

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA DEXAMETASONA EM ÓRGÃOS DO  
SISTEMA IMUNE- TIMO E BURSA DE FABRICIUS- E EM JEJUNO DE  
FRANGOS**

Dissertação de Mestrado

Juliana Inês Herpich

PORTO ALEGRE

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS VETERINÁRIAS

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA DEXAMETASONA EM ÓRGÃOS DO  
SISTEMA IMUNE- TIMO E BURSA DE FABRICIUS- E EM JEJUNO DE  
FRANGOS**

Autora Juliana Inês Herpich  
Dissertação apresentada como requisito parcial para  
obtenção do grau de Mestre em Ciências Veterinárias  
na área de Medicina Veterinária Preventiva – Sanidade Avícola  
Orientador Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle  
Co-orientador Dr. Lucas Brunelli de Moraes

PORTO ALEGRE  
2016

CIP - Catalogação na Publicação

Herpich, Juliana Inês

Avaliação dos efeitos da dexametasona em órgãos do sistema imune- timo e bursa de Fabricius- e em jejuno de frangos / Juliana Inês Herpich. -- 2016.  
86 f.

Orientador: Carlos Tadeu Pippi Salle.  
Coorientador: Lucas Brunelli de Moraes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Porto Alegre, BR-RS, 2016.

1. Medicina Veterinária. 2. Avicultura. 3. Depleção linfóide. 4. Morfometria de jejuno. I. Salle, Carlos Tadeu Pippi, orient. II. Moraes, Lucas Brunelli de, coorient. III. Título.

**Juliana Inês Herpich**

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA DEXAMETASONA EM ÓRGÃOS DO SISTEMA  
IMUNE- TIMO E BURSA DE FABRICIUS- E EM JEJUNO DE FRANGOS**

Aprovada em 03 MAR 2016.

APROVADO POR:

---

Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle  
Orientador e Presidente da Comissão

---

Dr. Lucas Brunelli de Moraes  
Co-orientador e Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Hamilton Luiz de Souza Moraes  
Membro da Comissão

---

Prof. Dra. Francielli Cordeiro Zimmermann  
Membro da Comissão

---

Prof. Dr. Luiz Cesar Bello Fallavena  
Membro da Comissão

## AGRADECIMENTOS

Ao meu noivo Fabiano, pela paciência, compreensão, carinho e todo amor dedicado todos esses anos. Obrigada por estar sempre presente compartilhando os sonhos, as derrotas e as vitórias, sempre com muito amor!

À minha família, em especial à minha mãe Marlise, ao meu pai Levi e ao meu irmão Tiago, por serem grandes exemplos e grandes companheiros em todos os momentos da vida!

Também, aos queridos Paulo e Delise por serem meus segundos pais!

Aos amigos pelo apoio, auxílios, conselhos, risadas... sejam aqueles que estavam presentes no dia-dia, sejam aqueles presentes para desabafos, mateadas, risadas, momentos de descontração. Em especial aos queridos: Flávia Fortes, Caroline Hiller, Daniela Pinheiro, Brunna Emery, Simone e Fabrício Fonseca, Yuli Sierra, Diane Lima, Tábata Paes, Diana Arpini, Mônica Midon. Vocês foram essenciais para minha chegada até aqui!

À Gabriela Zottis por toda ajuda e amizade! Você foi meu braço direito na histo!

À Daiane Carvalho que cedeu gentilmente as amostras coletadas em seu mestrado e que não mediu esforços para auxiliar em qualquer momento de dúvida. Obrigada pelo apoio, pela competência, amizade e pelas risadas até nas aulas de inglês!

Ao co-orientador Lucas pelo apoio, auxílio, correções e palavras amigas. Também por todos os socorros que deu nas dúvidas histológicas.

Ao Professor Tadeu, pela orientação, pelos ensinamentos, pela confiança e pela amizade.

Ao professor Hamilton, aos colegas mestrados e doutorandos, estagiários e funcionários do CDPA pelo aprendizado, pelos cafezinhos e pela parceria.

À UFRGS e à Faculdade de Veterinária pelo ensino.

Ao CNPQ pelo apoio financeiro.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho!

MUITO OBRIGADA!

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo que todo mundo vê.” (Arthur Schopenhauer)

## RESUMO

A integridade do sistema imune e do trato gastrointestinal está diretamente relacionada à sanidade das aves e ao desempenho zootécnico. Com intenção de melhor compreender estes sistemas e sua interação, o presente estudo foi desenvolvido. O objetivo do trabalho foi avaliar os efeitos da dexametasona nos órgãos linfoides - timo e bursa de Fabricius (BF) - e nas estruturas do jejuno, relacionando-os entre si e ao peso final dos animais. Para tal, foram utilizadas 33 amostras de BF, timo e intestinos, os quais foram processados histologicamente e corados com H&E. As lâminas de BF e de timo foram avaliadas por pelo menos dois histopatologistas, sendo utilizada a moda para determinar o escore de depleção de cada amostra. Foram obtidas fotomicrografias digitais de dez vilosidades por jejuno, nas quais mensuraram-se o comprimento e a largura de vilosidade e a profundidade de uma cripta associada, a altura de núcleo de enterócito, o comprimento de núcleo e a altura de microvilosidade. As medições foram realizadas no *Software Motic 2.0®*. Após, foram aplicados testes estatísticos paramétricos, utilizando o *Software SPSS* e o *Software JMP-SAS*. Observou-se a média de 4,20g nas BF de aves controles, ao passo que em animais submetidos à dexametasona a média foi de 0,74g ( $p < 0,05$ ). O peso relativo (PR) médio das BF controles foi de 0,26%, já em tratados o PR médio foi de 0,06%. Nos controles, a moda do escore de depleção das BF foi 1 e média 1,38. Por outro lado, BF de tratados apresentaram moda 3 e média 2,65 ( $p < 0,05$ ). Nos controles foi observada a média de peso do timo de 17,18g e PR de 1,08%. Já nos tratados a média foi de 6,3g ( $p < 0,05$ ) e PR de 0,57%. A média dos escores de depleção de timos das aves controles foi de 1,63 e moda de 2. Já nos animais tratados a média foi de 3,56 e moda de 3. Nas avaliações realizadas no intestino não houve significância estatística em profundidade de criptas, espessura de parede, tamanho de núcleo e microvilosidades ( $p > 0,05$ ). Intestinos de aves controles apresentaram comprimento em média 1366,4 $\mu$ m maiores e largura de vilosidades em média 58,4 $\mu$ m maiores que aves submetidas a tratamento ( $p < 0,05$ ). Aves tratadas obtiveram ganho de peso de 15,3% uma semana após o tratamento, enquanto aves controles apresentaram ganho de peso de 26,7% no mesmo período. Entre o peso do timo e o peso da BF obteve-se correlação de 93,1% e coeficiente de regressão ( $r^2$ ) de 86,7%. Da mesma forma, entre o peso do timo e o peso da ave foi visto um  $r^2$  de 86,4%. Já entre o peso de BF e peso da ave foi observado  $r^2$  de 71,8%. Por outro lado, os parâmetros avaliados nos intestinos não apresentaram correlações consideráveis. O comprimento de vilosidade obteve correlação com peso de timo próximo a 50% e  $r^2$  de 22,5%. Neste estudo foi possível avaliar os efeitos imunodepressores da dexametasona em timo e BF e nas estruturas do jejuno. Houve redução do ganho de peso das aves com a inoculação de dexametasona. Foi possível estabelecer relações entre sistema imune e peso final da ave e entre comprimento de vilos e peso do timo.

**Palavras-chave:** frangos, jejuno, depleção linfóide, dexametasona.

## ABSTRACT

The integrity of the immune system and gastrointestinal tract are directly related to the health of birds and livestock performance. Intending to better understand those systems and their interaction, the current study was developed. The aim of this study was to evaluate the effects of dexamethasone in lymphoid organs – thymus and bursa of Fabricius (BF) – and in jejunum structures, linking the relationship between those structures, and to the final poultry weight. In this study, 33 samples of BF and intestines were histologically processed and stained with H&E. BF and thymus slides were evaluated by at least two histopathologists. Mode was used to determine the depletion score for each sample. Digital photomicrographs of ten jejunum villi were obtained, in which the length and width of villi were measured, as well as depth of an associated crypt, height of core enterocyte, core length and size of microvilli. Measurements were performed in the Software Motic 2.0®. Then, parametric statistical tests were applied using SPSS Software and JPM-SAS Software. The mean weight of control BF was 4,20g. Dexamethasone-treated group BF mean weight was 0,74g ( $p<0,05$ ). Average relative weight (RW) of control BF was 0,26%, while in treated group, average RW was 0,06%. In control BF, depletion score mode was 1 and average was 1,38. On the other hand, treated poultry BF presented mode 3 and average 2,65 ( $P<0,05$ ). Thymus average weight in control group was 17,18g and RW around 1,08%. In treated group, the average was 6,3g ( $P<0,05$ ) and RW 0,57%. Average depletion score in control poultry thymus was 1,63, with mode 2. In treated animals, average was 3,56 and the mode was 3. Assessment of jejunum measures showed no statistical difference in crypt depth, wall length, core size and microvilli ( $p>0,05$ ). Control poultry intestines showed, in average, 1366,4 $\mu$ m larger length, and 58,4 $\mu$ m higher mean width villi than poultry submitted to treatment ( $p<0,05$ ). Treated poultry obtained 15,3% of weight gain in one week after finished the treatment, while control poultry presented 26,7% of weight gain in the same period. Between thymus weight and BF weight we obtained 93,1% correlation and regression coefficient ( $r^2$ ) of 86,7%. Likewise, between thymus weight and poultry weight the  $r^2$  was 86,4%. Among BF weight and poultry weight, we observed  $r^2$  of 71,8%. On the other hand, the parameters evaluated in the intestines showed no significant correlation. Length of villi and thymus weight presented correlation close to 50% and  $r^2$  of 22,5%. In this study, it was possible to evaluate the immunosuppressive effects of dexamethasone in thymus, BF and jejunum structures. There was reduction in weight gain in poultry treated with dexamethasone. It was possible to correlate lymphoid depletion and final weight of poultry. Correlation between villi length and thymus weight was also demonstrated.

**Keywords:** poultry, jejunum, lymphoid depletion, dexamethasone.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1-</b>	Desenho esquemático da estrutura da BF, representando a camada muscular e mucosa, incluindo as pregas, com epitélio intrafolicular (FAE) e interfolicular (IEF). Adaptado de Olah & Verveldere (2008).....	19
<b>Figura 2-</b>	Representação das principais estruturas do intestino delgado. Adaptado de HIB (2003).....	24
<b>Figura 3-</b>	Calibração do equipamento, com a medida padrão de 1mm. Valor de calibração especificado em 7100 $\mu\text{m}$ no <i>Software Motic 2.0</i> ®.....	31
<b>Figura 4-</b>	Fotomicrografia de um segmento de jejuno (4X). Flecha azul indica uma vilosidade apta para medição.....	32
<b>Figura 5-</b>	Fotomicrografia de um segmento de jejuno (40X). Flecha azul indica uma vilosidade apta para medição.....	32
<b>Figura 6-</b>	Fotomicrografia de um intestino (4X). Medição de comprimento de vilosidade.....	33
<b>Figura 7-</b>	Fotomicrografia de um segmento de jejuno (10X). Medição de profundidade de cripta (A) e largura de parede (B) ( $\mu\text{m}$ ).....	34
<b>Figura 8-</b>	Fotomicrografia de segmento de jejuno (40X). Medição de largura de vilosidade (A), altura de núcleo de enterócito(B), tamanho de núcleo (C) e tamanho de microvilosidade (D). Medidas em $\mu\text{m}$ .....	34
<b>Figura 9-</b>	Gráfico de distribuição das amostras controles e tratadas com glicocorticoide.....	36
<b>Figura 10-</b>	Gráfico do Peso Relativo Médio da BF (%) de animais controles (C) e tratados com dexametasona (T).....	40
<b>Figura 11-</b>	Gráfico do Peso Relativo da BF (%) em função do tempo em animais controle (Linha Azul- C) e tratados com dexametasona (Linha Vermelha- T).....	40
<b>Figura 12-</b>	Fotomicrografia de lâmina histológica de BF do grupo controle (aumento 20x).....	41
<b>Figura 13-</b>	Fotomicrografia de lâmina histológica de BF do grupo tratado com glicocorticoide (aumento 20x).....	42
<b>Figura 14-</b>	Fotomicrografia de lâmina histológica de BF do grupo tratado com glicocorticoide (aumento 20x). Cisto interfolicular, cisto	

	intra-epitelial, epitélio hiperplásico.....	43
<b>Figura 15-</b>	Gráfico de Peso Médio do Timo (g) em função do tempo em animais controles (C) e tratados com dexametasona (T).....	44
<b>Figura 16-</b>	Gráfico do Peso Relativo do Timo - % (Peso do timo/ Peso Corporal da Ave) em função do tempo em animais controles (Linha Azul- C) e tratados com dexametasona (Linha Vermelha-T).....	45
<b>Figura 17-</b>	Fotomicrografia de Lâmina Histológica de Timo – Escore 2- de Grupo Controle (objetiva 4x).....	46
<b>Figura 18-</b>	Fotomicrografia de Lâmina Histológica de Timo – Escore 3- do Grupo Tratado com glicocorticoide (objetiva 4x).....	46
<b>Figura 19-</b>	Gráfico do comprimento de vilosidade médio nos grupos controle e tratado.....	48
<b>Figura 20-</b>	Gráfico de peso médio dos animais do Grupo Controle e Tratado, com desvio padrão em vermelho.....	49
<b>Figura 21-</b>	Gráfico de peso médio dos animais do Grupo Controle e Tratado ao longo do tempo após o tratamento.....	50
<b>Figura 22-</b>	Gráfico comparativo de pesos médios às 40 horas e uma semana após o tratamento.....	50
<b>Figura 23-</b>	Análise de Regressão entre peso da bursa de Fabricius e o peso do timo, através do Software JMP SAS 11.....	51
<b>Figura 24-</b>	Análise de Regressão entre peso da ave e o peso do timo, através do Software JMP SAS 11.....	52

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1-</b>	Intervalos de cada escore de depleção linfocitária da Bursa de Fabricius, através da avaliação óptica, adaptados de Muskett <i>et al</i> (1979) .....	29
<b>Tabela 2-</b>	Dados analisados no intestino por ave ( $\mu\text{m}$ ).....	37
<b>Tabela 3-</b>	Valores de peso médio (PM), Desvio Padrão (DP) do PM, Moda e Média de Escore de Depleção nas BF analisadas..	39
<b>Tabela 4-</b>	Valores de PM, DP do PM, Moda e Média de Escore de Depleção dos timos analisados.....	44
<b>Tabela 5-</b>	Avaliação intestinal: Média e Desvio Padrão de cada item avaliado.....	47

## LISTA DE ABREVIATURAS

Alt.	Altura
BF	Bursa de Fabricius
CDPA	Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária
CEUA	Comitê de Ética no Uso de Animais
DP	Desvio Padrão
FEPAGRO	Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária
g	Gramas
H&E	Coloração Hematoxilina e Eosina
h	Horas
IPVDF	Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor
Kg	Quilogramas
%	Percentual
PM	Peso Médio
PR	Peso Relativo
SEM	Semana
TTO	Tratamento
UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1</b>	<b>SISTEMA IMUNE DAS AVES.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1.1</b>	Bursa de Fabricius.....	17
<b>2.1.2</b>	Timo.....	20
<b>2.2</b>	<b>TRATO GASTROINTESTINAL DAS AVES.....</b>	<b>22</b>
<b>2.3</b>	<b>GLICOCORTICOIDES.....</b>	<b>26</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>28</b>
<b>3.1</b>	Local de Execução do Experimento.....	28
<b>3.2</b>	Amostras.....	28
<b>3.3</b>	Processamento Histológico do Material.....	29
<b>3.4</b>	Análise de Bursas de Fabricius.....	29
<b>3.5</b>	Análise de Timos.....	30
<b>3.6</b>	Análise de Intestinos.....	30
<b>3.7</b>	Análise Estatística.....	35
<b>4</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
<b>4.1</b>	Avaliação das Bursas de Fabricius.....	39
<b>4.2</b>	Avaliação dos Timos.....	43
<b>4.3</b>	Avaliação dos Intestinos.....	47
<b>4.4</b>	Avaliação do peso das aves.....	48
<b>4.5</b>	Relações Estabelecidas.....	51
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>59</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>60</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>65</b>
	<b>APÊNDICE A.....</b>	<b>66</b>
	<b>APÊNDICE B.....</b>	<b>79</b>
	<b>APÊNDICE C.....</b>	<b>83</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A avicultura tem importância fundamental na economia brasileira. Segundo o Relatório Anual da União Brasileira de Avicultura, em 2014 o Brasil produziu 12,69 milhões de toneladas de frango, mantendo sua posição de maior exportador e terceiro maior produtor da carne de frango no mundo (ABPA, 2016). Em 2015, o País tornou-se o segundo maior produtor mundial de carne de frango, atrás apenas dos Estados Unidos (AVISITE, 2016). Hoje, mais de 150 mercados são importadores da carne de frango brasileiro (ABPA, 2016). O setor emprega mais de 3,5 milhões de trabalhadores, mantendo cerca de 130 mil famílias no campo (AVISITE, 2016).

A Região Sul faz parte deste contexto, sendo responsável por quase 75% da produção brasileira de frango. Em 2013, o Estado do Rio Grande do Sul exportou 711.318 toneladas de frangos, representando 18,3% do total (UBABEF, 2014). Dessa forma, o setor apresenta forte responsabilidade social. Para tanto, medidas de biossegurança, boas práticas de criação das aves e alto controle sanitário são importantes estratégias para manter a saúde das aves e da população envolvida. Entretanto, apesar da aplicação cada vez maior de práticas de bem-estar e controle rigoroso da sanidade animal, os animais de produção estão sujeitos a constantes situações de desafios, as quais atuam na estimulação contínua do sistema imune e digestivo das aves.

O organismo do hospedeiro tem de enfrentar um grande número de agentes agressores de natureza infecciosa ou não, por meio do pleno e eficiente funcionamento do sistema imune, cuja organização estrutural é bastante complexa e depende de diversos tipos celulares e mediadores químicos, os quais agem em conjunto, proporcionando mecanismos de resistência altamente efetivos (MONTASSIER, 2009). A imunossupressão é um estado de disfunção temporária ou permanente da resposta imune em um dado organismo hospedeiro, sendo resultado de um dano sofrido pelo sistema imune. A consequência mais evidente do estado de imunossupressão é o aumento da suscetibilidade a doenças infecciosas e parasitárias. Vários são os tipos de agentes depressores do sistema imune que afetam aves e mamíferos, destacando-se

vírus, toxinas microbianas, estado de deficiência de certos nutrientes e fatores indutores de estresse fisiológico (GALHA, BONDAN & LALLO, 2008).

A imunodepressão (ou imunodepleção- utilizadas como sinônimas no presente trabalho) causa desequilíbrios na biocenose intestinal das aves e as predispõe a diversas patologias (LI et al., 2008; GALHA et al., 2010). O estresse também tem sido frequentemente associado a manifestações gastrointestinais, tais como alterações no esvaziamento gástrico, na motilidade do intestino delgado, e na função da barreira intestinal (CERA et al., 1988; SAUNDERS et al., 1994; OLSEN et al., 2005). Além disso, é sabido que algumas vacinas, utilizadas na prevenção de certas doenças, acabam induzindo a algum grau de imunodepressão (CAMILLOTTI et al., 2011).

Cazabán et al., (2015) relatam que a avicultura atual é altamente moderna e a seleção genética é a grande arma para driblar as adversidades encontradas no setor. No entanto, os autores mencionam que muitos dados nos quais as pesquisas hoje se baseiam são oriundos de pesquisas básicas, realizadas nos primórdios da avicultura. O peso médio de órgãos linfóides como bursa de Fabricius, por exemplo, foi estabelecido em 1956a, por Glick. Todavia, há necessidade de emissão de padrões atualizados que considerem a seleção genética em frangos de corte atuais (CAZABAN et al., 2015). Segundo Montassier (2009) deve-se considerar que a seleção genética tem sido realizada, nos últimos anos, privilegiando as características de crescimento ou de produção, em detrimento de atributos de resistência, de rusticidade e, particularmente, de um melhor desempenho do sistema imune ou dos mecanismos mais importantes de defesa contra agressão feita por agentes infecciosos. Segundo Cazaban et al. (2015) o estudo realizado por eles é único disponível em uma das linhagens de frango genética atuais que visa estabelecer padrões de tamanho para bursas de Fabricius saudáveis. Esta informação mais atualizada, segundo os autores, deve ser útil para os profissionais de campo que utilizam -frequentemente- o órgão como um indicador de condições patológicas ou estressantes em galinhas.

Da mesma forma, o uso de glicocorticoides tanto para tratamento de patologias, quanto para indução de imunodepressão (para mimetizar doenças como Doença de Gumboro, Micotoxicoses, Anemia Infecciosa das Galinhas, etc) tem sido amplamente utilizado sem o conhecimento atualizado das lesões que o fármaco, por si só, causa a ave. O fato de não termos bem caracterizados os prejuízos ao sistema imune e ao intestino que uma ave inoculada por glicocorticoide pode apresentar, torna a

pesquisa vulnerável e pouco aplicável à realidade no campo. Além disso, sabe-se que o estado imune tem um papel crítico na defesa da ave contra os patógenos, não obstante, não se tem determinada a relação do sistema imune à integridade intestinal das aves, ou seja, a partir de que momento uma diminuição na população linfocitária pode interferir na integridade intestinal destes animais.

Assim, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos da dexametasona, como indutora de imunodepressão, nos órgãos linfoides - timo e bursa de Fabricius- e em estruturas microscópicas do jejuno, relacionando-os ao peso final dos animais no final do experimento. Além disso, almejou-se estabelecer uma possível relação entre a imunidade das aves e a integridade intestinal.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 SISTEMA IMUNE DAS AVES

O sistema imune é responsável pela defesa do organismo através das reações celulares e moleculares que ocorrem após a entrada de microrganismos infecciosos ou substâncias estranhas não infecciosas (ABBAS, LICHTMAN & POBER, 2005). Diversos tipos de respostas imunes são gerados de acordo com o tipo de antígeno que invade o organismo, com o número de vezes que o organismo entrou em contato, com a quantidade, com a via de penetração, entre outros (HIB, 2003). Dessa forma, o sistema imune pode ser dividido em dois componentes, o inato e o adaptativo.

O Sistema Imune Inato gera a primeira linha de defesa, por meio de mecanismos celulares e químicos de respostas rápidas (TIZARD, 2014). Os macrófagos, os neutrófilos, as células dendríticas e as células *Natural Killer*-NK são as principais células envolvidas nesse mecanismo de defesa (CRUVINEL et al., 2010), o qual baseia-se no fato de que moléculas de organismos invasores são quimicamente diferentes dos componentes normais do organismo. O sistema imune inato não possui memória, sendo –portanto- a resposta gerada sempre da mesma forma (TIZARD, 2014). Seus principais mecanismos são: fagocitose, liberação de mediadores inflamatórios, ativação de proteínas do sistema complemento, bem como síntese de proteínas de fase aguda, citocinas e quimiocinas (CRUVINEL et al., 2010). Assim, toda vez que um microrganismo supera a barreira física de proteção do organismo, encontra uma série de mecanismos celulares e bioquímicos que estabelecem as reações de inflamação, as quais são responsáveis pela centralização dos mecanismos de defesa inata nos locais de infecção (TIZARD, 2014). Portanto, a imunidade inata é caracterizada por não apresentar antígeno-especificidade, ter uma duração mais prolongada, ser menos eficiente na destruição e eliminação de agentes infecciosos, no entanto, ser muito importante como primeira linha de defesa do organismo (MONTASSIER, 2009).

Por outro lado, o Sistema Imune Adaptativo funciona como uma segunda linha de defesa, sendo capaz de reconhecer e destruir patógenos, e –posteriormente- aprender

com esse processo. A montagem de uma resposta adaptativa requer mais tempo que uma resposta inata, contudo, apresenta uma característica importante: a memória imunológica, que é estabelecida após a exposição inicial (TIZARD, 2014). Outras importantes características são especificidade e diversidade de reconhecimento, especialização de resposta, autolimitação e tolerância aos componentes do próprio organismo (CRUVINEL et al., 2010). Dessa forma, quando ocorre uma reexposição, o sistema adaptativo responde mais rápido e a afinidade do anticorpo é aumentada (TIZARD, 2014). Essa resposta depende da ativação de células especializadas, os linfócitos e as moléculas solúveis por eles produzidas. Além disso, células apresentadoras de antígenos (APCs) desempenham um importante papel na ativação dos linfócitos, apresentado antígenos associados a moléculas do complexo de histocompatibilidade principal (MHC) aos linfócitos T (CRUVINEL et al., 2010). Assim, há dois tipos de resposta imunológica adaptativa: a humoral e a celular. A primeira é mediada por anticorpos, os quais atuam contra substâncias estranhas de origem extracelular e de suas toxinas. Já a segunda é responsável pela destruição de microrganismos intracelulares, como vírus, e é mediada por linfócitos T (MONTASSIER, 2000).

O sistema imune das aves fornece um inestimável modelo para estudos básicos de imunologia. Devido à importância econômica, e à fácil disponibilidade de linhagens puras, muitas pesquisas de imunologia têm envolvido *Gallus gallus domesticus*. Uma consequência notável destas vastas pesquisas tem sido as contribuições para a compreensão de conceitos imunológicos fundamentais, especialmente o desenvolvimento de linhagens de linfócitos dependentes da bursa e do timo (DAVISON et al., 2008).

A estrutura e distribuição dos tecidos linfoides das aves diferem acentuadamente dos mamíferos, sendo a ausência de linfonodos, a presença de timo multilobados, a presença da Glândula de Harder (coleção óculo-nasal especial de tecido linfoide) e a presença da bursa de Fabricius as diferenças mais notáveis (MONTASSIER, 2009).

Composto por diversas células e órgãos estruturados para produzir reações de defesa (HIB, 2003), o sistema imune das aves é composto de dois órgãos linfoides primários, a bursa de Fabricius e o timo (FLETCHER, ABDUL-AZIZ & BARNES,

2008b). Órgãos linfoides primários são órgãos que regulam o desenvolvimento dos linfócitos, os quais são classificados em duas populações denominadas Linfócitos T e Linfócitos B, dependendo do local de sua maturação. Nas aves, os Linfócitos T são maturados no timo e os Linfócitos B na bursa de Fabricius. Os órgãos linfoides primários desenvolvem-se na fase fetal. À medida que o animal se desenvolve, os linfócitos imaturos recém-formados migram da medula óssea para os órgãos linfoides primários, nos quais amadurecem (TIZARD, 2014).

### 2.1.1 Bursa de Fabricius

A bursa de Fabricius (BF) é um órgão em formato arredondado, como uma bolsa, localizado acima da cloaca (TIZARD, 2014), sendo peculiar e único em aves (CIRIACO et al., 2003). É assim chamado devido ao pesquisador que o descreveu, Hieronymus Fabricius de Aquapendente (1537- 1619). Inicialmente, Fabricius supôs que o órgão estaria relacionado ao armazenamento de sêmen e, por muitos anos, a BF continuou a confundir os pesquisadores (DAVISON et al., 2008).

Anos depois, por volta de 1956b, Bruce Glick realizou bursectomia em pintos recém-eclodidos para observar os efeitos do órgão sobre o crescimento. Foi observado desenvolvimento aparentemente normal nos animais. Não obstante, finalizado o experimento, Timothy Chang utilizou alguns destes animais em uma demonstração de produção de anticorpos para uma aula, observando que, após, inoculado o Antígeno O de *Salmonella spp*, ao realizar ensaios com sangue e o antígeno, não havia evidência de aglutinação. Finalmente, em 1956, Chang e Glick identificaram que não haviam sido produzidos anticorpos nos animais bursectomizados (COOPER, 2015; DAVISON et al., 2008; GLICK, et al., 1956b).

Cooper et al., em 1965, publicaram as características da BF e do timo nos frangos, sugerindo que devido às semelhanças nos tecidos linfoides e sistemas imunitários de mamíferos e aves, um equivalente à BF deveria existir e proporcionar uma fonte de linfócitos B para produzir anticorpos em mamíferos. Mais tarde, identificou-se a medula óssea como responsável pela produção de linfócitos B em mamíferos. Dessa forma, o termo linfócito B é derivado de "linfócitos derivados de

bursa", em homenagem a estrutura linfóide aviária peculiar que forneceu a evidência inicial (DAVISON et al., 2008).

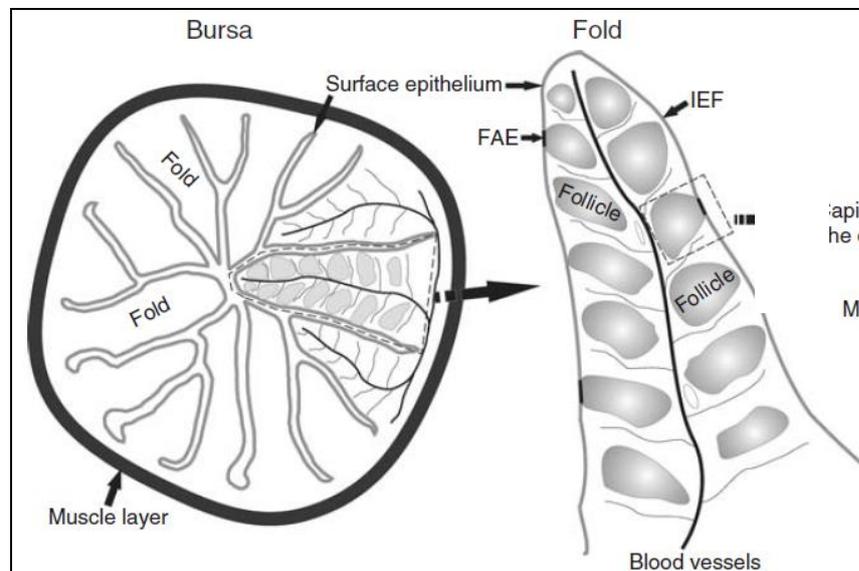
A BF é um órgão linfóide epitelial e constitui-se de um divertículo, que se conecta à cloaca por meio de um ducto da região média do *proctodeum* (parte distal da cloaca) (MONTASSIER, 2009) (Figura 1). O órgão atinge seu tamanho máximo por volta de 8-10 semanas e regride com a maturidade sexual da ave (OLAH & VERVELDE, 2008). Estruturalmente é formado por uma fina camada serosa, uma camada muscular lisa e uma camada mucosa, a qual possui dobras ou pregas que se projetam para o lúmen (FLETCHER, ABDUL-AZIZ & BARNES, 2008b). A camada muscular – por meio de contrações- pode promover compressão dos folículos e o fluxo das células no interior da medula e pode contribuir para o esvaziamento dos linfócitos localizados no eixo das dobras (OLAH & VERVELDE, 2008).

No interior da BF, dobras de epitélio projetam-se em direção ao lúmen, e massas de linfócitos, denominadas folículos linfóides, encontram-se espalhadas por estas dobras (TIZARD, 2014). Estima-se que cada BF madura contenha entre 8.000 e 12.000 folículos (OLAH & VERVELDE, 2008). O epitélio da superfície de cada prega consiste de epitélio interfolicular (IFE) e de epitélio associado aos folículos (FAE) (BOCKMAN & COOPER, 1973). No desenvolvimento inicial da BF, uma grande proliferação de tecido epitelial cresce para o interior da lâmina própria, formando brotamentos epiteliais, juntamente com células mesenquimatosas, induzindo a formação dos folículos bursais (MONTASSIER, 2009), capazes de receber precursores de células B (OLAH & VERVELDE, 2008).

Cada folículo representa a unidade estrutural, funcional e patológica da BF (OLAH & VERVELDE, 2008), constituindo-se nas principais estruturas onde ocorrem fases importantes do desenvolvimento dos linfócitos B e sua transformação em células imuno-competentes (MONTASSIER, 2009). Essas estruturas possuem uma cortical exterior e medular interna, exceto em ratitas, em que esse padrão é inverso. A medula e o córtex são separados por uma camada de células epiteliais indiferenciadas, que não são facilmente vistas no folículo normal, mas são visíveis em folículos com depleção de células linfóides (FLETCHER, ABDUL-AZIZ & BARNES, 2008b). Cada folículo tem seu próprio suprimento sanguíneo (OLAH & VERVELDE, 2008) e tem como

constituíntes principalmente linfócitos, células dendríticas e epiteliais (CIRIACO et al., 2003).

As involuções na BF são amplamente variáveis entre as espécies, estando fortemente associadas à maturidade sexual dos animais (CIRIACO et al., 2003). Além da involução pela idade, diversos microrganismos, toxinas, substâncias químicas, vírus, pesticidas podem ocasionar atrofia do órgão (MONTASSIER, 2009). A involução caracteriza-se por redução no tamanho e número de folículos, formação de folículos císticos, marcado aumento no tecido conectivo fibroso interfolicular e no dobramento do epitélio (FLETCHER, ABDUL-AZIZ & BARNES, 2008b). Além disso, a esfoliação do epitélio com fibrose sub-epitelial, a fusão de folículos e a necrose de liquefação, primeiramente medular, e em seguida, nas células corticais podem ocorrer. Consequentemente, com a atrofia há proliferação progressiva de tecido conjuntivo do estroma e infiltração de macrófagos em áreas ocupadas pelos folículos necróticos (BICKFORD et al., 1985; CIRIACO et al., 2003).



**Figura 1:** Desenho esquemático da estrutura da BF, representando a camada muscular e mucosa, incluindo as pregas, com epitélio associado aos folículos (FAE) e interfolicular (IEF). Adaptado de Olah & Verveldere (2008).

### 2.1.2 Timo

O timo é um órgão linfo-epitelial responsável pelo desenvolvimento e amadurecimento de diferentes populações de linfócitos T (MONTASSIER, 2009). Composto por 7 a 8 lobos separados, o timo das aves é um órgão par, situado lateralmente à cervical, paralelamente ao nervo vago e às veias jugulares internas (OLAH & VERVELDE, 2008). A porção cranial do órgão situa-se na altura da terceira vértebra cervical, e sua porção distal na altura da tireoide (MONTASSIER, 2009; OLAH & VERVELDE, 2008).

Os lobos são encapsulados com tecido conjuntivo fibroso fino e incorporados no tecido adiposo (OLAH & VERVELDE, 2008). Histologicamente, os lobos são separados por finos septos de tecido conjuntivo (MONTASSIER, 2009), os quais se projetam para o interior, formando os chamados lóbulos (HODGES, 1974; SENAPATI et al., 2015). Os lóbulos de timos de aves podem ser divididos em cortical e medular, sendo a diferenciação entre ambos bastante nebulosa (CIRIACO et al., 2003; HODGES, 1974).

A região cortical do timo das galinhas é subdividida em córtex externo e interno. No primeiro, há elevado número de linfoblastos. Já no segundo, há predominância de pequenos linfócitos (GORYO et al., 1989). Moderado número de macrófagos ocorre na rede de células epiteliais corticais, e os linfócitos de grande e médio porte estão situados sob as células epiteliais da superfície. Muitos linfoblastos estão na fase S do ciclo celular, o que sugere que a zona sub-capsular do córtex é o principal sítio de proliferação (OLAH & VERVELDE, 2008). Há ainda células dendríticas apresentadoras de antígenos e as células reticulares. Devido à grande quantidade de linfócitos, a região cortical é fortemente corada por hematoxilina (MONTANARI, 2006).

A região medular caracteriza-se por ter menor quantidade de linfócitos e, conseqüentemente, coloração mais pálida (KANNAN et al., 2015; SENAPATI et al., 2015). Há um grande número de diferentes células epiteliais altamente semelhantes e menor número de timócitos na medula, resultando em uma coloração menos basofílica (OLAH & VERVELDE, 2008).

Uma rede de células reticulares está presente tanto no córtex, quanto na medula. Trata-se de células achatadas ou estreladas, com muitos prolongamentos, citoplasma eosinófilo e núcleo ovoide, com um ou dois nucléolos proeminentes (MONTANARI, 2006). Células reticulares e sua matriz extracelular formam a estrutura básica de tecidos linfoides, fornecendo suporte estrutural para linfócitos, macrófagos, etc (SENAPATI et al., 2015). Dessa forma, são responsáveis por constituir a estrutura de sustentação dos lobos (MONTANARI, 2006). Células reticulares contêm glicoproteínas, para o qual muitos linfócitos expressam moléculas de adesão basofílica (OLAH & VERVELDE, 2008). Estas células formam a barreira hemato-tímica, responsável por isolar o córtex, impedindo a penetração de macromoléculas (OLAH, NAGY & VERVELDE, 2013).

Corpúsculos de Hassal são agregados de células epiteliais, sendo considerados uma estrutura histológica clássica na medula do timo. Em galinhas estas estruturas são pequenas e pouco desenvolvidas (OLAH & VERVELDE, 2008), chamadas de estruturas reticulares, não típicas de timo de mamíferos (SENAPATI et al., 2015). Arthur Colina Hassall descreveu o corpúsculo pela primeira vez, como estruturas esféricas escamosas acidófilas, na medula do timo. Não obstante, Kannan et al. (2015) relataram a presença dos Corpúsculos de Hassal tanto em cortical como em medular de timo em frangos da linhagem Nandanam, sendo os medulares maiores que os corticais e confirmaram, por microscopia eletrônica, a composição por células reticulo-epiteliais interligadas por muitos desmossomos e o núcleo oval ou redondo, formando um centro sólido ou cístico. Os corpúsculos císticos continham restos celulares no lúmen. Senapati et al. (2015) também relataram estruturas vesiculares com material acidófilo e células reticulares degeneradas nos corpúsculos encontrados. Corpúsculos de Hassal parecem desempenhar um papel na geração de propriedades antigênicas das células circundantes e tornarem-se maduros para eliminar as células apoptóticas e os detritos celulares (SAMUELSON, 2007; KHAN et al., 2014). Kannan et al. (2015) observaram que o número de corpúsculos aumentou à medida que a idade das aves avançou, corroborando com o relatado pelos autores acima, que o aumento do número de corpúsculos de Hassal pode ser devido a geração de mais células apoptóticas e detritos celulares. Esses fatos estão bem estabelecidos em mamíferos, em que há aumento em corpúsculos do timo com a idade, além da substituição de tecido medular por tecido adiposo, caracterizando a involução do timo (SAMUELSON, 2007).

O timo é responsável pela imunidade mediada por células, uma vez que produz e matura linfócitos T (timócitos) a partir de linfoblastos (TIZARD, 2014). Esta maturação só é completada após a migração de células T a partir do córtex para a medula. Entretanto, apenas alguns timócitos realmente amadurecem em linfócitos T, muitos são inativados devido à incompatibilidade com o MHC (complexo principal de histocompatibilidade) e/ou são reconhecidos por auto-antígenos (CHENG & ZHONG, 2003).

## **2.2 TRATO GASTROINTESTINAL DAS AVES**

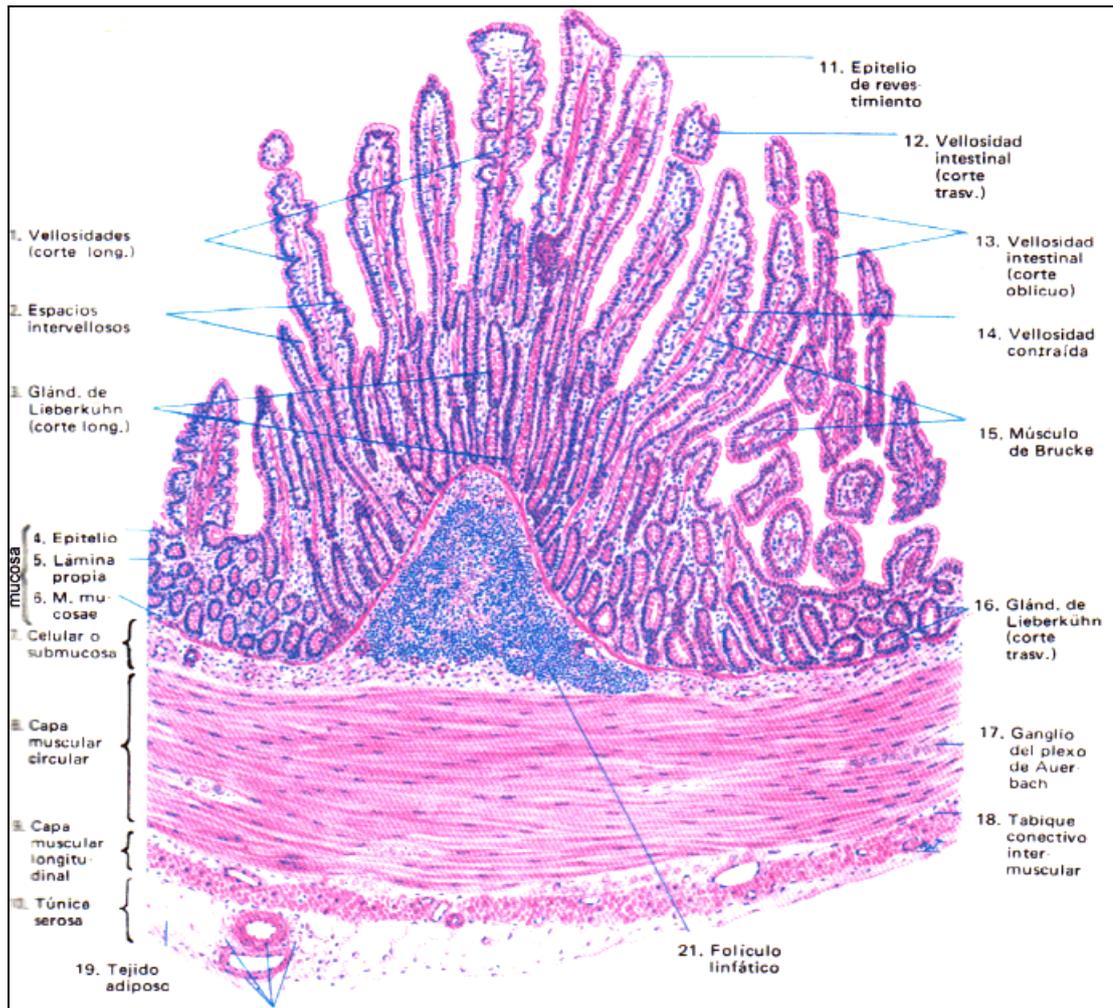
O sistema digestório das aves é composto por cavidade oral, tubo digestivo (faringe, esôfago, papo, pro-ventrículo, moela e intestino) e glândulas anexas (glândulas salivares, fígado e pâncreas) (ITO et al., 2009). Possui como funções básicas a ingestão, a digestão e a absorção dos alimentos (HIB, 2003). Dessa forma, o trato digestório promove a conversão do alimento que o animal ingere em nutrientes, que o corpo precisa para manutenção, crescimento e produção (como ovos ou carne). Uma vez que o alimento é ingerido, ele deve ser dividido em seus componentes básicos. Isto é realizado através de meios mecânicos e químicos do trato gastrointestinal (JACOB & PESCATORE, 2013).

O intestino é o local onde ocorrem múltiplos processos que estão envolvidos na digestão, na fermentação, na absorção e metabolismo dos nutrientes, no reconhecimento imunitário, na regulação imunológica e no desenvolvimento de tolerância imunológica. Todos esses processos são influenciados pela alta interação de fatores, como a dieta, a genética do animal e a microflora residente. Dessa forma, o melhor conhecimento destas interações e do funcionamento do intestino como um sistema pode fornecer ferramentas para modular e melhorar a saúde intestinal dos animais (SCHOKKER, 2012).

O intestino delgado é porção mais longa do sistema digestório, sendo responsável pela digestão final do alimento, absorção dos nutrientes e secreção endócrina (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). É dividido em três regiões distintas - duodeno, jejuno e íleo - as quais possuem estruturas histológicas características

(BOLELI et al., 2008), mas não limites absolutamente definidos (HIB, 2003). No entanto, costuma-se aceitar que o Divertículo de Meckel marca a transição entre o jejuno e o início do íleo (JACOB & PESCATORE, 2013). Já o duodeno é a porção inicial do intestino, consistindo de uma alça localizada após a moela (ventrículo) e facilmente distinguível pela posição do pâncreas entre as duas alças –descendente e ascendente (HIB, 2003).

A estrutura histológica do intestino é composta de quatro túnicas concêntricas denominadas, da luz para a periferia, de mucosa, submucosa, muscular e serosa (Figura 2) (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). A camada mucosa é constituída de epitélio colunar simples, lâmina própria e muscular da mucosa. A túnica submucosa é constituída de tecido conjuntivo denso e fibro-elástico, rico em vasos sanguíneos e linfáticos, podendo conter nódulos linfoides. A camada muscular é composta de uma camada circular interna e de uma camada longitudinal externa que, atuam em conjunto, promovendo os movimentos peristálticos e a segmentação. A túnica serosa é formada por tecido conjuntivo frouxo e mesotélio envolto por mesentério (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).



**Figura 2:** Representação das principais estruturas do intestino delgado em corte transversal. Adaptado de HIB (2003).

Ao longo do intestino delgado muitas dobras, denominadas vilosidades ou vilos, proporcionam aumento na superfície interna do órgão e, conseqüentemente, na área de digestão e absorção, conferindo-lhe aspecto aveludado (HIB, 2003; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Trata-se de projeções alongadas da mucosa (epitélio e lâmina própria) em direção ao lúmen do órgão (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). O epitélio de revestimento é do tipo cilíndrico simples (HIB, 2003) e é constituído por células caliciformes e células entero-endócrinas, além dos enterócitos (BOLELI et al., 2002). Os vilos possuem um eixo central de tecido conjuntivo (lâmina própria) e epitélio de revestimento. A altura e a forma das vilosidades variam ao longo do intestino. No duodeno, os vilos são normalmente mais longos e digitiformes, enquanto no jejuno e íleo, geralmente, se apresentam de forma lameliforme com aspecto foliáceo (BOLELI et al., 2002).

Entre os vilos existem pequenas aberturas de glândulas tubulares simples, denominadas glândulas intestinais, criptas ou glândulas de Lieberkühn (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004), as quais são separadas pelo tecido conjuntivo da lâmina própria e seus extremos iniciais chegam até a muscular da mucosa (HIB, 2003). Tais glândulas possuem células-tronco, algumas células absortivas, células caliciformes, células de Paneth e células entero-endócrinas (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). O aumento no número e no tamanho das criptas tem dois efeitos diretos: fornecimento de enterócitos para aumentar a área de superfície de absorção intestinal à medida que as vilosidades crescem e aumento da taxa de renovação celular (GEYRA, UNI & SKLAN 2001). A maior parte da divisão de enterócitos ocorre nas criptas e é seguida por uma migração das células em direção ao ápice do vilos. As células sofrem diferenciação à medida que migram, tornando-se enterócitos absortivos funcionais, células caliciformes ou células endócrinas. Quando as células alcançam o ápice das vilosidades, elas sofrem apoptose e são eliminadas para o lúmen intestinal. Este epitélio renova-se mais rapidamente do que qualquer outro tecido do organismo (IMONDI & BIRD, 1966). O tempo de vida médio das células epiteliais é de 48-72 horas (JEURISSEN et al., 2002).

As células de Paneth estão localizadas no fundo das glândulas intestinais. Possuem citoplasma basófilo na região basal, onde se encontra o núcleo, e citoplasma apical com grânulos acidófilos – que contém lisozima - uma enzima bactericida capaz de digerir a parede celular de diversas bactérias (HIB, 2003). Dessa forma, essas células podem contribuir no controle da flora intestinal (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

No intestino delgado, os nutrientes são absorvidos pelos enterócitos, os quais são células epiteliais de revestimento interno da mucosa intestinal (BOLELI et al., 2002). Essas células possuem o pólo apical com muitas microvilosidades (HIB, 2003), também chamadas de borda em escova ou borda estriada. As microvilosidades caracterizam-se por inúmeras protruções cilíndricas do citoplasma apical, consistindo da membrana celular envolvendo um eixo de microfilamentos de actina, associados a outras proteínas do citoesqueleto (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Os enterócitos são revestidos por uma espessa camada de muco e uma camada de polissacarídeos, denominada glicocálice (ITO et al., 2009). A camada de muco é secretada pelas células caliciformes, dispersas entre os enterócitos, as quais aumentam à medida que se aproximam do íleo (HIB, 2003; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). Essa camada confere proteção mecânica e química à membrana citoplasmática exposta na luz do

intestino contra autodigestão enzimática, a ação de substâncias nocivas e de microrganismos que estão no lúmen permitindo, também, a adesão da flora intestinal, que possibilita a exclusão competitiva (ITO et al., 2009).

O duodeno recebe enzimas digestivas do pâncreas e bile do fígado através da vesícula biliar, em sua alça ascendente (BOLELI et al., 2008). As enzimas digestivas produzidas pelo pâncreas estão primariamente envolvidas na digestão de proteínas. Já a bile é um detergente importante na digestão de lipídeos e na absorção de vitaminas solúveis em gordura (vitaminas A, D, E e K) (JACOB & PESCATORE, 2013). Assim, a digestão lipídica ocorre como resultado da ação conjunta da lipase pancreática e bile. Enzimas como dissacaridasas e dipeptidasas secretadas pelas células absortivas e unidas às microvilosidades na borda em escova hidrolisam os compostos formando monossacarídeos e aminoácidos, que são facilmente absorvidos por transporte ativo secundário (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004). O jejuno é a região mais longa do intestino delgado, estando disposto em várias alças espiraladas (BOLELI et al., 2008). O íleo é contínuo ao jejuno, sendo comumente delimitado pelo divertículo de Meckel. Entretanto, alguns autores consideram a delimitação anteriormente pela porção paralela ao ápice do ceco e posteriormente pelo ponto de ligação íleo-cecal ao intestino, onde se situam o ceco direito e esquerdo, os quais se estendem na maior parte do comprimento do íleo (BOLELI et al., 2008).

### **2.3 GLICOCORTICOIDES**

Os corticoides vêm sendo usados como agentes terapêuticos, em larga escala, como moduladores ou supressores das respostas inflamatória e imune, nos homens e nos animais (BRANDÃO, 1991). Seus efeitos na inibição da inflamação são profundos e rápidos. Entre os mais importantes e mais citados estão a diminuição da fase vascular da inflamação- através de vasoconstrição, a diminuição da permeabilidade capilar, a menor liberação de cininas vasoativas e queda da histamina tecidual, além de indução de um menor afluxo de eosinófilos e de inibição da função dos macrófagos. O uso de glicocorticoides promove linfopenia, caracterizada por modificação da produção e distribuição ou lise de linfócitos. Portanto, o uso desse fármaco pode tornar os

indivíduos mais suscetíveis às infecções por gêneros comuns e incomuns (SIRAGY et al., 2006).

Em relação à influência sobre a resposta imune sabe-se que afetam a distribuição e a função das células linfoides e dos macrófagos e que produzem lise de linfócitos. Estes efeitos são seletivos para determinados linfócitos e se refletem de modo diferente nos órgãos linfoides, como timo, baço e linfonodos, no sangue circulante e na medula óssea (BRANDÃO, 1991). A presença, a intensidade e a duração desses efeitos variam de acordo com a dosagem e a frequência do uso dos corticoides e de acordo com a espécie animal observada. Assim, o uso de corticosteroides pode inibir ou modificar a intensidade e a qualidade das respostas reativas defensivas do organismo, tornando-o mais vulnerável à ação de doenças infecciosas. (SIRAGY et al., 2006).

A dexametasona é um glicocorticoide conhecido por induzir imunodepressão mediada por células e propiciar menor resistência à infecção em várias espécies animais, incluindo as aves (ISOBE & LILLEHOJ, 1993). O fármaco tem sido amplamente utilizado em modelos experimentais para avaliar potenciais imunomoduladores em animais, e acredita-se que mimetizam a imunodepressão induzida por estresse de transporte (ROTH & FLAMING, 1990). Assim como a maioria dos glicocorticoides, a dexametasona influencia o sistema imune em vários níveis. Inicialmente, determina uma neutrofilia, uma vez que diminui a capacidade de aderência dos neutrófilos ao endotélio vascular, impedindo sua migração para os sítios inflamatórios. Além disso, inibe o processamento antigênico pelos macrófagos, a função supressora das células T helper, a fagocitose e a síntese de mediadores da resposta inflamatória, tais como as interleucinas, outras citocinas e prostanoídes (GALHA et al., 2010).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Local de Execução da Pesquisa

A pesquisa foi realizada no Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Patologia Aviária (CDPA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), localizado em Porto Alegre (RS) e no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor (IPVDF) - Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária (FEPAGRO), em Eldorado do Sul (RS).

#### 3.2 Amostras

O material foi obtido a partir do experimento realizado por Carvalho (2013), aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do IPVDF-FEPAGRO, Protocolo 21/2012 (Anexo I).

Foram utilizados BF, timos e jejunos coletados de 33 animais, sendo oito controles e 25 desafiados com glicocorticoide. Os animais receberam dexametasona (DEXIUM® na concentração 2mg/mL) aos 21, aos 22, aos 24 e aos 26 dias de idade, via intramuscular, na dose de 5mg/kg (adaptado de Kong et al., 2002). As coletas foram realizadas a cada oito horas após o último tratamento, até que se completassem 40 horas e após oito dias do final do tratamento. Dessa forma, foram coletados um animal controle e quatro animais desafiados a cada oito horas, até 40h e quatro animais controles e seis desafiados no oitavo dia após o término das inoculações. Os animais foram criados em sala climatizada e com iluminação artificial, em gaiolas-criadeiras de metal, recebendo água e ração “*ad libitum*” durante todo o período.

Foram utilizadas 33 amostras de bursas de Fabricius – coletadas íntegras, sem rompimentos – e intestinos, coletados na porção inicial do jejuno, ambos armazenados em solução formalina tamponada a 10%. Após a coleta, os intestinos foram

imediatamente lavados internamente com solução formalina tamponada a 10%. Foram utilizadas, também, as amostras e os dados já produzidos por Carvalho (2013) do processamento histológico de timos.

### 3.3 Processamento Histológico do Material

As BF foram clivadas transversalmente, no plano equatorial, com a finalidade de se obter a maior área de observação. Os intestinos foram clivados de forma hemi-circular, conforme sugerido por Gava et al. (2012). Após a fixação de 24h em solução formalina tamponada 10%, as amostras clivadas foram submetidas à desidratação em álcoois, clarificação em xileno e impregnadas com parafina. Após foram cortadas em Micrótopo Leica RM215RT®, com 5µm de espessura. As lâminas de intestinos foram coradas com Azul de Alcian e Hematoxilina & Eosina, seguindo orientações do fabricante. As demais foram coradas com e Hematoxilina & Eosina, segundo Luna (1968).

### 3.4 Análise de Bursas de Fabricius

As lâminas de BF foram analisadas quanto ao grau de depleção segundo o método histopatológico convencional. Assim, o grau de depleção linfoide do órgão foi estabelecido de acordo com os escores de depleção linfocitária adaptados de Muskett *et al* (1979), conforme mostrados na Tabela 1.

**Tabela 1** – Intervalos de cada escore de depleção linfocitária da Bursa de Fabricius, através da avaliação óptica, adaptados de Muskett *et al* (1979)

Escores	Percentual de depleção linfoide
Escore 1	Menos de 25% de depleção linfocitária
Escore 2	Entre 25 e 50% de depleção linfocitária
Escore 3	Entre 50 e 75% de depleção linfocitária
Escore 4	Entre 75 e 90% de depleção linfocitária
Escore 5	Mais de 90% de depleção linfocitária

Utilizaram-se cortes histológicos com o mesmo padrão de coloração e com o mínimo, ou livres de artefatos. Para determinar o escore de depleção de cada BF, minimizando erros, as lâminas foram avaliadas pela autora e por mais dois histopatologistas (A, B, C), em ordem aleatória, “às cegas”. Dois histopatologistas repetiram as suas análises por duas vezes, em dias distintos. Foi utilizada a moda entre as avaliações dos histopatologistas A, B e C para determinar o escore de cada amostra.

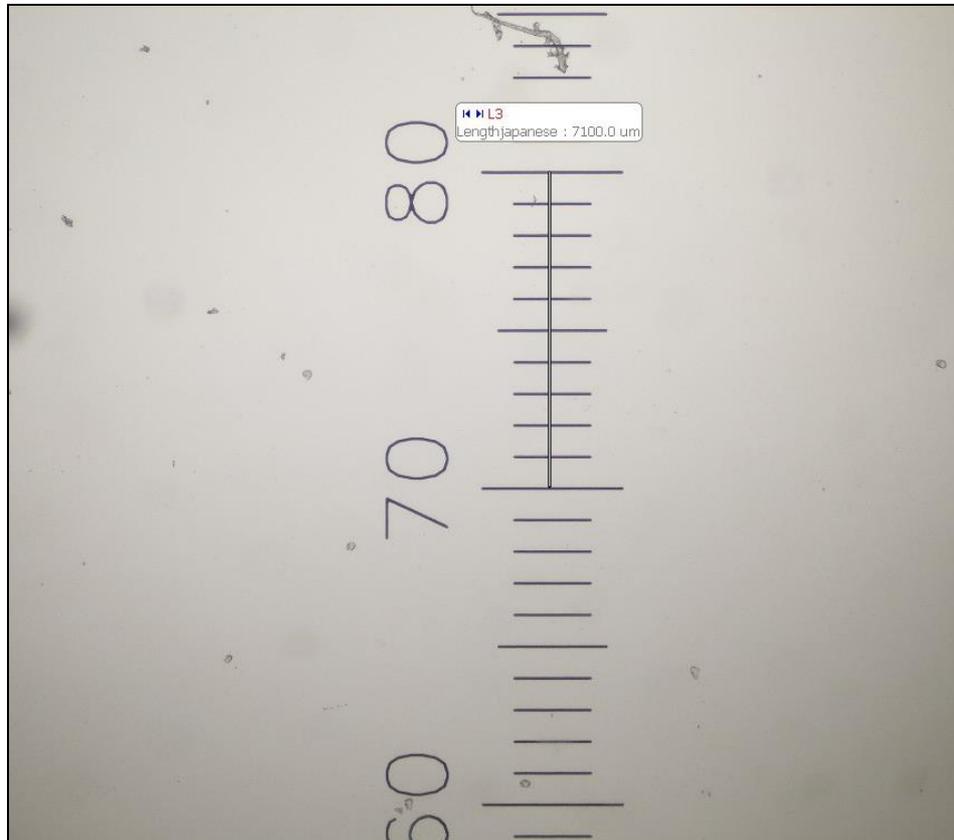
### **3.5 Análise de Timos**

As lâminas de timos foram oriundas do experimento de Carvalho (2013). Essas lâminas foram avaliadas quanto ao grau de depleção linfocitária por dois histopatologistas (A e B), que estabeleceram critérios quanto aos graus de imunodepressão para timos, variando em escores de 1 a 5. O escore 1 foi determinado por ausência de depleção linfocitária, ao passo que o escore 5 foi estabelecido por máxima perda linfocitária. Dessa forma, todas as lâminas foram avaliadas, “às cegas”, de maneira aleatória. Para a análise de dados, foi utilizada a moda entre essas duas avaliações.

### **3.6 Análise de Intestinos**

Os intestinos foram avaliados conforme descrito por Gava et al. (2015) e Gava (2012). A partir das lâminas histológicas produzidas, foram avaliadas as estruturas histológicas do órgão e mensuradas através do *Software Motic 2.0®*. Para tanto, foram obtidas fotomicrografias digitais em uma câmera *OLYMPUS® C-7070*, acoplada a um microscópio trilocular *OLYMPUS® CX40*, com uma definição de 1024x768. Para que não houvesse interferências nas medições, foram realizadas calibrações do equipamento, utilizando-se uma medida padrão de 1mm, a cada vez que a máquina fosse ligada ou que se alterasse o zoom óptico. Diferente da metodologia descrita por Gava (2012), que determinou um intervalo de confiança para a calibração, no presente

trabalho foi determinado um único valor para a calibração (7100  $\mu\text{m}$  no *Software Motic 2.0*®) (Figura 3).



**Figura 3:** Calibração do equipamento, com a medida padrão de 1mm. Valor de calibração especificado em 7100  $\mu\text{m}$  no *Software Motic 2.0*®.

Em cada um dos intestinos foram selecionadas dez vilosidades. Para determinar as dez vilosidades a serem avaliadas foram estabelecidos os critérios de integridade e aleatoriedade. Primeiramente, para que a vilosidade pudesse ser avaliada, era necessário que estivesse completamente íntegra, com a base bem inserida e o ápice completo, coberto por camada única de células (Figura 4 e Figura 5).

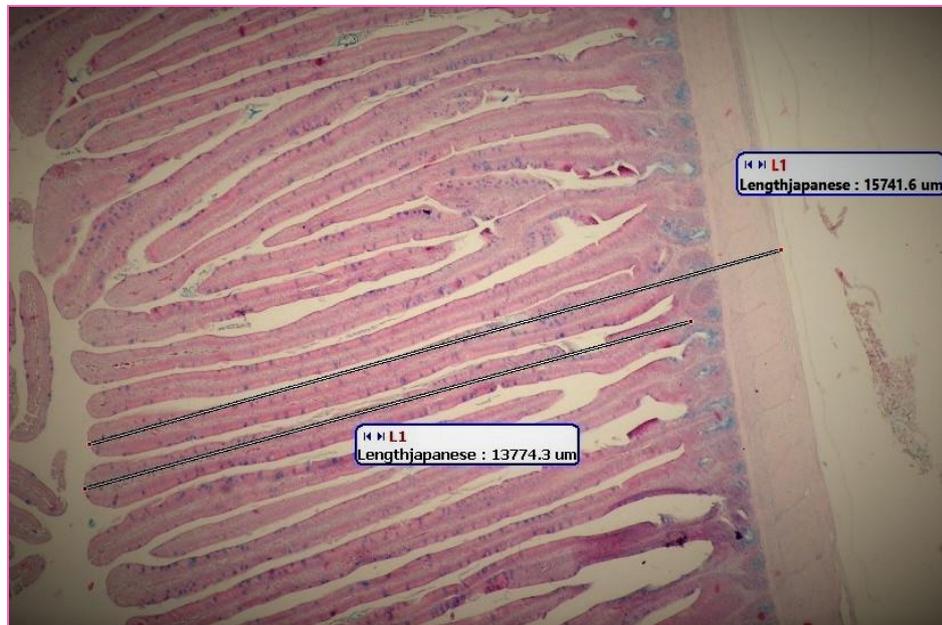


**Figura 4:** Fotomicrografia de um segmento de jejuno (Objetiva de 4X). Flecha azul indica uma vilosidade apta para medição. H&E



**Figura 5:** Fotomicrografia de um segmento de jejuno (objetiva de 40X). Flecha azul indica uma vilosidade apta para medição. H&E

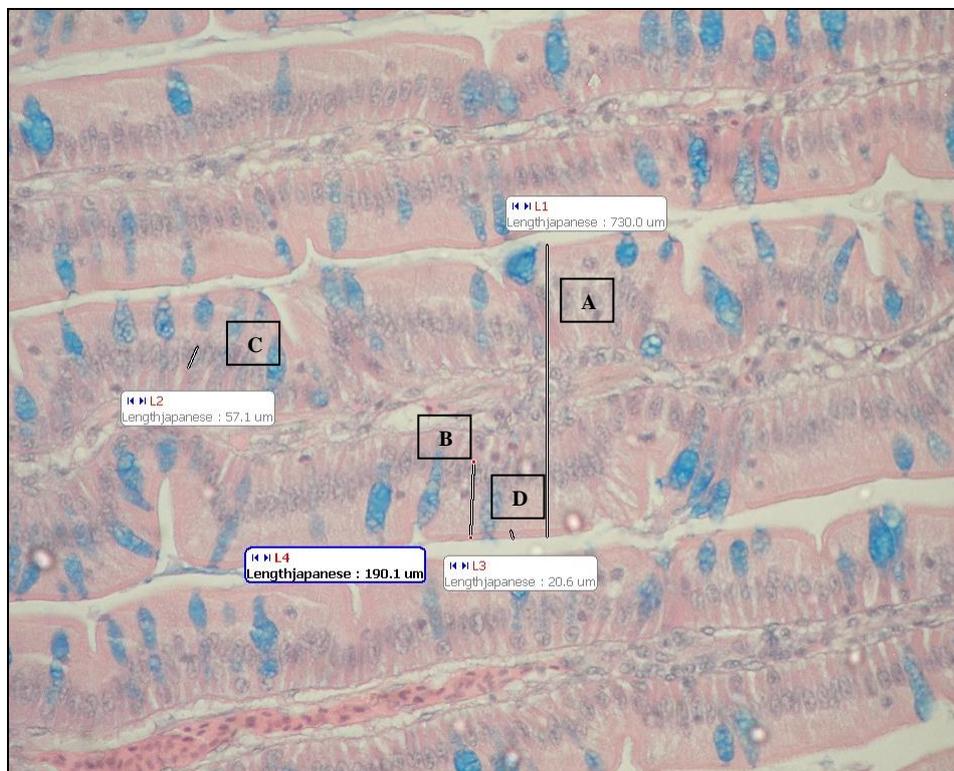
Em cada uma das vilosidades, mensuraram-se o seu comprimento, a sua largura, a profundidade de uma cripta associada e a espessura da parede. Além disso, foram medidos altura de núcleo de enterócito, comprimento de núcleo de enterócito e altura de microvilosidade de cada vilosidade. Dessa forma, foram capturadas imagens fotomicroscópicas nos aumentos de 4x (altura de vilo e espessura da parede) (Figura 6), 10x (profundidade de cripta) (Figura 7) e 40x (largura do vilo, altura de núcleo de enterócito, tamanho de núcleo e altura de microvilosidade) (Figura 8) no microscópio. As medições foram realizadas no *Software Motic 2.0*®.



**Figura 6:** Fotomicrografia de um segmento de jejuno (Objetiva de 4X). Medição de comprimento de vilosidade e espessura de parede( $\mu\text{m}$ ). H&E



**Figura 7:** Fotomicrografia de um intestino (Objetiva de 10X). Medição de profundidade de cripta (A)– Medidas em  $\mu\text{m}$ . H&E.



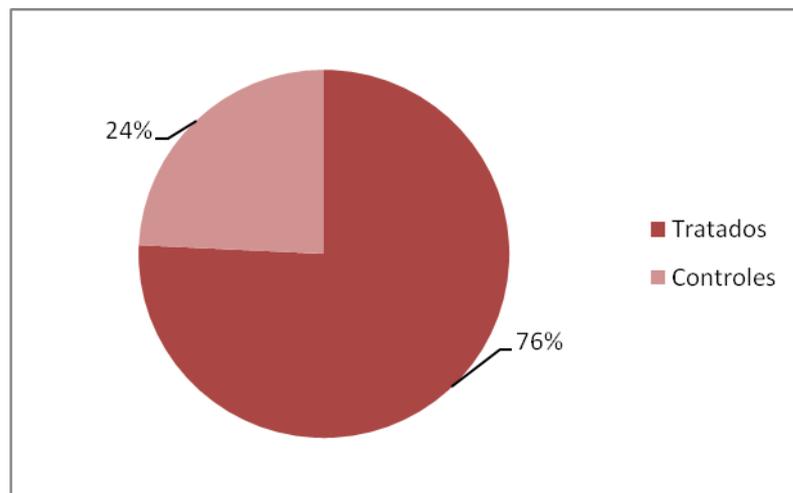
**Figura 8:** Fotomicrografia de segmento de jejuno (40X). Medição de largura de vilosidade (A), altura de núcleo (B) e tamanho de núcleo de enterócito (C) e altura de microvilosidade (D). Medidas em  $\mu\text{m}$ . H&E + Alcian Blue.

### 3.7 Análise Estatística

Os resultados foram tabulados e avaliados quanto à normalidade. Após, foram aplicados testes estatísticos paramétricos, utilizando o *Software* SPSS e o *Software* JMP-SAS. Foram utilizados o teste T para comparar as médias entre as variáveis e correlações de Pearson, Foi utilizado ainda o coeficiente de regressão ( $r^2$ ) para verificar o grau de explicação de uma variável com a outra.

## 4 RESULTADOS

Foram analisadas oito amostras controles e 25 amostras tratadas com o glicocorticoide, sendo distribuídas conforme a Figura 9. Foram realizadas análises de animais controles verso tratados. Em algumas análises, foram avaliadas as variações a cada oito horas.



**Figura 9:** Gráfico de distribuição das amostras controles e tratadas com glicocorticoide.

A partir de cada amostra foram analisados dados de peso da ave, peso dos órgãos (timo e BF), bem como seus pesos relativos. Além disso, foram analisados os escores de depleção (timo e BF). No intestino de cada ave foram avaliadas dez vilosidades, em cada uma delas mensuraram-se o comprimento, a largura e a profundidade de uma cripta associada, altura de núcleo de enterócito, comprimento de núcleo e altura de microvilosidade (dados completos no Apêndice A). Após, foi utilizada a média das dez medições para cada ave. Dessa forma, totalizaram 16 variáveis, que podem ser observadas na tabela 2.

**Tabela 2:** Variáveis analisadas por ave.

TTO	Ave	Alt. Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Profundidade de Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Espessura de Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura de Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Comp. Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Altura Microv. ( $\mu\text{m}$ )	Alt. Enterócito ( $\mu\text{m}$ )	Peso Ave (g)	Peso BF (g)	Peso Timo (g)	Moda BF	Moda Timo	PR Timo (%)	TTO horas	PR BF (%)
C	1	13528,99	684,64	1377,21	774,39	51,86	19	194,47	1463	4,30	15,15	2	1	1,04	8h	0,29
T	3	9467,47	496,52	1165,48	559,69	51,43	18,49	176,66	1078	0,42	6,21	3	3	0,58	8h	0,04
T	5	11010,29	674,91	1095,6	543,37	51,19	20,23	170,3	1095	0,70	7,24	2	3	0,66	8h	0,06
T	6	10215,56	515,66	845,71	530,68	53,76	20,54	178,72	1142	0,78	7,26	3	3	0,64	8h	0,07
C	7	10050,88	626,76	919,78	629,41	50,39	20,58	201,53	1177	2,48	11,37	1	2	0,97	16h	0,21
T	8	10029,57	591,85	1239,91	536,02	53,68	14,94	167,89	964	0,54	4,35	4	4	0,45	16h	0,06
T	9	9048,76	518,11	887,38	557,41	52,05	19,55	173,56	928	0,45	5,00	3	5	0,54	16h	0,05
T	10	12778,53	524,97	886,94	632,91	53,38	19,57	177,52	1129	0,72	7,05	2	3	0,62	16h	0,06
T	11	10079,52	591,85	1239,91	535,92	53,68	14,94	167,94	883	0,67	5,00	3	4	0,57	16h	0,08
T	12	12013,91	585,95	1076,92	616,28	50,47	19,12	185,54	989	0,77	4,39	2	4	0,44	16h	0,08
C	13	11225,21	639,41	1401,1	743,56	56,27	19,86	206,28	1318	3,83	14,38	1	2	1,09	24h	0,29
T	14	8147,69	574,98	1030,16	666,97	55,21	19,66	173,99	1140	-	5,77	-	4	0,51	24h	-
T	15	9866,32	721,42	989,59	568,53	52,9	16,76	174,14	926	0,54	6,86	2	4	0,74	24h	0,06
T	16	9809,7	696,43	2890,09	664,98	55,34	21,21	182,15	1092	0,50	4,88	3	4	0,45	24h	0,05
T	17	10001,43	642,13	1272,93	605,85	49,02	21,67	184,05	1075	0,65	4,48	3	3	0,42	24h	0,06
T	18	10931,11	609,98	1133,78	619,53	51,29	20,66	199,55	1074	0,65	5,41	4	3	0,50	24h	0,06
T	20	10527,44	526,28	669,99	704,76	46,62	19,92	208,22	1230	0,72	5,66	4	4	0,46	32h	0,06
T	22	12360,67	649,14	1210,76	624,46	53,97	17,34	172,76	1068	0,72	4,52	3	5	0,42	32h	0,07
T	23	11455,72	623,24	1040,53	680,77	50,06	22,22	183,45	1157	0,91	6,09	2	3	0,53	32h	0,08
T	24	12251,1	690,21	1461,93	611,54	50,37	20,39	188,24	1213	0,64	5,91	2	3	0,49	32h	0,05
C	25	11612,13	663,65	1610,58	676,12	57,59	23,81	190,05	1433	2,83	14,95	2	2	1,04	40h	0,20
T	26	11582,22	634,96	1211,56	550,33	47,52	21,39	175,71	1255	0,82	8,52	2	4	0,68	40h	0,07
T	27	12443,43	675,85	1345,26	540,65	52,36	20,45	171,42	976	0,56	6,44	3	3	0,66	40h	0,06
T	28	11211,23	650,42	1322,76	668,2	55,34	19,02	206,28	1092	0,63	5,36	3	5	0,49	40h	0,06
T	29	8327,55	596,69	969,73	497,74	55,34	17,06	171,87	1074	0,77	5,44	2	4	0,51	40h	0,07

TTO	Ave	Alt.Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Profundidade de Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Espessura de Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura de Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Comp. Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Altura Microv. ( $\mu\text{m}$ )	Alt. Enterócito ( $\mu\text{m}$ )	Peso Ave (g)	Peso BF (g)	Peso Timo (g)	Moda BF	Moda Timo	PR Timo (%)	TTO horas	PR BF (%)
T	30	8621	608,26	708,89	625,59	50,96	21,25	187,81	1024	0,60	5,77	2	3	0,56	40h	0,06
C	31	11503,44	610,43	1459,69	669,56	47,11	18,94	187,52	1860	3,07	19,47	2	1	1,05	1SEM	0,17
C	32	10838,57	701,42	1610,82	551,34	47,63	21,12	171,68	1840	5,20	18,21	1	1	0,99	1SEM	0,28
C	33	13892,26	553,53	1739,14	665,53	51,02	23,52	206,47	1825	8,13	24,50	1	2	1,34	1SEM	0,45
C	34	12298,79	589,41	1586,29	554,33	42,33	19,65	189,56	1739	3,75	19,44	1	2	1,12	1SEM	0,22
T	35	9331,62	488,97	1329,49	594,17	37,24	20,32	172,41	1264	1,19	10,67	2	2	0,84	1SEM	0,09
T	38	10826,12	570,14	1184,12	628,89	57,88	20,06	180,75	1205	1,41	10,22	-	3	0,85	1SEM	0,12
T	39	10222,55	451,82	1046,49	625,52	51,14	19,71	198,32	1282	1,32	9,11	2	3	0,71	1SEM	0,10

TTO- Tratamento; PR- Peso Relativo; Microv. - Tamanho de microvilosidade. Alt. Enterócito- altura de núcleo de enterócito. C- Grupo Controle, T- Grupo Tratado.

#### 4.1 Avaliação das Bursas de Fabricius

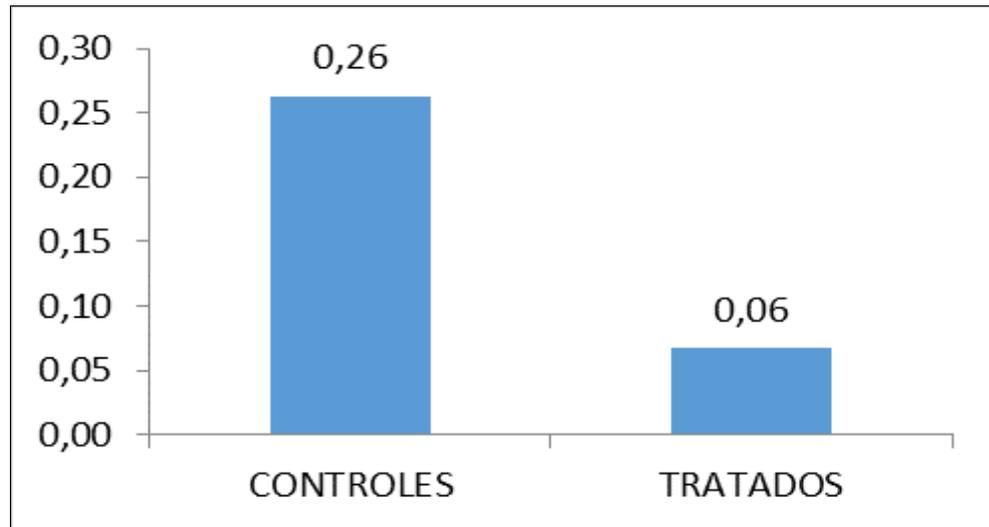
Quando analisado o peso das BF entre as aves controle foi observada a média de 4,20 gramas, ao passo que em animais submetidos à dexametasona a média foi inferior a um grama (0,74g) (Tabela 3). Dessa forma, constatou-se significância estatística entre animais desafiados e controles pelo teste T ( $p < 0,05$ ), sendo o peso das BF controle 5,7 vezes superior ao peso médio das BF do grupo tratado.

**Tabela 3:** Valores de peso médio (PM), Desvio Padrão (DP) do PM, Moda e Média de Escore de Depleção nas BF analisadas.

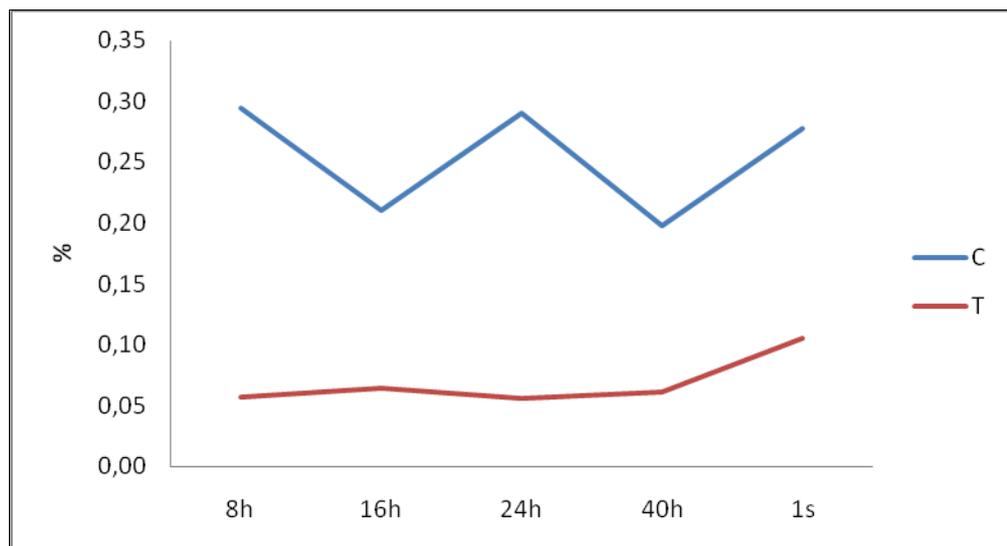
	PM (gramas)	DP do PM	Moda do Escore de Depleção	Média de Escore de Depleção
BF Controles	4,20	1,81	1	1,38
BF Tratadas	0,70	0,29	3	2,65

PM - Peso Médio; DP - Desvio Padrão

O peso relativo médio das BF controle foi de 0,26%, ao passo que em animais tratados, o peso relativo médio foi de 0,06% (Figura 10). Ao analisar o peso relativo da BF em função dos tempos após a inoculação (8 em 8 horas), pode-se verificar que apesar de ter havido variação, aves controles mantiveram-se sempre com peso relativo da BF em torno de 0,2-0,3%, ao passo que animais tratados apresentaram peso relativo inferior, com variações entre 0,06-0,1% (Figura 11). Foi observado também, que o peso relativo nas aves tratadas tendeu a aumentar com o decorrer do tempo, atingindo 0,1% uma semana após a última inoculação.



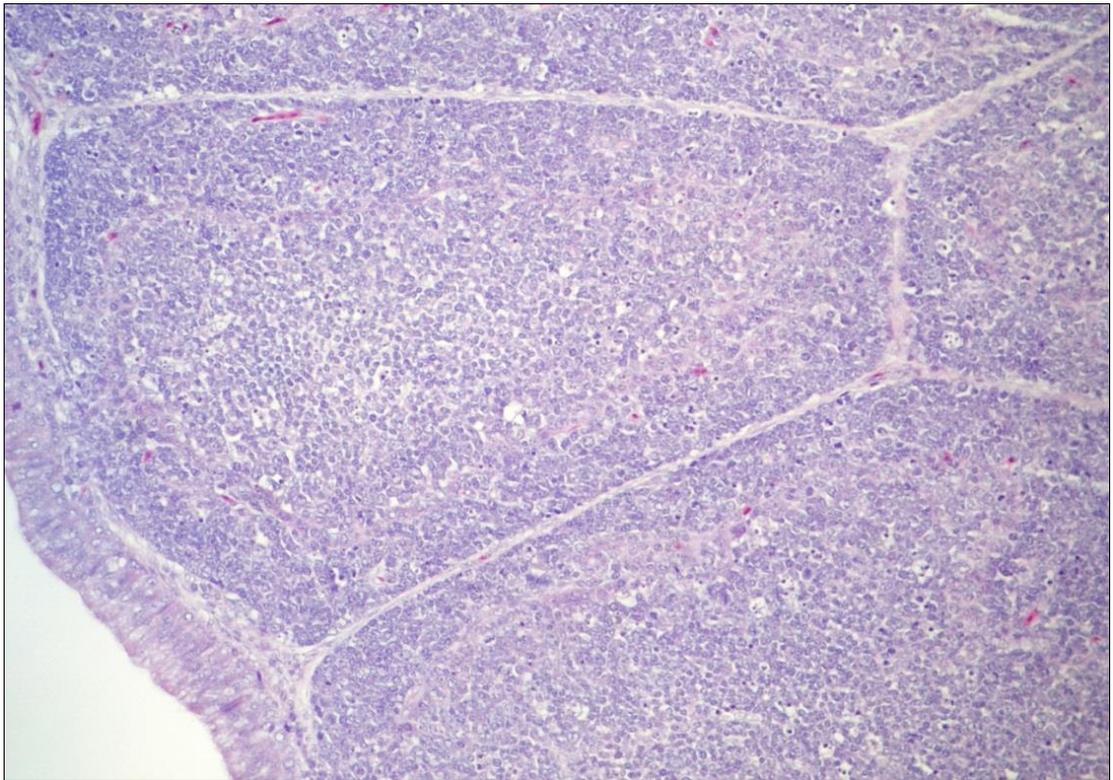
**Figura 10:** Gráfico do Peso Relativo Médio da BF (%) de animais controles (C) e tratados com dexametasona (T).



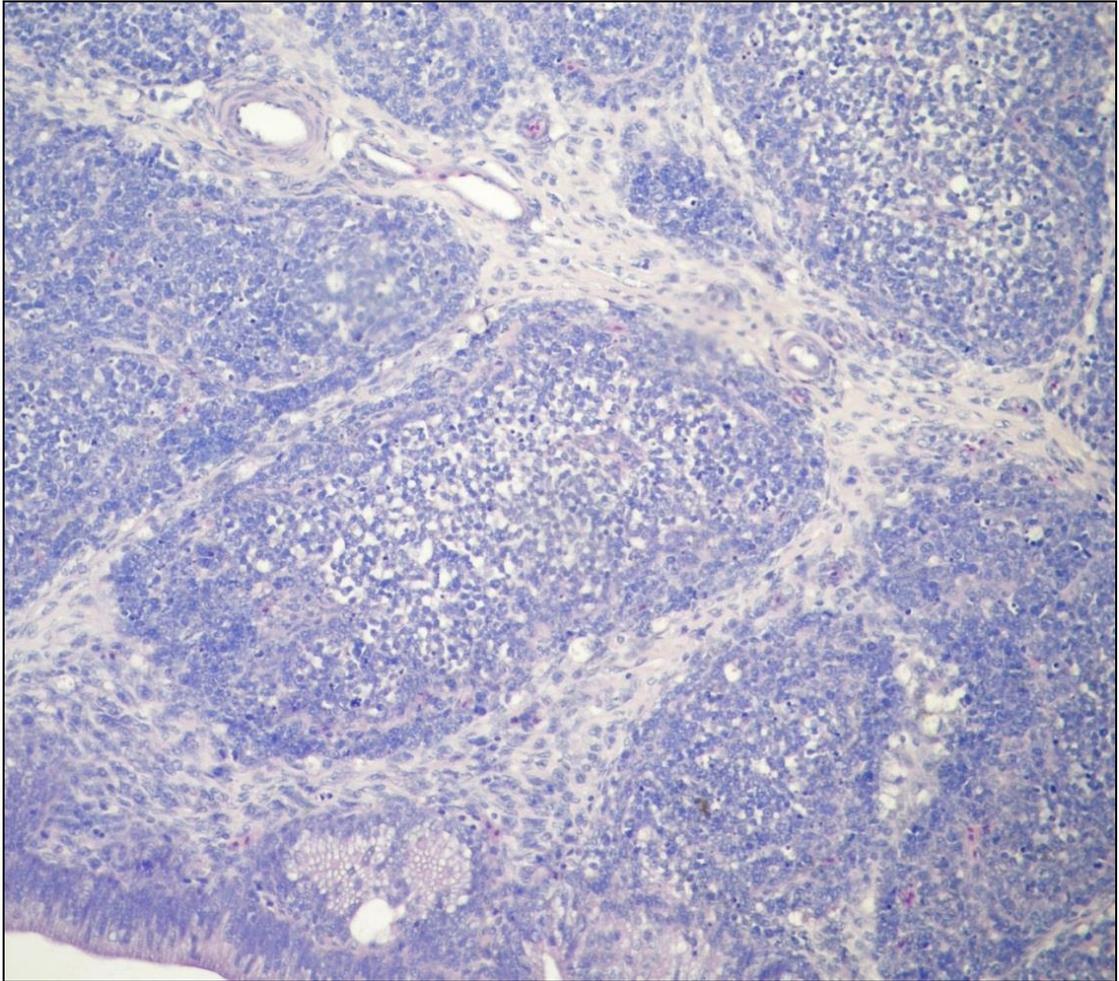
**Figura 11:** Gráfico do Peso Relativo da BF (%) em função do tempo em animais controle (Linha Azul- C) e tratados com dexametasona (Linha Vermelha- T).

A análise histopatológica quanto à depleção linfocitária das BF foi efetuada de forma convencional, adaptada de Muskett *et al.* (1979), sendo possível estabelecer até cinco escores de imunodepressão. Foi utilizada a moda entre as observações dos três avaliadores para determinar o escore de depleção linfocitária das BF, a fim de minimizar qualquer possibilidade de erro de leitura, dado que a análise é subjetiva. Nos animais avaliados, não foi encontrado o escore máximo de imunodepressão (Escore 5 – maior que 90% de depleção linfocitária).

Nas aves controles o escore das BF variou entre 1 e 2, sendo observada a moda 1 (Figura 12), entre todas as avaliações realizadas e média 1,38 entre as amostras. Por outro lado, BF de animais inoculados com glicocorticoide obtiveram escores variando de 2 a 4. A moda entre todos os animais submetidos ao glicocorticoide foi de 3 (Figura 13), enquanto a média foi de 2,65. Foi encontrada diferença significativa para a análise estatística dos dados analisados ( $p < 0,05$ ).

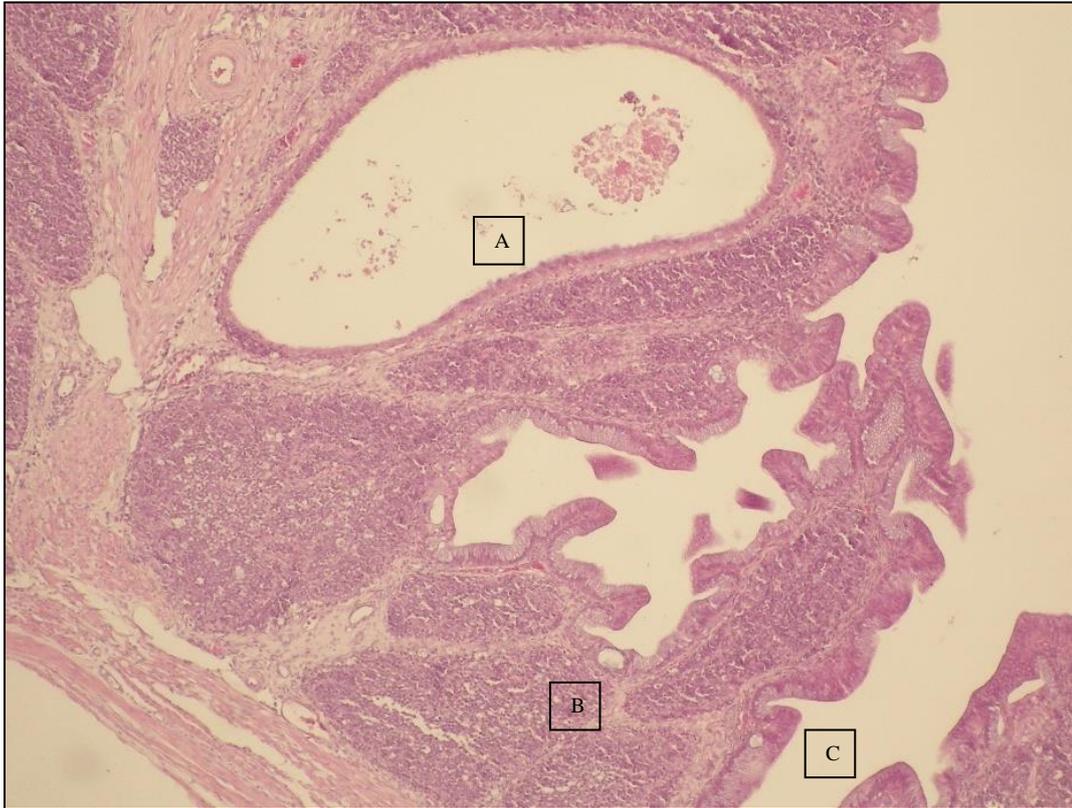


**Figura 12:** Fotomicrografia de lâmina histológica de BF do grupo controle (Objetiva de 20x). H&E.



**Figura 13:** Fotomicrografia de lâmina histológica de BF do grupo tratado com glicocorticoide (Objetiva de 20x). H&E.

Foram observados cistos epiteliais e foliculares, epitélio hiperplásico, fibroplasia, hiperemia e edema nas BF de animais inoculados com dexametasona (Figura 14). Também observou-se que aves tratadas apresentaram tamanho da BF e tamanho dos folículos menores que aves controles, embora sem graus extremos de depleção linfóide (sem escore 5).



**Figura 14:** Fotomicrografia de lâmina histológica de BF do grupo tratado com glicocorticoide. Cisto interfolicular (A), cisto intra-epitelial (B), epitélio hiperplásico (C). (Objetiva de 20x). H&E

#### 4.2 Avaliação dos Timos

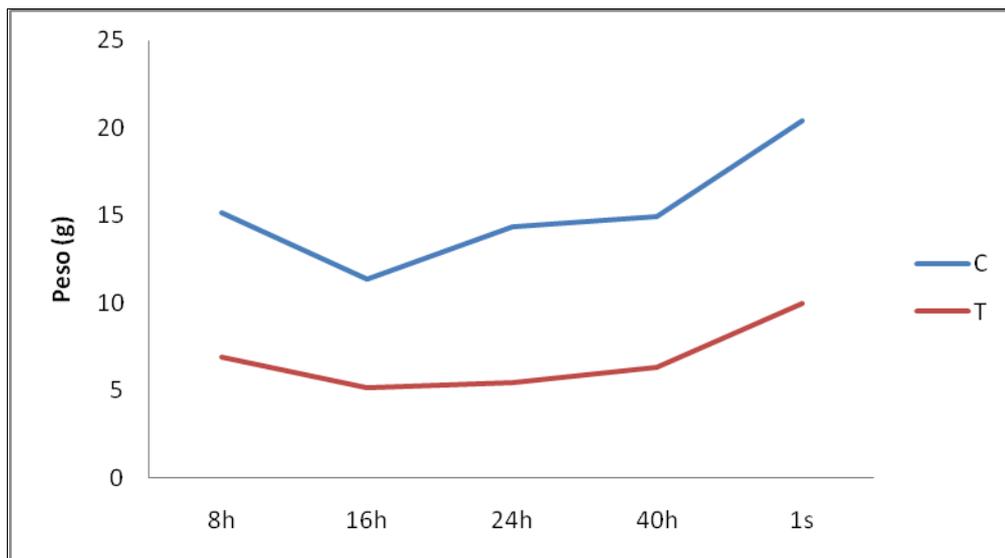
Foi observado que timos de aves controle possuíam peso maior que em relação às aves desafiadas com o glicocorticoide. Nos animais controles foi observada a média de peso do órgão de 17,18 gramas (desvio-padrão de 4,06g), ao passo que em animais submetidos à dexametasona a média foi de 6,3 gramas (desvio-padrão de 1,74g) (Tabela 4). Dessa forma, constatou-se significância estatística entre animais desafiados e controles pelo teste T ( $p < 0,05$ ).

**Tabela 4:** Valores de PM, DP do PM, Moda e Média de Escore de Depleção dos timos analisados

	PM (gramas)	DP do PM	Moda de Escore de Depleção	Média de Escore de Depleção
Timos Controle	17,18	4,06	2	1,63
Timos Tratado	6,3	1,7	3	3,56

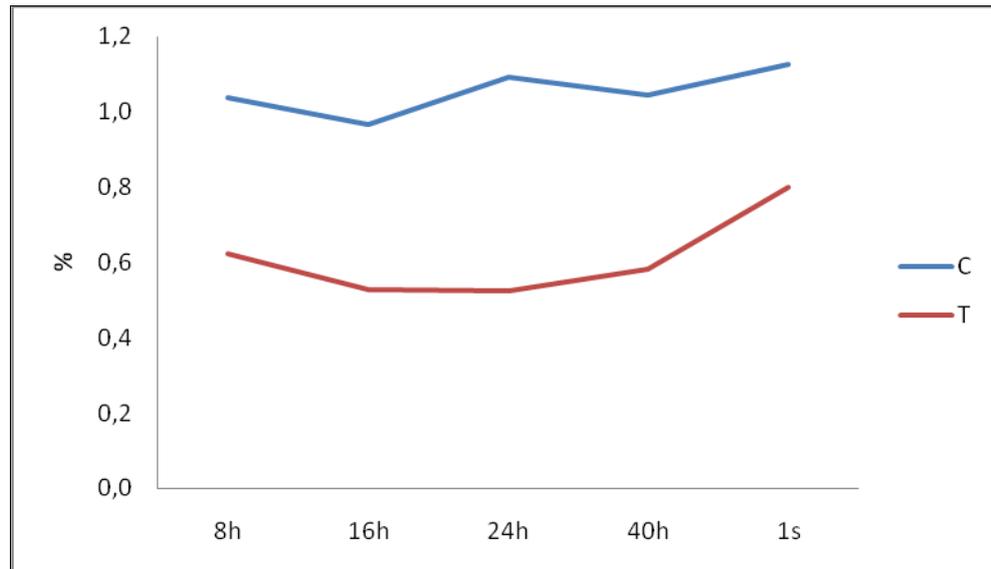
PM- Peso Médio; DP - Desvio Padrão

Ao observar os pesos ao longo do tempo, após a administração do glicocorticoide, pode-se verificar que ambos – tratados e controles- tiveram tendência ao aumento do peso com o decorrer do tempo, chegando a quase dobrar em uma semana após a última inoculação do glicocorticoide. Entretanto, o peso final do timo nas aves controles foi de 20, 41 gramas, ao passo que nas aves submetidas ao tratamento foi de 10 gramas, refletindo grande prejuízo para o órgão nas aves tratadas (Figura 15).



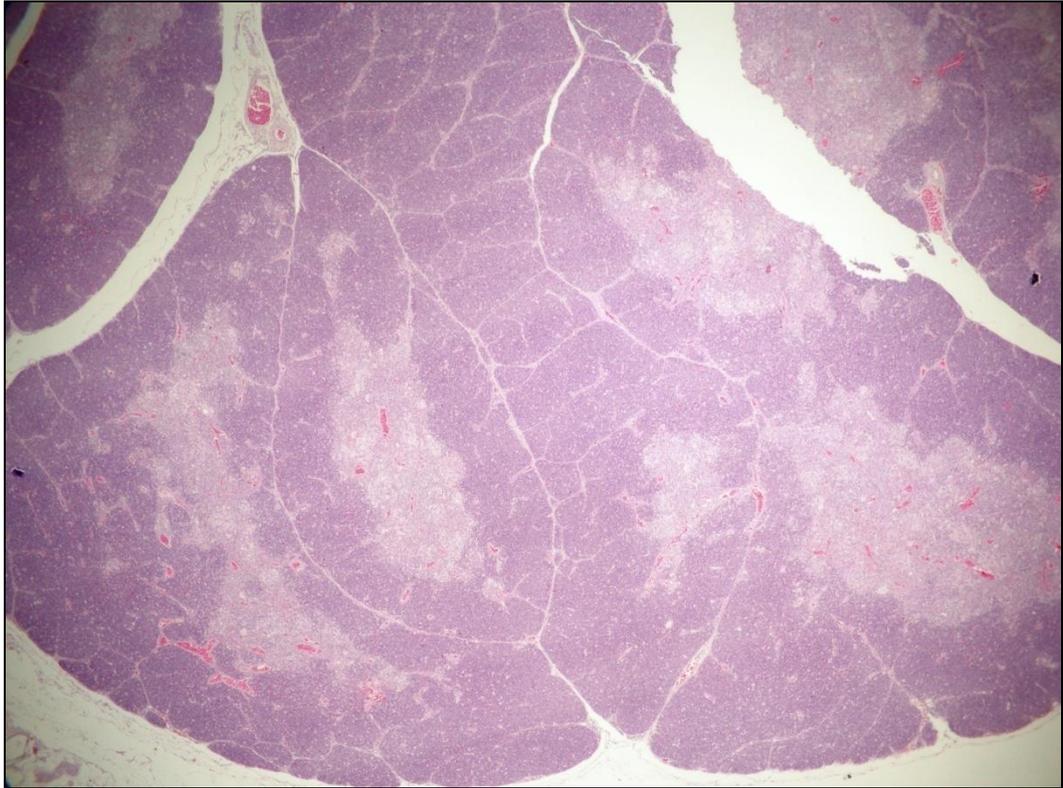
**Figura 15:** Gráfico de Peso Médio do Timo (g) em função do tempo em animais controles (C) e tratados com dexametasona (T).

Nas análises de peso relativo do órgão em relação ao peso corporal da ave, observou-se que aves controle tiveram peso relativo do timo variando em torno de 1,08%. Por outro lado, aves submetidas ao glicocorticoide apresentaram do timo variando em torno de 0,57%. Quando avaliada a média uma semana após o tratamento, aves tratadas chegaram a 0,8%, mostrando que há aumento do timo, à medida que cessa o tratamento, no entanto, não é atingida a média dos controles, de 1,12%, na mesma idade (Figura 16).

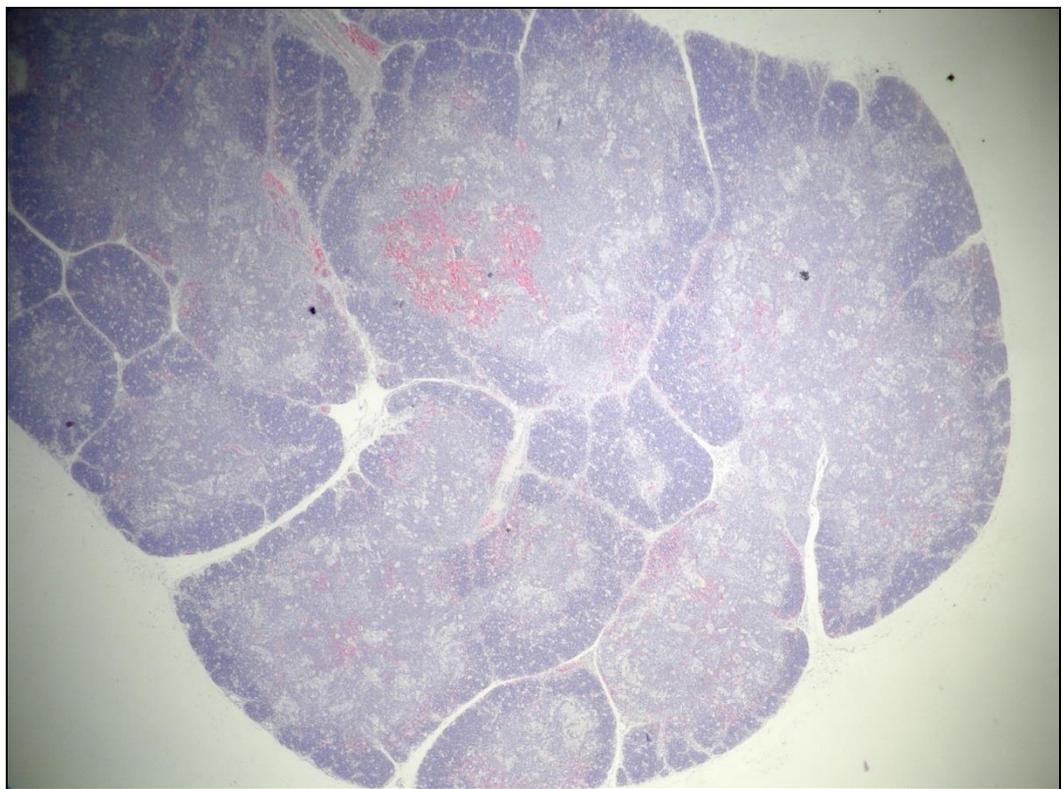


**Figura 16:** Gráfico do Peso Relativo do Timo - % (Peso do timo/ Peso Corporal da Ave) em função do tempo em animais controles (Linha Azul- C) e tratados com dexametasona (Linha Vermelha- T).

A partir da análise histológica e dos critérios estabelecidos por Carvalho (2013), os timos foram classificados em cinco escores de depleção linfoide. Os escores de depleção encontrados nos timos desafiados foram maiores que em aves controle (Tabela 4). Esses dados foram estatisticamente significativos, através de estatística paramétrica, utilizando teste T. A média dos escores de depleção das aves controles foi de 1,63 e moda de 2 (Figura 17), variando entre 1 e 2. Já os animais tratados apresentaram média de escores de depleção de 3,56 e moda de 3 (Figura 18), variando entre 3, 4 e 5.



**Figura 17:** Fotomicrografia de Lâmina Histológica de Timo – Escore 2- de Grupo Controle (objetiva de 4x).



**Figura 18:** Fotomicrografia de Lâmina Histológica de Timo – Escore 3- do Grupo Tratado com glicocorticoide (objetiva de 4x).

### 4.3 Avaliação dos Intestinos

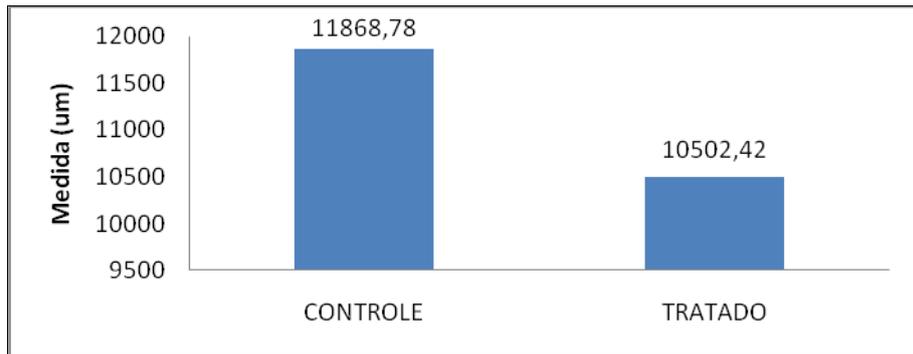
Para a medição dos itens avaliados foram capturadas fotomicrografias nas objetivas de 4X (comprimento da vilosidade e espessura de parede), 10x (profundidade de cripta) e 40X (altura de núcleo de enterócito, comprimento de núcleo, altura de microvilosidade e largura da vilosidade), totalizando 30 imagens e 70 medições em cada um dos intestinos avaliados. Foi estabelecida média e o desvio padrão de cada um dos itens avaliados, para os animais controles e para os desafiados, que pode ser observada na tabela 5.

**Tabela 5:** Avaliação intestinal: média e desvio padrão (DP) de cada item avaliado.

Tratamento \ Variável	Comprimento de Vilo		Profundidade de cripta		Espessura de Parede		Largura de vilo		Núcleo		Microvilosidade		Altura de Enterócito	
	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP	Média	DP
Controles	11868,78	1310,14	633,66	49,40	14378,50	1338,02	658,03	79,57	50,53	4,95	20,81	1,90	193,45	11,56
Tratados	10502,42	1306,01	596,43	71,77	12501,50	1504,35	599,63	55,00	51,69	3,97	19,46	1,92	181,17	11,45
Valor-p	<0,05		>0,05		<0,05		<0,05		>0,05		>0,05		<0,05	

Apesar de as médias dos animais controles terem sido aparentemente superiores as médias dos animais tratados com glicocorticoide (exceto tamanho de núcleo, maior nos tratados), nem todas as análises foram estatisticamente significativas. Não houve significância nas diferenças de profundidade de criptas, tamanho de núcleo e altura de microvilosidades ( $p > 0,05$ ).

Intestinos de aves controles apresentaram comprimento de vilosidades em média 1366,4µm maiores que aves submetidas a tratamento com glicocorticoides. Foi observada diferença estatística através do teste T para a análise ( $p < 0,05$ ) (Figura 19).

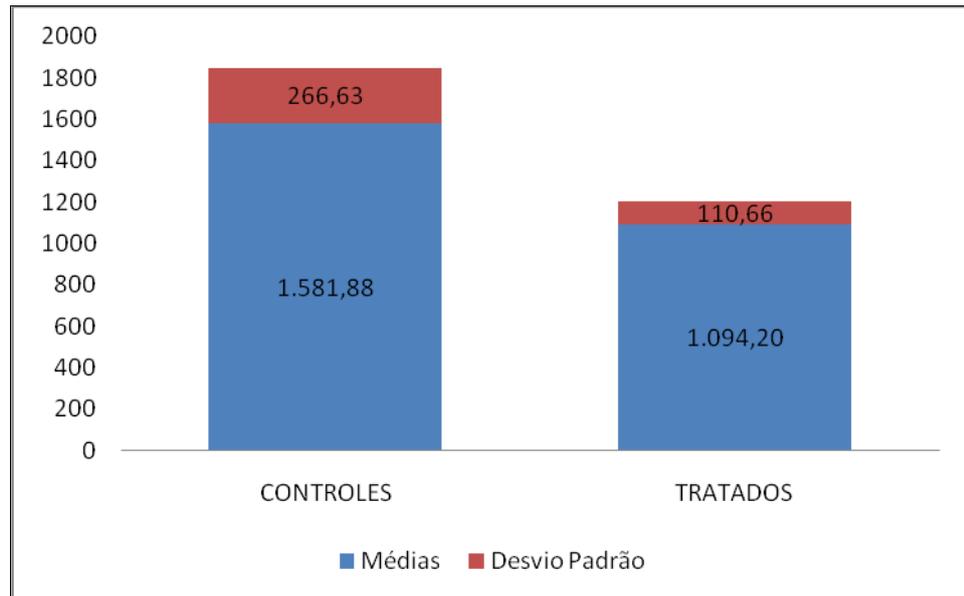


**Figura 19:** Gráfico do comprimento de vilosidade médio nos grupos controle e tratado.

Intestinos de aves controles apresentaram largura de vilosidades em média 58,4µm maiores que aves submetidas a tratamento com glicocorticoides. Foi observada diferença estatística através do teste T para a análise ( $p < 0,05$ ). Também foi observada análise estatística significativa para altura de núcleo de enterócito e espessura de parede entre animais controles e tratados. Os dados completos de análises estatísticas podem ser vistos no Apêndice B.

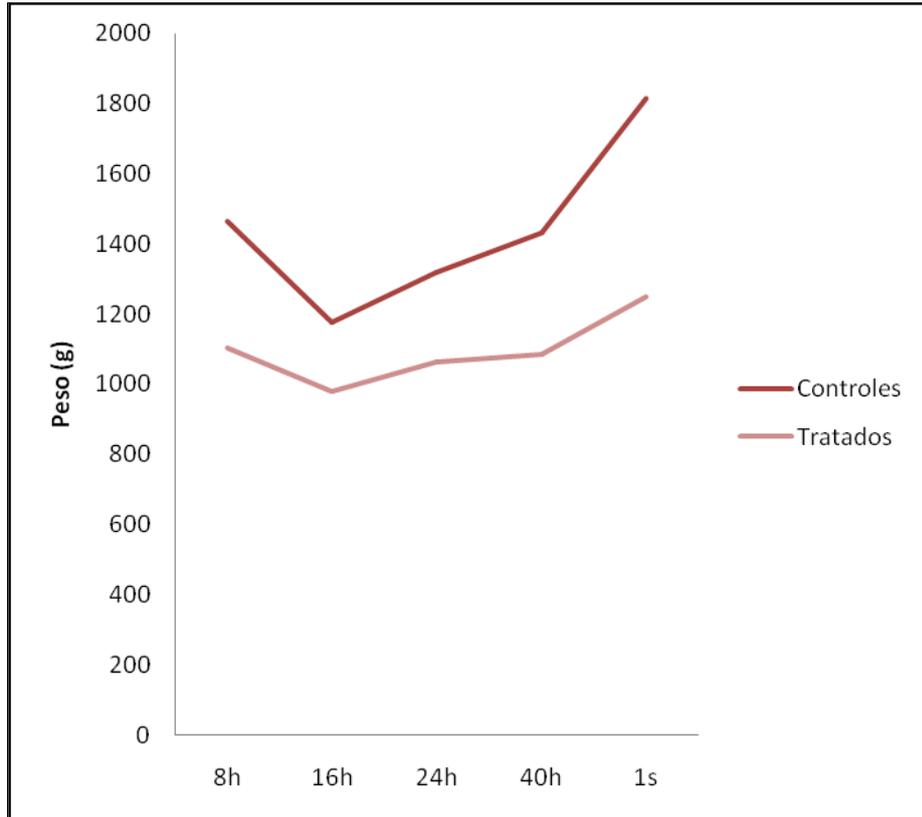
#### 4.4 Avaliação do peso corporal das aves

Aves submetidas ao tratamento com dexametasona apresentaram média pesos corporais menores que aves controles (Figura 20), desde 8h após, até uma semana após o último tratamento (Figura 21) ( $p < 0,05$ ).

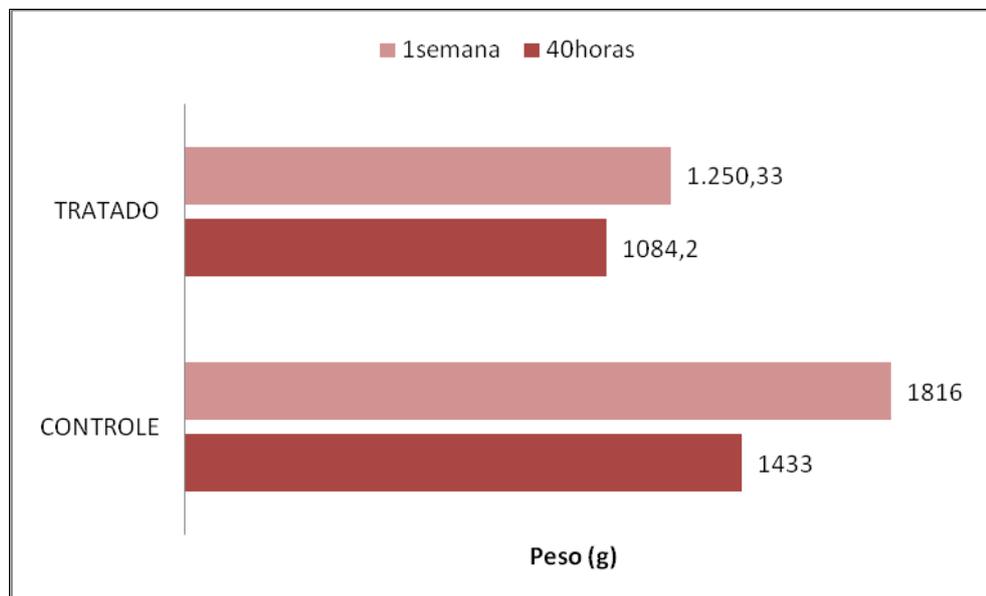


**Figura 20:** Gráfico de peso médio dos animais do Grupo Controle e Tratado, com desvio padrão em vermelho.

Ao observar os pesos das aves ao longo do tempo percebeu-se que ambas – controles e tratadas- tiveram aumento do peso. No entanto, as aves controles mantiveram-se sempre com peso maior que as tratadas (Figura 21). Pode-se verificar também que aves controles obtiveram um ganho de peso de 26,7%, uma semana após o tratamento, ao passo que aves tratadas com glicocorticoide obtiveram apenas 15,3% de ganho de peso na semana seguinte à finalização do tratamento (Figura 22).



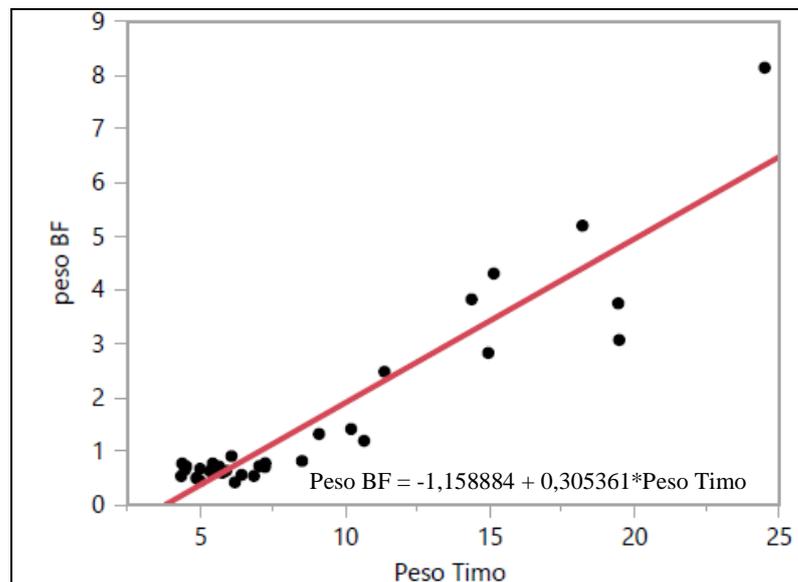
**Figura 21:** Gráfico de peso médio dos animais do Grupo Controle e Tratado ao longo do tempo após o tratamento.



**Figura 22:** Gráfico comparativo de pesos médios às 40 horas e uma semana após o tratamento.

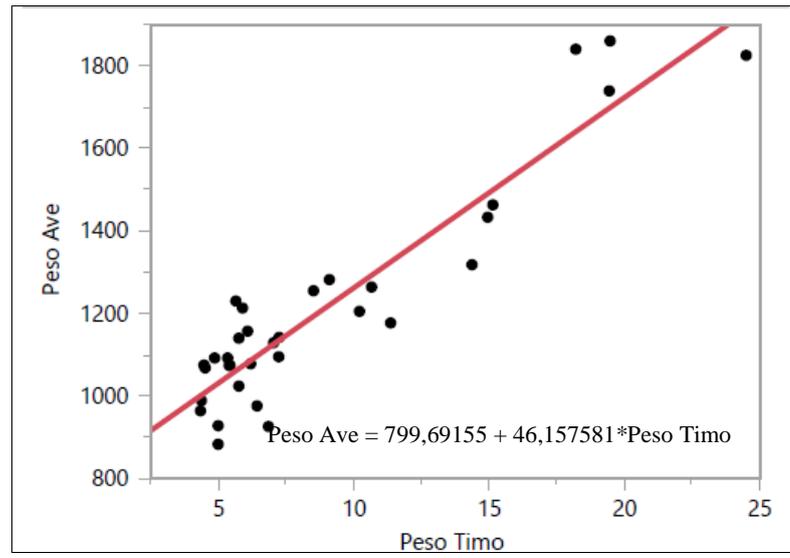
#### 4.5 Relações Estabelecidas

A análise de correlação foi utilizada para ver o grau de relação entre uma variável e outra. Entre o peso do timo e o peso da BF obteve-se uma correlação de 93,1% e um coeficiente de regressão ( $r^2$ ) de 86,7% (Figura 23).



**Figura 23:** Análise de Regressão entre peso da BF e o peso do timo, através do Software JMP SAS 11.

Da mesma forma, entre o peso do timo e o peso da ave foi visto um  $r^2$  de 86,4% (Figura 24). Já com relação aos dados de peso de BF e peso da ave foi observado  $r^2$  de 71,8%. Por outro lado, os parâmetros avaliados nos intestinos não apresentaram correlações consideráveis. O comprimento de vilosidade obteve correlação com peso de timo próximo a 50%, no entanto, um  $r^2$  de 22,5%. Os dados de correlações e regressões podem ser vistos no Apêndice C.



**Figura 24:** Análise de Regressão entre peso da ave e o peso do timo, através do Software JMP SAS 11.

## 5 DISCUSSÃO

Frangos de corte criados comercialmente são submetidos a vários estímulos potencialmente imunossupressores (GALHA et al., 2008). A imunossupressão é definida por um estado temporário ou permanente de disfunção da resposta imune. A consequência mais evidente do estado de imunossupressão é o aumento da suscetibilidade a doenças infecciosas e parasitárias (GALHA et al., 2010).

Pode-se induzir a imunodepressão em aves de diversas formas, como administração de agentes virais com tropismo ao sistema imune, alimentos contaminados com micotoxinas, drogas imunodepressoras, entre outros. Entretanto, a fácil administração, o baixo custo e a ausência de sofrimento da ave durante a inoculação são grandes vantagens dos glicocorticoides (ISOBE & LILLEHOJ, 1993), quando comparado aos outros métodos. Além disso, glicocorticoides como a dexametasona não necessitam de alojamentos com grandes estruturas de biossegurança e forte preocupação sanitária, como em inoculações virais.

Os glicocorticoides atuam diminuindo tanto linfócitos B como T, promovendo uma imunodepressão considerável, de acordo com a dose e vias de administração (CORRIER & DELOACH, 1990). Entre os efeitos mais prevalentes dos corticoides em órgãos linfoides está a atrofia devido à lise de linfócitos, com características seletivas para linfócitos pequenos do tipo T (BRANDÃO, 1991). Dessa forma, a utilização de glicocorticoides tanto para tratamento de patologias, quanto para indução de imunodepressão têm sido amplamente utilizadas (CORRIER & DELOACH, 1990; BRANDÃO et al., 1991; GALHA et al., 2010; HUSSAR et al., 2011). No presente trabalho observaram-se diversas alterações estruturais provocadas pela dexametasona nos órgãos e parâmetros avaliados.

Inicialmente, pode-se verificar que o tratamento com dexametasona interferiu diretamente no peso das aves. Enquanto aves normais apresentaram peso médio em torno de 1500 gramas, aves tratadas com dexametasona pesaram aproximadamente 1000 gramas. Pode-se verificar também que aves controles obtiveram um ganho de peso 30,8% maior que aves inoculadas com glicocorticoide. Esse é um dado bastante crítico, visto que a dexametasona pode simular condições patológicas de imunodepressão e

estresse, que podem assolar o campo e que podem estar causando prejuízo parecido. Semelhantes a esses achados, Galha et al. (2010) encontraram peso corporal cerca de 20% menor em aves submetidas ao tratamento com dexametasona (4mg/kg- via subcutânea), comparado com aves controles. Da mesma forma, Li et al. (2008) analisaram os efeitos da dexametasona sobre o peso final das aves após o experimento. Em aves controles o peso final atingido foi de 1.686 gramas, ao passo que em animais desafiados com 5mg/kg- via subcutânea- o peso encontrado foi de 1.420 gramas, ou seja, quase 16% menor. Os autores também avaliaram outras doses de glicocorticoides, e constataram que, quanto maior a dose, maior o efeito negativo sobre o peso (LI et al., 2008).

A média de peso das BF de animais saudáveis foi de 4,2 gramas, com alto desvio padrão de 1,81 gramas. Vários autores citam a alta variação individual entre os animais (GLICK, 1965a; CAZABÁN et al., 2015). Em concordância com os achados do presente trabalho, Cazabán et al. (2015) observaram a curiosidade de que mesmo com a contínua e intensa seleção genética no sentido de uma maior produção e maior uniformidade na carcaça ao longo dos últimos 50 anos, a variabilidade individual nos parâmetros biológicos não foi perdida.

As BF de animais controles apresentaram escores inferiores e pesos superiores aos animais submetidos a tratamento com glicocorticoide. O peso das BF controles foi 5,7 vezes superior ao peso médio das tratadas. Huff et al. (1998) também observaram redução em tamanho de BF e peso corporal de perus submetidos a tratamento com dexametasona. Carrier *et al.* (1991) e Pope (1991) relataram que a resposta imune das aves pode ser avaliada pela razão entre o peso da bursa de *Fabricius* em função ao peso corporal. Segundo os autores, a diminuição deste índice refere a um potencial estado de imunossupressão.

No presente estudo, o peso relativo das BF em animais controles foi de 0,26%, ao passo que em animais submetidos ao glicocorticoide foi de 0,06%. Esses dados estão de acordo com Galha et al. (2010) que também encontrou diferença significativa entre o peso relativo de BF de animais submetidos a tratamento com glicocorticoide (0,038%) e aves normais (0,065%). Cazabán et al. (2015) encontraram peso relativo da BF entre 0,11-0,13% em aves normais. Os autores pretendiam representar um novo padrão de proporção mínima de peso relativo de BF em frangos comerciais machos (*Cobb 500*),

mantidos em condições ideais. Dessa forma, os autores sugeriram que uma proporção de 0,11% ou acima, em aves de 7 a 42 dias de idade, seria o ideal. Esse valor proposto pelos autores, no entanto, não reflete o encontrado no presente estudo, em que os dados de peso relativo da BF de animais saudáveis variaram, em todas as idades, entre 0,21 e 0,29%. Por outro lado, McMullin (2004) observou aproximadamente o mesmo valor, propondo 0,3% em aves normais.

Galha et al. (2010) também observaram atrofia dos folículos e marcada depleção linfocitária difusa, tanto no córtex, quanto na medula de bursas de Fabricius de animais submetidos a tratamento com corticoides. Diferente disso, no presente estudo foi verificada atrofia de folículos, porém depleção linfocitária intrafolicular moderada. Constataram-se cistos epiteliais e foliculares, epitélio hiperplásico, fibroplasia, hiperemia e edema nas BF de animais inoculados com dexametasona.

A média dos escores de depleção nos timos das aves controles foi de 1,63 e o peso médio 17,18 gramas, enquanto nos animais tratados a média de escores de depleção de 3,56 e peso médio 6,3 gramas. Da mesma forma, o peso relativo do órgão das aves controles variou em torno de 1,08%. Por outro lado, aves submetidas ao glicocorticoide apresentaram peso relativo do timo variando em torno de 0,57%. Galha et al. (2010) relataram que timo das aves desafiadas com glicocorticoide apresentaram acentuada atrofia, sendo evidente a redução do córtex com intensa depleção linfocitária, enquanto em animais não inoculados nenhuma alteração foi verificada.

Os resultados encontrados para variação dos escores de depleção da BF foram, em parte, diferentes daqueles encontrados para escores de depleção do timo. Não foi encontrado escore extremo nas BF estudadas (Escore 5- maior que 90% de imunodepressão), ao passo que em timos foi observado escore máximo em várias amostras. Dessa forma, observou-se que o glicocorticoide promoveu efeitos danosos maiores no timo, que na BF. Esse achado foi de encontro a Brandão (1991), que promoveu imunossupressão experimental em camundongos e relatou que o timo não parecia ter sido afetado pelo tratamento apenas com glicocorticoide. Entretanto, o mesmo autor relatou que o timo foi o órgão mais afetado quando os animais inoculados com glicocorticoide foram submetidos a desafio com *Candida albicans*.

Observou-se também, que o peso relativo – tanto das bursas de Fabricius, quanto dos timos- nas aves imunodeprimidas, tendeu a aumentar com o decorrer do tempo, a medida que cessou o tratamento. Nas bursas encontrou-se peso relativo de 0,1% uma semana após a última inoculação, porém este valor refletiu metade do peso relativo em aves controles. Já, com relação aos timos de aves inoculadas com dexametasona, uma semana após o último tratamento, foi encontrado peso relativo de 0,8%, enquanto nos animais controles o peso relativo foi de 1,12%, na mesma idade. Esses dados estão de acordo com Hussar et al. (2011) que observaram efeitos mais severos no timo, comparado a outros órgãos linfoides, em ratos *Wistar* submetidos a tratamento com dexametasona. Os mesmos autores constataram que uma semana após o tratamento cessar, houve reversibilidade do quadro, tendendo à volta da normalidade. Não obstante, os dados do presente trabalho mostraram que em aves, apesar de haver revitalização do órgão, esta não foi completa, ou seja, não chegou ao valor das aves normais uma semana após o fim do tratamento.

A estrutura da mucosa intestinal pode revelar informações sobre a capacidade de absorção do intestino para nutrientes e está sempre associada com o desempenho dos animais (LI et al., 2008;). Além disso, é a primeira barreira de defesa do organismo contra contaminantes químicos, alimentos e toxinas (REVAJOVÁ et al., 2011). Dessa forma, no presente trabalho avaliaram-se os efeitos da dexametasona sobre as estruturas do jejuno. Muitos estudos são publicados com investigações de parâmetros intestinais com muitos diferentes objetivos (testes de drogas, rações, suplementos, patologias, etc) (TANNURI et al., 2000; LI et al., 2008; MARCHINI et al., 2009; OKAMOTO et al., 2009; REVAJOVÁ et al., 2013). No entanto, há falta de uniformidade entre os métodos e critérios de obtenção das amostras e das suas estruturas mensuráveis. Portanto, a fim de padronizar as avaliações e usar critérios objetivos para a avaliação dos parâmetros observados nos intestinos, foram seguidas, neste trabalho, as metodologias descritas por Gava (2012) e Gava (2015).

As médias das estruturas mensuradas nos intestinos de animais controles foram –aparentemente- superiores às médias dos animais tratados com glicocorticoide (Tabela 5), entretanto, nem todas as análises foram estatisticamente significativas. Talvez um maior número de amostras pudesse ter esclarecido melhor essas diferenças. Não houve significância nas diferenças de profundidade de criptas, espessura de parede, tamanho de núcleo e altura de microvilosidades ( $p > 0,05$ ).

A média de profundidade de criptas em animais controles e tratados não diferiu estatisticamente, entretanto, apresentou desvios-padrão muito grandes em ambos os grupos. Diferentemente dos dados relatados neste trabalho, Li et al. (2008) encontraram aumento na profundidade das criptas do jejuno em frangos de corte submetidos a tratamento com o glicocorticoide. Da mesma forma, Tannuri et al. (2000) verificaram que ratos desnutridos (condição estressante) apresentaram profundidade de criptas maiores e vilosidades menores que ratos normais. A profundidade das criptas é um indicador da maturação do epitélio do intestino: uma cripta mais profunda indica um epitélio intestinal mais maduro (LI et al., 2008;).

No presente trabalho, intestinos de aves controles apresentaram comprimento de vilosidades em média 13% maiores que aves submetidas a tratamento com glicocorticoides ( $p < 0,05$ ). Diversas pesquisas têm encontrado resultados semelhantes, com influência negativa da dexametasona e outros fatores estressantes no comprimento das vilosidades (LI et al., 2008; TANNURI et al., 2000; REVAJOVÁ et al., 2013;). Altura das vilosidades é um dos indicadores aparentes da capacidade do intestino de absorver nutrientes (LI et al., 2008). Colaborando com os dados encontrados, Revajová et al. (2011) realizaram estudo a fim de verificar alterações na resposta imune e no duodeno de aves submetidas a dietas com adição de micotoxinas por duas semanas. Os autores relataram discreta atrofia das vilosidades intestinais.

Nos animais estudados, verificou-se também que a largura de vilosidades e a altura dos núcleos de enterócitos em aves submetidas a tratamento com glicocorticoides foi menor que a observada em controles ( $p < 0,05$ ). Por outro lado, Li et al., (2008) não observaram diferenças entre a largura de vilosidades entre animais saudáveis e inoculados com diferentes doses de dexametasona.

Numa tentativa de correlacionar o peso da BF com o peso corporal, utilizou-se a análise da correlação de Pearson. Assim, entre o peso do timo e o peso da bursa de Fabricius obteve-se uma correlação de 93,1% e um coeficiente de regressão ( $r^2$ ) de 86,7%. Da mesma forma, entre o peso do timo e o peso da ave foi visto um  $r^2$  de 86,4%. Entre os dados de peso de BF e peso da ave foi observado  $r^2$  de 0,71. Já em 1956a, Glick relacionou o peso das aves ao peso das BF. Na época, o autor descreveu o crescimento corporal e do órgão linfóide, e constatou que o crescimento da BF foi parcialmente dependente dos aumentos de peso corporal. No entanto, Glick afirmou que

o crescimento bursal foi mais rápido do que o do corpo como um todo, durante as três primeiras semanas após a eclosão. (GLICK, 1956a). Cazabán et al. (2015) também encontraram correlação positiva entre o peso corporal e o peso da BF em aves comerciais, obtendo um  $r^2$  de 87%. No entanto os autores atentam ao fato de que com o passar do tempo, a correlação vai diminuindo, pois vão aumentando os fatores externos. Por outro lado, os parâmetros avaliados nos intestinos não apresentaram boas correlações. O comprimento de vilo obteve correlação com peso de timo próximo a 50%, no entanto, um  $r^2$  de 22,5%.

Por fim, pode-se observar que o tratamento empregado para imunodepressão foi eficiente, tornando-se uma boa opção para futuros trabalhos que necessitem de animais com sistema imune prejudicado. Dessa forma, estabeleceram-se os principais agravos ocasionados pela dexametasona, permitindo maior segurança ao pesquisador a afirmar dados encontrados em seus experimentos decorrentes da inoculação do corticoide ou de outro fator a ser avaliado. Estudos envolvendo animais a campo seriam de extrema valia para complementar os resultados do presente trabalho, pois o fato de a dexametasona mimetizar condições de estresse e de doenças não permite afirmar que provoque os mesmos resultados. Assim, avaliar animais saudáveis e doentes a campo seria uma boa opção para validar considerações importantes verificadas neste trabalho, como o peso da BF e do timo em relação ao peso final da ave.

## 6 CONCLUSÕES

- Foi possível avaliar efeitos imunodepressores da dexametasona nos órgãos linfoides - timo e BF e nas estruturas do jejuno.
- O tratamento empregado para imunodepressão foi eficiente, tornando-se uma boa opção para futuros trabalhos que necessitem de animais com sistema imune prejudicado.
- Aves submetidas ao tratamento com dexametasona apresentaram redução no ganho de peso, no comprimento e na largura de vilosidades, na altura de enterócitos, além de maior depleção linfóide em timo e BF e pesos de timo e BF menores ( $p < 0,05$ ).
- Os dados encontrados permitem maior segurança ao pesquisador a afirmar dados encontrados em seus experimentos decorrentes do uso de corticoide, uma vez que a literatura carece de dados atualizados e não compara efeitos entre sistema imune e digestivo simultaneamente.
- Estudos envolvendo animais a campo seriam de extrema valia para complementar os resultados do presente trabalho, pois o fato de a dexametasona mimetizar condições de estresse e de doenças não permite afirmar que provoque os mesmos resultados.
- Avaliar animais saudáveis e doentes a campo seria uma boa opção para validar considerações importantes verificadas neste trabalho, como o peso da BF e do timo em relação ao peso final da ave.

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. & POBER, J.S. **Imunologia celular e molecular**. 5ª ed., Rio de Janeiro, Elsevier, 2005. 580 p.
- ABPA - ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE PROTEÍNA ANIMAL. <http://abpa-br.com.br/setores/avicultura>. Acesso em 01 de fevereiro de 2016.
- AVISITE- A REVISTA DO AVISITE - Dez/2015, nº99, p. 22-28 Ano VIII. Disponível em [www.revistadoavisite.com.br](http://www.revistadoavisite.com.br). Acesso em 28 de janeiro de 2016.
- BICKFORD, A.A., KUNEY, D.R., ZANDER, D.V., MCMARTIN, D.A. Histologic characterization of the involuting bursa of Fabricius in single-comb white Leghorn chickens. **Avian Dis.** V.29, p.778–797, 1985.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório In: Macari, M.; Furlan, R.L.; Gonzáles, E. Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte. 1ª ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p. 75-95. 2002.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. (Org). Fisiologia aviária - Aplicada a frangos de corte. 2ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP. p.75-98. 2008
- BOCKMAN, D.E. & COOPER, M. Pinocytosis by epithelium associated with lymphoid follicles in the Bursa of Fabricius, appendix, and Peyer’s patches. An electron microscopic study. **Am. J. Anat.** v.136, p. 455–478, 1973.
- BRANDÃO, A.A.H. Imunossupressão experimental em camundongos. Aspectos histológicos dos: órgãos linfóides após tratamento com dexametasona e inoculação de *Candida albicans*. **Rev. Odont.** UNESP, São Paulo, v. 20, p. 9-16, 1991.
- CAMILLOTTI, E.; DE MORAES, L.B.; FURIAN, T.; BORGES, K.A.; MORAES, H.L.S.; SALLE, F.O.; SALLE, C.T.P. Infectious Bursal Disease: Evaluation of the Pathogenicity and Immunogenicity of Commercial Vaccines in Brazil. **Proceedings of the Sixtieth Western Poultry Disease Conference**. . 60<sup>th</sup> Western Poultry Disease Conference, Sacramento, CA, EUA. p. 89-92, 2011.
- CARVALHO, D. **Avaliação da perda linfocitária do timo de frangos de corte utilizando sistema de análise digital de depleção linfóide (ADDL)**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2013.
- CAZABÁN, C.; MAJO MASFERRER, N.; DOLZ PASCUAL, R.; NOFRARIAS ESPADAMALA M.; COSTA, T.; GARDIN, Y. Proposed bursa of Fabricius weight to body weight ratio standard in commercial broilers. **Poultry Science**. V. 94(9), p. 2088-2093, 2015.
- CERA, K. R.; MAHAN, D. C.; CROSS, R. F.; REINHART, G. A; WHITMOYER R. E.; Effect of age, weaning and post weaning diet on small intestinal growth and jejunal morphology in young swine. **J. Anim. Sci.** v. 66, p.574 – 584, 1988.

- CHENG, L.Z. & ZHONG, C.P. Contemporary Histology. **Shanghai Scientific and Technological Literature Publishing House Press**, Shanghai. p. 652-658. WQ, 2003.
- CIRIACO, E.; PINERA, P.P.; DIAZ-ESNAL, B.; LAURA, R. Age-related changes in the avian primary lymphoid organs (thymus and bursa of Fabricius). **Microsc. Res. Tech.** v. 62, p. 482–487, 2003.
- COOPER, M. D., PETERSON, R. D. & GOOD, R. A. Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. **Nature** 205, 143–146, 1965.
- COOPER, M.D. The early history of B cells. **Nature Reviews Immunology**, v.15, p. 191–197, 2015.
- CORRIER, D. E.; DELOACH, J. R. Interdigital skin test for evaluation of delayed hypersensitivity and cutaneous basophil hypersensitivity. **American Journal of Veterinary Research**, v.51, n.6, p.950-954, 1990.
- CORRIER, D. E.; ELISSALDE, M. H.; ZIPRIN, R. L.; DELOACH, J. R. Effect of Immunosuppression with Cyclophosphamide, Cyclosporin, or Dexamethasone on Salmonella Colonization of Broiler Chicks. **Avian Diseases**, v.35, n.1, p.40-45, 1991.
- CRUVINEL, W. M., et al. Sistema imunitário: Parte I. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Rev. Bras. Reumatol. [Online]**. v.50, n.4, p. 434-447, 2010.
- DAVISON, F. The Importance of the Avian Immune System and its Unique Features. In: Davison, F., B. Kaspersand K.A. Schat. *Avian Immunology*, Chapter 1, Academic Press, London, UK. ISBN-13: 9780080557595, p. 1-11, 2008.
- FLETCHER OJ, ABDUL-AZIZ T, BARNES HJ. Alimentary System. In: Fletcher, O.J. and Abdul-Aziz, T. *Avian Histopathology*. 3rd ed. The American Association of Avian Pathologists, Jacksonville, FL. p. 164-201, 2008a.
- FLETCHER OJ, ABDUL-AZIZ T, BARNES HJ. Lymphoid system. In: Fletcherand, O. J. and Abdul-Aziz. T. *Avian histopathology*. 3rd ed. The American Association of Avian Pathologists, Jacksonville, FL. p. 24–57, 2008b.
- GALHA, V.; BONDAN, E.F.; LALLO, M.A. Relação entre imunossupressão e coccidiose clínica em frangos de corte criados comercialmente. **Revista do Instituto de Ciências da Saúde**. V. 26(4), p.432-7, 2008.
- GALHA, V.; BONDAN, E.F.; BONAMIN, L.V. LALLO, M.A. Coccidiose clínica em frangos de corte infectados naturalmente e imunossuprimidos com dexametasona. **Arq. Inst. Biol.**, São Paulo, v.77, n.1, p.25-31, jan./mar., 2010
- GAVA, M.S. **Metodologia de morfometria intestinal em frango de corte**. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, 2012.
- GAVA, M.S.; MORAES, L.B.; CARVALHO, D.; CHITOLINA, G.Z.; FALLAVENA, L.C.B.; MORAES, H.L.S.; HERPICH, J.I.; SALLE, C.T.P. Determining the Best Sectioning Method and Intestinal Segment for Morphometric Analysis in Broilers.

**Brazilian Journal of Poultry Science.** ISSN 1516-635X Apr - Jun 2015 / v.17 / n.2 / 145-150, 2015.

GEYRA, A.; UNI, Z.; SKLAN, D. Enterocyte dynamics and mucosal development in the posthatch chick. **Poultry Science**, v.80, p.776–782, 2001.

GLICK, B. Normal Growth of the Bursa of Fabricius in Chickens. **Poultry Science** v.35, p.843–851, 1956a.

GLICK, B., CHANG, T. S. & JAAP, R. G. The bursa of Fabricius and antibody production. **Poultry Science** v.35, p. 224–225, 1956b.

GORYO, M., HAYASHI, S., YOSHIZAWA, K., UMEMURA, T., ITAKURA, C. AND YAMASHIRO, S..Ultrastructure of the thymus in chicks inoculated with chicken anemia agent (MSB1-TK5803 Strain). **Avian Pathology**, v. 18, p.605-617, 1989.

HIB, J. **Di Fiore histologia: texto e atlas.** Capítulo 12: Sistema Imune. Rio de Janeiro: Guanabara. Koogan, 2003.

HODGES, R.D. **The Histology of the Fowl.** New York. Academic Press. p.489-496, 1974.

HUFF, G. R.; HUFF, W. E.; BALOG, J. M.; RATH, N. C. The Effects of Dexamethasone Immunosuppression on Turkey Osteomyelitis Complex in an Experimental Escherichia coli Respiratory Infection. **Poultry Science** V.77, n.5, p. 654-661, 1998.

HUSSAR P. TOKIN I. FILIMONOVA G. TOKIN I. & HUSSAR U. Dexamethasone Induced T lymphocyte Apoptosis in Different Lymphoid Organs. **Papers on Anthropology XX**, p.117–127, 2011.

IMONDI, A.; BIRD, F. The turnover of intestinal epithelium in the chick. **Poultry Science** v. 45, p.142-147, 1966.

ISOBE T. & LILLEHOJ H.S. Dexamethasone suppresses T cell-mediated immunity and enhances diseases susceptibility to *Eimeria mivati* infection. **Vet. Immunol. Immunop.** v.39, p.431-445, 1993.

ITO, N.M.K; MIYAJI, C.I; MIYAJI, S.O; LIMA, E.A. Fisiopatologia do sistema digestório e anexos. In: Junior, B.A.; Silva, E.N.; Fabio, J.D.; Sesti,L.; Zuanaze, M.A.F. Doença das aves, 2.ed., cap.3.4, p. 215 –256. Campinas: Facta, 2009

JACOB, J.& PESCATORE, T. Avian Digestive System, Animal Sciences University of Kentucky College of Agriculture, **Food and Environment**, Lexington, KY, 40546. Issue 11-2013, 2013.

JEURISSEN, S. H. M.; LEWIS, F.; VAN DER KLIS, J. D.; MROZ, Z.; REBEL, J. M. J.; TER HUURNE, A. A. H. M. Parameters and techniques to determine intestinal health of poultry as constituted by immunity, integrity, and functionality. **Current Issues on Intestinal Microbiology**, v.3, p.1-14, 2002.

JUNQUEIRA, L.C.U. & CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 10ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 488 p., 2004.

KANNAN et al. Thymic Hassall's corpuscles in Nandanam chicken - light and electronmicroscopic perspective (*Gallus domesticus*). **Journal of Animal Science and Technology** v.57:30, 2015. DOI 10.1186/s40781-015-0064-2

KHAN MZI, et al. Histomorphology of the Lymphoid Tissues of Broiler Chickens in Kelantan, Malaysia. **Sains Malaysiana** v. 43, n.8, p. 1175-1179, 2014.

KONG F.K. CHEN C.H. & COOPER M.D. Reversible Disruption of Thymic Function by Steroid Treatment. **J. Immunol.** v.68, p. 6500-6505. 2002.

LI, Y.; CAI, H. Y.; LIU, G. H.; DONG, X. L.; CHANG, W. H.; ZHANG, S.; ZHENG, A. J.; CHEN, G. L. Effects of stress simulated by dexamethasone on jejunal glucose transport in broilers. **Poultry Science**. V. Feb; 88 (2) p. 330-337, 2008.

LUNA, P. G. **Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces**. Institute of Pathology. 13ed. New York: McGraw – Hill, 258p., 1968.

MARCHINI, C.F.P.; SILVA, P.L.; NASCIMENTO, M.R.B.M.; BELETTI, M.E.; SILVA N.M.; GUIMARAES E.C. Body Weight, Intestinal Morphometry and Cell Proliferation of Broiler Chickens Submitted to Cyclic Heat Stress. **International Journal of Poultry Science**. V.10, n. 6, P.455-460, 2011.

MCMULLIN, P. Infectious bursal disease, IBD, Gumboro. Pages 144-146. In: A pocked guide to poultry health and disease, 2004.

MONTANARI, T. **Histologia: Texto, Atlas e Roteiro de Aulas Práticas**. Editora: UFRGS. p. 56-68, 2006.

MONTASSIER HJ. Enfermidades do sistema imune. In: Berchieri A, Macari M, editores. Doenças das aves. Jaboticabal: Funep-Unesp; p. 141-150, 2000.

MONTASSIER, H. J. Fisiopatologia do sistema imune. In: BERCHIERI JUNIOR, A.; SILVA, E. N.; DI FÁBIO, J.; SESTI, L.; ZUANAZE, M. A. F. Doença das aves. Campinas: Fundação APINCO, cap. 3.10, p. 391-434, 2009.

MUSKETT, J. C.; HOPKINS, I. G.; EDWARDS, K. R.; THORNTON, D. H. Comparason of Two Infectious Bursal Disease Vaccine Strains: Efficacy an Potential Hazards in Susceptible an Maternally Immune Birds. **The Veterinary Record**, v.104, p.332-334, 1979.

OKAMOTO, A.S.; ANDREATTI FILHO, R.L.; LIMA, E.T. et al. Histopatologia da mucosa intestinal de pintos tratados com *Lactobacillus* spp. e desafiadas com *Salmonella enterica*, subespécie *enterica*, sorotipo *Enteritidis*. **Ciência Animal Brasileira**, v.10, n.2, p.568-573, 2009.

OLÁH, I; NAGY, N; VERVELDE, L. Structure of the Avian Lymphoid System, \_\_\_\_\_ In: Karel Scaht; Bernd Kaspers; Pete Kaiser. *Avian Immunology: Second Edition*. Elsevier Academic Press Inc., p. 11-44, 2013.

- OLÁH, I.; VERVELDE, L. Structure of the avian lymphoid system. In: DAVISON, F.; BERND, K. SCHAT, K.A. *Avian Immunology*. London: Elsevier. cap. 2, p. 13-50, 2008.
- OLSEN, R. E.; SUNDELL, K.; MAYHEW, T. M.; MYKLEBUST, R.; RINGO, E. Acute stress alters intestinal function of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). **Aquaculture**. v.250, p.480 – 495, 2005.
- POPE, C.R. Pathology of lymphoid organs with emphasis on immunosuppression. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.30, n.1, p.31-44, 1991.
- REVAJOVÁ V, SLAMINKOVÁ Z, GREŠÁKOVÁ L, LEVKUT M. Duodenal morphology and immune responses of broiler chickens fed low doses of deoxynivalenol. **Acta Vet. Brno**. V.82, p. 337-42, 2013.
- ROTH, J. A.; FLAMING, K. P. Model systems to study immunomodulation in domestic food animal. Pages 21–41 in: K. P. Immunomodulation in Domestic Food Animals. F. Blecha and B. Charley, ed. Academic Press, Inc., San Diego, CA., 1990.
- SAMUELSON, D.A. **Text book of Veterinary Histology**. 1st ed: Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri. p. 250-270, 2007
- SAUNDERS, P. R.; KOSECKA, U.; MCKAY, D. M.; PERDUE, M. H.; Acute stressors stimulate ion secretion and increase epithelial permeability in rat intestine. **Am. J. Physiol**. V. 267, p. G794 – G799, 1994.
- SENAPATI, M.R.; BEHERA, P.C.; MAITY, A.; MANDAL, A. K..Comparative histomorphological study on the thymus with reference to its immunological importance in quail, chicken and duck. **Explor Anim Med Res** v.5, n.1, p.73-77, 2015.
- SCHOKKER, D. Chicken intestinal development in health and disease: transcriptomic and modeling approaches. PhD thesis, Wageningen University, the Netherlands. PhD thesis, Wageningen University, the Netherlands 232p.ISBN 978-94-6173-309-2. 2012
- SIRAGY, H.M.; CHROUSOS, G.P.; SHUPNIK, M.A Gliocorticóides e mineralocorticóides. In: MINNEMAN, K.P.; WECKER, L. (Ed.). *Brody – Farmacologia humana*. 4.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.
- TANNURI U.; CARRAZZA F. R.; IRIYA, K. The effects of glutamine-supplemented diet on the intestinal mucosa of the malnourished growing rat. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo**. v. 55, n.3, p.87-92, 2000.
- TIZARD, I. **Imunologia Veterinária**. 8a edição. Editora Elsevier. 2009
- UBABEF- UNIÃO BRASILEIRA DE AVICULTURA. **Relatório Anual 2014**. Brasília,. p. 01-37, 2015

## ANEXO I – Parecer de Aprovação do CEUA-IPVDF

Ofício n.º 24/12 – CEUA/IPVDF

Eldorado do Sul, 10 de julho de 2012.

Senhor Pesquisador:

Com relação ao Projeto de Pesquisa – *Avaliação da perda linfocitária do timo de frangos de corte utilizando Sistema de Análise Digital de Depleção Linfóide (ADDL)* - sob orientação do Prof. Dr. Carlos Tadeu Pippi Salle e colaborador Dr. Lucas Brunelli de Moraes, protocolado para análise e parecer sob o n.º 21/2012 pela mestranda Daiane Carvalho, em 11 de junho de 2012, cabe referir o seguinte:

A Comissão de Ética no Uso de Animais – IPVDF reuniu-se ordinariamente em 05 de julho de 2012, no Instituto de Pesquisas Veterinárias Desidério Finamor e subsequentemente emitiu **PARECER FAVORÁVEL** à pesquisa a ser desenvolvida.

É o parecer.

Atenciosamente,

  
FERNANDO SÉRGIO CASTILHOS KARAM  
Presidente CEUA - IPVDF.

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

**APÊNDICE A-** Dados completos de mensuração de cada vilosidade avaliada.

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
C	1-1	12444,9	560,4	14985,9	772,5	52,5	23	200
C	1-2	12942,7	640,3	16373	774,4	54,1	15,8	215,1
C	1-3	14340,9	827,3	16610	877,5	47,6	22,6	200,1
C	1-4	14840,3	623,9	15837,1	770	43,7	17,7	175
C	1-5	13052,4	530,4	16036,2	820	63,3	20	195
C	1-6	12316,1	838,7	15231,2	658,4	46,1	17,7	156,7
C	1-7	14815	716,1	17618,8	715,9	53	19	197,8
C	1-8	12268,4	702,9	14817,5	907,7	49,2	18,2	222,6
C	1-9	14655	715,7	17010,6	669	54	15,8	185,8
C	1-10	13614,2	690,7	16311,1	778,5	55,1	20,2	196,6
T	3-1	9762,2	512,3	11877	540	50,2	15	160,7
T	3-2	9477,6	592	11618,1	619,9	57,7	20	189,5
T	3-3	9538,7	437,4	11260,2	572,5	55,9	20	197,8
T	3-4	9384,1	481,7	11166,5	567,9	49,3	22,5	162,6
T	3-5	9196,6	433,8	10798,8	500	41,2	15	165,1
T	3-6	9772,8	648,5	11978,8	508,9	56,2	15,2	186,8
T	3-7	9555	410,5	12129,4	534,8	47,2	19	162,5
T	3-8	9353,6	388,3	11491,8	515,1	57,5	20	170
T	3-9	9615,5	648,8	11241,1	515,2	55,9	20	163,7
T	3-10	9018,6	411,9	11075	722,6	43,2	18,2	207,9
T	5-1	10065,1	629,4	13195,5	542,5	52,6	20	188,1
T	5-2	11041,9	537,6	13382,1	498,7	49,2	20,6	156
T	5-3	11279,6	474,2	13406,8	530,2	52,6	20,6	162,3

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
T	5-4	13031,3	995,4	13442,6	560,2	51	17,7	215
T	5-5	10742,7	760,1	12019	569,3	48,1	20,2	159,7
T	5-6	9875,2	581,8	12833,6	538,5	39,1	18,2	158,4
T	5-7	10865,9	496,5	14076	558	48,3	19,5	165,1
T	5-8	11425,7	708,4	13051,9	522,8	64,9	18,2	157,5
T	5-9	10944,4	601,1	12600,4	560	55,5	23,7	158
T	5-10	10831,1	964,6	13406	553,5	50,6	23,6	182,9
T	6-1	10035,8	514	11162	483,7	60,5	20	168,2
T	6-2	10063,1	438,3	11303,6	455,6	55,9	22,6	152,5
T	6-3	10111,6	510,9	11236,1	715	54	22,6	232,7
T	6-4	9975,1	486	11278,8	565	54,6	22,5	198,1
T	6-5	11016,9	664,8	12110,2	500,6	55,5	20,2	185
T	6-6	10176,8	470,1	11919	562,2	47,5	19	180,5
T	6-7	10545,7	503,6	11904,3	485,1	48,1	20,2	163,4
T	6-8	9641,6	543,8	11342,8	529,7	52,5	20,6	168,4
T	6-9	10437,5	495	11104,1	492,3	54	17,7	165,7
T	6-10	10151,5	530,1	11752,7	517,6	55	20	172,7
C	7-1	11391,2	635,1	12955,1	616,3	49,5	20,2	194,7
C	7-2	1131,9	604,1	13505,2	762,1	48	18	182,1
C	7-3	11476,3	660,4	13125,6	609,6	55,1	19,5	211,5
C	7-4	11237	583,1	12519	640,5	42,5	26,1	216,5
C	7-5	10278,3	494	11679,3	613,7	57	21,5	204,6
C	7-6	9997,8	699,7	11645,7	621	58,3	17,7	206,7
C	7-7	9995	663,7	11998,8	677,5	53	18	205,5
C	7-8	10694,2	500,1	11898,7	600,2	38,2	21,2	203,5
C	7-9	13373,8	831,9	15508,9	558,9	43,7	20,6	194,1

<b>Tratamento</b>	<b>Lâmina</b>	<b>Vilo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Cripta (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Parede (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Largura (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Núcleo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Microvilos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Altura de Enterócito (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
C	7-10	10933,3	595,5	12399,9	594,3	58,6	23	196,1
T	8-1	11067,9	600	13426,5	515,1	61,7	20,6	185,3
T	8-2	10603,8	690,7	12699,7	627,6	52,6	16,8	175,1
T	8-3	9473,2	821,5	12682	575	45,1	18,2	195,4
T	8-4	10507,9	722	12507,4	417,8	55,1	15,8	130,2
T	8-5	9791,8	458,8	11955,1	585	46,1	10,3	180,1
T	8-6	9995,1	583,1	11973,4	560,1	46,7	12,7	185,3
T	8-7	8819,8	447,8	12102,2	506	45,6	15	145,5
T	8-8	10033,6	584,2	11679,1	547,1	61,8	10	172,2
T	8-9	10875,6	412,3	12071,1	489	61,7	17,5	137
T	8-10	9127	598,1	10337,1	537,5	60,4	12,5	172,8
T	9-1	8594,9	390,5	10941,3	606,6	41,6	16	171,3
T	9-2	9182,3	699,7	10599,8	472,6	45,6	13,5	177,6
T	9-3	8701,9	698,6	10358,7	653,2	60	23	164,1
T	9-4	8924,2	416,2	10345,2	476,3	50	17,7	168,3
T	9-5	8882,1	446,5	10512,2	656,2	49,1	18,2	210,4
T	9-6	9034,6	495,8	10674,3	478,5	52,6	20,6	154,2
T	9-7	8923,6	583,1	10731,3	555,4	60,2	21,4	166,2
T	9-8	9570,7	499,3	11180	538,4	54	22,6	153,5
T	9-9	8917,5	539,1	22290,6	602,8	53,5	19,5	216,1
T	9-10	9755,8	412,3	11450,6	534,1	53,9	23	153,9
T	10-1	11362,8	568,2	14613,7	671,7	41,9	18,2	169
T	10-2	13258,3	451,9	12541	706,6	55,2	22,6	210,4
T	10-3	13063,3	481	14458,3	548,2	49,8	20,2	152,6
T	10-4	13109,8	843,8	14434,2	597,8	50,1	17,5	170,1
T	10-5	12434,1	501,6	14800,1	542,6	52,6	17,7	172,5

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
T	10-6	12775,4	523,3	13806,9	762,8	52,2	20,6	188,8
T	10-7	12350,2	676	14207,3	624	68	19	215
T	10-8	13063,8	380,1	14285,8	672,8	56,4	18	174,4
T	10-9	13477,5	440,5	14555,5	569,9	52,6	19,5	143,5
T	10-10	12890,1	383,3	14856,3	632,7	55	22,4	178,9
T	11-1	11067,9	600	11963,3	515,1	61,7	20,6	185,3
T	11-2	10603,8	690,7	12890,9	627,6	52,6	16,8	175,1
T	11-3	9973,2	821,5	12207,2	575	45,1	18,2	195,4
T	11-4	10507,9	722	12935,8	417,8	55,1	15,8	130,2
T	11-5	9791,3	458,8	12659	585	46,1	10,3	180,1
T	11-6	9995,1	583,1	12356,8	560,1	46,7	12,7	185,3
T	11-7	8819,8	447,8	12465,5	505	45,6	15	145,5
T	11-8	10033,6	584,2	12437,1	547,1	61,8	10	172,2
T	11-9	10875,6	412,3	12338,5	489	61,7	17,5	137,5
T	11-10	9127	598,1	12391,2	537,5	60,4	12,5	172,8
T	12-1	12701,9	516,2	14600	517,7	45,3	20,6	210
T	12-2	11485,5	480,2	14075,8	623,2	51,5	17,5	161,9
T	12-3	11860,2	550,4	13827,3	604,8	50,2	18,2	185,8
T	12-4	10330,9	706,6	14304,7	640	50,6	15	185
T	12-5	12443,3	878,6	14950,1	608	45	17,7	196,3
T	12-6	12377,9	461	14645	664,4	52,6	21,4	180,5
T	12-7	11583,3	410,5	14608,2	632,5	58,1	23	182,5
T	12-8	12618,2	557,6	14833,9	569,6	53	20,2	170,7
T	12-9	12121,3	632	15375,5	660	48,1	15	177,5
T	12-10	12616,6	666,4	14695,5	642,6	50,3	22,6	205,2
C	13-1	11275,3	538,5	13098,4	693,1	62,5	18	222,5

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
C	13-2	9630,5	868,3	11876,7	751,1	63,7	20,2	210,5
C	13-3	10025	676	12452	735,2	64,3	22,6	235,1
C	13-4	10278,6	668,5	12216	732,9	52,7	20,2	188,3
C	13-5	10776,4	672,7	12975,1	722,5	52,5	22,6	195
C	13-6	10825,3	637,8	14850,3	775	70,4	22,5	167,5
C	13-7	11991,3	594	12751,2	687,2	58,4	17,7	211,5
C	13-8	12258,3	746,3	15053,4	611,4	55,3	19	160,2
C	13-9	13181,9	478	15790,1	852,6	35,1	15,8	267,8
C	13-10	12009,5	514	14619,3	874,6	47,8	20	204,4
T	14-1	8301,3	439,3	9135,9	781,9	66,4	20,2	193,5
T	14-2	7595,4	549,2	9104,4	625	53,2	22,5	190,1
T	14-3	7615,5	807,2	9219,3	594,1	47,4	15,8	157
T	14-4	8046,5	504,5	9355,5	747,9	55,2	21,5	175,8
T	14-5	7977,2	559,7	8800,3	668	53	19,5	164,4
T	14-6	7894,8	495,8	9048,4	762,4	62,6	21,5	189,7
T	14-7	8490	841	8909,6	678	55,3	21,2	211,3
T	14-8	8110,5	523,5	9125,5	632,6	51	20,6	142,2
T	14-9	8792,2	604,2	8827,3	590,7	53,4	18	146,5
T	14-10	8653,5	425,4	8652,9	589,1	54,6	15,8	169,4
T	15-1	8349,9	735,4	10233,8	555	54	15	165
T	15-2	9391,9	446,5	11204,7	529,5	57,6	20,2	166,9
T	15-3	8973,9	778	10914,3	659,4	42,5	17,7	210,2
T	15-4	8562,3	710,2	10261,6	551,1	59,4	18,2	189,7
T	15-5	10068,2	502,5	11934,9	519	45,1	15,2	138,3
T	15-6	11543,5	1001,7	12987,7	505,6	45,6	15,2	161,4
T	15-7	11146,7	792	12979,9	652,7	56,2	18	206,2

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
T	15-8	10480,2	787,5	13327,2	667	54,8	14,6	178,5
T	15-9	9451,8	908,2	11067,2	512,6	57,6	17,7	135,1
T	15-10	10694,8	552,2	11886,4	533,4	56,2	15,8	190,1
T	16-1	9403,3	554,7	12231,6	552,7	45,6	17,7	168
T	16-2	9840,7	633,9	12096,5	627,9	50,6	20	190,1
T	16-3	9853,7	883,9	13051,1	878,4	54	20,2	191,6
T	16-4	9126	577,1	11922,1	625	57	22,5	157,5
T	16-5	10303,1	904,4	12719,8	688,8	53,7	20,6	200,7
T	16-6	10471,6	762,2	11679,2	667,7	60,1	20,6	182,9
T	16-7	9826,4	943,7	11981,8	682,4	60,8	25,1	198,9
T	16-8	9603,4	588,2	11419,1	707,5	56,2	25	170
T	16-9	9737,4	502,2	12099,8	637,2	62,7	21,4	207,6
T	16-10	9931,4	614	11663	582,2	52,7	19	154,2
T	17-1	9934,9	772,8	12636,4	693,8	55,2	20	225,2
T	17-2	10127,8	561,4	11902	604,1	48,1	20	159,9
T	17-3	10561,2	586,9	11989,1	603,6	57,7	23	188,2
T	17-4	9002,8	654,4	12666,5	573,5	47,8	22,6	184,9
T	17-5	8851,8	468,2	12495,4	657,8	47,4	20,6	164,5
T	17-6	10195,9	674,8	10704,9	550,3	38,2	20	170,1
T	17-7	10454,9	679,4	10510,4	530	52,2	23	185
T	17-8	9789,9	783,4	12488,2	613,4	51	22,5	192,3
T	17-9	10528,5	679,6	12526,4	657,5	50,1	22,5	189
T	17-10	10566,6	560,4	12291,3	574,5	42,5	22,5	181,4
T	18-1	10772,2	693,1	12162,4	581,5	48,1	20,6	186,7
T	18-2	7849,7	623	12283,3	642,5	52,7	25,1	215,4
T	18-3	10225,3	594,1	12001,7	547,5	40,7	25,1	175,1

<b>Tratamento</b>	<b>Lâmina</b>	<b>Vilo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Cripta (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Parede (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Largura (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Núcleo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Microvilos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Altura de Enterócito (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
T	18-4	10395,2	538,2	12578	668,3	53,7	22,5	206,8
T	18-5	12429,2	675,4	13561	626,9	51,5	20	196,1
T	18-6	12184,8	735,4	13609,9	617,4	38,2	20,2	190,4
T	18-7	11538,4	603,1	13725,8	547,8	53,9	23,7	188,8
T	18-8	11691,4	533,4	13410,3	694,6	60,1	18,2	225,5
T	18-9	11747,6	594,8	13208,4	591,3	46,7	15,2	198,5
T	18-10	10477,3	509,3	13958,6	677,5	67,3	16	212,2
T	20-1	10627,6	436,8	11722,3	707,4	47	18,2	174,8
T	20-2	10460,1	495	11689,4	641,8	30,1	18	196,9
T	20-3	10595,3	537,4	11826,3	572,5	47	19	193,1
T	20-4	10490,8	425,4	11719,5	680,5	46,7	22,6	185
T	20-5	10903,6	451	11646,1	805,1	48,1	22,6	195,3
T	20-6	10416,2	536	12031,9	623,5	43	17,5	210
T	20-7	10645,9	494	11764,7	721,6	51,5	15,8	197,7
T	20-8	10547,9	771	11883,2	660,1	56,2	20,2	212,5
T	20-9	10110,5	563	12198,9	811,5	51,5	25,1	252,8
T	20-10	10476,5	553,2	11438,6	823,6	45,1	20,2	264,1
T	22-1	12176	727,3	14017,9	509,9	55,5	22,4	136,1
T	22-2	11813,1	559,5	13855,8	621,2	58,4	15	171,8
T	22-3	12131,3	626,5	13179,7	478,2	48,5	20	190,8
T	22-4	11293,9	449,1	13662,4	701,3	48,5	17,5	174
T	22-5	13089,5	771,6	15167,8	526,3	52,7	12,5	142,5
T	22-6	12075,4	646,6	13007,8	667,7	54,6	15	157,5
T	22-7	13818,9	835,5	16099,3	693,3	48,1	20	195,5
T	22-8	13774,3	564	25741,6	704,3	61,5	15,8	178,5
T	22-9	11755,3	595,4	13601,5	706,4	61,8	17,5	190,1

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
T	22-10	11679	715,9	13374,1	636	50,1	17,7	190,8
T	23-1	10477,6	657,6	11764,1	677,6	51	20,6	150
T	23-2	10277,9	614,7	12116,1	821,5	53,2	22,6	235
T	23-3	10506,8	548,2	12375	732,5	53,4	18,2	152,5
T	23-4	10630,6	464	12092,4	612,5	51,5	30,4	180,3
T	23-5	10498,5	761,1	12073	660	53,9	25,1	212,9
T	23-6	11046,6	626,8	13445,1	582,5	45,1	15,8	162,5
T	23-7	13055,4	517,4	13376,7	660	47,8	29,3	202,7
T	23-8	12890,3	582,2	14772,1	740,7	49,1	20,2	148,3
T	23-9	12450	872,1	15047,6	697,9	40,1	20	192,8
T	23-10	12723,5	588,3	15347,3	622,5	55,5	20	197,5
T	24-1	12513,7	662,9	14035,4	695,9	50,6	14,6	184,8
T	24-2	10949,8	663,1	12477,5	625	35,8	20,2	185,3
T	24-3	11769,4	624,3	12508,1	715	42,5	15	193,4
T	24-4	10533,1	542,3	13084,7	489,9	61,3	20,6	146,4
T	24-5	12257	563,6	16559,4	577,5	66,6	22,5	182,7
T	24-6	12535,7	927	12837,1	616,5	55,2	22,6	207,9
T	24-7	13277,9	952,7	16289,7	670,2	46	20,2	200,1
T	24-8	12633,3	636,4	15631,9	552,6	57,7	20,2	197,7
T	24-9	12993,9	835,7	16579,8	610,2	45,3	25,5	178,4
T	24-10	13047,2	494,1	15864,9	562,6	42,7	22,5	205,7
C	25-1	11056,4	635,1	14057,8	726	72,5	26,6	189,8
C	25-2	11400,3	560,8	14649,7	635	48,1	22,6	212,6
C	25-3	12647,9	481	14782,5	655,9	60,1	25	165,5
C	25-4	11930	843,1	13629,6	760	68,6	20,2	212,5
C	25-5	12291,6	596,8	14175,1	636,6	58	20,6	187,4

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
C	25-6	11879,4	674,2	13818,5	678,1	60,8	18,2	215,9
C	25-7	11034,2	757,1	14321,2	685,4	50	26,9	187,9
C	25-8	11349	706,8	15115,5	663,1	50,6	27	170,1
C	25-9	11693,8	731,6	13981,2	763,1	54,6	25,5	197,5
C	25-10	10838,7	650	13469,2	558	52,6	25,5	161,3
T	26-1	11259,3	713,4	12618,8	570	50,6	22,6	207,5
T	26-2	11024,4	491,9	13474,3	440	58	25,1	193,3
T	26-3	10644,7	933,9	13538,6	597,5	45,6	22,6	167,5
T	26-4	11048,9	524	14682	482,1	50,6	17,7	145
T	26-5	11583	692	13681,9	526,5	63,7	25,5	192,5
T	26-6	11846,6	508	13457,1	690	45,3	22,6	170,9
T	26-7	11247,1	595,1	13166,5	592,5	33,4	22,6	157,5
T	26-8	12143,8	573,8	12949,6	472,2	41,6	17,7	170,4
T	26-9	12687,2	486	12775,8	525	42,7	22,5	172,5
T	26-10	12337,2	831,5	13465,6	607,5	43,7	15	180
T	27-1	13107,9	592,1	15809,5	525,5	46,7	24,6	147,7
T	27-2	13583,9	769,2	15280,9	509,1	48,1	18,2	184,4
T	27-3	12523,2	894,7	15207,3	642,6	45	22,6	185
T	27-4	12789,7	796,5	15009,2	542,5	57	18,2	185
T	27-5	12066,7	910,8	13696,9	522,5	50	22,6	175
T	27-6	12682,2	468,6	14828,8	557,5	61,3	20,2	170
T	27-7	11911,9	486	14189,6	482,5	58	20,2	167,5
T	27-8	12798,5	694,6	14863,5	527,5	57,6	22,5	155
T	27-9	11073,1	488,4	12400,2	481,7	57,1	17,7	167,1
T	27-10	11897,2	657,6	14918,6	615,1	42,8	17,7	177,5
T	28-1	11350,9	781	13215,6	736,9	55,5	15,8	211,3

<b>Tratamento</b>	<b>Lâmina</b>	<b>Vilo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Cripta (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Parede (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Largura (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Núcleo (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Microvilos (<math>\mu\text{m}</math>)</b>	<b>Altura de Enterócito (<math>\mu\text{m}</math>)</b>
T	28-2	10921,6	612,2	13359,4	741,2	72,8	25,5	250
T	28-3	10841,8	711,8	13526,8	725,2	60,7	23	207,7
T	28-4	10729,9	650,7	13256	605,9	47,4	17,7	223,4
T	28-5	10859,3	510,9	12416,2	688,2	55	11,2	187,6
T	28-6	12190,1	804,5	15359,2	585,6	53,9	12,5	192,9
T	28-7	10776,5	532,6	13647,6	633,8	48,1	20	178,1
T	28-8	10459,8	600,8	13297,6	582,8	52,7	22,5	181,1
T	28-9	12220,8	539,1	12650,2	634,9	62,6	19	243,2
T	28-10	11761,6	760,6	15748,3	747,5	44,7	23	187,5
T	29-1	7121,5	530,8	9052,1	437,4	47,6	17,7	138,3
T	29-2	8006,1	690,3	8958,7	484,6	45,1	15,2	169,2
T	29-3	8211,6	570,1	9532,1	526,4	55,9	16,8	134,3
T	29-4	7793,3	712	10587	461,9	48,5	17,5	186,8
T	29-5	7414,4	594,6	11091,1	457,5	55,1	15	172,5
T	29-6	8562,5	553,2	9619,2	516,5	58	21,4	167,6
T	29-7	8750	517,4	9704,8	536	62,6	20	184,4
T	29-8	9214,9	618,5	10435,1	496,4	67,3	17,7	187,8
T	29-9	9269,3	567,3	11073,1	472,8	59,6	15,2	181,8
T	29-10	8931,9	612,7	10063,1	587,9	53,7	14,1	196
T	30-1	9072,3	599,3	10654,4	637,5	47,6	22,5	172,5
T	30-2	9136,1	646,4	10968,6	782,1	49,8	20,2	237,6
T	30-3	8143,7	638,1	10625,7	591	56,2	20,6	167,7
T	30-4	7646,5	691,2	11104,6	657,5	46,1	22,6	162,5
T	30-5	10098,1	380,1	9854,6	638,3	60,5	18	215,2
T	30-6	7506,7	850	10678,2	567,5	41,6	18,2	180
T	30-7	8523,2	402,2	11589,8	597,5	45,1	22,5	187,5

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
T	30-8	8645	572,2	10478,8	560,7	59,4	25,1	162,6
T	30-9	8849	603	9859,6	500,3	55,2	22,6	180
T	30-10	8589,4	700,1	11099,6	723,5	48,1	20,2	212,5
C	31-1	11556	653,7	14428,5	592,9	50,6	22,5	197,6
C	31-2	10926	592,4	13793,7	734,9	43,7	15,8	210
C	31-3	11524,9	610	13081,7	842,8	50,6	22,4	203,5
C	31-4	11788,1	572,2	14589,6	679,6	37,5	15,2	196,5
C	31-5	11187	812,5	13867,3	753,5	52,6	15,2	192,9
C	31-6	10778,7	715,1	13975	746,8	40,1	22,6	187,4
C	31-7	11631,5	703,3	14545,2	579,1	41,2	17,7	153,5
C	31-8	12214,4	421,1	14072,8	494,9	51,5	18	158,3
C	31-9	12028,1	577,1	13997,7	597,7	52,7	17,5	163
C	31-10	11399,7	446,9	13809	673,4	50,6	22,5	212,5
C	32-1	11994,5	837,6	14559,7	553,6	41,9	23,5	176,5
C	32-2	10586,4	632	13195,1	504	49,1	18,2	148
C	32-3	10588,4	693,5	13300,4	544,8	57,7	25,5	174
C	32-4	10767,5	714,5	12977,4	457,2	39,1	17,7	167,6
C	32-5	10856,4	612,7	13300	487,7	46,5	19	200,1
C	32-6	10425,2	664,8	12816,1	601	59,4	21,4	157,7
C	32-7	10564,1	413,4	13166,1	793,6	36,4	22,5	220,1
C	32-8	10845	844	13351,1	540,2	53,7	20,6	147,5
C	32-9	10718,1	740,4	13092,4	525,1	49,8	20,2	145,3
C	32-10	11040,1	861,3	13650	506,2	42,7	22,6	180
C	33-1	14248,2	374,8	16675,9	626,1	39,5	22,4	190,4
C	33-2	15865,3	538,5	18812,1	750	59	25	227,6
C	33-3	15738,3	582,2	19138	637,5	58,8	20,6	192,5

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
C	33-4	16244,5	572,5	18678	665,3	47	20,6	197,5
C	33-5	13237,2	518,7	16023,3	686,5	48,5	21,4	192,3
C	33-6	10271,9	886,5	13236,5	627,4	51,5	32,5	193,3
C	33-7	13919,1	455,4	16421	622,5	48,5	20	200
C	33-8	15760,3	622	17208,6	732,5	49,2	22,5	208,5
C	33-9	12486,1	57,1	16217	695	49,8	22,6	235
C	33-10	11151,7	927,6	13689,3	612,5	58,4	27,6	227,6
C	34-1	12741	550,4	14870	550	38,8	14,6	200,2
C	34-2	12783,2	500,9	15296	541,7	46	20,6	181,2
C	34-3	12973,3	604,1	14951,5	510,9	36,9	19	149,8
C	34-4	13105,6	520	15164,9	560,3	42,6	16,8	202,6
C	34-5	12878,3	607,3	14521,6	569,7	35,4	20,2	212,9
C	34-6	11759,7	941,3	14556,8	515,5	26,9	20,2	208,1
C	34-7	11779,2	546,4	14424	671,8	67,5	24,6	238,2
C	34-8	11682,6	434,2	13491,9	542,6	48,3	25,7	168,2
C	34-9	10865,2	588,2	13921,2	522,1	46,1	18	153,2
C	34-10	1244,8	601,3	13665,5	558,7	34,8	16,8	181,2
T	35-1	9801	531,5	11495,9	522,8	46,5	17,7	154
T	35-2	9492,4	717	11516,5	458,5	34,7	17,7	145,6
T	35-3	9227,3	594,8	11417,4	550,7	40,4	20,2	164,9
T	35-4	9462,5	644,7	11200,9	548	31,6	15,8	170
T	35-5	9416,2	368	11541,3	617,5	39,1	25,5	153
T	35-6	9684,3	392	11574,3	590,1	41,9	20,2	187,6
T	35-7	9717,5	528,4	11387,6	646,4	34	20,2	189,3
T	35-8	9050,2	274,6	11114	812,1	37,6	21,5	207,2
T	35-9	8917,7	323,9	11014,6	631,3	39,1	23	180,9

Tratamento	Lâmina	Vilo ( $\mu\text{m}$ )	Cripta ( $\mu\text{m}$ )	Parede ( $\mu\text{m}$ )	Largura ( $\mu\text{m}$ )	Núcleo ( $\mu\text{m}$ )	Microvilos ( $\mu\text{m}$ )	Altura de Enterócito ( $\mu\text{m}$ )
T	35-10	8547,1	514,8	11497,3	564,3	27,5	21,4	171,6
T	38-1	11262	372,2	13776,5	538,9	53,9	15,8	194,1
T	38-2	11583,5	782,6	13858,7	641,1	45,1	21,4	178,7
T	38-3	10924,1	519,7	13152,6	560,9	46,1	20,2	186,3
T	38-4	10250,8	551,1	11619,2	618,3	54	20,6	180,9
T	38-5	11395,2	771	13597,5	661,4	60,2	22,5	173,7
T	38-6	11003,2	774,7	13722,3	702	60,5	23,7	231,1
T	38-7	10506,2	404,6	11159,4	609,3	61,7	21,5	180,6
T	38-8	10007	386	11412,8	784,6	78,1	17,7	162,6
T	38-9	10199,4	553,6	11937	606,3	68,6	21,4	182,5
T	38-10	11129,8	585,9	13620,8	566,1	50,6	15,8	137
T	39-1	9943,1	510,8	11450,1	602,5	54,6	17,7	185
T	39-2	9718,6	496,6	11225,1	653,9	49,1	15,2	245,8
T	39-3	8576,6	430,8	10960,2	610,2	46,7	22,5	175,1
T	39-4	9626,3	451	11528,5	632,1	50,3	17,7	147,6
T	39-5	9962,9	358,5	11819,3	551	47	18,2	180,4
T	39-6	10250	388,3	11675,2	662,7	47,2	20	223,6
T	39-7	10365,9	445,5	11566,2	672,5	58,8	20,6	190,1
T	39-8	11427,1	488,3	12629,2	665	62,5	22,5	222,6
T	39-9	11244,5	495	12968,9	585,3	51,5	22,5	217,9
T	39-10	11110,5	453,4	12828,2	620	43,7	20,2	195,1

## APÊNDICE B – Análises Estatísticas

```
T-TEST GROUPS=Tratamento('C' 'T')
/MISSING=ANALYSIS
/VARIABLES=Vilo Cripta Parede Largura Nucleo Microvilos AlturaEnterócito PesoAve pesoBF
PesoTimo
  PRtimo ModaBF ModaTimo PRBF
/CRITERIA=CI(.95).
```

### Teste-T

Observações		
Saída criada		16-FEB-2016 11:09:42
Comentários		
Entrada	Conjunto de dados ativo	ConjuntodeDados1
	Filtro	<none>
	Ponderação	<none>
	Arquivo Dividido	<none>
	N de linhas em arquivo de dados de trabalho	33
Tratamento de valor omissos	Definição de omissos	Os valores omissos definidos pelo usuário são tratados como omissos.
	Casos utilizados	As estatísticas para cada análise são baseadas nos casos sem dados omissos ou fora da amplitude para qualquer variável da análise.
Sintaxe		T-TEST GROUPS=Tratamento('C' 'T') /MISSING=ANALYSIS /VARIABLES=Vilo Cripta Parede Largura Nucleo Microvilos AlturaEnterócito PesoAve pesoBF PesoTimo PRtimo ModaBF ModaTimo PRBF /CRITERIA=CI(.95).
Recursos	Tempo do processador	00:00:00,02
	Tempo decorrido	00:00:00,02



**Teste de amostras independentes**

		Teste de Levene para igualdade		teste-t para Igualdade de Médias						
		de variâncias		95% Intervalo de Confiança da Diferença						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferença média	Erro padrão da diferença	Inferior	Superior
Vilo	Variâncias iguais assumidas	,019	,890	2,574	31	,015	1366,36335	530,88447	283,61734	2449,10936
	Variâncias iguais não assumidas			2,569	11,811	,025	1366,36335	531,77604	205,66642	2527,06028
Cripta	Variâncias iguais assumidas	1,477	,233	1,360	31	,184	37,22665	27,36693	-18,58858	93,04188
	Variâncias iguais não assumidas			1,646	17,338	,118	37,22665	22,60968	-10,40482	84,85812
Largura	Variâncias iguais assumidas	,960	,335	2,341	31	,026	58,39960	24,94822	7,51737	109,28183
	Variâncias iguais não assumidas			1,933	9,241	,084	58,39960	30,20882	-9,66674	126,46594
Nucleo	Variâncias iguais assumidas	,729	,400	-679	31	,502	-1,16300	1,71310	-4,65688	2,33088
	Variâncias iguais não assumidas			-604	10,050	,559	-1,16300	1,92520	-5,44973	3,12373
Microvilos	Variâncias iguais assumidas	,018	,894	1,734	31	,093	1,35120	,77944	-,23847	2,94087
	Variâncias iguais não assumidas			1,740	11,910	,108	1,35120	,77674	-,34259	3,04499
Altura Enterócito	Variâncias iguais assumidas	,006	,941	2,632	31	,013	12,27500	4,66299	2,76477	21,78523
	Variâncias iguais não assumidas			2,619	11,747	,023	12,27500	4,68688	2,03871	22,51129
Peso Ave	Variâncias iguais assumidas	24,539	,000	7,513	31	,000	487,67500	64,90777	355,29473	620,05527
	Variâncias iguais não assumidas			5,036	7,786	,001	487,67500	96,83014	263,31207	712,03793
peso BF	Variâncias iguais assumidas	19,035	,000	9,584	31	,000	3,49047	,36419	2,74770	4,23323
	Variâncias iguais não assumidas			5,431	7,113	,001	3,49047	,64264	1,97574	5,00519
Peso Timo	Variâncias iguais assumidas	10,966	,002	10,860	31	,000	10,87919	1,00180	8,83599	12,92238
	Variâncias iguais não assumidas			7,356	7,840	,000	10,87919	1,47887	7,45672	14,30165

Moda Timo	Variâncias iguais assumidas	2,130	,155	-6,623	31	,000	-1,935	,292	-2,531	-1,339
	Variâncias iguais não assumidas			-8,099	17,771	,000	-1,935	,239	-2,437	-1,433
Moda BF	Variâncias iguais assumidas	1,736	,198	-4,631	29	,000	-1,277	,276	-1,841	-,713
	Variâncias iguais não assumidas			-5,414	16,971	,000	-1,277	,236	-1,775	-,779
PR timo (%)	Variâncias iguais assumidas	,555	,462	10,199	31	,000	,50661	,04967	,40530	,60793
	Variâncias iguais não assumidas			10,504	12,438	,000	,50661	,04823	,40194	,61129
PR BF (%)	Variâncias iguais assumidas	18,518	,000	10,596	31	,000	,19857	,01874	,16035	,23679
	Variâncias iguais não assumidas			6,311	7,282	,000	,19857	,03146	,12475	,27239
PAREDE	Variâncias iguais assumidas	,292	,593	3,147	31	,004	1877,05146	596,48145	660,51953	3093,58339
	Variâncias iguais não assumidas			3,348	13,179	,005	1877,05146	560,63184	667,55437	3086,54855

## APÊNDICE C – Tabela de correlações.

## Correlações

		Vilo	Cripta	Largura	Nucleo	Microvilos	Altura Enterócito	Peso Ave	Peso Timo	peso BF	Moda BF	Moda Timo	PR timo (%)	PR BF (%)	PAREDE
Vilo	Correlação de Pearson	1	,257	,346 <sup>+</sup>	-,053	,256	,325	,452 <sup>**</sup>	,474 <sup>**</sup>	,529 <sup>**</sup>	-,275	-,341	,427 <sup>+</sup>	,528 <sup>**</sup>	,965 <sup>**</sup>
	Sig. (bilateral)		,148	,049	,768	,150	,065	,008	,005	,002	,134	,052	,013	,002	,000
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
Cripta	Correlação de Pearson	,257	1	,110	,229	,063	-,062	,039	,046	,104	-,161	-,090	,053	,125	,323
	Sig. (bilateral)	,148		,542	,199	,729	,733	,830	,797	,565	,388	,620	,772	,490	,067
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
Largura	Correlação de Pearson	,346 <sup>+</sup>	,110	1	,138	,345 <sup>+</sup>	,694 <sup>**</sup>	,299	,280	,328	-,144	-,283	,274	,378 <sup>+</sup>	,325
	Sig. (bilateral)	,049	,542		,443	,049	,000	,091	,115	,062	,440	,110	,122	,030	,065
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
Nucleo	Correlação de Pearson	-,053	,229	,138	1	-,145	-,007	-,370 <sup>+</sup>	-,274	-,157	,204	,348 <sup>+</sup>	-,190	-,099	-,046
	Sig. (bilateral)	,768	,199	,443		,420	,970	,034	,123	,383	,271	,047	,289	,583	,800
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
Microvilos	Correlação de Pearson	,256	,063	,345 <sup>+</sup>	-,145	1	,404 <sup>+</sup>	,416 <sup>+</sup>	,376 <sup>+</sup>	,367 <sup>+</sup>	-,343	-,408 <sup>+</sup>	,342	,343	,231
	Sig. (bilateral)	,150	,729	,049	,420		,020	,016	,031	,035	,059	,018	,052	,051	,196
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
Altura Enterócito	Correlação de Pearson	,325	-,062	,694 <sup>**</sup>	-,007	,404 <sup>+</sup>	1	,354 <sup>+</sup>	,357 <sup>+</sup>	,424 <sup>+</sup>	-,169	-,258	,342	,467 <sup>**</sup>	,320
	Sig. (bilateral)	,065	,733	,000	,970	,020		,043	,042	,014	,362	,147	,051	,006	,070
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
Peso Ave	Correlação de Pearson	,452 <sup>**</sup>	,039	,299	-,370 <sup>+</sup>	,416 <sup>+</sup>	,354 <sup>+</sup>	1	,930 <sup>**</sup>	,844 <sup>**</sup>	-,587 <sup>**</sup>	-,752 <sup>**</sup>	,796 <sup>**</sup>	,774 <sup>**</sup>	,449 <sup>**</sup>
	Sig. (bilateral)	,008	,830	,091	,034	,016	,043		,000	,000	,001	,000	,000	,000	,009
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33

		Vilo	Cripta	Largura	Nucleo	Microvilos	Altura Enterócito	Peso Ave	Peso Timo	peso BF	Moda BF	Moda Timo	PR timo (%)	PR BF (%)	PAREDE
Peso Timo	Correlação de Pearson	,474**	,046	,280	-,274	,376*	,357*	,930**	1	,931**	-,686**	-,786**	,955**	,899**	,501**
	Sig. (bilateral)	,005	,797	,115	,123	,031	,042	,000		,000	,000	,000	,000	,000	,003
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
peso BF	Correlação de Pearson	,529**	,104	,328	-,157	,367*	,424*	,844**	,931**	1	-,647**	-,697**	,879**	,982**	,575**
	Sig. (bilateral)	,002	,565	,062	,383	,035	,014	,000	,000		,000	,000	,000	,000	,000
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
Moda BF	Correlação de Pearson	-,275	-,161	-,144	,204	-,343	-,169	-,587**	-,686**	-,647**	1	,591**	-,731**	-,671**	-,314
	Sig. (bilateral)	,134	,388	,440	,271	,059	,362	,001	,000	,000		,000	,000	,000	,085
	N	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31
Moda Timo	Correlação de Pearson	-,341	-,090	-,283	,348*	-,408*	-,258	-,752**	-,786**	-,697**	,591**	1	-,783**	-,704**	-,343
	Sig. (bilateral)	,052	,620	,110	,047	,018	,147	,000	,000	,000	,000		,000	,000	,051
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
PR timo (%)	Correlação de Pearson	,427*	,053	,274	-,190	,342	,342	,796**	,955**	,879**	-,731**	-,783**	1	,891**	,460**
	Sig. (bilateral)	,013	,772	,122	,289	,052	,051	,000	,000	,000	,000	,000		,000	,007
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
PR BF (%)	Correlação de Pearson	,528**	,125	,378*	-,099	,343	,467**	,774**	,899**	,982**	-,671**	-,704**	,891**	1	,584**
	Sig. (bilateral)	,002	,490	,030	,583	,051	,006	,000	,000	,000	,000	,000	,000		,000
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33
PAREDE	Correlação de Pearson	,965**	,323	,325	-,046	,231	,320	,449**	,501**	,575**	-,314	-,343	,460**	,584**	1
	Sig. (bilateral)	,000	,067	,065	,800	,196	,070	,009	,003	,000	,085	,051	,007	,000	
	N	33	33	33	33	33	33	33	33	33	31	33	33	33	33

\*. A correlação é significativa no nível 0,05 (bilateral).

\*\*.. A correlação é significativa no nível 0,01 (bilateral).

