

A desnutrição é ainda um dos problemas mais devastadores em todo mundo, principalmente em países em desenvolvimento. Diversos órgãos são afetados por esta doença, dentre eles o intestino, o que agrava ainda mais o estado de depleção do organismo. Estudos experimentais sobre desnutrição protéica têm demonstrado redução da espessura dos estratos da parede intestinal. Por outro lado, vários estudos zootécnicos demonstram que o uso de probióticos tem demonstrado eficácia para ganho de massa corporal. Em função disso, objetivou-se analisar morfometricamente a parede do jejuno de ratos desnutridos proteicamente e suplementados com probióticos. Para tanto, utilizaram-se 16 ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, recém-desmamados foram distribuídos em quatro grupos: animais que receberam a ração comercial (G1, n = 4); animais que receberam a mesma ração do grupo G1 e foram suplementados com probióticos (G2, n = 4); animais que receberam uma ração de com 4% de proteínas (G3, n = 4); animais que receberam a mesma ração do grupo G3 e foram suplementados com probióticos (G4, n = 4). A cultura probiótica utilizada foi a ABT-4 CHR.HANSEN contendo *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*; *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus*; *Bifidumbacterium bifidus* e *Lactobacillus acidhophilus*. Após 12 semanas, os animais foram anestesiados para remoção do jejuno, o qual foi mensurado quanto ao seu comprimento e largura, visando calcular sua área. Anéis intestinais foram submetidos à rotina de processamento histológico. Cortes transversais de 3 µm foram corados com HE e técnicas histoquímicas para evidenciação de glicoconjugados: Periodic Acid Schiff (PAS) + solução de diástase e Alcian Blue (AB) pH 2,5 e pH 1,0. Observou-se que a desnutrição provocou um menor crescimento do jejuno dos animais desnutridos não suplementados com probióticos. Os achados quanto à análise morfométrica da parede do jejuno demonstraram que a altura dos enterócitos aumentou 5,1% nos animais do G2 em relação aos do G1. Por outro lado, não houve alteração significativa da altura dos enterócitos entre os animais do G4 e G1 e houve uma redução deste parâmetro entre os animais do G4 e G2. Quanto à túnica mucosa, observou-se redução de sua espessura nos animais do G3 em relação aos do G1. Verificou-se também uma redução deste estrato da parede intestinal nos animais do G4, porém menos intensa (7,4%) do que nos do G3 (13,5%), quando comparados aos animais normonutridos

(G1). Além disso, observou-se que nos animais dos grupos que foram suplementados com probióticos (G2 e G4) houve um aumento da altura dos vilos, independentemente de serem normonutridos (G2) ou desnutridos (G4). Por outro lado, a largura dos vilos comportou-se de forma heterogênea, já que aumentou nos animais do G2 e G3 (quando comparados aos do G1) e reduziu nos animais do G4 (quando comparados aos do G2 e G3). Quanto às criptas intestinais, sua profundidade diminuiu nos animais desnutridos sem suplementação com probióticos (G3), contudo nos animais desnutridos que receberam suplementação com probióticos (G4) permaneceram similares às dos animais normonutridos (G1). A tela submucosa foi a única camada da parede intestinal que não sofreu alteração morfométrica em nenhum dos grupos. A espessura da túnica muscular reduziu em todos os animais desnutridos, contudo em menor intensidade (10,7%) nos animais suplementados com probióticos do que nos animais sem a suplementação (18,0%). Como houve aumento da maioria dos parâmetros avaliados na parede jejunal dos animais normonutridos e suplementados com probióticos (G2), observou-se que a espessura total da parede deste órgão estava 5,0% maior em relação aos animais do G1. Entretanto, nos animais desnutridos e suplementados com probióticos (G4) verificou-se que alguns componentes da parede intestinal tiveram aumento enquanto outros reduziram, o que contribuiu, por fim, para que a espessura total da parede deste órgão não tivesse nenhuma diferença significativa em relação aos animais normonutridos (G1). A proporção de células caliciformes em relação ao número de enterócitos permaneceu inalterada entre os grupos independentemente das técnicas histoquímicas utilizadas. Dessa forma, conclui-se que a análise morfométrica da parede intestinal revelou que a cultura probiótica utilizada neste estudo provocou hipertrofia de vários estratos da parede jejunal de animais normonutridos e diminuiu a atrofia normalmente observada na parede intestinal de animais desnutridos proteicamente. Além disso, a desnutrição e o uso de probióticos não alteraram a relação entre o número de células caliciformes e o número de enterócitos.

Palavras-chave: desnutrição protéico-energética; probióticos; sistema digestório. Intestino; histologia; morfometria; mucinas.



UNIVERSIDADE PARANAENSE - UNIPAR
Mestrado em Ciência Animal

DE AZEVEDO, J. F.; ARAÚJO, E. J. A. Morphometric analysis of the jejunal wall of protein malnourished rats supplemented with probiotics. DISSERTAÇÃO (MESTRADO) MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL. UNIVERSIDADE PARANAENSE, 2010, 44p.

ABSTRACT

Malnutrition is still one of most devastating problems around the world, especially in developing countries. Several organs are affected by such disease, including the gut, which highly aggravates the state of depletion of the organism. Experimental studies on protein malnutrition have demonstrated decrease of the thickness of the strata of the intestinal wall. On the other hand, a number of zotechnical studies show that the use of probiotics has proven to be efficient to gain body mass. Therefore, we aimed at analyzing morphometrically the jejunal wall of protein malnourished rats supplemented with probiotics. Twenty Wistar weanling rats (*Rattus norvegicus*) were distributed in four groups: animals fed a commercial diet (G1, n = 5); animals fed the same diet as G1 and supplemented with probiotics (G2, n = 5); animals fed a 4%-protein diet (G3, n = 5); animals fed the same diet as G3 and supplemented with probiotics (G4, n = 5). The probiotic culture was ABT-4 CHR.HANSEN containing *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*; *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus*; *Bifidumbacterium bifidus* and *Lactobacillus acidophilus*. After 12 weeks, the animals were anesthetized for the removal of the jejunum, which was measured with respect to its length and width for the calculation of its area. Intestinal rings were subjected to histological routine. Transversal cuts (3 μ m) were stained with HE and histochemical methods to evidence the glycoconjugates: Periodic Acid Schiff (PAS) + diastase solution and Alcian Blue (AB), pH 2.5 and pH 1.0. Malnutrition was observed to cause low growth of the jejunum in malnourished animals not supplemented with probiotics. The findings regarding the morphometric analysis of the jejunal wall showed that the height of the enterocytes increased 5.1% in the animals from G2 in relation to those from G1. On the other hand, there was no significant change in the height of the enterocytes in the animals from G4 and G1. This parameter was decreased among the animals from G4 and G2. Decrease of the mucosa thickness was observed in the animals from G3 in relation to those from G1. Decrease of this intestinal wall stratum was also observed in the animals from G4, however, less intense (7.4%) than in the G3 (13.5%) when compared to the well-nourished animals (G1). Besides, increase of the villous height, despite of being well-nourished (G2) or malnourished (G4), was observed in the animals from the groups supplemented with probiotics (G2 and G4). On the other hand, villous width behaved heterogeneously as it increased in the animals from G2 and G3 (when compared to G1) and decreased in the animals from G4 (when compared to G2 and G3). The depth of the intestinal crypts decreased in the malnourished animals not supplemented with probiotics (G3), although it

remained similar in the well-nourished animals (G1) and the malnourished animals supplemented with probiotics (G4). The submucosa was the only unchanged layer of the intestinal wall in any of the groups. The external muscle thickness decreased in all malnourished animals, however, it was less intense (10.7%) in the animals supplemented with probiotics than in the animals not supplemented (18.0%). As there was an increase in most of the parameters evaluated in the jejunal wall in the well-nourished animals supplemented with probiotics (G2), the total thickness of the wall in the organ was 5.0% higher than in the animals from G1. However, in the malnourished animals supplemented with probiotics (G4), some components of the intestinal wall increased while other decreased, what thus contributed for the total thickness of the wall in that organ to have presented no significant difference in relation to the well-nourished animals (G1). The proportion of goblet cells in relation to the number of enterocytes remained unaltered among the groups despite of the histochemical methods used. Thus, we concluded that the morphometric analysis of the intestinal wall revealed that the probiotic culture used in this study caused hypertrophy of several strata in the jejunal wall in the well-nourished and decreased the atrophy normally observed in the intestinal wall in protein malnourished animals. Moreover, malnutrition and the use of probiotics did not change the relation between the number of goblet cells and the number of enterocytes.

Key words: Protein-energy malnutrition (PEM); probiotics; digestive system; gut; histology; morphometry; mucins.

SUMÁRIO

Abstract e Resumo	15
Introdução	16
Material e Métodos	18
Resultados e Discussão	21
Referências	30
Tabelas 1 e 2	35
Tabela 3	36
Instruções aos autores do periódico: <i>Pesquisa Veterinária Brasileira</i>	37
Classificação do periódico segundo lista QUALIS CAPES	41
Certificado de Aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal da UNIPAR	43
Comprovação de submissão do artigo ao periódico	44

Análise morfométrica da parede jejunal de ratos desnutridos proteicamente suplementados com probióticos

Jorge Fernandes de Azevedo¹, Catchia Hermes¹; Dirlene Pereira Lima¹,
Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana¹, Gilberto Alves¹, Eduardo José de
Almeida Araújo^{1*}

ABSTRACT.- Azevedo J.F., Hermes C., Lima D.P., Sant'Ana D.M.G., Alves G. & Araújo E.J.A. 2010. **Morphometric analysis of the jejunal wall of protein malnourished rats supplemented with probiotics.** Pesquisa Veterinária Brasileira xx(x):xx-xx. Laboratório de Neurogastroenterologia Experimental. Universidade Paranaense, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282. Centro. Umuarama – PR, 87506-140, Brazil. E-mail: ejaraujo@gmail.com

To analyze morphometrically the jejunal wall of protein malnourished rats supplemented with probiotics. Sixteen Wistar weanling rats (*Rattus norvegicus*) were distributed in four different groups: animals fed a commercial diet (G1, n = 4); animals fed the same diet as G1 and supplemented with probiotics (G2, n = 4); animals fed a 4%-protein diet (G3, n = 4); animals fed the same diet as G3 and supplemented with probiotics (G4, n = 4). After 12 weeks, part of the jejunum was removed and subjected to histological routine. Transversal cuts (3 μ m) were stained with HE and histochemical methods to evidence glycoconjugates: Periodic Acid Schiff (PAS) + distase solution and Alcian Blue (AB), pH 2.5 and pH 1.0. Morphometric analysis of the intestinal wall revealed that the probiotic culture used in this study caused hypertrophy of several strata in the well-nourished animals and decreased the atrophy normally observed in the intestinal wall of the protein malnourished animals. Moreover, malnutrition and the use of probiotics did not change the relation among caliciform cells and the number of enterocytes.

INDEX TERMS: Protein-energy malnutrition (PEM), probiotics, digestive system, gut, histology, morphometry, mucins.

RESUMO.- [Análise morfométrica da parede jejunal de ratos desnutridos proteicamente suplementados com probióticos.] Objetivou-se analisar morfometricamente a parede do jejuno de ratos desnutridos proteicamente e suplementados com probióticos. Para tanto, utilizaram-se 16 ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, recém-desmamados foram distribuídos em quatro grupos: animais que receberam a ração comercial (G1, n = 4); animais que receberam a mesma ração do grupo G1 e foram suplementados com probióticos (G2, n = 4); animais que receberam uma dieta com 4% de proteínas (G3, n = 4); animais que receberam a mesma ração do grupo G3 e foram suplementados com probióticos (G4, n = 4).

Received on XXXXXXXX, 2010.

Accepted for publication on XXXXXXXXXX.

¹ Laboratório de Neurogastroenterologia Experimental. Universidade Paranaense. Address: Praça Mascarenhas de Moraes, 4282. Centro. Umuarama – PR Brazil. Zip code 87506-140. *Corresponding author:

ejaaraujo@gmail.com

Após 12 semanas, parte do jejuno foi coletada e submetida à rotina de processamento histológico. Cortes transversais de 3 µm foram corados com HE e técnicas histoquímicas para evidenciação de glicoconjugados: Periodic Acid Schiff (PAS) + solução de diástase e Alcian Blue (AB) pH 2,5 e pH 1,0. A análise morfométrica da parede intestinal revelou que a cultura probiótica utilizada neste estudo provocou hipertrofia de vários estratos da parede jejunal de animais normonutridos e diminuiu a atrofia normalmente observada na parede intestinal de animais desnutridos proteicamente. Além disso, a desnutrição e o uso de probióticos não alteraram a relação entre o número de células calciformes e o número de enterócitos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: desnutrição protéico-energética, probióticos, sistema digestório, intestino, histologia, morfometria, mucinas.

INTRODUÇÃO

A desnutrição é ainda um dos problemas mais devastadores em todo mundo, principalmente em países em desenvolvimento (Solis et al. 2002, UNICEF 2010). Além das causas sociais que contribuem para sua prevalência e de ser uma das possíveis conseqüências do envelhecimento, esta doença também pode ser desenvolvida em pacientes hospitalizados (Grover & Ee 2009).

Sabe-se que a desnutrição afeta diversos órgãos, o que geralmente reflete em redução do peso corporal (Torrejais et al. 1995, Meilus et al. 1998, Natali et al. 2000, Zanim et al. 2003). Alterações morfológicas causadas pela desnutrição têm sido extensivamente avaliadas. Estudos com desnutrição protéica experimental têm demonstrado redução da espessura dos estratos da parede intestinal, como diminuição da túnica mucosa (Rodrigues et al. 1985, Firmasyah et al. 1989, Torrejais et al. 1995, Natali et al. 2000, Brandão et al. 2003, Gurmini et al. 2005, Schoffen et al. 2005, De Azevedo et al. 2007, Hermes et al. 2008), altura dos enterócitos (Brandão et al. 2003, De Azevedo et al. 2007, Hermes et al. 2008), altura dos vilos (Firmasyah et al. 1989, Natali et al. 2000, Gurmini et al. 2005), profundidade das

criptas (Firmasyah et al. 1989, Hermes et al. 2008), e da túnica muscular (Torrejas et al. 1995, Natali et al. 2000, 2005, Brandão et al. 2003, De Azevedo et al. 2007).

Portanto, estratégias para recuperação ou redução dos efeitos deletérios da desnutrição precisam ser investigadas. Neste sentido, estudos utilizando probióticos têm sido realizados (Solis et al. 2002, Cano et al. 2002, Cano & Perdígón 2003, Dock et al. 2004ab, Dock-Nascimento et al. 2007). Probióticos são definidos como microrganismos vivos, administrados em quantidades adequadas, que conferem benefícios à saúde do hospedeiro (O'Sullivan & O'Morain 2000). Eles apresentam *in vitro* uma melhora da digestibilidade de amido e proteínas (Sindhu & Khetarpaul 2002), contudo vários estudos zootécnicos demonstram controvérsias quanto à digestibilidade e ao ganho de massa corporal de animais utilizados para o consumo humano (Kamra et al. 1996, De Brito et al. 2005, Sanches et al. 2006, Budiño et al. 2006, Huaynate et al. 2006, Zanato et al. 2008). Por outro lado, vários estudos demonstram que estimulam o sistema imunológico (Erickson & Hubbard 2000, Cano & Perdígón 2003, Villena et al. 2006, De Souza et al. 2007, Dewan et al. 2007, Kaburagi et al. 2007, Pitsouni et al. 2009), o que pode contribuir para a prevenção ou mesmo o tratamento de doenças infecciosas no intestino, fator também importante a ser considerado em quadros de desnutrição, nos quais se observa deficiência na constituição e atuação desse sistema (Chandra 1992). Vale ressaltar que outros estudos também apontam que probióticos podem contribuir para a integridade da barreira intestinal (Menningen & Bruwer 2009) e que têm demonstrado eficácia no tratamento de doenças inflamatórias intestinais (Resta-Lenert & Barrett 2009).

Porém ainda são poucos os estudos que avaliam as repercussões do uso de probióticos sobre a morfologia da parede intestinal de animais desnutridos e estes

são restritos a avaliações somente da túnica mucosa (Allori et al. 2000, Cano et al. 2002, Dock et al. 2004ab, Dock-Nascimento et al. 2007). Dentro deste contexto, neste estudo objetivou-se analisar morfometricamente os diferentes estratos da parede do jejuno de ratos que foram paralelamente desnutridos proteicamente e suplementados com probióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Delineamento experimental. Este trabalho foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal da UNIPAR (protocolo nº. 11732), que segue as normas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).

Foram utilizados 16 ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) machos, desmame (21 dias), $42,9 \pm 1,8$ g, os quais foram alojados em gaiolas individuais, mantidos em recinto com controle de temperatura ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) e de ciclo claro/escuro (12 em 12 horas). Durante todo o experimento foi oferecido água e ração *ad libitum*.

Os animais foram separados aleatoriamente em quatro grupos: G1 – animais que receberam a ração comercial para roedores NUVILAB[®] (n = 4); G2 – animais que receberam a mesma ração do grupo G1, e que foram suplementados com uma solução contendo uma cultura probiótica por intermédio de gavagem administrada cinco vezes na semana (n = 4); G3 – animais que receberam uma ração manipulada para que o teor de proteínas fosse reduzido a 4%, seguindo protocolo proposto por Araújo et al. (2005) (n = 4); G4 – animais que receberam a mesma ração do grupo G3, e que também foram suplementados como já descrito (n = 4). Os animais do G1 e G3 passaram pelo mesmo estresse da gavagem, porém administrando-se apenas leite em pó desnatado a 10% (Molico, Nestlé) num volume

de 1% do peso corporal da média do grupo.

Após 12 semanas, os ratos de cada grupo ficaram em jejum de 12 horas, em seguida foram pesados e anestesiados com o seguinte protocolo (PACHALY et al., 2003): Acepran (1,26 mL/Kg) + Ketamina-10% (1,26 mL/Kg) + Xilazina-2% (0,42 mL/Kg) e Atropina-1% (0,22 mL/Kg), administrado via intramuscular. Foi realizada laparotomia para remoção do jejuno de cada animal, medindo seus respectivos comprimento e largura, com auxílio de uma régua milimetrada.

Cultura probiótica. Probiótica termofílica comercial (ABT4 – Chr Hansen, Dinamarca) composta pelos seguintes microrganismos: *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus*; *Streptococcus salivarius* ssp. *Thermophilus*; *Bifidumbacterium bifidus* e *Lactobacillus acidhophilus*. A cultura foi repicada em leite em pó desnatado (Molico, Nestlé) a 10% de sólidos totais e esterilizado em autoclave. Em seguida, foi incubada a 42°C por 48h, obtendo-se contagem final de 10¹⁰ UFC/mL. A administração da cultura probiótica nos animais foi realizada considerando 1% de peso médio do grupo.

Análise morfométrica da parede intestinal. Um anel de três centímetros da parte proximal (próximo à flexura duodenojejunal) de cada jejuno coletado foi fixado com Bouin durante 2 horas, desidratado em série ascendente de álcool etílico, diafanizado em xilol e incluído em parafina para posterior obtenção dos cortes transversais de 3µm, que foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE); Periodic Acid Schiff (PAS) + solução de diástase - para detecção de mucinas neutras e sialomucinas lábeis; Alcian-Blue (AB) pH 2,5 - para detecção de sialomucinas e sulfomucinas; e Alcian-Blue (AB) pH 1,0 - para detecção de sulfomucinas, seguindo protocolo descrito por Myers et al. (2008). No caso das técnicas para detecção de glicoconjugados (PAS e AB) realizou-se contra-coloração com hematoxilina.

A análise morfométrica da parede intestinal foi realizada a partir de imagens de cortes corados com HE capturadas através de uma câmera digital (Moticam 2000, 2.0 Megapixel) acoplada a um microscópio de luz trinocular (MOTIC B5). Imagens capturadas com auxílio da objetiva de 10x foram utilizadas para medir a altura dos vilos (desde sua base ao ápice); com auxílio da objetiva de 20x realizou-se as medidas da espessura total da parede (desde a túnica serosa à base do vilos), e a espessura da túnica mucosa (desde a muscular da mucosa à base dos vilos); e com a objetiva de 40x foram mensuradas a altura dos enterócitos, eixo medial dos vilos, profundidade das criptas, espessura da tela submucosa e espessura da túnica muscular. Foram realizadas 80 medidas, em cortes semi-seriados, distribuídas uniformemente em toda a circunferência intestinal, de cada estrutura de cada animal, totalizando 320 medidas por grupo.

Análise quantitativa. Para cada 2000 mil enterócitos, calculou-se a proporção de células calciformes. Para tanto, de cada segmento intestinal coletado de cada animal capturou-se 16 imagens de lâminas coradas por cada técnica histoquímica realizadas neste estudo por intermédio do sistema descrito, valendo-se da objetiva de 40x. Portanto, para cada segmento intestinal coletado avaliou-se um total de 192 imagens da túnica mucosa corada com PAS + solução de diástase, AB pH 2,5 e AB pH 1,0.

Análise estatística. Os dados numéricos coletados foram submetidos ao teste D'Agostino-Pearson ou de Shapiro para verificar o tipo de distribuição. Dados com distribuição normal são apresentados como média \pm desvio padrão. Neste caso, para comparar os grupos, utilizou-se Teste t de Student para amostras independentes. Dados com distribuição livre são apresentados como mediana (percentil 25; percentil 75). Neste caso, a comparação entre os grupos foi realizada

pelo teste de Mann-Whitney. Os grupos comparados foram G1 x G2, G1 x G3, G1 x G4, G2 x G4 e G3 x G4. Em todos os testes estatísticos, valores de p menores que 0,05 foram considerados significantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao final do experimento, os animais G1 pesavam $352,2 \pm 16,5$ g, do G2 $380,9 \pm 17,3$ g, do G3 $180,2 \pm 13,4$ g e do G4 $190,3 \pm 9,4$. Como já demonstrado na literatura (Torrejais et al. 1995, Natali et al. 2000, Araújo et al. 2005, De Azevedo et al. 2007, Hermes et al. 2008), o ganho de peso em animais desnutridos proteicamente é menor em relação aos eutróficos, o que vem ao encontro dos achados deste estudo ($p < 0,001$). Vale destacar que os animais normonutridos suplementados com probióticos (G2) tiveram um ganho de peso 8,2% maior em relação aos animais normonutridos sem a suplementação (G1) ($p < 0,05$). Num outro estudo também utilizando ratos suplementados com probióticos não se observou contribuição destes microrganismos para o ganho de peso (Ferreira et al. 2006), porém esta divergência pode ter sido em função de terem utilizado animais adultos e apenas um gênero de probióticos (*Lactobacillus* sp.) que foi misturado com a ração, e no presente estudo foram utilizadas várias espécies de probióticos em associação que foram administradas por gavage diariamente, além dos animais aqui utilizados serem recém-desmamados. Por outro lado, os probióticos que foram administrados aos animais desnutridos não interferiram no ganho de peso corpóreo, quando comparados aos desnutridos que não foram suplementados ($p > 0,05$), o que vem ao encontro de outros estudos (Cano et al. 2002, Dock et al. 2004ab).

Os resultados quanto à avaliação das dimensões dos jejunos coletados estão apresentados na Quadro 1. Observou-se uma menor área intestinal entre os grupos

G1 e G3 ($p < 0,05$), fato já esperado já que os animais do G1 representavam os normonutridos e os do G3 eram os desnutridos. Vale destacar que as dimensões do jejuno dos animais que receberam a suplementação com probióticos (G2 e G4) permaneceram inalteradas, fato que corrobora à proposta de que esses microrganismos contribuem para a saúde do organismo animal. No íleo (De Azevedo et al. 2007) e no cólon (Hermes et al. 2008) de ratos desnutridos por intermédio do mesmo protocolo de indução da desnutrição utilizado neste estudo também se observou redução da área intestinal. Outros estudos de nutrição experimental utilizando diferentes protocolos para causar desnutrição protéica também revelaram atrofia de segmentos do intestino delgado de ratos (Ribeiro et al. 1987, Firmansyah et al. 1989, Meilus et al. 1998, Torrejais et al. 1995, Natali et al. 2000, Brandão et al. 2003, Natali et al. 2005).

Os achados quanto à análise morfométrica da parede do jejuno (Quadro 2) demonstraram que a altura dos enterócitos aumentou 5,1% nos animais do G2 em relação aos do G1 ($p < 0,05$), demonstrando que a presença dos probióticos no lúmen intestinal provavelmente desencadeia alterações citoplasmáticas nesta célula que provocam um aumento em seu maior eixo, o que favorece o distanciamento entre a microbiota intestinal e a circulação sanguínea presente na lâmina própria adjacente. Como não houve alteração significativa da altura dos enterócitos entre os animais do G4 e G1 ($p > 0,05$) e há uma redução deste parâmetro entre os animais do G4 e G2 ($p < 0,05$), sugere-se que o provável estímulo causado pelos probióticos sobre os enterócitos não é efetivado e/ou sustentado quando há baixa disponibilidade de proteínas na dieta. Os enterócitos estão na interface entre o conteúdo do lúmen e a mucosa intestinal, constituindo um dos principais componentes da barreira intestinal. Alguns estudos demonstram que diferentes espécies de bactérias probióticas

contribuem para integridade dessa barreira, possivelmente ativando a expressão de genes de proteínas presentes nas junções de oclusão (Mennigen & Bruewer 2009).

Quanto à túnica mucosa, observou-se redução de sua espessura nos animais do G3 em relação aos do G1 ($p < 0,05$), resultado já demonstrado outras vezes pela literatura (Viteri & Schneider 1974, Rodrigues et al. 1985, Ribeiro et al. 1987, Torrejais et al. 1995, Natali et al. 2000, Schoffen et al. 2005, De Azevedo et al. 2007, Hermes et al. 2008). Por outro lado, verificou-se que a redução deste estrato da parede intestinal observada nos animais do G4 foi menos intensa (7,4%) do que nos do G3 (13,5%) quando comparados aos animais normonutridos (G1) ($p < 0,05$). Este fato é indicativo de que os probióticos utilizados neste estudo contribuíram para que a perda de túnica mucosa, que freqüentemente ocorre nos quadros de desnutrição, fosse minimizada. Este fenômeno também pode ser melhor compreendido quando se observa que nos animais do G2 a túnica mucosa teve um espessamento em relação aos animais do G1 ($p < 0,05$), o que ratifica o papel dos probióticos como estimulante trófico da túnica mucosa, como já sugerido em outros estudos (Aguilar-Nascimento et al. 2006), inclusive com animais desnutridos (Dock et al. 2004a, Aguilar-Nascimento et al. 2006, Dock-Nascimento et al. 2007), seja modulando os enterócitos e/ou promovendo o aumento do número de células pertencentes ao sistema imune (células dendríticas, macrófagos, linfócitos B e T e células natural killer) presentes na lâmina própria (Ng et al. 2009). Contradizendo esta hipótese, há um estudo que utilizaram probióticos do gênero *Lactobacillus* em que não observaram alteração na espessura da túnica mucosa. No entanto, neste caso, os autores adicionaram os probióticos à ração, fato que pode ter comprometido a viabilidade dos microrganismos (Ferreira et al. 2006). Além disso, o trabalho citado foi realizado por somente 40 dias e com animais adultos, o que difere do protocolo

utilizado neste estudo.

Ainda considerando as estruturas presentes na túnica mucosa, observou-se que nos animais dos grupos que foram suplementados com probióticos (G2 e G4) houve um aumento da altura dos vilos ($p < 0,05$), independentemente de serem normonutridos (G2) ou desnutridos (G4). Este achado permite inferir que nesses animais em que os vilos ficaram mais altos provavelmente a absorção de nutrientes era maior em função do aumento da superfície de contato entre parede e o lúmen intestinal. Considerando que os probióticos contribuem para integridade do epitélio intestinal (Ng et al. 2009, Resta-Lenert & Barrett 2009), provavelmente o posicionamento adequado dos enterócitos contribuíram para uma melhor digestão de peptídeos, e por isso, ter uma maior superfície de absorção intestinal pode proporcionar um estado mais próximo da homeostasia, sobretudo em situações em que o aporte de proteínas presentes no alimento é inferior à demanda do organismo. Isso pode auxiliar na explicação do maior ganho de peso observado nos animais do G2 em relação ao G1, assim como a tendência de ter ocorrido este mesmo fenômeno nos animais do G4 em relação aos do G3. Estudos bioquímicos avaliando a atividade das peptidases que estão nas microvilosidades dos enterócitos devem ser realizados para se compreender o real mecanismo que está envolvido neste processo. Por outro lado, a largura dos vilos comportou-se de forma heterogênea, já que aumentou nos animais do G2 e G3 (quando comparados aos do G1) e reduziu nos animais do G4 (quando comparados aos do G2 e G3) ($p < 0,05$). Dessa forma, é possível considerar que os vilos dos animais normonutridos que receberam suplemento com probióticos (G2) tornaram-se mais altos e mais largos, enquanto nos animais desnutridos sem suplementação com probióticos (G3) permaneceram com a mesma altura, porém ficaram mais largos, enquanto os vilos

dos animais desnutridos suplementados com probióticos (G4) ficaram mais altos e mais delgados. Como a largura dos vilos é determinada principalmente pela densidade populacional de células do tecido conjuntivo presentes na lâmina própria, estudos futuros avaliando a dinâmica dessas células em animais desnutridos suplementados com probióticos devem ser realizados no intuito de se compreender os aspectos envolvidos neste fenômeno. Este fato é de extrema relevância, pois já se sabe que os probióticos estimulam o funcionamento do sistema imunológico associado ao intestino (Ng et al. 2009), o que provavelmente leva à um maior recrutamento das células deste sistema que ficam na mucosa intestinal. Este fato pode explicar tanto o aumento da espessura dos vilos como da túnica mucosa observado nos animais do G2, contudo nos animais do G4 este mecanismo deve ter sofrido interferência pela menor disponibilidade de aminoácidos na dieta, minimizando o efeito trófico que os probióticos exercem sobre o sistema imunológico. Portanto, sugere-se que o estímulo que os probióticos exercem sobre esse sistema é dependente da disponibilidade de aminoácidos presentes na dieta. As lacunas quanto à compreensão dos mecanismos envolvidos devem ser preenchidas com cautela, visto que as espécies de probióticos assim como a espécie hospedeira são variáveis expressivas nesta interação (Verdu et al. 2009). Pintainhos que foram suplementados com diferentes espécies de probióticos também demonstram aumento da altura dos vilos intestinais, contudo somente no duodeno, não havendo diferença significativa no jejuno e íleo (Pelicano et al. 2003).

Quanto às criptas intestinais, sua profundidade diminuiu nos animais desnutridos sem suplementação com probióticos (G3), provavelmente em consequência da redução da espessura da túnica mucosa; já nos animais desnutridos que receberam suplementação com probióticos (G4) as criptas

permaneceram similares às dos animais normonutridos ($p < 0,05$). Estes achados demonstram que os probióticos conseguiram proteger as criptas de sofrerem redução em sua profundidade devido à menor disponibilidade de aminoácidos exógenos. Considerando que a renovação do epitélio intestinal ocorre a partir das criptas, e que neste local há de diferentes tipos celulares que estão diretamente relacionados à homeostasia intestinal (células de Paneth, células enteroendócrinas e células calciformes) (Junqueira & Carneiro 2008), sugere-se que os probióticos provavelmente contribuíram para que esta atividade não fosse alterada, contudo isso precisa ser melhor investigado no intuito de se compreender os mecanismos envolvidos neste processo. Pintainhos que foram suplementados com probióticos das espécies *Bacillus subtilis* e *Bacillus licheniformis* demonstram aumento da profundidade das criptas no duodeno, jejuno e íleo (Pelicano et al. 2003). A divergência com os resultados deste estudo ratifica o cuidado que se deve ter ao comparar estudos envolvendo probióticos, considerando as espécies de microrganismos e do hospedeiro envolvidas.

A tela submucosa foi a única camada da parede intestinal que não sofreu alteração morfométrica em nenhum dos grupos. Como este estrato é constituído de tecido conjuntivo denso não modelado, rico principalmente em fibras colágenas e elásticas (Junqueira & Carneiro 2008), sugere-se que a área ocupada por essas fibras não foi alterada. No entanto, estudos histoquímicos para fibras do tecido conjuntivo devem ser realizados com o propósito de se constatar se há ou não alteração qualiquantitativa dessas fibras nesta camada da parede intestinal num modelo experimental semelhante ao utilizado neste estudo. É possível considerar que há uma tendência de se preservar as proteínas que constituem essas fibras em quadros de desnutrição protéica, antagonicamente ao que acontece com as fibras

do tecido conjuntivo presente na derme de animais e humanos desnutridos (Waterlow 1996). Também se pode inferir que a presença de probióticos no lúmen intestinal não provoca alterações na tela submucosa. Comumente, a tela submucosa não é mensurada em avaliações morfométricas do intestino de animais desnutridos (Natali et al. 2000, De Azevedo et al. 2007, Hermes et al. 2008). Um único estudo realizou esta mensuração no jejuno de ratos desnutridos seguindo o mesmo protocolo deste estudo e também não observaram nenhuma alteração na espessura da tela submucosa (Franco 2009). Outro estudo avaliou a espessura desta camada no íleo de ratos alimentados com ração contendo 8% de proteínas, no qual relatam redução da tela submucosa, contudo os autores deste trabalho basearam-se somente numa análise qualitativa (Torrejais et al. 1995). Não há estudos anteriores avaliando a influência de probióticos sobre a tela submucosa.

A espessura da túnica muscular reduziu em todos os animais desnutridos, contudo em menor intensidade (10,7%) nos animais suplementados com probióticos do que nos animais sem a suplementação (18,0%) ($p < 0,05$). Em estudos experimentais utilizando o mesmo protocolo de indução à desnutrição protéica utilizado neste estudo, observou-se que a túnica muscular sofreu uma redução de 58,9% no íleo (De Azevedo et al. 2007), enquanto nenhuma alteração foi observada nessa camada do cólon (Hermes et al. 2008). Além disso, atrofia da túnica muscular também foi observada no duodeno (Natali et al. 2000) e no íleo (Torrejais et al. 1995) de ratos alimentados com ração contendo 8% de proteínas, o que indica que essa camada da parede do intestino delgado é bastante susceptível à desnutrição protéica, provavelmente devido a um mecanismo semelhante que ocorre com a musculatura esquelética, no intuito de disponibilizar aminoácidos endógenos, para compensar o menor aporte destas moléculas por meio de dieta (Waterlow 1996,

Araújo et al. 2005). Como os animais desnutridos que foram suplementados com probióticos tiveram menor perda de massa muscular jejunal, sugere-se que as propriedades benéficas desses microrganismos tenham favorecido uma maior acessibilidade aos aminoácidos da dieta, o que provavelmente desencadeou uma depleção mais branda das proteínas presentes no tecido muscular desses animais. Provavelmente isso foi possível em função dos probióticos terem a propriedade de estimular a integridade da barreira intestinal e o influxo de nutrientes presentes no lúmen intestinal (Resta-Lenert & Barrett 2009).

Como houve aumento da maioria dos parâmetros avaliados na parede jejunal dos animais normonutridos e suplementados com probióticos (G2), observou-se que a espessura total da parede deste órgão estava 5,0% maior em relação aos animais do G1 ($p < 0,05$). Entretanto, nos animais desnutridos e suplementados com probióticos (G4) verificou-se que alguns componentes da parede intestinal tiveram aumento enquanto outros reduziram, o que contribuiu, por fim, para que a espessura total da parede deste órgão não tivesse nenhuma diferença significativa em relação aos animais normonutridos (G1). E como nos animais desnutridos não suplementados com probióticos (G3), verificou-se que quase todos os parâmetros sofreram redução, constatou-se uma atrofia da espessura total da parede do jejuno desses animais ($p < 0,05$). Essa atrofia também foi observada no íleo de ratos submetidos ao mesmo protocolo de indução da desnutrição utilizado neste estudo (De Azevedo et al. 2007). Ratos desnutridos com uma ração contendo 8% de proteínas também demonstram atrofia na parede do duodeno (Natali et al. 2000) e do íleo (Torrejais et al. 1995). Desta forma, fica evidente que a desnutrição protéica provoca atrofia da parede intestinal, e que os probióticos utilizados neste estudo preveniram este prejuízo aos animais que foram suplementados. Um estudo que

utilizou os probióticos *Streptococcus thermophilus* e *Lactobacillus helveticus* vem ao encontro desses achados, já que demonstrou que esses microrganismos influenciaram positivamente numa restauração mais rápida da atrofia intestinal provocada pela desnutrição (Dock et al. 2004b).

A proporção de células caliciformes em relação ao número de enterócitos permaneceu inalterada entre os grupos independentemente das técnicas histoquímicas utilizadas (Quadro 3). Isso demonstra que a desnutrição e os probióticos não interferiram na relação entre o número de células caliciformes e o número de enterócitos, e nem na proporção de mucinas neutras, sialomucinas e sulfomucinas secretadas pelas células caliciformes. Dessa forma, sugere-se que essas variáveis não modificaram a natureza química do muco que recobria o epitélio jejunal dos animais utilizados neste estudo. Em investigações nas quais a desnutrição foi induzida com o mesmo protocolo utilizado neste estudo, observou-se que o número de células caliciformes reativas ao AB pH 1,0 aumentou no jejuno (Franco 2009), contudo no cólon provocou redução tanto das reativas ao PAS como ao AB pH 2,5 (Hermes et al. 2008). Essa divergência em relação aos resultados do presente estudo pode estar relacionada à forma de contagem dessas células, assim como pelo fato de que os estudos citados foram realizados com ratos adultos, enquanto neste foram utilizados recém-desmamados. Além disso, é importante considerar que os grupos que foram suplementados com probióticos (G2 e G4) não tiveram alteração de profundidade da cripta intestinal, local onde tanto enterócitos como células caliciformes são originadas, o que pode também estar relacionado ao resultado encontrado para a proporção entre essas células. Geralmente, probióticos induzem um aumento de secreção de mucinas e, portanto, aumenta a camada de muco que recobre o epitélio intestinal, mas os estudos que demonstram isso foram

realizados no cólon (Caballero-Franco et al. 2007), mesmo em animais desnutridos experimentalmente (Dock-Nascimento et al. 2007).

Conclui-se que a cultura probiótica utilizada neste estudo provocou hipertrofia de vários estratos da parede jejunal de animais normonutridos e minimizou a atrofia normalmente é observada na parede intestinal de animais desnutridos proteicamente. Além disso, a desnutrição e o uso de probióticos não alteraram a relação entre o número de células caliciformes e o número de enterócitos. Os achados deste estudo permitem inferir que o uso de probióticos pode minimizar os as lesões intestinais que normalmente ocorrem em quadros de desnutrição protéica.

REFERÊNCIAS

- Aguilar-Nascimento J.E., Padro S., Zaffani G., Salomão A.B., Neves J.S., Dock-Nascimento D.B, Mello P.R.B. & Okay T.S. 2006. Acta Cir. Bras. 21:80-83.
- Allori C., Agüero G., De Ruiz-Holgado A.P., Nader O.M. & Perdigón G. 2000. Gut mucosa morphology and microflora changes in malnourished mice after renutrition with Milk and administration of *Lactobacillus casei*. J. Food Prot. 63:83-90.
- Araújo E.J.A., Sant'Ana D.M.G., Molinari S.L. & Miranda Neto M.H. 2005. Biometric and food consumption parameters of rats subjected to hypoproteic and hipercaloric diet. Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR. 8:131-138.
- Budiño F.E.L., Thomaz M.C., Kronka R.N., Tucci F.M., Fraga A.L., Scandolera A.J., Huaynate R.A.R., Nadai A. & Correia R.C. 2006. Efeito da adição de probiótico e/ou prebiótico em dietas de leitões desmamados sobre o desempenho, incidência de diarréia e contagem de coliformes totais. Braz. J. Vet. Res. Anim. 43:59-67.
- Caballero-Franco C.K., Keller C., De Simone & Chadee K. 2007. The VSL#3 probiotic formula induces mucin gene expression and secretion in colonic epithelial cells. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 292:G315-G322.
- Cano, P.G., Agüero G. & Perdigón, G. 2002. Adjuvant effects of *Lactobacillus casei* added to a renutrition diet in a malnourished mouse model. Biocell 26:35-48.
- Cano P.G. & Perdigón G. 2003. Probiotics induce resistance to enteropathogens in a re-nourished mouse model. J. Dairy Res. 70:433-440.
- Chandra R.K. 1992. Protein-energy malnutrition and immunological responses. J.

Nutr. 122:597-600.

Da Costa-Ribeiro H.C., Teichberg S., McGarvey E. & Lifshitz F. 1987. Quantitative alterations in the structural development of jejunal absorptive epithelial cells and their subcellular organelles in protein-energy-malnourished rats: a stereologic analysis. *Gastroenterol.* 93:1381-1392.

De Azevedo J.F., Hermes C., Manzano M.A., Araújo E.J.A. & Sant'Ana D.M.G. 2007. Análise morfológica da parede intestinal do íleo de ratos submetidos a intensa carência de proteínas. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar.* 10:85-89.

De Brito A.B., Leandro N.S.M., Stringhini J.H., Bastos C.A.A., Cunha W.P. & Café M.B. 2005. Desempenho e digestibilidade de nutrientes para frangos alimentados com rações contendo promotor de crescimento (Olaquinox) e probiótico (*Bacillus subtil subtilis is is*). *Acta Sci.* 27:327-332.

De Souza M.M., Aguilar-Nascimento J.E. * Dock-Nascimento D.B. 2007. Effects of budesonide and probiotics enemas on the systemic inflammatory response of rats with experimental colitis. *Acta Cir. Bras.* 22:40-45.

Brandão M.C.S., De Angelis R.C., De Souza R.R., Froes L.B. & Liberti E.A. Effects of pre and postnatal protein energy deprivation on the myenteric plexus of the small intestine: a morphometric study in weanling rats. 2003. *Nutr. Res.* 75:7-15.

Dewan P., Kaur I., Chattopadhyaya D., Faridi M.M.A. & Agarwal K.N. 2007. A pilot study on the effects of curd (*dahi*) & leaf protein concentrate in children with protein energy malnutrition (PEM). *Indian J. Med. Res.* 126:199-203.

Dock D.B., Latorraca M.Q., Aguilar-Nascimento J.E. & Gomes-da-Silva M.H.G. 2004a. Probiotics enhance recovery from malnutrition and lessen colonic mucosal atrophy after short-term fasting in rats. *Nutr.* 20:473-476.

Dock D.B., Aguilar-Nascimento J.E. & Latorraca M.Q. 2004b. Probiotics enhance the recovery of gut atrophy in experimental malnutrition. *Biocel.* 28:143-150.

Dock-Nascimento D.B., Kelly J. & Aguilar-Nascimento J. E. 2007. Rapid restoration of colonic goblet cells induced by a hydrolyzed diet containing probiotics in experimental malnutrition. *Acta Cir. Bras.* 22:72-76.

Erickson K.L. & Hubbard N.E. 2000. Probiotic immunomodulation in health and disease. *J. Nutr.* 130:403S-409S.

Ferreira N.F., Cavasin-Oliveira G.M., Alves C.B., Nascimento M.N. & Oliveira E.M. 2006. Efeito da utilização de probióticos a base de *Lactobacillus* sp. sobre o ganho de peso e desenvolvimento da mucosa intestinal de ratos (*Rattus norvegicus*). *Ciênc. An. Bras.* 7:217-222.

Firmansyah A., Suwandito L., Penn D. & Lebenthal E. 1989. Biochemical and morphological changes in the digestive tract of rats after prenatal and postnatal malnutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* 50:261-268.

- Franco C.L.M. 2009. Atrofia da parede intestinal e aumento da secreção de sulfomucinas no epitélio jejunal de ratos submetidos à intensa desnutrição protéica. Instituto de Ciências Biológicas, Médicas e da Saúde. Curso de graduação em Enfermagem. Monografia. 21p.
- Grover Z. & Ee L.C. 2009. Protein energy malnutrition. *Pediatr. Clin. North Am.* 56:1055-68.
- Gurmini J., Cecílio W.A.C., Schuler S.L., Olandoski M. & De Noronha L. 2005. Desnutrição intra-uterina e suas alterações no intestino delgado de ratos wistar ao nascimento e após a lactação. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* 41:271-278.
- Hermes C., Almeida E.C., Souza E.A., Araújo E.J.A & Sant'Ana D.M.G. 2008. Efeitos da desnutrição protéica severa sobre aspectos morfológicos e quantitativos dos neurônios mientéricos do cólon ascendente de ratos. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar* 11:13-16.
- Huaynate R.A.R., Thomaz M.C., Kronka R.N., Fraga A.L., Scandolera A.J. & Budiño F.E.L. 2006. Uso de probiótico em dietas de suínos: incidência de diarréia, desempenho zootécnico e digestibilidade de rações. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 43:664-673.
- Junqueira L.C. & Carneiro J. 2008. *Histologia básica*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Kaburagi T., Yamano T., Fukushima Y., Yoshino H., Mito N. & Sato K. 2007. Effect of *Lactobacillus johnsonii* La1 on immune function and serum albumin in aged and malnourished aged mice. *Nutr.* 23:342:350.
- Kamra D.N., Chaudhary L.C., Singh R. & Pathak N.N. 1996. Influence of feeding probiotics on growth performance and nutrient digestibility in rabbits. *World Rabbit Sci.* 4:85-88.
- Menningen R. & Bruewer M. 2009. Effect of probiotics on intestinal barrier function. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1165:183:189.
- Meilus M., Natali M.R.M. & Miranda Neto M.H. 1998. Study of the myenteric plexus of the ileum of rats subjected to proteic undernutrition. *Rev. Chil. Anat.* 16:9-14.
- Myers R.B., Fredenburgh J.L. & Grizzle W.E. 2008. Carbohydrates, p.161-186. In: Bancroft J.D. & Gamble M (Ed), *Theory and practice of histological techniques*. Saunders Elsevier, Philadelphia. 725p.
- Natali M.R.M., Miranda Neto M.H. & Orsi A.M. 2000. Effect of hypoproteic diet supply on adult Wistar on adult rats (*Rattus Norvegicus*). *Acta Sci.* 22:567-571.
- Natali M.R.M., Molinari S.L., Valentini L.C. & Miranda Neto M.H. 2005. Morphoquantitative evaluation of the duodenal myenteric neuronal population in rats fed with hypoproteic ration. *Biocell.* 29:39-46.

- Ng S.C., Hart A.L., Kamm M.A. Stagg A.J. & Knight S.C. 2009. Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflamm. Bowel Dis.* 15:300-310.
- O'Sullivan M.A. & O'Morain C.A. 2000. Bacterial supplementation in the irritable bowel syndrome. A randomized double-blind placebo-controlled crossover study. *Dig. Liver Dis.* 32:294-301.
- Pachaly J. R., Sant'Ana D.M.G., Araújo E.J.A., Ciffoni E.M.G. & Acco A. 2003. Anesthesia of Wistar rats (*Rattus norvegicus*) with allometrically scaled dose of Ketamine, Xylazine, Acepromazine and Atropine – preliminary report. *Arq. Ciênc.Vet. Zool. UNIPAR.* 6:195-195.
- Pelicano E.R.L., Souza P.A., Souza H.B.A., Oba A., Norkus E.A., Kodawara L.M. & Lima T.M.A. 2003. Morfometria da e ultra-estrutura da mucosa intestinal de frangos de corte alimentados com dietas contendo diferentes probióticos. *RPCV* 98:125-134.
- Pitsouni E., Alexiou V., Saridakis V., Peppas G. & Falagas M.E. 2009. Does the use of probiotics/synbiotics prevent postoperative infections in patients undergoing abdominal surgery? A meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 65:561-570.
- Resta-Lenert S.C. & Barret K.E. 2009. Modulation of intestinal barrier properties by probiotics: role in reversing colitis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1165:175-182.
- Rodrigues M.A.M., De Camargo J.L.V., Coelho K.I.R., Montenegro M.R.G., Angeline A.Y.O. & Burini R.C. 1985. Morphometric study of the small intestine in young, adult, and old rats submitted to protein deficiency and rehabilitation. *Gut* 26:816-821.
- Sanches A.L., Lima J.A.F., Fialho E.T., Murgas L.D.S., Almeida E.C., Vieira-Neto J. & De Freitas R.T.F. 2006. Utilização de probiótico, prebiótico e simbiótico em rações de leitões ao desmame. *Ciênc. Agrotec.* 30:774-777.
- Schoffen J.P.F., Soares A., De Freitas P., Buttow N.C. & Natali M.R.M. 2005. Effects of a hypoproteic diet on myosin-V immunostained myenteric neurons and the proximal colon wall of aging rats. *Auton. Neurosci.* 122:77-83.
- Solis B., Samartín S., Gómez S., Nova E. & MARCOS A. 2002. Probiotics as a help in children suffering from malnutrition and diarrhoea. *Europ. J. Clin. Nutr.* 56:57-59.
- Torrejais M.M., Natali M.R.M., Conegero C.I. & Miranda Neto M.H. 1995. Effects of proteic malnutrition after breast-feeding on the morphology of the intestinal wall and myenteric neurons of the ileum of rats. *Rev. Unimar.* 17:315-327.
- UNICEF Fundo das Nações Unidas para Infância. Brasil, 2010. Disponível em: <www.unicef.org/brazil/>. Acesso em: 13 abril.2010.
- Verdy E.F. 2009. Probiotics effects on gastrointestinal function: beyond the gut? *Neurogastroenterol. Motil.* 21:477-480.

- Villena J., Racedo S., Agüero G. & Alvarez S. 2006. Yoghurt accelerates the recovery of defence mechanisms against *Streptococcus pneumonia* in protein-malnourished mice. *Brit. J. Nutr.* 95:591:602.
- Viteri F.E. & Schneider M. D.1974. Gastrointestinal alterations in protein-calorie malnutrition. *Sym. Gastr. Phys.* 58:1487-1505.
- Zanato J.A.F., Lui J.F., Oliveira M.C., Cavalcante-Neto A., Junqueira O.M., Malheiros E.B. & Scapinello C. 2008. Digestibilidade de dietas contendo antibiótico, probiótico e prebiótico para coelhos em crescimento. *Biotemas* 21:131-136.
- Zanim S.T.M., Molinari S.L., Sant'Ana D.M.G. & Miranda Neto M. H. 2003. Neurônios NADH-diaforase positivo do jejuno de ratos adultos (*Rattus norvegicus*) desnutridos. *Arq. Neuropsiquiatr.* 61:650-653.
- Waterlow C.J.1996. Malnutrition proteico-energetica. OPS, Washington.

Quadro 1. Média±desvio-padrão do comprimento, largura e área do jejuno de ratos submetidos à desnutrição protéica e suplementados com probióticos.

Medidas	G1	G2	G3	G4
Comprimento (cm)	96,75±10,63	102,25±9,54	88,00±11,63	100,50±8,66
Largura (cm)	1,03±0,13	0,93±0,10	0,80±0,24	1,00±0,16
Área (cm ²)	98,40 ^a ±7,13	95,00±16,87	69,58 ^b ±20,74	99,90±13,22

G1: dieta comercial para roedores; G2: dieta comercial + suplementação com probióticos; G3: dieta com 4% de proteínas; G4: dieta de 4% de proteínas + suplementação com probióticos. A comparação dos valores entre os diferentes grupos (G1 x G2, G1 x G3, G1 x G4, G2 x G4 e G3 x G4) foi realizada pelo Teste t de Student para amostras independentes, considerando $\alpha=0,05$. Médias seguidas de letras diferentes indicam diferença significativa para $\alpha = 0,05$.

Quadro 2. Mediana e percentis 25 e 75 da altura dos enterócitos, espessura da túnica mucosa, altura e largura dos vilos, profundidade das criptas, espessura da tela submucosa, da túnica muscular e espessura total da parede do jejuno de ratos submetidos à desnutrição protéica e suplementados com probióticos.

Parâmetros (µm)	G1	G2	G3	G4
Altura dos Enterócitos	28,96 (25,37; 32,77) ^a	30,43 (27,08; 33,11) ^{ac}	28,31 (25,45; 32,50)	29,04 (24,52; 32,75) ^c
Túnica Mucosa	196,43 (180,03; 214,22) ^{abe}	214,02 (168,46; 238,99) ^{ac}	169,90 (134,40; 206,95) ^{bd}	181,90 (157,85; 203,02) ^{cde}
Altura dos Vilos	394,98 (341,31; 497,81) ^{ae}	439,74 (335,08; 515,72) ^a	449,41 (310,33; 514,00) ^d	476,76 (335,89; 514,56) ^{de}
Largura dos Vilos	93,21 (79,51; 118,76) ^{ab}	106,42 (99,03; 122,67) ^{ac}	114,03 (85,76; 143,08) ^{bd}	101,98 (82,88; 124,72) ^{cd}
Profundidade das Criptas	140,67 (135,08; 144,69) ^b	139,92 (136,63; 143,47)	138,00 (134,12; 142,79) ^{bd}	139,56 (134,96; 143,74) ^d
Tela Submucosa	32,75 (24,02; 40,95)	31,13 (26,10; 36,20)	26,07 (22,92; 53,83)	26,09 (19,56; 51,97)
Túnica Muscular	101,65 (78,13; 115,41) ^{ac}	92,45 (73,40; 101,29) ^b	83,39 (73,08; 96,67) ^a	90,78 (61,48; 99,61) ^{bc}
Espessura Total da Parede	337,00 (269,88; 381,60) ^{ad}	353,73 (308,77; 415,39) ^{ac}	298,67 (267,26; 342,18) ^{bcd}	339,91 (311,66; 371,69) ^b

G1: dieta comercial para roedores; G2: dieta comercial + suplementação com probióticos; G3: dieta com 4% de proteínas; G4: dieta de 4% de proteínas + suplementação com probióticos. Medianas seguidas de letras iguais numa mesma linha são significativamente diferentes. A comparação dos valores entre os diferentes grupos (G1 x G2, G1 x G3, G1 x G4, G2 x G4 e G3 x G4) foi realizada pelo Teste de Mann-Whitney, considerando $\alpha=0,05$.

Quadro 3. Média ± desvio padrão da proporção de células

caliciformes/enterócitos na túnica mucosa do jejuno de ratos submetidos à desnutrição protéica e suplementados com probióticos.

Técnica	G1	G2	G3	G4
PAS + solução de diástase	0,14±0,02	0,14±0,03	0,15±0,03	0,14±0,02
AB pH 2,5	0,15±0,02	0,13±0,02	0,14±0,04	0,15±0,01
AB pH 1,0	0,14±0,02	0,14±0,01	0,14±0,01	0,15±0,02

G1: dieta comercial para roedores; G2: dieta comercial + suplementação com probióticos; G3: dieta com 4% de proteínas; G4: dieta de 4% de proteínas + suplementação com probióticos. PAS: Periodic Acid Schiff; AB: Alcian blue. A comparação dos valores entre os diferentes grupos (G1 x G2, G1 x G3, G1 x G4, G2 x G4 e G3 x G4) foi realizada pelo Teste de t de Student para amostras independentes, considerando $\alpha=0,05$. Não há diferença significativa entre os grupos.

ANEXOS

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](#)