XXX Encontro Anual de Iniciação Científica
VII Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior
eaic 2021

DESENVOLVIMENTO DO INTESTINO DE GALINHAS: PAPEL DA PROLIFERAÇÃO CELULAR NA FORMAÇÃO DAS VILOSIDADES

Alisson Rodrigo de Oliveira (PIBIC/CNPq), Nádia Fayez Omar (Co-orientadora), Maria Albertina de Miranda Soares (Orientadora), e-mail: tina@uepg.br.

Universidade Estadual de Ponta Grossa/Departamento de Biologia Estrutural, Molecular e Genética (DEBIOGEM)

Morfologia, Histologia, Citologia e Biologia Celular.

Palavras-Chave: *desenvolvimento, dobramentos, íleo, imunofluorescência.*

Resumo

As vilosidades intestinais são estruturas responsáveis pelo aumento de superfície de absorção de nutrientes. Em galinhas, elas se desenvolvem a partir de cristas longitudinais na forma de zigue-zague. O objetivo do trabalho foi analisar a proliferação no íleo de embriões de galinhas injetados com BrdU por imunofluorescência com anti-BrdU. Observou-se uma correlação entre mudanças espaciais na proliferação celular e o dobramento das cristas em zigue-zague. Conclui-se que a proliferação celular é um requerimento para o dobramento das cristas em zigue-zagues.

Introdução

No intestino delgado, as vilosidades intestinais são responsáveis por aumentar a superfície de absorção de nutrientes, água e íons. As vilosidades são projeções da mucosa formadas por epitélio e lâmina própria. Em galinhas, a formação dessas estruturas se dá a partir de cristas longitudinais na forma de zigue-zagues regulares, que são dobramentos da mucosa formados pelo epitélio e mesênquima adjacente (WALTON *et al*., 2016). Isso ocorre em três etapas: (1) formação das cristas longitudinais em zigue-zague, (2) delineamento das vilosidades e (3) crescimento das vilosidades (GREY, 1972). Estudos recentes de Paiva *et al*. (2019) indicam que a proliferação de células epiteliais da mucosa do jejuno de galinhas é um requerimento para o estabelecimento do padrão zigue-zague das cristas longitudinais, que são a base para a emergência das vilosidades intestinais. O objetivo do estudo foi analisar o papel da proliferação celular no dobramento das cristas longitudinais em zigue-zague no íleo em galinhas.

Material e Métodos

Fragmentos de íleo de embriões de galinhas de 13 dias, injetados com BrdU e sacrificados em diferentes tempos do dobramento das cristas longitudinais em zigue-zagues (PAIVA *et al*., 2019), foram utilizados no trabalho (Protocolo CEUA/UEPG 7491/2015): E13 + 8h, E13 +16h, E13 + 32h, E13 + 40h, E13 + 48h e E13 + 56h. As amostras foram processadas para histologia convencional e cortes de 5µm foram obtidos. Para a imunofluorescência, os cortes foram desparafinizados e o DNA foi depurinado em HCl 1N, por 1h, a 40ºC. O bloqueio de ligações inespecíficas foi feito em BSA 3%, por 1h, à temperatura ambiente (TA). Os cortes foram incubados com anticorpo monoclonal anti-BrdU de camundongo (Calbiochem, Cat. No NA61-100UG), na concentração de 1:500, preparado em 1XPBS/Triton X-100 0,1 %, por 16h, a 4ºC. Os cortes foram incubados com anti-imunoglobulinas de camundongo conjugado com Alexa488 (Life Technologies, Cat. No A11059), na concentração de 1:1000, preparado em BSA 1%, por 1h, à TA. O núcleo das células foi corado com DAPI (2 µg/mL), por 30 minutos, à TA. As imagens foram capturadas em microscópio de epifluorescência (Leica).

Resultados e Discussão

Em E13+8h, observa-se algumas células proliferando no epitélio. Em 13+16h, observa-se células proliferando ao longo do epitélio. Em E13+32h, em estágio mais avançando do dobramento em zigue-zague, observa-se células proliferando preferencialmente na lateral das cristas, indicando que foram realocadas do topo. Relocação de células proliferando é um processo recorrente durante a morfogênese das vilosidades em galinhas (SHYER *et al*., 2013). Em E13+40h, células marcadas foram observadas no topo das cristas, indicando que a proliferação nessa região foi novamente estimulada. Em E13 + 48h e + 56h, quando as cristas atingem a forma de zigue-zague, a proliferação ocorre em toda extensão do epitélio (Fig. 1).

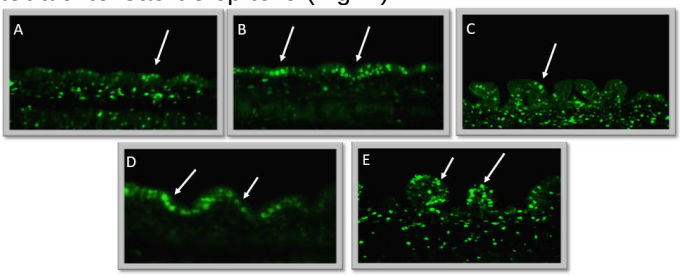


Figura 1. Imunofluorescência em íleo de embriões de galinhas. **A**: E13+8h (400X); **B**: E13+16h (400X); **C**: E13+32h (200X); **D**: E13+40h (400X); **E**: E13+48h (400X). As setas indicam células epiteliais proliferando.

Conclusão

A proliferação celular é um requerimento para o dobramento das cristas longitudinais em zigue-zagues.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa concedida e à Dra. Maria A. de M. Soares pela orientação.

Referências

1. GREY, R. D. Morphogenesis of intestinal villi I: scanning electron microscopy of the duodenal epithelium of the developing chick embryo. **Journal of Morphology**, v.137, p.193-214, 1972.
2. PAIVA, N. H., *et al*. Spatial and temporal changes in cell proliferation in the chick jejunum during the folding of the ridges into zigzags. **Acta Histochemica**, v. 121, p. 376-379, 2019.
3. SHYER, A. E. *et al.* Villification: How the gut gets its villi. **Science**, v. 342, p. 212-218, 2013.
4. WALTON, K.D. *et al.* Vilification in the mouse: Bmp signals control intestinal villus patterning. **Development**, v. 143, p. 427-436, 2016.