



GANHO DE PESO, COMPRIMENTO DO INTESTINO E PROFUNDIDADE DE CRIPTA DO JEJUNO E CÓLON DE RATOS SUPLEMENTADOS OU NÃO COM BETAGLUCANO

Fabiane Antiquera Ferreira¹ Ranulfo Piau Junior² Marcelo Biondaro Gois³, Gabriel Coelho Gimenes⁴, Adriana Valéria Batista⁵

1. Acadêmica do curso de Farmácia da Universidade Paranaense - Unipar, bolsista Pibic/CNPq.
2. Professor titular do curso de medicina veterinária e do mestrado em ciência animal da Universidade Paranaense - Unipar, Praça Mascarenhas de Moraes, 4282, Centro, Umuarama – Pr, 87502-210, piau@unipar.br.
3. Mestre em ciência animal da Universidade Paranaense – Unipar.
4. Mestre em ciência animal da Universidade Paranaense – Unipar.
5. Mestre em ciência animal da Universidade Paranaense – Unipar.

Recebido em: 12/04/2014 – Aprovado em: 27/05/2014 – Publicado em: 01/07/2014

RESUMO

O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos do uso do prebiótico betaglucano adicionado na dieta de ratos wistar na dosagem de 2 miligramas por quilo/animal sobre a morfometria da mucosa intestinal. Foram utilizados 10 animais divididos aleatoriamente em dois grupos, grupo controle com 5 animais, sem suplementação com betaglucano, grupo tratado com 5 animais suplementados com betaglucano, após 30 dias de experimento os animais foram submetidos à eutanásia utilizando-se de protocolo anestésico (os animais foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico em câmara saturada de vapor de halotano). Após a eutanásia foram coletados materiais do cólon e jejuno para serem feitas as análises morfométricas da profundidade de cripta. Não foram verificados efeitos significativos na profundidade de cripta ($p > 0,05$) ou tamanho do intestino ($p > 0,05$). Os animais tratados com betaglucano tiveram maior ganho de peso que os animais do grupo controle ($p < 0,05$). Conclui-se que nas condições em que o experimento foi realizado o prebiótico betaglucano não interferiu na profundidade de cripta e comprimento de intestino. Entretanto, houve um aumento no ganho de peso do grupo tratado com betaglucano.

PALAVRAS-CHAVE: Intestino, morfometria, prebiótico, *Rattus norvegicus*.

WEIGHT GAIN, INTESTINAL LENGTH AND DEPTH OF CRYPTS IN THE COLON AND JEJUNUM OF RATS TREATED OR NOT WITH BETA GLUCAN

ABSTRACT

The objective of this study was to assess the effects of the use of the prebiotic beta glucan conveyed in the diet of Wistar rats at a dose of 2 milligrams per kilogram per animal on the morphometry of the intestinal mucosa. It was used 10 animals randomly allocated into two groups, being a control group of 5 animals without supplementation with beta glucan, and a treatment group of 5 animals supplemented with beta glucan, after 30 days of experiment the animals were euthanized by deep

anesthesia with halothane vapor in a saturated camera. After euthanasia materials from the colon and jejunum were collected and morphometric analysis of crypt depth was carried out. No significant effects were observed on crypt depth ($p > 0.05$) or on the size of the intestine ($p > 0.05$). Animals treated with beta glucan had greater weight gain than the control group ($p < 0.05$). It was concluded that under the conditions which the experiment was conducted, the prebiotic beta glucan had no effect on crypt depth and length of intestine. However, it was observed an increase in weight gain in the group treated with beta-glucan.

KEYWORDS: Intestine, morphometry, prebiotic, *Rattus norvegicus*.

INTRODUÇÃO

Entre os promotores de crescimento, os antibióticos são largamente utilizados, sendo os que apresentam melhores resultados, porém as atuais restrições impostas pela União Europeia, à exigência dos consumidores por produtos livres de resíduos e a preocupação relacionada à possibilidade do desenvolvimento de resistência bacteriana cruzada entre humanos e animais têm levado produtores e pesquisadores à busca por alternativas aos habituais promotores de crescimento (OTUTUMI et al., 2010).

Devido a preocupação com a resistência dos micro-organismos aos antibióticos utilizados na alimentação animal, os prebióticos se tornaram alternativa ao uso dos promotores de crescimento, e têm sido utilizados como modulador intestinal microbiano, contribuindo para o desenvolvimento de bactérias que exercem efeitos benéficos sobre o hospedeiro, em detrimento de espécies prejudiciais (GAGGIÀ et al., 2010)

PESSOA et al. (2012) afirmaram que os prebióticos não sofrem ação de enzimas digestivas na porção proximal do trato gastrointestinal de não ruminantes, e por não serem digeridos na porção superior do trato intestinal, são fermentados no cólon. Ao serem fermentados, exercem efeito de aumento de volume, como resultado da estimulação do crescimento microbiano, além de promoverem aumento no número de evacuações.

A alteração da microbiota intestinal causada pelo uso de prebióticos pode ocorrer de duas maneiras: através do fornecimento de nutrientes para as bactérias desejáveis ou através do reconhecimento, pelas bactérias patogênicas, de sítios de ligações nos oligossacarídeos como sendo da mucosa intestinal, reduzindo a colonização intestinal indesejável, resultando em menor incidência de infecções e melhor integridade da mucosa intestinal, tornando esta apta para exercer suas funções (IJI & TIVEY, 1998). MIZUNO et al. (1998) relatam que os prebióticos, ou seja os polissacarídeos pertencentes ao grupo β -glucanas, tem como principal função a estimulação da atividade imunológica do usuário, o que poderia trazer benefícios em termos de desempenho e morfometria intestinal.

Como existem poucos relatos na literatura do uso de betaglucono em ratos, o objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações da mucosa intestinal de ratos suplementados com betaglucono.

MATERIAL E METODOS

O experimento foi desenvolvido na Universidade Paranaense - UNIPAR, município de Umuarama - Paraná. Toda metodologia de estudo foi avaliada e aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa Envolvendo Experimentação Animal

(CEPPEA) da Universidade Paranaense – UNIPAR sob o número de protocolo 24252.

Foram utilizados 10 ratos *Rattus norvegicus* wistar machos com 65 dias de idade, os animais foram distribuídos aleatoriamente em grupo controle GC (n=5) e grupo tratado GT (n=5), mantidos por 30 dias em biotério com temperatura e umidade controlados, recebendo ração para roedores e água *ad libitum*. Cada rato do GT recebeu por via oral 1 mL de solução salina estéril contendo 2 miligramas por quilo/animal do prebiótico betaglucano, enquanto os animais do GC receberam apenas solução salina. Trinta dias após o início do tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia por aprofundamento anestésico em câmara saturada de vapor de halotano.

Em seguida, foram retirados os órgãos da cavidade abdominal, um anel de dois centímetros dos segmentos do intestino delgado e grosso de cada animal foi retirado, fixados em solução de Bouin por seis horas, visando processamento histológico para análise dos estratos da parede intestinal. Foram desidratados em séries ascendentes de álcool etílico, diafanizado em xilol e incluídos em parafina para obtenção de cortes transversais semi-seriados de quatro μm , que foram corados com Hematoxilina e Eosina (HE).

Todas as imagens dos cortes foram capturadas através de uma câmera digital (Moticam 2000, 2.0 megapixel) acoplada a um microscópio de luz trinocular (MOTIC B5). Todas as mensurações foram realizadas utilizando o software Motic Imagens Pro-Plus, versão 2.0. Para fazer as análises morfométricas da profundidade das criptas, foram feitas 64 medidas. Os animais apresentaram distribuição normal e homocedasticidade de variância os dados foram comparados pelo teste T de Student ao nível de 5% de significância utilizando-se o programa estatístico BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se um maior ganho de peso ($p < 0,05$) nos animais do grupo tratado com betaglucano (tabela 1). Trabalho semelhante foi desenvolvido por BUDIÑO et al. (2006) que observou em leitões de 50 aos 70 dias de idade, que receberam uma dieta contendo prebiótico (0,2%), apresentaram maior ganho de peso ($p < 0,05$), quando comparados com os grupos contendo antibiótico (40 ppm) e probiótico (0,04%) na dieta.

TABELA 1: Média \pm erro padrão do ganho de peso (gramas) de ratos wistar tratados ou não com betaglucano, durante o período de 65 a 95 dias de idade.

Tratamento	Ganho de peso (gramas)	Coefficiente de variação (%)
Controle	27,6 \pm 3,3 ^b	26,94
Betaglucano	38,8 \pm 2,6 ^a	15,18

Médias seguidas de letras diferentes na coluna são estatisticamente diferentes pelo teste *Student* ($p=0,0297$).

MENDES et al. (2010) pesquisando diferentes níveis de betaglucano (60, 120, 180, 240g/tonelada) na dieta de leitões dos 21 aos 49 dias de idade, não observaram melhora no desempenho. Entretanto, dos 21 aos 60 dias de idade houve um aumento no ganho de peso nos leitões suplementados com 240g de betaglucano/tonelada de ração em relação ao grupo controle. Igualmente, EICHER

et al. (2006) avaliando leitões suplementados com 0,312g/kg, equivalente a 2,5% da dieta com betaglucano combinado com vitamina C por quatro semanas, suplementados desde o primeiro dia de vida, observaram um maior ganho de peso e efeitos imunomoduladores, quando comparados grupo controle.

ALBINO et al. (2006) que utilizando a adição de mananoligossacarídeos isolados ou combinados com antibiótico (avilamicina) verificaram que essa adição proporcionou efeitos benéficos no ganho de peso de aves.

Em relação aos resultados da análise da profundidade de cripta do cólon e comprimento do intestino, não se verificou diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos ($p < 0,05$) (tabela 2).

TABELA 2: media \pm erro padrão da profundidade de cripta do cólon (μm) e comprimento do intestino (cm) de ratos wistar tratados ou não com betaglucano, durante o período de 65 a 95 dias de idade.

Variável	Tratamentos	
	Controle	Betaglucano
Profundidade cripta do cólon μm	218,75 \pm 15,6	277,33 \pm 32,35
Coeficiente de variação %	15,95	32,35
Valor de p	0,2171	0,2171
Comprimento do intestino cm	135,30 \pm 6,13	143,60 \pm 2,09
Coeficiente de variação %	10,13	3,26
Valor de p	0,2357	0,2357

Diferindo dos resultados encontrados no presente trabalho, ALVES (2009) constatou que no cólon proximal dos ratos em experimentação houve diferença significativa ($p < 0,05$) na profundidade de cripta, nos animais do grupo suplementados com leite cru em relação ao grupo controle, provavelmente devido à presença de vários oligossacarídeos no leite que atuam como prebióticos (NEWBURG et al., 2005).

Na análise morfométrica das criptas do jejuno observou-se que não houve diferenças estatísticas entre os tratamentos ($p < 0,05$) (tabela 3).

TABELA 3: media \pm erro padrão da profundidade de cripta do jejuno (μm) de ratos wistar tratados ou não com betaglucano durante o período de 65 a 95 dias de idade.

Tratamentos	Profundidade de cripta do jejuno (μm)	Coeficiente de variação (%)
Controle	153.35 \pm 13.16	16,52
Betaglucano	140 \pm 1.76	2.8
Valor de p	0,2481	0,2481

Os resultados deste trabalho concordam com RAMOS et al. (2011) que avaliando diversos tratamentos: ração com antibiótico, ração com probiótico, ração com prebiótico, ração com probiótico e prebiótico sobre a profundidade de cripta do jejuno de frangos de corte, não observaram diferenças estatísticas significativas entre os grupos ($p > 0,05$). Igualmente, OLIVEIRA et al. (2009) testando dois níveis de mananoligossacarídeos, dois níveis de complexo enzimático e um controle positivo (sulfato de colistina e virginamicina) em frangos de corte, observaram que não houve diferença estatística na profundidade de cripta do jejuno.

As justificativas para as diferenças de resultados encontrados na literatura em relação aos parâmetros estudados, provavelmente se devam pelas variações na composição química do prebiótico utilizado, do período de fornecimento do betaglucano e pelos trabalhos terem sido realizados em diferentes espécies.

CONCLUSÕES

Conclui se que nas condições em que o experimento foi realizado, a suplementação de betaglucano aumentou o ganho de peso dos animais, não interferindo no comprimento do intestino e profundidade de cripta do jejuno e cólon de ratos wistar.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela concessão da bolsa PIBIC e a UNIPAR pelo apoio.

REFERÊNCIAS

ALBINO, L.F.T.; FERES, F.A.; DIONIZIO, M.A. ROSTAGNO, H.S.; VARGAS JR., J.G.; CARVALHO, D.C.O.; GOMES, P.C.; COSTA, C.H.R. Uso de probióticos à base de mananoligossacarídeos em rações para frangos de corte. **Revista Brasileira Zootecnia**, v. 35, n. 3, Viçosa, maio/jun, 2006.

ALVES, F. F. **Histomorfometria da mucosa colono-cecal de ratos wistar submetidos a dieta contendo leite humano pasteurizado suplementado com bactérias lácticas probióticas**. 2009. 64f. Dissertação. (Mestrado em ciências e tecnologia de alimentos) - Universidade federal de viçosa, Viçosa.

AYRES, M.; AYRES-Jr, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Belém: Universidade Federal do Pará, 2007. 364p.

BUDIÑO, F. E. L. **Probiótico e/ou prebiótico na dieta de leitões recém desmamados**. 2004. 76f. Tese. (Doutorado em Zootecnia) – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.

EICHER, S.D.; McKEE, C.A.; CARROLL, J.A.; PAJOR, E.A. Supplemental vitamin C and yeast cell wall β -glucan as growth enhancers in newborn pigs and as immunomodulators after an endotoxin challenge after weaning. **Journal of Animal Science**, Champaign v.84, p.2352-2360, 2006.

GAGGIÀ, F.; MATTARELLI, P.; BIAVATI, B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. **International Journal of Food Microbiology**, Torino, v. 141 Suppl 1, n. p.15-28, 2010.

IJI, P.A.; TIVEY, D.R. Natural and synthetic oligosaccharides in broiler chicken diets. **World's Poultry Science Journal**, v.54, n.2, p.129-143, 1998.

MENDES, C.B.S.; FONTES, D.O.; GUEDES, R.M.C.et al. Suplementação de betaglucano a dietas de leitões de 21 a 60 dias de idade. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária Zootecnia**, v.62, p.696-705, 2010.

MIZUNO, M.; MORIMOTO, M.; MINATO, K.; TSUCHIDA, H. Polysaccharides from *Agaricus blazei* stimulate lymphocyte T-cell subsets in mice. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, v.62, n.2, p.434-437, 1998.

NEWBURG, D.S.; RUIZ-PALACIOS, G.M.; MORROW, A.L. Human Milk glycan protect infants against enteric pathogens. **Annual reviews of nutrition**, v.25, p.37-58, 2005.

OLIVEIRA, M.C. de; CANCHERINI, L.C.; MARQUES, R.H.; GRAVENA, R.A.; MORAES, V.M.B. de. Mananoligossacarídeos e complexo enzimático em dietas para frangos de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.879-886, 2009.

OTUTUMI, L.K; FURLAM, A.C.; MARTINS, E.N.; NAKAMURA, C.V.; GARCIA, E.R.M.; LOOSE, P.V. Diferentes vias de administração de probiótico sobre o desempenho, o rendimento de carcaça e a população microbiana do intestino delgado de codornas de corte. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.1, p.158-164, 2010.

PESSÔA, G.B.S.; TAVERNARI, F.C.; VIEIRA, R.A.; ALBINO, L.F.T. Novos conceitos em nutrição animal. **Revista Brasileira Saúde Produção Animal**, v.13, n.3, p.755-774, 2012.

RAMOS, L. S. N.; LOPES, J. B.; SILVA, S. M. M. S. Desempenho e histomorfometria intestinal de frangos de corte de 1 a 21 dias de idade recebendo melhoradores de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 40, n. 8, p. 1738-1744, 2011.