

## Utilização de indicadores de atividade celular no desenvolvimento pós-natal do jejuno e íleo de bezerros

*Intestinal indicators of cellular activity use in afterbirth development of jejunum and ileum of calves*

BAGALDO, A. R.<sup>1</sup>, PAULETTI, P.<sup>2</sup>, DELGADO, E. F.<sup>3</sup>, KINDLEIN, L.<sup>4</sup>, OLIVEIRA, R. L.<sup>5</sup>, MACHADO NETO, R.<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Zootecnista, D.Sci. – Depto Produção Animal, EMV/UFBA

<sup>2</sup>Eng. Agrônoma, D.Sci - Aluna de Pós-doc – ESALQ-USP

<sup>3</sup>Eng. Agrônomo, D.Sci - Depto de Zootecnia – ESALQ/USP

<sup>4</sup>Médica Veterinária, D.Sci - Depto Zootecnia – ESALQ/USP

<sup>5</sup>Zootecnista, D.Sci – Depto Produção Animal – EMV/UFBA

<sup>6</sup>Eng. Agrônomo, Prof. Dr. Titular Depto de Zootecnia – ESALQ/USP

\*Endereço para correspondência: [arbagald@esalq.usp.br](mailto:arbagald@esalq.usp.br)

### RESUMO

Vinte e um bezerros machos, da raça Holandesa, foram utilizados para que fosse comparado o desenvolvimento dos segmentos jejuno e íleo do intestino delgado, através do uso de indicadores de atividade celular e pela expressão do gene do IGF-I e de seu receptor. Os bezerros recém nascidos foram distribuídos ao acaso em três idades de abate: após o nascimento e sem a ingestão de colostro; dois e sete dias de vida, respectivamente. Após o nascimento, os bezerros foram separados das mães e receberam 5% do peso vivo em colostro, passando a receber leite na quantidade de 4l., divididos em duas refeições diárias até a idade de abate. No abate, os segmentos do intestino delgado jejuno e íleo foram isolados e coletadas amostras. A expressão do receptor de IGF-I no jejuno e íleo aumentou com a idade dos animais. O íleo apresentou maiores concentrações do RNAm do IGF-I e do receptor, em comparação ao jejuno, ao nascimento e aos sete dias de vida. As concentrações de RNA e as relações proteína/RNA e RNA/DNA foram maiores no íleo do que no jejuno. Entretanto, as concentrações de DNA, RNA e proteína aumentaram com a idade. As porções do intestino delgado, jejuno e íleo apresentaram diferenças temporais no desenvolvimento.

Palavras Chaves: colostro, IGF-I; intestino delgado; maturação

### SUMMARY

Twenty-one male Holstein calves were used to compare the development of the intestinal segments jejunum and ileum, by the use of intestinal indicators of cellular activity and by the IGF-I gene expression and its receptor. Newborn calves were randomly distributed in three slaughter age: after birth and without colostrum ingestion; two and seven days after birth. After birth, newborn calves were separated from dams and fed colostrum 5% of body weight; afterwards, they received milk twice daily until the slaughter age. At slaughter, the segments of the intestine jejunum and ileum were isolated and samples were collected. The expression of the IGF-I receptor in jejunum and ileum increased with age of the animals ( $P < 0.05$ ). Ileum showed higher IGF-I and receptor mRNA concentrations than jejunum at birth and seven days old ( $P < 0.05$ ). Concentrations of RNA, protein/RNA and RNA/DNA ratio were higher in ileum than jejunum. However, the concentrations of DNA, RNA and protein increased with the age. The segments of intestine jejunum and ileum presented timed related differences in their development.

Keywords: colostrum; IGF-I; maturation; small intestine

## INTRODUÇÃO

O desenvolvimento pós-natal do trato gastrointestinal de bezerros é principalmente influenciado pelo consumo de colostro (ODLE et al., 1996; BÜHLER et al., 1998). Dentre as modificações que seguem, ao nascimento, são notáveis o grande crescimento e o desenvolvimento do trato gastrointestinal, de forma que prejuízos no desenvolvimento e função desse órgão contribuem significativamente para a morbidez e mortalidade pós-natal (ODLE et al., 1996).

A ingestão do colostro pelo neonato tem efeitos no desenvolvimento do trato intestinal, na atividade das enzimas digestivas e gastrointestinais, na secreção de hormônios pancreáticos e modificação da capacidade intestinal absorptiva. O reconhecimento das razões imunológicas para o fornecimento do colostro para bezerros na fase neonatal é um fato estabelecido. Na busca da base biológica, para o diferencial de desempenho de bezerros recebendo colostro, verifica-se que além de se constituir em fonte de nutrientes e de elementos de proteção, contém várias moléculas biologicamente ativas que são essenciais para o crescimento e sanidade animal. Os componentes do colostro, incluindo as substâncias bioativas, como os fatores de crescimento e os hormônios, podem modular o desenvolvimento do trato gastrointestinal, bem como as funções digestivas e absorptivas dos animais recém-nascidos (BAUMRUCKER e BLUM, 1993; BÜHLER et al., 1998).

O intestino delgado é a porção do tubo digestivo onde ocorrem os processos finais da digestão. É um órgão longo, o que permite uma ação mais demorada das enzimas digestivas. Apresenta três porções: duodeno, jejuno e íleo. A renovação do epitélio intestinal se dá com grande rapidez, graças à alta atividade mitótica das células

da porção basal das glândulas.

Uma das características do final da permeabilidade intestinal, quando ocorre o término da transferência de macromoléculas do intestino para o sistema circulatório de ruminantes recém-nascidos, é marcada pela presença de enterócitos em diferentes estágios de maturação, sugerindo que o fechamento intestinal está relacionado à presença de uma segunda população de células epiteliais, extremamente diferentes da presente ao nascimento (JOCHIMS et al., 1994). Se na ingestão de alimento, a presença de fatores do colostro, como hormônios e peptídeos bioativos, ou o início da atividade digestiva no animal afetam essa substituição, ainda está para ser conclusivamente estabelecido (BESSI et al. 2002ab). Pakkanen e Aalto (1997) sugeriram que uma dieta rica em IGF-I (hormônio de crescimento semelhante à insulina), como o colostro, que provoca o aumento do crescimento e da taxa de renovação celular das células intestinais, contribuirá para o funcionamento mais eficiente, aumentando a captura dos componentes da dieta e favorecendo processos anabólicos, bem como estimulando o crescimento generalizado.

Como a maioria dos fatores de crescimento, o IGF-I é produzido amplamente pelo organismo. Não é armazenado em grânulos secretores como a maioria dos hormônios clássicos, mas é liberado diretamente, assim que é sintetizado. Quantificações da abundância do RNAm indicam que, apesar da síntese do IGF-I ser ubíqua, o fígado é a maior fonte do peptídeo circulante (Murphy et al., 1987). Isso significa que as ações do IGF-I são atribuídas ao IGF-I produzido localmente e também ao IGF-I hepático presente na circulação, permitindo integração da regulação individual do tecido via sinais sistêmicos coordenados. Hammon

e Blum (2002) da mesma forma demonstraram uma expressão diferenciada dos receptores tipo I, II e insulina na mucosa do duodeno, jejuno, íleo e colo de bezerros com oito dias de vida. No intestino delgado, a ligação do IGF-I, em seu respectivo, receptor foi menor no duodeno, que é considerado a região mais ativa para digestão e absorção de nutrientes (TERMANINI et al., 1990).

De acordo com Thissen et al. (1994), o grau de nutrição afeta diretamente a expressão do IGF-I nos tecidos, também a concentração sanguínea, e, considerando que componentes nutricionais e não-nutricionais devem estar presentes em maior concentração nas partes proximais do intestino delgado do que nas distais (BLÄTTLER et al., 2001; BÜHLER et al., 1998), sugere-se diferença no desenvolvimento intestinal das porções proximais e caudais.

O objetivo deste trabalho é analisar, utilizando indicadores de atividade celular, o desenvolvimento do jejuno e íleo, e também a expressão do IGF-I e seu receptor em bezerros recém-nascidos até os sete dias de vida.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Animais e tratamentos

Vinte e um bezerros machos recém-nascidos, da raça holandesa, foram distribuídos ao acaso em três idades de abate: logo após o nascimento e sem a ingestão de colostro; 48 (2 dias) e 168 horas (7 dias) após o nascimento. Assim que nascidos, os bezerros foram separados das mães, pesados e, com o uso de mamadeiras, receberam colostro, proveniente da mãe, numa quantidade referente a 5% do peso vivo. Após a ingestão do colostro, os animais passaram a receber leite na quantidade de 4l divididos em duas refeições diárias até a idade de abate.

### Coleta de amostras

No abate, os animais foram anestesiados e exsanguinados, sendo os segmentos do intestino delgado, jejuno e íleo, isolados e coletadas amostras. Os tecidos foram lavados com solução salina (0,9% NaCl) e rapidamente congelados em nitrogênio líquido. Os procedimentos utilizados estiveram de acordo com os "Princípios Éticos na Experimentação Animal" recomendados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

### Quantificação do IGF-I

As concentrações de IGF-I no colostro foram quantificadas por ensaio imunoradiométrico pós-extração, utilizando-se o kit DSL-5600 (Diagnostic Systems Laboratories, Inc.), em um contador gama.

### Extração de RNA, DNA e proteína

A quantificação do RNA e DNA totais são indicadores da capacidade de síntese e proliferação celular do tecido, respectivamente. Nesse caso, 1 g de tecido foi homogeneizado em 19 mL de água deionizada. A partir desse homogenato realizou-se a extração do DNA de acordo com o método de Labarca e Paigen (1980). Como parte do protocolo da extração do DNA, o RNA total pôde ser separado e foram adicionados 3 mL de ácido tricloroacético 0,2 N. A solução foi lida em espectrofotômetro, a 260nm e 280 nm (correção de proteína). Para a quantificação da proteína total, retirou-se 1mL do homogenato, sendo feita a determinação segundo o método de Lowry et al. (1951).

Para a quantificação do RNAm do IGF-I e receptor, o RNA total das amostras de tecido foi extraído, utilizando-se o reagente Trizol (Invitrogen<sup>TM</sup>). A quantificação do RNA foi feita em espectrofotômetro a 260-280 nm, e

a integridade do RNA foi confirmada em gel de agarose. Uma alíquota de 1 mg do RNA total foi utilizada na síntese do DNA complementar.

Primers para IGF-I (primer direto: 5' TCG CAT CTC TTC TAT CTG GCC CTG T 3'; primer reverso: 5' GCA GTA CAT CTC CAG CCT CCT CAG A 3'), e para o receptor (primer direto: 5' TTA AAA TGG CCA GAA CCT GAG 3'; primer reverso: 5' ATT ATA ACC AAG CCT CCC AC 3') específicos para amplificação das seqüências dos genes foram obtidos a partir do trabalho de Pfaffl (2001). Beta-actina foi utilizada como gene constitutivo (primer direto: 5' CTA GGC ACC AGG GCG TCA TG 3'; primer reverso: 5'CTT AGG GTT CAG GGG GGC CT 3').

Os fragmentos de PCR do IGF-I e do receptor foram clonados, em bactérias eletrocompetentes *E.coli* DH10B, utilizando-se TOPO TA Cloning Kit<sup>®</sup> (Invitrogen<sup>™</sup>). O material clonado foi seqüenciado para a confirmação dos fragmentos inseridos. Para se produzir a curva padrão de cada gene, foram usados os plasmídios extraídos dos clones e medida a quantidade de DNA em espectrofotômetro. Assim, a partir de diluições seriadas, foram construídas curvas padrão com sete pontos para os genes. O PCR em tempo real, para a quantificação dos genes, foi feito por meio de equipamento "Lightcycler", seguindo a metodologia do SYBR Green. A expressão do IGF-I e do receptor foi normalizada pela expressão do gene da beta-actina.

## Análise estatística

Para todas as variáveis estudadas, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, e os tratamentos foram dispostos numa estrutura fatorial 2x3, correspondente ao segmento intestinal (jejuno ou íleo) e idades (ao nascimento, dois ou sete dias de idade).

Todos os dados foram submetidos à análise de variância, através do procedimento "General Linear Model" (PROC GLM) do programa estatístico SAS (1991). A transformação logarítmica foi utilizada nas variáveis de expressão, por não haver distribuição normal. O método de Tukey foi utilizado para avaliação de diferenças entre médias de idade. Para todas as análises, utilizou-se o nível de significância de 5%.

## RESULTADOS

Na comparação das concentrações do RNAm do IGF-I entre as idades, observou-se que, no jejuno, estas concentrações foram semelhantes ( $P > 0,05$ ; Tabela 1), enquanto que no íleo houve um aumento da variável com a idade ( $P < 0,05$ ). Por sua vez, a expressão do receptor no jejuno e íleo aumentou com a idade dos animais ( $P < 0,05$ ; Tabela 1).

A expressão do IGF-I e do receptor também foi comparada entre os tecidos. Nesse caso, o íleo apresentou maiores concentrações de RNAm do IGF-I e do receptor, em comparação ao jejuno, ao nascimento e aos sete dias de vida ( $P < 0,05$ ).

Tabela 1. Expressão do RNAm do IGF-I e receptor tipo I no jejuno e íleo, nas diferentes idades de bezerras.

Idade (dias)	Tecidos		CV <sup>1</sup> %
	Jejuno	Íleo	
	IGF-I, n° mol/mg tec		
0	0,24 <sup>b</sup>	2,3 <sup>a</sup>	15,6
2	1,14	0,96	27,6
7	0,56 <sup>b</sup>	1,12 <sup>a</sup>	14,9
	Receptor, n° mol/mg tec		
0	0,28 <sup>bA</sup>	2,98 <sup>Aa</sup>	24,15
2	0,10 <sup>AB</sup>	0,49 <sup>Bb</sup>	9,65
7	0,06 <sup>bA</sup>	0,61 <sup>Ab</sup>	16,15

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste F (P<0,05).

<sup>AB</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

<sup>1</sup> Coeficiente de variação

Sendo analisados os indicadores de atividade celular, observou-se que as concentrações de DNA e de proteína e a relação proteína/DNA não apresentaram diferenças entre o jejuno, e íleo (P>0,05). No íleo, as concentrações de RNA foram maiores do que no jejuno ao nascimento e aos sete dias de vida, enquanto que a relação proteína/RNA foi maior jejuno

aos sete dias de vida (P<0,05; Tabela 2). Nos tecidos, observou-se aumento da concentração de DNA e proteína e diminuição da concentração de RNA e da atividade de tradução (RNA/DNA) com a idade, destacando-se que essa última foi menor no íleo do que no jejuno aos sete dias de vida (Tabela 2).

Tabela 2. Concentrações de DNA, RNA, proteína e suas relações no jejuno e íleo dos bezerros, nas diferentes idades

Idade (dias)	Tecidos		CV <sup>1</sup> %
	Jejuno	Íleo	
	DNA, mg/g tecido		
0	3,6 <sup>B</sup>	3,7	34
2	5,5 <sup>B</sup>	4,8	17
7	6,4 <sup>A</sup>	5,8	27
	RNA, mg/g tecido		
0	11,5 <sup>bb</sup>	14,7 <sup>ab</sup>	18
2	15,1 <sup>A</sup>	15,1 <sup>B</sup>	13
7	14,5 <sup>ba</sup>	16,5 <sup>aa</sup>	7
	proteína, mg/g tecido		
0	95,4 <sup>B</sup>	85,7 <sup>B</sup>	29
2	98,6 <sup>AB</sup>	94,4 <sup>AB</sup>	23
7	123,7 <sup>A</sup>	107,1 <sup>A</sup>	24
	Proteína/DNA, mg/mg		
0	32,8	25,8	70
2	22,6	25,2	77
7	19,4	18,9	68
	Proteína/RNA, mg/mg		
0	8,1	6,3	21
2	8	6,2	19
7	8,5 <sup>a</sup>	6,4 <sup>b</sup>	12
	RNA/DNA, mg/mg		
0	2,9 <sup>ba</sup>	4,4 <sup>a</sup>	36
2	2,7 <sup>A</sup>	3,8	34
7	2,3 <sup>B</sup>	2,8	26

<sup>ab</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste F (P<0,05).

<sup>AB</sup> Médias seguidas de letras diferentes na mesma coluna diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

<sup>1</sup> Coeficiente de variação

## DISCUSSÃO

O colostro fornecido aos bezerros apresentou a concentração média de 674,15 ± 259,53 ng/mL de IGF-I, valores compatíveis com a

média encontrada na literatura (VACHER et al., 1995; MACDONALD, 1999). A presença do IGF-I no jejuno e íleo, ao

nascimento, sugere que esses segmentos, além do IGF-I presente no colostro, também sofrem ação autócrina/parácrina, e que estão preparados para receber o IGF-I do colostro, pelo fato de serem observadas maiores concentrações do receptor nesses segmentos, logo após o nascimento (Tabela 1).

A diminuição da expressão do receptor tipo I no intestino de bezerros abatidos com oito dias de vida, comparada com aqueles abatidos logo após o nascimento, foi também observada por Georgieva et al. (2003). Já Georgiev et al. (2003) não observaram diferenças na expressão do RNAm do receptor tipo I nem no número de receptores, na primeira semana de vida de bezerros.

Os efeitos fisiológicos do IGF-I e II e insulina, no crescimento do trato intestinal, são variáveis nas diferentes regiões do intestino e durante os diferentes períodos de desenvolvimento (GEORGIEV et al., 2003). Semelhante ao presente trabalho, Georgiev et al. (2003), Georgieva et al. (2003), MacDonald (1999) e Ontsouka et al. (2004) também observaram maiores níveis do RNAm do IGF-I na região distal do intestino, em comparação à região proximal. O aumento da proliferação celular nas criptas, ou ainda, a estimulação do crescimento da mucosa intestinal estão associados com o aumento da expressão do gene do IGF-I (JEHLE et al., 1999). Bühler et al., (1998) e Blattler et al. (2001) observaram uma associação negativa entre o tamanho do vilão e a proliferação celular nas criptas, indicando que há um mecanismo de controle de “feedback” negativo que regula o crescimento do intestino. Os autores não descartam a idéia de que altas quantidades de IGF-I, presentes no colostro, que não são destruídas pela digestão luminal em neonatos, possam influenciar a produção do IGF-I no trato intestinal e causar a inibição do gene do IGF-I. Nesse caso, a exposição de mais nutrientes no jejuno pode desencadear diminuição da expressão do IGF-I nesse segmento, explicando a

diferença significativa entre jejuno e íleo observada neste estudo. Esse fato também foi confirmado por Winesett et al. (1995).

Georgieva et al. (2003) observaram que a expressão do IGF-I, assim como do receptor tipo-I, podem ser encontradas em todos os segmentos do intestino delgado e também no colo de bezerros nascidos de gestações normais e prematuros. Os níveis do RNAm seguem um aumento da região proximal à distal do intestino, a ponto de o colo apresentar maiores níveis numéricos e significantes de RNAm para o IGF-I e o receptor tipo I. Entre todas as partes do intestino delgado, o íleo exibiu os maiores níveis de RNAm para os receptores do IGF-I e II, insulina e hormônio do crescimento. As diferentes concentrações de receptores sugerem diferenças específicas de sítio nas ações do GH, IGF-I, IGF-II e insulina. Georgiev et al. (2003) observaram que, nos animais abatidos logo após o nascimento, a capacidade de ligação foi maior no íleo do que no jejuno e quando abatidos com oito dias de vida, essa variável não teve diferença entre os dois tecidos. Segundo os autores, diferentes níveis de RNAm podem ser um reflexo das diferenças nas taxas de “turnover” do RNAm.

Baumrucker et al. (1994) e Hammon e Blum (2002) também observaram que a concentração de receptores ao longo do trato intestinal não é uniforme, sendo maior o íleo de bezerros, se comparado ao jejuno. Bühler et al. (1998) verificaram maior circunferência e altura de vilos intestinais no duodeno de bezerros, sendo que o íleo apresentou maior profundidade das criptas. Isso pode ter sido, em parte, devido a uma redução do estímulo do crescimento pelos fatores de crescimento não-nutricionais e/ou fatores nutricionais que estão menos disponíveis em quantidade na parte distal do intestino delgado em relação à parte proximal.

A quantificação do DNA é um indicativo de proliferação celular. Diferentes padrões

relacionados com idade e aumento de DNA eram esperados nos dois segmentos intestinais, entretanto, só foi observado no jejuno, caracterizando diferenças espaciais e temporais nas taxas de proliferação dos enterócitos (Tabela 2). Esse aumento está de acordo com o processo proliferativo que determina a renovação celular em dois ou três dias após o nascimento, indicando o término da transferência de macromoléculas do intestino para o sistema circulatório de ruminantes recém-nascidos (Smeaton e Simpson, 1985).

O aumento das concentrações de RNA e proteína com o passar da idade era um processo esperado, visto que, após o nascimento, a primeira geração de células não produz, ou produz em baixas quantidades, enzimas hidrolíticas, permitindo, assim, a absorção intacta de imunoglobulinas presentes no colostro (KRUSE, 1983; SMEATON e SIMPSON, 1985), o que também foi observado no presente trabalho pelas menores concentrações de proteína e RNA, ao nascimento. Após o segundo dia de vida, haveria células de primeira e segunda geração, e essas células estariam num estágio intermediário de síntese de proteína (BESSI et al., 2002ab). A resposta caracterizando a maturidade celular, pôde ser observada aos sete dias de vida, com o aumento da concentração de proteína, em ambos os segmentos, o que também está de acordo com o sugerido por Tange et al. (1999), que relacionam a produção de proteínas no trato intestinal à maturidade desse.

A maioria dos trabalhos, bem como o presente estudo, destacou o aumento na concentração de proteína no intestino. Esse aumento pode ser atribuído à combinação de três fatores. Primeiro, a endocitose de imunoglobulinas no colostro, principalmente IgG, e a grande quantidade de proteínas. A concentração média de IgG no colostro e nas subseqüentes secreções lácteas não diferiram

entre os tratamentos. No colostro, a média de IgG encontrada foi de 119,60 mg/mL e, do segundo ao sétimo dia pós-parto, as concentrações de IgG decresceram para 28,93 e 8,92 mg/mL, respectivamente (PAULETTI, 2003). A capacidade de absorção das imunoglobulinas é limitada em bezerros recém-nascidos, uma vez que o epitélio se intestinal torna progressivamente impermeável, cessando a absorção entre 24 e 36 horas após o nascimento (SMEATON e SIMPSON, 1985). Desse modo, sugere-se que o intestino delgado dos bezerros com dois dias de vida ainda apresentava vacúolos intracelulares com proteínas nos enterócitos. Como segundo fator que se aplicaria às respostas obtidas, o colostro aumenta as concentrações intestinais de RNA e síntese de proteína pelos enterócitos, aspecto também considerado por Simmen et al. (1990). Como terceiro e último fator, a maior quantidade de DNA, às 48 horas, indica que o colostro estimulou proliferação das células nas criptas, condição que também está de acordo com Burrin et al. (1992). Segundo Burrin et al. (1992, 1995), o fator predominante, que afeta a resposta anabólica da proteína nos tecidos viscerais, poderia ser o consumo de nutrientes e talvez a associação de processos fisiológicos associados com a alimentação.

Segundo Patureau-Mirand et al. (1990), o aumento do conteúdo de proteína total no intestino, em resposta à ingestão de colostro, resulta de aumento em ambas síntese endógena e absorção de proteína do colostro. Os autores verificaram correlação positiva entre consumo de proteína e a taxa de síntese de proteína no fígado. De acordo com essa hipótese, recém-nascidos que ingerem colostro consomem mais proteína e, portanto, absorvem mais aminoácidos, que ficam disponíveis para síntese protéica, especialmente no intestino e fígado (BURRIN et al., 1992).

A enzima fosfatase é utilizada como marcador das atividades dos lisossomos. Em

ratos as IgGs não são degradadas no intestino delgado proximal, enquanto que no distal foi observada degradação das imunoglobulinas em vesículas que possuem atividades lisossômicas (HASEGAWA et al., 1987). Bessi et al. (2002ab) observaram reação de enzima fosfatase ácida nas membranas apicais das células e reação em lisossomos no jejuno de bezerros aos três dias de vida, não sendo observada a mesma reação ao nascimento e com um dia de vida. Enquanto isso, no íleo, essa reação foi observada nos bezerros recém-nascidos e que não ingeriram colostro. Como no presente trabalho, a concentração de proteína não diferiu entre os segmentos. Provavelmente, essa maior atividade de enzimas não seja alta o suficiente para apresentar diferença estatística, o que refletiu na quantidade de proteína por célula (proteína/DNA). Entretanto, a maior concentração de RNA e da relação RNA/DNA observada no íleo sugere maior capacidade de síntese de proteína comparada ao jejuno. Outro fato que também poderia servir de explicação, seria a maior expressão do IGF-I e de seu receptor nesse segmento e, como já comentado e discutido, esse peptídeo é um fator importante para o desenvolvimento do epitélio intestinal, estimulando a maturação celular. Alguns trabalhos encontrados na literatura

## REFERÊNCIAS

BAUMRUCKER, C.R.; BLUM, J.R. Secretion of insulin-like growth factors in milk and their effect on the neonate. **Livest Prod Sci**, v.35, p.49-72, 1993.

BAUMRUCKER, C.R.; HADSELL, D.L.; BLUM, J.W. Effects of dietary insulin growth factor I on growth and insulin like growth factor receptors in neonatal calf intestine. **J Anim Sci**, v.72, p.428-433, 1994.

BESSI, R.; PAULETTI, P.; d'ARCE, R.D.; MACHADO NETO, R. Absorção de anticorpos

apresentam resultados conflitantes para os indicadores de atividade celular RNA e DNA. Burrin et al. (1992) observaram que a concentração de RNA no íleo (mg/kg peso vivo) não foi diferente do jejuno. Os mesmos autores, em outro trabalho, Burrin et al., (1995), verificaram maior taxa de síntese protéica no jejuno de leitões. Zhang et al. (1997), investigando as mudanças que ocorrem no intestino de leitões recém-nascidos, que ingeriram colostro até 24 horas de vida, verificaram que a concentração de proteína na mucosa intestinal aumentou 126% durante as primeiras seis horas após o nascimento, principalmente, no jejuno (149%) e íleo (135%), não diferindo entre as regiões. Ao nascimento, a concentração de DNA não diferiu entre as regiões, após 12 horas, a quantidade total de DNA na mucosa de todo o intestino foi 177% maior, sendo esse aumento encontrado nas regiões do jejuno (204%) e íleo (230%). Por outro lado, Burrin et al. (1996) observaram maiores concentrações de DNA e proteína no jejuno do que no íleo de leitões que ingeriram sucedâneo enriquecido com IGF-I.

## CONCLUSÃO

As porções do intestino delgado, jejuno e íleo, apresentam diferenças temporais no seu desenvolvimento.

do colostro em bezerros. I. Estudo no intestino delgado proximal. **Rev Bras Zoot.** 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. I. Estudo no intestino delgado caudal. **Rev Bras Zoot.** v.31, n.6, p.2314 - 2324, 2002b.

BLÄTTLER, U.; HAMMON, H.M.; MOREL, C.; PHILIPONA, C.; RAUPRICH, A.; ROMÉ, V.; HÜERON-LURON, I.; GUILLOTEAU, P.;

BLUM, J.W. Feeding colostrum, its composition and feeding duration variably modify proliferation and morphology of the intestine and digestive enzyme activities of neonatal calves. **J Nutr**, v.131, n.4, p.1256-1263, 2001.

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 growth factor I and growth hormone. **J Animal Sci**, v.76, n.3, p.758-765, 1998.

BURRIN, D.G.; SHULMAN, R.J.; REEDS, P.J.; DAVIS, T.A.; GRAVITT, K.R. Porcine colostrum and milk stimulate visceral organ and skeletal muscle protein synthesis in neonatal piglets. **J Nutr**, v.122, n.6, p.1205-1213, 1992.

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 Res**, v.37, p.593-599, 1995.

BURRIN, D.J.; WESTER, T.J.; DAVIS, T.A.; AMICK, S.; HEATH, J.P. Orally administered IGF-I increases intestinal mucosal growth in formula-fed neonatal pigs. **Amer J Physiol**, v.270, p. 1085-1091, 1996.

FELLAH, A.M.; PHILIPPS, A.F.; GILLESPIE, T.J.; GALO, J.R.; DVORAKA, B. Degradation of insulin-like growth factors in small intestine of suckling rats. **Regul Pept**, v.98, p.19-25, 2001.

GEORGIEV, I.P.; GEORGIEVA, T.M.; PFAFFL, M.; HAMMON, H.M.; BLUM, J.W. Insulin-like growth factor and insulin receptors in intestinal mucosa of neonatal calves. **J Endocrin**, v.176, p.121-132, 2003.

GEORGIEVA, T.M.; GEORGIEV, I.P.; ONTSOUKA, E.; HAMMON, H.M.; PFAFFL, M.; BLUM, J.W. Abundance of message for insulin-like growth factors-I and II and for

receptors for growth hormone, insulin-like growth factors-I and II, and insulin in the intestine and liver of pre-and full term calves. **J Anim Sci**, v.81, p. 2294-2300, 2003.

HAMMON H.M.; BLUM, J.W. Feeding different amounts of colostrum or only milk replacer modify receptors of intestinal insulin-like growth factors and insulin in neonatal calves. **Domest Anim Endocrin**, v.22, p. 155-168, 2002.

HASEGAWA, H; NAKAMURA, A.; WATANABE, K.; BROWN, W.R.; NAGURA, H. Intestinal uptake of IgG in suckling rats. **Gastroenterol**, v.92, p.186-191, 1987.

KRUSE, P.E. The importance of colostrum immunoglobulin and their absorption from the intestine of newborn animals. **Ann Recher Veterin**, v.14, p.349-353, 1983.

LABARCA, C.; PAIGEN, K. A simple, rapid, and sensitive DNA assay procedure. **Anal Biochem**, v.102, n.2, p.344-352, 1980.

LOWRY, O.H.; ROSENBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent. **J Biolog Chem**, v.193, n.2, p.265-275, 1951.

MA, L.; XU, R.J. Oral insulin-like growth factors-I stimulates intestinal enzyme maturation in newborn rats. **Life Sci**, v.61, n.1, p.51-58, 1997.

MACDONALD, R.S. The role of insulin-like growth factors in small intestinal cell growth and development. **Horm Metab Res**, v.31, n.2/3, p.103-113, 1999.

MURPHY, L.J.; BELL, G.I.; FRIESEN, H.G. Tissue distribution of insulin-like growth factor I and II messenger ribonucleic acid in the adult rat. **Endocrinol**, v.120, p.1279-1282, 1987.

ODLE, J.; ZIJLSTRA, R.T.; DONOVAN, S.M. Intestinal effects of milkborne growth factors in neonates of agricultural importance. **J Animal Sci**, v.74, n.10, p.2509-2522, 1996.

ONTSOUKA, C.E.; SAUTER, S.N.; BLUM, J.W.; HAMMON, H.M. Effects of colostrum feeding and dexamethasone treatment on mRNA levels of insulin-like growth factors (IGF)-I and -II, IGF binding proteins-2 and -3, and on receptors for growth hormone, IGF-I, IGF-II, and insulin in the gastrointestinal tract of neonatal calves. **Domest Anim Endocrinol**, v.26, p.155-175, 2004.

PAKKANEN, R.; AALTO, J. Growth factors and antimicrobial factors of bovine colostrum. **Int Dairy J**, v.7, n.3, p.285-297, 1997.

PATUREAU-MIRAND, P.; MOSONI, L.; LEVEUX, D.; ATTAIX, D.; BONNET, Y. Effect of colostrum feeding on protein metabolism in the small intestine of newborn lambs. **Biol Neonate**, v. 57, n.1, p.30-36, 1990.

PAULETTI, P. **Fator de crescimento semelhante à insulina I durante a formação e transferência de imunidade passiva para bezerros recém-nascidos**. 2003- 123p. Tese - (Mestrado) Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PFAFFL, M. Development and validation of an externally standardized quantitative insulin-like growth factor-1 RT-PCR using LightCycler SYBR Green Technology. **Biochemica**, n.3, p.13-16, 2000.

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

SIMMEN, F.A.; CERA, K.R.; MAHAN, D.C. Stimulation by colostrum or mature milk of gastrointestinal tissue development in newborn pigs. **J Anim Sci**, v.68, p.3596-3603, 1990.

SMEATON, T.C.; SIMPSON, M.W. Epithelial cell renewal and antibody transfer in the intestine of the fetal and neonatal lamb. **Austr J Experim Biol Sci**, v.63, n.1, p.41-51, 1985.

TANG, M; LAARVELD, B.; VAN KESSEL, A.G.; HAMILTON, D.G.; ESTRADA, A; PATIENCE, J.F. Effect of segregated early weaning on postweaning small intestinal development in pigs. **J Anim Sci**, v.77, p.3191-3200, 1999.

TERMANINI, B.; NARDI, R.V.; FINAN, T.M.; PARIKH, I.; KORMAN, L.Y. Insulin-like growth factor I receptor in rabbits gastrointestinal tract. Characterization and autoradiographic localization. **Gastroenterol**, v.99, p.51-60, 1990.

THISSEN, J.P.; KETELSLEGERS, J.M.; UNDERWOOD, L.E. Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. **Endocrine Rev**, v.15, p.80-101, 1994.

VACHER, P.Y.; BESTETTI, G.; BLUM, J.W. Insulin-like growth factor I absorption in the jejunum of neonatal calves. **Biol Neonate**, v.68, n.5, p.354-367, 1995.

WINESETT, D.E.; ULSHEN, M.H.; HOYT, E.C.; MAHAPATRA, N.K.; FULLER, C.R.; LIND, P.K. Regulation and localization of the insulin-like growth factor system in small bowel during altered nutrient status. **Am J Physiol - Gastrointest and Liver Physiol**, v.268, n.4, p.G631-G640, 1995.

ZHANG, H.; MALO, C.; BUDDINGTON, R.K. Suckling induces rapid intestinal growth and changes in brush border digestive functions of newborn pigs. **J Nutr**, v.127, p.418-426, 1997.