

UNIVERSITAT DE BARCELONA

DIVISIÓ DE CIÈNCIES DE LA SALUT

**Departament de Ciències Fisiològiques Humanes
i de la Nutrició**

**ESTUDI DE LA SUPERFÍCIE D'ABSORCIÓ A L'INTESTÍ PRIM DE
POLLASTRE AL LLARG DEL DESENVOLUPAMENT**

**Memòria presentada per Montserrat Mitjans i Arnal
per a optar al grau de Llicenciatura en Farmàcia.**

Aquest treball ha estat dirigit per la

Dra. Ruth Ferrer i Roig

Barcelona, Febrer 1994

En aquestes ratlles vull expressar el meu agraïment a totes les persones que han fet possible l'elaboració d'aquest treball:

A la Dra. Ruth Ferrer, la meva directora de tesina, per haver-me proporcionat l'oportunitat de poder-la realitzar, així com la seva dedicació, assessorament i motivació, sobretot en els últims moments.

A la Dra. Joana M. Planas per haver-me proporcionat els medis necessaris per a dur a terme aquesta Memòria, dins del seu projecte de recerca.

Al Dr. Miquel Moretó i a la Dra. Conxita Amat per l'interès que han demostrat.

A en Juan i la Glòria per haver-me ajudat en l'aprenentatge de les tècniques, com també per la seva amistat i solidaritat en les hores d'esforç.

A la Montse per la seva complicitat i pels moments compartits en la realització d'aquest treball.

A la Maria per la seva comprensió, companyonia i consells a tothora.

A la Dra. Pilar Vinardell per la seva simpatia i solidaritat.

Als companys d'Absorció: Estrella, M. José, Nati, Núria, Mónica, Elena, Emilia, M. Carmen, Víctor i a tots els altres per les bones estones passades rient, xerrant i, perquè no, explicant acudits.

Al Dr. Pep Queralt per les seves paraules d'ànim i la seva amistat en tot moment.

A la Violant i el Francesc per la seva companyia en els moments de baixa forma.

Als membres dels Serveis Científico-Tècnics: la Núria Cortadellas, l'Ana Ribera i l'Almudena García, per la seva ajuda en les tècniques d'Ultramicrotomia i també a l'Alejandro, l'Antonia i el Jordi per posar a la meva disposició els programes informàtics necessaris.

A en Pep Ubrí pels mitjans tècnics i informàtics que ha posat a la meva disposició en els caps de setmana.

A Mozart, Suede i REM per la banda sonora en els moments de solitud davant del microscopi.

Finalment agrair la bona predisposició d'una persona a passar caps de setmana sense sortir, ajudant-me amb les meves baralles amb l'ordinador i donant-me recolzament tant físic com moral.

Aquest treball ha estat subvencionat pel projecte PB88/0219 de la DGICYT, Ministerio de Educación y Ciencia.

	<i>pàgina</i>
ÍNDIX DE FIGURES	III
ÍNDIX DE TAULES	IV
1. OBJECTIUS	2
2. INTRODUCCIÓ	4
2.1. MORFOLOGIA MACROSCÒPICA	4
2.2. MORFOLOGIA MICROSCÒPICA	4
2.2.1. ORGANITZACIÓ DE LA PARET INTESTINAL	4
2.2.2. CÈL.LULES DE L'EPITELI	9
2.2.2.1. <u>Cèl.lules de la vellositat</u>	10
2.2.2.1.1. Cèl.lules absorbents o enteròcits	10
2.2.2.1.2. Cèl.lules calciformes	13
2.2.2.1.3. Cèl.lules enteroendocrines	14
2.2.2.2. <u>Cèl.lules de la cripta</u>	14
2.2.2.2.1. Cèl.lules no diferenciades	14
2.2.2.2.2. Cèl.lules enteroendocrines	15
2.2.2.3. <u>Altres cèl.lules epitelials</u>	15
2.2.3. TEIXIT LINFÀTIC ASSOCIAT A L'INTESTÍ	16
2.3. QUANTIFICACIÓ DE LA SUPERFÍCIE TOTAL D'ABSORCIÓ	16
3. MATERIAL I MÈTODES	19
3.1. ANIMALS D'EXPERIMENTACIÓ	19
3.2. OBTENCIÓ DE LES MOSTRES	19
3.3. ESTUDI MACROSCÒPIC	21
3.4. MICROSCÒPIA ÒPTICA	21
3.4.1. FIXACIÓ I DESHIDRATACIÓ DEL TEIXIT	21
3.4.2. INCLUSIÓ DEL TEIXIT	21
3.4.3. TINCIÓ DE LES SECCIONS	23
3.4.4. DETERMINACIÓ DEL FACTOR D'AMPLIFICACIÓ DE LES VELLOSTATS	23
3.5. MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA DE TRANSMISSIÓ	24
3.5.1. FIXACIÓ	24
3.5.2. DESHIDRATACIÓ I INCLUSIÓ	26
3.5.3. ULTRAMICROTOMIA I CONTRAST DE LES REIXETES	26
3.5.4. OBTENCIÓ D'ÍMATGES FOTOGRÀFIQUES	27
3.6. ANÀLISI ESTADÍSTICA	29

4. RESULTATS	31
4.1 ESTUDI MACROSCÒPIC	31
4.1.1. EVOLUCIÓ DEL PES DELS ANIMALS	31
4.1.2. LLARGÀRIA DELS SEGMENTS INTESTINALS	31
4.1.3. PERÍMETRE DELS SEGMENTS INTESTINALS	32
4.1.4. SUPERFÍCIE NOMINAL DELS SEGMENTS INTESTINALS	32
4.1.5. RELACIÓ PES HUMIT/LLARGÀRIA	32
4.1.6. GRUIXÀRIA DE LA PARET INTESTINAL	33
4.2. MICROSCÒPIA ÒPTICA	45
4.2.1. RELACIÓ DEL CONTORN MUCOSAL RESPECTE DEL SEROSAL	45
4.2.2. FACTOR D'AMPLIFICACIÓ DE LES VELLOSTATS	46
4.3. MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA DE TRANSMISSIÓ	54
4.3.1. LLARGÀRIA DELS MICROVI.LIS	54
4.3.2. DIÀMETRE DELS MICROVI.LIS	54
4.3.3. DENSITAT DELS MICROVIL.LIS	55
4.3.4. FACTOR D'AMPLIFICACIÓ DELS MICROVI.LIS	55
4.4. RESULTATS FINALS	64
4.4.1. FACTOR D'AMPLIFICACIÓ TOTAL	64
4.4.2. SUPERFÍCIE LUMINAL TOTAL	64
4.4.3. SUPERFÍCIE LUMINAL PER UNITAT DE PES HUMIT	65
5. DISCUSSIÓ	74
5.1. NIVELL MACROSCÒPIC	74
5.2. NIVELL DE MICROSCÒPIA ÒPTICA	76
5.3. NIVELL DE MICROSCÒPIA DE TRANSMISSIÓ	79
6. CONCLUSIONS	83
7. BIBLIOGRAFIA	86

	<i>pàgina</i>
<i>Figura 1. Esquema del tracte digestiu del pollastre</i>	5
<i>Figura 2. Il·lustració esquemàtica de les estructures intestinals destinades a augmentar la superfície d'absorció</i>	7
<i>Figura 3. Esquema general de la paret intestinal</i>	8
<i>Figura 4. Esquema del procediment seguit per a la obtenció de les dades macroscòpiques</i>	20
<i>Figura 5. Esquema del procediment seguit per a la obtenció de les dades de microscòpia òptica</i>	22
<i>Figura 6. Esquema del procediment seguit per a la obtenció de les dades de microscòpia electrònica de transmissió</i>	25
<i>Figura 7. Seccions longitudinal i transversal dels microvil·lis observades al microscopi electrònic de transmissió</i>	28
<i>Figura 8. Llargària dels segments</i>	36
<i>Figura 9. Perímetre intestinal</i>	38
<i>Figura 10. Superfície nominal</i>	40
<i>Figura 11. Relació pes humit /llargària</i>	42
<i>Figura 12. Gruixària de la paret</i>	44
<i>Figura 13. Relació contorn del mucosal respecte el serosal en seccions transversals</i>	48
<i>Figura 14. Relació del contorn mucosal respecte el serosal en seccions longitudinals</i>	50
<i>Figura 15. Factor d'amplificació de les vellositats</i>	52
<i>Figura 16. Llargària dels microvil·lis</i>	55
<i>Figura 17. Diàmetre dels microvil·lis</i>	57
<i>Figura 18. Densitat dels microvil·lis</i>	59
<i>Figura 19. Factor d'amplificació dels microvil·lis</i>	61
<i>Figura 20. Factor d'amplificació total</i>	65
<i>Figura 21. Superfície luminal total</i>	67
<i>Figura 22. Superfície luminal per unitat de llargària</i>	70
<i>Figura 23. Superfície luminal per unitat de pes humit</i>	72

	<i>pàgina</i>
Taula 1. Pes corporal dels animals	34
Taula 2. Llargària dels segments intestinals	35
Taula 3. Perímetre intestinal	37
Taula 4. Superfície nominal	39
Taula 5. Relació pes humit/llargària	41
Taula 6. Gruixària de la paret intestinal	43
Taula 7. Relació del contorn mucosal respecte del serosal en seccions transversals	47
Taula 8. Relació del contorn mucosal respecte del serosal en seccions longitudinals	49
Taula 9. Factor d'amplificació de les vellositats	51
Taula 10. Llargària dels microvil·lis	54
Taula 11. Diàmetre dels microvil·lis	56
Taula 12. Densitat dels microvil·lis	58
Taula 13. Factor d'amplificació dels microvil·lis	60
Taula 14. Factor total d'amplificació	64
Taula 15. Superfície luminal total per segment	66
Taula 16. Superfície luminal total de l'intestí	68
Taula 17. Superfície luminal per unitat de llargària	69
Taula 18. Superfície luminal per unitat de pes humit	71

1.OBJECTIUS

L'absorció intestinal de nutrients varia en funció de factors bioquímics (característiques cinètiques dels sistemes de transport) i anatòmics (llargària i perímetre del segment intestinal i ampliació de la superfície epitelial deguda a la presència de vellositats i de microvil·lis).

Estudis realitzats al nostre Laboratori han posat de manifest variacions significatives en la constant d'afinitat (K_m) i en la constant de capacitat màxima de transport ($V_{m\grave{a}x}$) en funció de l'edat (Rovira, 1993). Podem dir doncs que, pel que fa referència als sistemes de transport hi ha variacions ontogèniques. El principal objectiu de la present Memòria és determinar si també n'hi ha en el cas dels factors morfomètrics per tal de conèixer, tant les variacions d'aquests paràmetres al llarg del desenvolupament, com per poder aportar una sèrie de dades que permetin expressar correctament els resultats que sobre el transport de monosacàrids i d'aminoàcids han estat obtinguts al nostre Laboratori.

La tècnica emprada per a determinar la superfície d'absorció es va posar a punt ara fa un any, en un estudi preliminar amb animals d'1 i de 7 dies d'edat (Barniol, 1993). En el present treball es preten aplicar aquesta metodologia a un ventall d'edats més ampli (2, 3, 5 i 12 setmanes).

La consecució dels objectius s'ha afrontat des de tres nivells de magnificació diferents. El primer ha estat el nivell macroscòpic, en el que s'ha determinat el pes de l'animal, les dimensions dels diferents segments de l'intestí prim i la gruixària de la paret intestinal.

El segon nivell ha estat el de microscòpia òptica en el que s'ha quantificat el factor d'amplificació de la superfície epitelial degut a la presència de vellositats.

El tercer nivell ha estat el de microscòpia electrònica de transmissió en el que s'ha determinat el factor d'amplificació dels microvil·lis de la superfície luminal dels enteròcits.

Finalment, a partir dels resultats obtinguts en els tres nivells abans esmentats, s'ha calculat la superfície epitelial de cadascun dels segments de l'intestí prim referida al segment, a la unitat de llargària i a la unitat de pes humit.

2.INTRODUCCIÓ

2.1. MORFOLOGIA MACROSCÒPICA

A l'intestí del pollastre es diferencien sis regions. El duodè, el jejú i l'ili constitueixen l'intestí prim; i els cecs, el recte i la cloaca, l'intestí gros (**Figura 1**). Segons **Mc Lelland (1979)** el segment més proximal, el duodè, comença al pedrer i envolta el pàncreas en forma de nansa dirigida cap a l'esquerra essent el seu diàmetre més gran que el dels altres segments distals de l'intestí prim (**Otte, 1928**). La porció medial, el jejú, s'inicia a l'entrada dels conductes pancreàtic i biliar i finalitza al diverticle de Meckel. El jejú i l'ili són els segments intestinals més llargs localitzant-se, el primer, a la meitat dreta de la cavitat visceral (**Schwarze, 1980**), tenint un diàmetre constant en tota la seva llargària, però inferior al del duodè, i disposant-se en un gran nombre de nanses curtes, de diferent mida.

El diverticle de Meckel és la connexió existent, al llarg del desenvolupament embrionari, entre el sac vitel·lí i l'embrió. Durant els primers dies posteriors a l'eclosió de l'ou, el sac vitel·lí es consumeix fins a quedar reduït a una petita protuberància. En el pollastre adult no té cap funció específica (**Turk, 1982**).

Finalment, la part distal de l'intestí prim està constituïda per l'ili que té un diàmetre inferior al del jejú, presenta una nansa curta i en la zona més distal, unida als cecs mitjançant mesenteri, un curs rectilini.

2.2. MORFOLOGIA MICROSCÒPICA

2.2.1. ORGANITZACIÓ DE LA PARET INTESTINAL

L'epiteli intestinal, junt amb altres epitelis, s'encarrega de separar el medi intern dels espais en contacte amb el medi extern. Les principals funcions d'aquest epiteli són la digestió dels components de la dieta, la seva absorció selectiva, així com la protecció de l'organisme davant un seguit d'agents externs potencialment nocius. Considerant la diversitat de funcions esmentades, no és sorprenent que tingui una estructura complexa formada per una filera heterogènia de cèl·lules i que estigui en estret lligam amb els elements subepitelials capaços de regular moltes de les seves funcions.

La superfície luminal de l'intestí prim, principal responsable de l'absorció dels

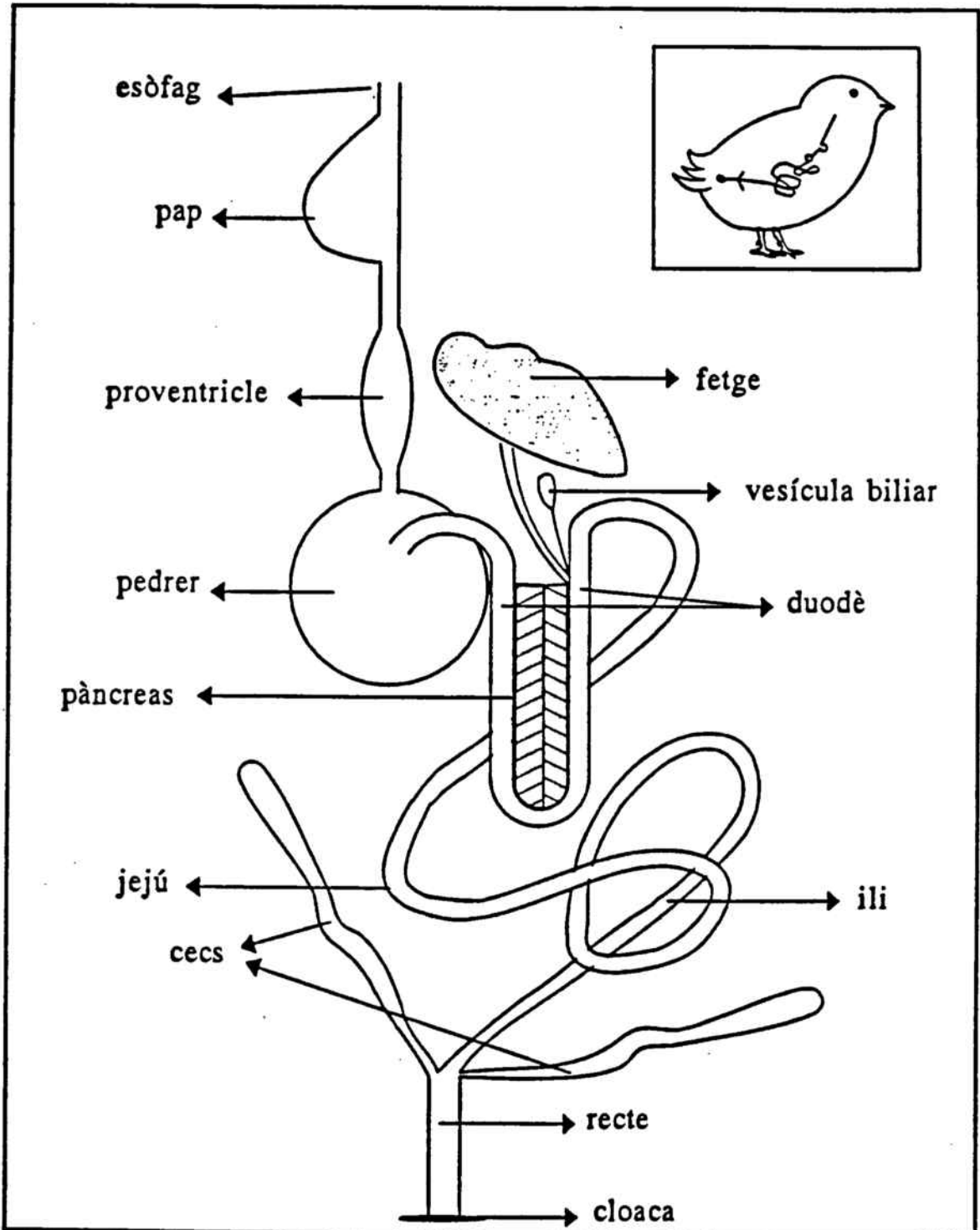


Figura 1. Esquema del tracte digestiu del pollastre (Jamil, 1993)

nutrients presents a la llum intestinal, depen, a més de la seva llargària i perímetre, de tot un seguit d'estructures, l'objecte de les quals és augmentar la superfície d'absorció tant com requereixin les necessitats fisiològiques de l'animal. Es tracta dels plects circulars, de les vellositats i dels microvil·lis (**Figura 2**).

S'han realitzat estudis en mamífers i s'ha constatat que la submucosa forma periòdicament uns plects prims anomenats plects circulars o vàlvules connivents, que s'orienten circularment al voltant de la llum. Aquests plects, la freqüència dels quals és major en el jejú que en l'ili, són dels tres tipus d'estructures abans esmentades, els que menys contribueixen a augmentar la superfície d'absorció ja que segons **Ferraris et al. (1989)**, suposen un augment tant sols de 2-6 vegades. En el cas del pollastre, els plects circulars només són presents a l'intestí gros i concretament al cec medial i distal i al coprodeu (**Ferrer et al., 1991** i **Planas et al., 1987**).

Les vellositats també col·laboren en aquesta fita ja que suposen un augment en la superfície epitelial, a l'intestí de mamífers, d'entre 3-14 vegades, tot dependent de l'espècie i del segment estudiats (**Ferraris et al., 1989**). A més, aquesta dada pot variar, doncs, en estats fisiològics de gran demanda tals com l'alletament (**Lichtenberger i Trier, 1979**) o la ressecció (**Hanson et al., 1977**), la superfície de les vellositats augmenta. De la mateixa manera, davant malalties que afecten la funció mucosal, hi ha una pertorbació de la seva estructura i la capacitat d'absorció en queda substancialment reduïda. Altrament, la regió de l'intestí, la dieta i l'espècie, condicionen la grandària i la forma de les vellositats, essent aquestes entre digitiformes i foliàcies (**Madara i Trier, 1987**).

Les criptes de Lieberkühn són petites depressions existents entre les vellositats, amb funcions bàsicament de secreció d'aigua, electròlits i Ig A. A més, en elles es produeix la proliferació de les cèl·lules epitelials (**Mc Lelland, 1979**) (**Figura 3**).

L'epiteli intestinal descansa damunt la làmina pròpia la qual, a l'hora, està situada al damunt d'una fina capa de musculatura llisa, anomenada *muscularis mucosae*. El conjunt de l'epiteli, làmina pròpia i *muscularis mucosae* forma la mucosa.

La làmina pròpia constitueix el nucli de les vellositats i és el suport de les criptes. Està formada fonamentalment per teixit connectiu, fibres musculars llises i fibres nervioses (**Turk, 1982**), a més dels vasos sanguinis que recullen els nutrients procedents de la llum intestinal (**Graney, 1967**). En el centre de cada vellositat hi ha

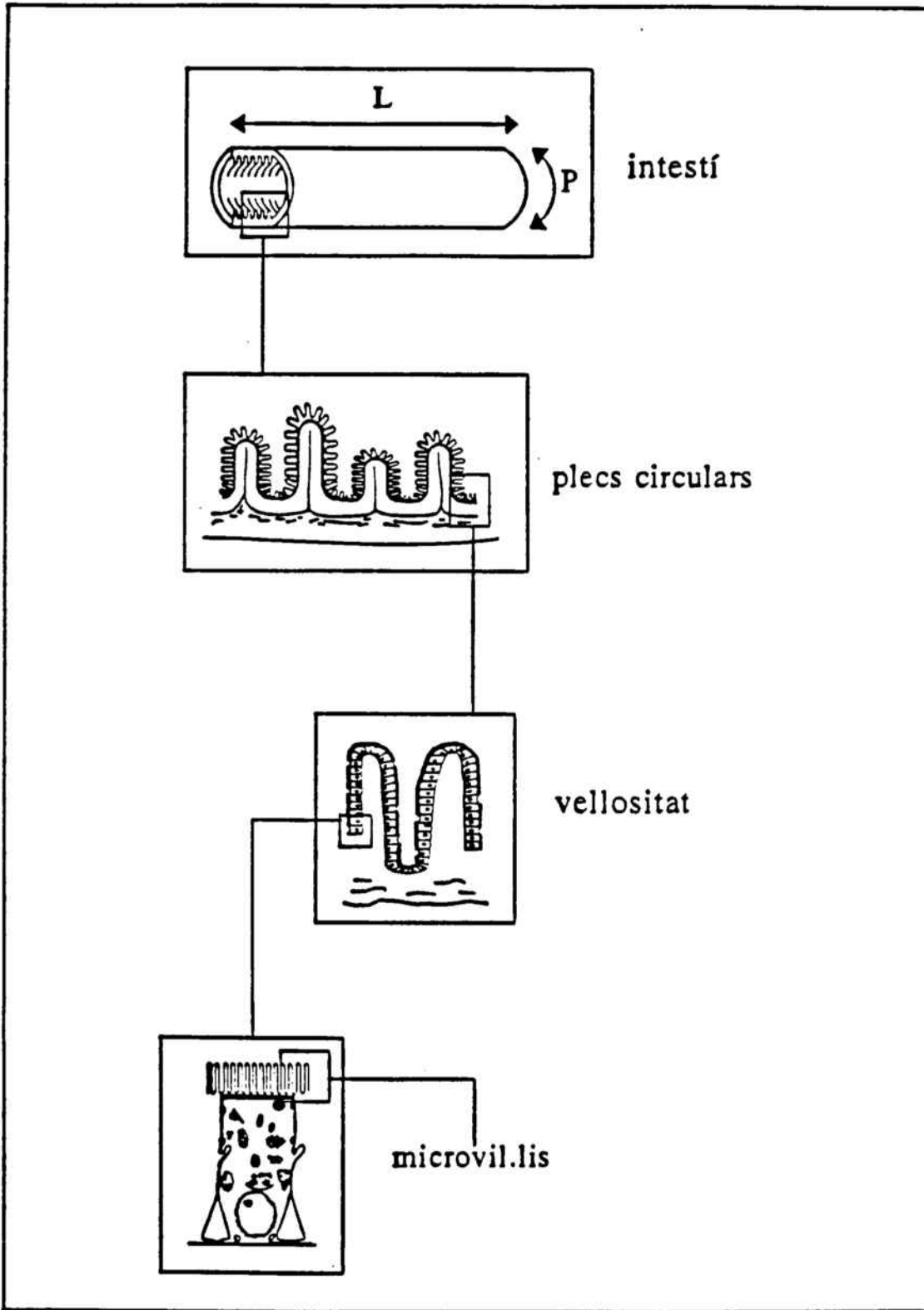


Figura 2. Il·lustració esquemàtica de les estructures intestinals destinades a augmentar la superfície d'absorció. (Barniol, 1993)

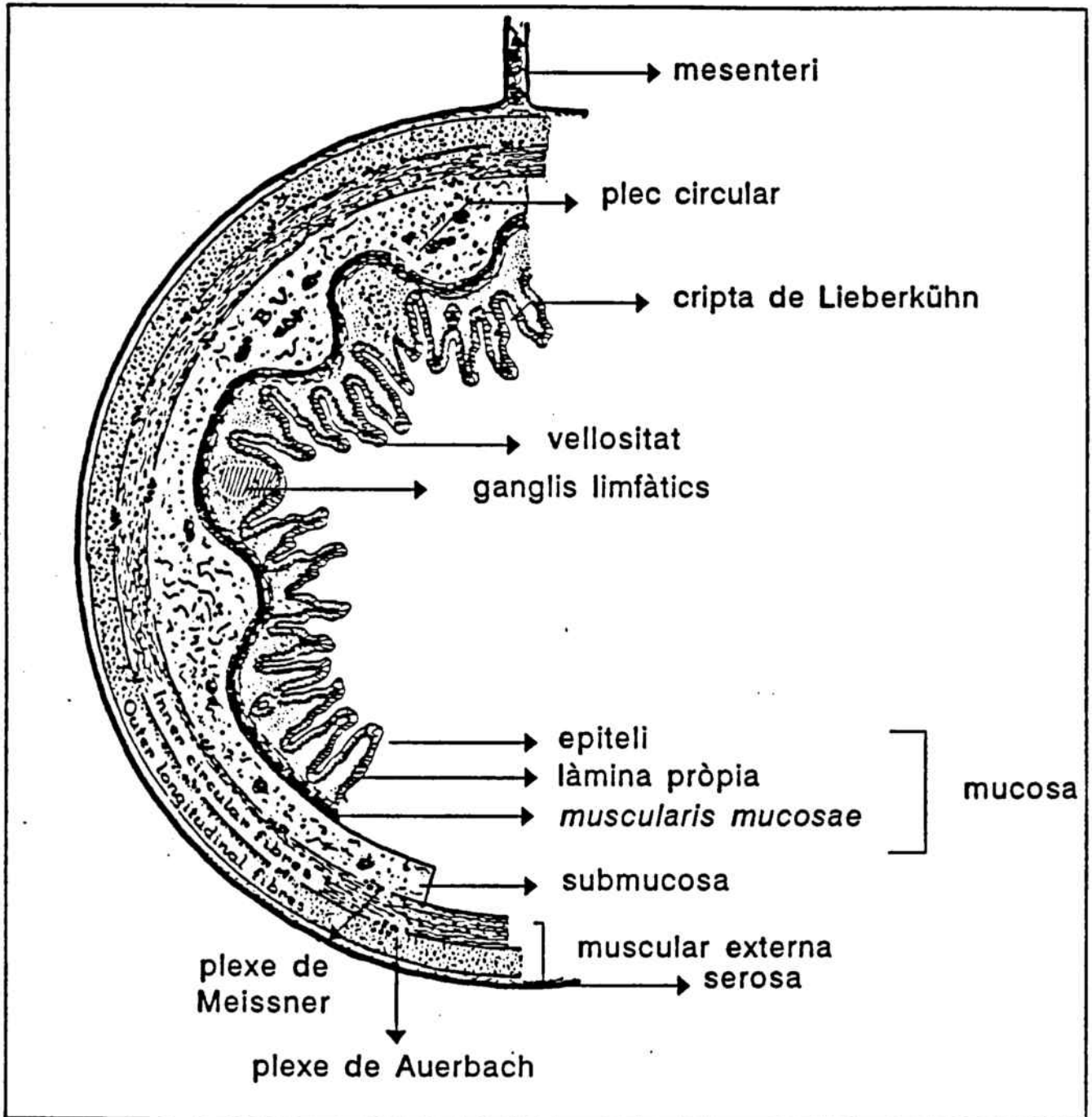


Figura 3. Esquema general de la paret intestinal. (Barniol, 1993)

una arteriola no ramificada, procedent de la xarxa vascular de la submucosa. A la punta de la vellositat, l'arteriola es ramifica i forma una densa xarxa de capil·lars subepitelials que van a parar a vècules, a diferents nivells de la vellositat. En el cas dels mamífers, a més també hi ha un vas limfàtic central, absent però en les aus (Humphrey i Turk, 1974).

La *muscularis mucosae*, situada entre la làmina pròpia i la submucosa, és constituïda en el pollastre per una capa interna de musculatura longitudinal i una capa externa de musculatura circular (Calhoun, 1932). Segons Hodges (1974), però, en estudis realitzats en la mateixa espècie animal, l'externa és la longitudinal i l'interna és la circular. Tot i no estar ben definida la seva funció, sembla que podria ser la responsable del moviment de les vellositats (Madara i Trier, 1987).

Sota la mucosa hi ha una capa relativament prima de teixit connectiu, la submucosa, en la que hi ha el plexe nerviós de Meissner, teixit limfàtic (Mc Lelland, 1979) i grans artèries disposades longitudinalment (Calhoun, 1932).

Les capes més externes són, de dins a fora, la muscular i la serosa. La muscular es divideix en dues subcapes de musculatura llisa: una en la que les fibres estan disposades circularment, situada a la zona més interna i l'altra, d'orientació longitudinal, més externa. Separant ambdues subcapes hi ha teixit connectiu ric en fibres nervioses que formen el plexe d'Auerbach i vasos sanguinis (Batt, 1925).

Per últim cal fer esment de la serosa, la capa més externa de les tractades. Està formada per teixit connectiu amb un revestiment de cèl·lules epitelials mesodèrmiques. La unió de la serosa a la paret abdominal es duu a terme mitjantçant el mesenteri.

2.2.2. CÈL·LULES DE L'EPITELI

Totes les cèl·lules epitelials procedeixen de cèl·lules no diferenciades de la base de la cripta, des d'on migren per les parets de la vellositat, a mida que es van diferenciant, fins arribar a la zona d'extrussió, localitzada a l'extrem de la vellositat, on són eliminades per descamació a la llum intestinal. En les aus domèstiques el temps de renovació de les cèl·lules és de 2 a 5 dies (Fernando i McCraw, 1973). Cal diferenciar entre les cèl·lules epitelials de les vellositats i les de les criptes.

L'epiteli de les vellositats té un gran nombre de cèl.lules absorbents, també anomenades enteròcits, cèl.lules goblet o caliciformes, que s'encarreguen de la secreció de mucus i, en menor quantitat, cèl.lules enteroendocrines. En canvi, l'epiteli de les criptes està format per cèl.lules no diferenciades, activament proliferatives, cèl.lules caliciformes i una gran varietat de cèl.lules enteroendocrines.

2.2.2.1. Cèl.lules de la vellositat

2.2.2.1.1. Cèl.lules absorbents o enteròcits

Són les més nombroses de l'epiteli de les vellositats. Es tracta de cèl.lules columnars, altament polaritzades, ja que en la seva membrana apical presenten la vora en raspall, formada per microvil·lis destinats a augmentar la superfície cel·lular exposada al contingut luminal. En canvi, a la membrana basolateral hi són absents.

Per sota la vora en raspall es troba una zona citoplasmàtica anomenada xarxa terminal, on s'ancoren les porcions terminals dels filaments dels microvil·lis i on, en general, hi ha molt pocs orgànuls cel·lulars.

El nucli, amb un o més nuclèols, és oval i es localitza en la meitat basal de la cèl.lula. A la seva perifèria s'aprecien masses d'heterocromatina, en tant que a la zona central hi ha masses d'eucromatina.

El complex de Golgi, ubicat en el citoplasma supranuclear, està constituït per una xarxa ben desenvolupada amb granulacions a nivell intern i extern. Té un paper destacat en la glicosilació proteica, així com en la secreció, emmagatzematge i modificació dels materials absorbits i sintetitzats per la cèl.lula, el destí dels quals és el transport extern cel·lular o bé la seva incorporació a la membrana cel·lular. Els mitocondris, orgànuls amb forma abastada o circular, se situen, majoritàriament, entre el nucli i la xarxa terminal. Pel que fa referència al reticle endoplasmàtic llis, val a dir que es localitza a la zona apical de la cèl.lula, en tant que el rugós es troba distribuït, al igual que els ribosomes lliures, per tot el citoplasma. I, per últim, a la zona apical de les cèl.lules absorbents s'observen incusions lipídiques esfèriques i cossos multivessiculars.

Microvil.lis

Els microvil.lis presenten una llargària i un diàmetre variable, segons la zona de l'intestí que es tracti (**Madara i Trier, 1987**). La seva superfície està recoberta pel glicocalze, conjunt de fins filaments extesos perpendicularment a la seva membrana externa, en els que es localitzen processos enzimàtics de gran importància en la digestió terminal de pèptids i carbohidrats (**Moran, 1985**).

El nucli dels microvil.lis està format per feixos longitudinals de microfilaments, bàsicament integrats per actina, microtubuls i filaments intermedis amb proteïnes associades entre les que es poden destacar, a tall d'exemple, la villina i la fimbrina (**Louvard, 1989**). Aquest citoesquelet permet, a més de sostenir l'estructura dels microvil.lis, la divisió i la migració cel.lular, els canvis de forma, l'adhesió i la interacció entre cèl.lules, entre altres.

Pel que fa a les característiques funcionals de la membrana dels microvil.lis, s'evidencia la presència de partícules intramembrana en quantitats superiors a les que apareixen en altres superfícies membranals, entre les que cal incloure la membrana basolateral de les cèl.lules absorbents. Aquestes partícules, majoritàriament constituïdes per petites porcions proteïques, es distribueixen asimètricament a ambdós costats de la membrana essent més rica la cara interna. Aquesta distribució irregular és més notable en la membrana dels microvil.lis de les cèl.lules absorbents de les vellositats respecte de les cèl.lules de les criptes (**Madara i Trier, 1987**).

La membrana dels microvil.lis és rica en proteïnes i glicoproteïnes, amb una relació aproximada proteïna/lípid de 1,7/1. Aquest quocient, alt en proteïnes respecte lípids, és conseqüència directa del gran nombre de partícules intramembrana presents en les cèl.lules absorbents de la vellositat. Pel que fa a la composició dels lípids, cal destacar-ne l'alt contingut en colesterol i glicolípid, la qual cosa contribueix a la baixa fluïdesa de la membrana (**Madara i Trier, 1987**).

Unions intercel.lulars

Els processos de transport actiu creen diferències de càrregues i de gradients de soluts transepitelials que donen lloc al moviment passiu secundari d'altres

mol·lècules. A l'intestí prim, aquest flux té lloc, bàsicament, a través de la via paracel·lular, és a dir, l'espai que hi ha al voltant de les cèl·lules.

Dades experimentals indiquen que el pas limitant d'aquest flux està en l'àpex de les cèl·lules epitelials, les quals contacten amb les veïnes a través de les anomenades unions intercel·lulars. Atenent a l'observació al microscopi electrònic de transmissió, es poden distingir tres tipus d'unió diferents, la *zonula occludens* o unió estreta, la *zonula adherens* o unió intermèdia i la *macula adherens* o desmosoma, el conjunt de les quals reb el nom de complex de tancament (Farquhar i Palade, 1963):

Zonula occludens. És una banda de 100-600 nm d'amplada que envolta la cèl·lula i constitueix un fort nexa d'unió entre les membranes laterals. En condicions normals aquesta fusió actua com a barrera per a macromolècules evitant el seu pas intercel·lular (Madara i Trier, 1982).

Zonula adherens. La unió intermèdia o *zonula adherens* es troba directament sota l'anterior i forma una zona on les membranes laterals de les cèl·lules adjacents queden disposades properament i paral·lela, amb una separació aproximada de 15 a 20 nm. Aquest espai és principalment ocupat per un material fibril·lar, uvomorulina, de naturalesa proteica (Boller *et al.*, 1985).

Macula adherens o desmosoma. Són punts de contacte entre cèl·lules des d'on surten filaments intermedis que formen una red estructural associada al citoesquelet del citoplasma (Madara i Trier, 1982).

Les unions intercel·lulars creen i mantenen la polaritat morfològica i funcional de l'enteròcit, altament especialitzat en el transport de nutrient des de la llum intestinal fins al fluid intersticial basal. Aquest transport orientat és dut a terme per diferents sistemes de transport complementaris presents en els dominis apical i basolateral de la membrana plasmàtica (Maroux *et al.*, 1988). Aquests dos dominis es troben caracteritzats per la seva morfologia i la seva composició proteica única (Le Bivic *et al.*, 1988) que es correspon amb una perfecta adaptació a les funcions polaritzades dels enteròcits. Per exemple, a la membrana basolateral de les cèl·lules epitelials és on es localitzen la bomba $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa, els receptors d'hormones i de factor de creixement, a més de transportadors per ions i nutrients i és el punt de contacte amb la làmina basal. Normalment té característiques complementàries amb la

membrana apical com es pot veure en el cas del transport actiu apical de glucosa, dependent de la bomba $\text{Na}^+\text{-K}^+$ ATPasa de la membrana basolateral (Hopfer, 1985). Aquest fet demostra una separació però al mateix temps una forta coordinació entre els dos dominis de la membrana enterocitària: l'apical i el basolateral.

2.2.2.1.2. Cèl.lules caliciformes

Són cèl.lules secretores de mucus, format per glicoproteïnes d'elevat pes molecular (mucines), que protegeix i lubrifica la part luminal de l'epiteli intestinal (Specian i Oliver, 1991). Presents al llarg de tot l'intestí, sobretot a les criptes, augmenta gradualment el seu nombre des del jejú proximal fins a l'ili distal (Moe, 1955). Es caracteritzen per presentar una gran quantitat de grànuls de mucina, cadascun d'ells de $3\ \mu\text{m}$ de diàmetre com a màxim i envoltats per una membrana, que distensiona l'àpex de la cèl.lula, donant-li una forma característica de calze. El conjunt de grànuls és vorejat en la seva perifèria per un filament prim de citoplasma anomenat teca.

Són cèl.lules altament polaritzades amb microvil·lis dispersos i irregulars, tant pel que fa a les dimensions com a la forma, amb el glicocalze poc desenvolupat. El nucli és basal i els orgànuls com ara el reticle endoplasmàtic rugós, els ribosomes lliures, les mitocondries, el complex de Golgi i lisosomes es disposen a l'espai subnuclear.

Les cèl.lules caliciformes provenen de cèl.lules no diferenciades del fons de la cripta, migren cap a la zona apical de la vellositat a mida que maduren, tot patint canvis estructurals que inclouen la formació de més grànuls de mucus, essent finalment eliminades a la llum intestinal. En aquest procés esglaiat es formen unes cèl.lules intermediàries anomenades cèl.lules oligomucoses que encara retenen la capacitat de proliferar. No obstant, no es coneixen els factors que porten a la diferenciació d'aquest tipus cel·lular de manera diferent a la dels enteròcits, tot i tenir el mateix origen i el mateix sistema de migració en la vellositat. S'ha suggerit la possible existència de senyals de diferenciació relacionats amb la matriu extracel·lular (Kédinger *et al.*, 1987).

2.2.2.1.3. Cèl.lules enteroendocrines

Tot i estar presents en les vellositats, és en les criptes on abunden més les cèl.lules enteroendocrines. Per aquest motiu són descrites detalladament més endavant.

2.2.2.2. Cèl.lules de la cripta

2.2.2.2.1. Cèl.lules no diferenciades

Són, de bon tros, les predominants a les criptes de Lieberkühn. Es poden observar fàcilment en mitosi i se situen sobretot a les voreres de la meitat inferior de les criptes. En aquesta zona proliferen, formant noves cèl.lules filles que migren gradualment per les parets de les vellositats a mida que es diferencien en altres tipus cel.lulars. Es tracta doncs de les cèl.lules precursoras de l'epiteli intestinal (**Lipkin, 1981**). Presenten majoritàriament una forma columnar i una de les seves característiques més notables és la presència en el seu citoplasma més apical de grànuls de secreció rics en glicoproteïnes. El nucli de les cèl.lules no diferenciades és més basal que el de les cèl.lules absorbents de la vellositat i el seu citoplasma és basòfil. Els elements del reticle endoplasmàtic rugós i llis, són menys abundants que en les cèl.lules absorbents, mantenent-se escampats i aïllats.

Les cèl.lules no diferenciades intervenen en la secreció d'aigua i ions a la llum intestinal. També tenen un paper destacat en els mecanismes immunes presents a l'intestí, en concret en la resposta humoral. En aquest sentit, sintetitzen i secreten substàncies que són incorporades a la membrana basolateral i que actuen com a receptors per a les IgA produïdes per les cèl.lules immunocompetents de la làmina pròpia, permetent el seu transport transcel.lular (**Madara i Trier, 1987**).

Microvil.lis

Les cèl.lules no diferenciades de la cripta també presenten microvil.lis que manifesten notables diferències pel que fa referència a la llargària i a la densitat, respecte els de la punta de la vellositat essent menys abundants i considerablement més curts, indistintament del tram intestinal i de l'espècie animal estudiada (**Ferrer et al., 1991 i Madara i Trier, 1987**).

El desenvolupament del seu glicocalze és inferior al de la resta de cèl.lules tal i com és d'esperar tenint en compte la seva baixa activitat enzimàtica (**Madara i Trier, 1987**).

En el cor dels microvil.lis, com en el cas de les cèl.lules absorbents de les vellositats, també s'hi localitzen filaments d'actina si bé aquests no s'endinsen tan profundament en la xarxa terminal (**Trier, 1963**). Aquesta, a més, no és ben desenvolupada i els orgànuls citoplasmàtics s'acosten més a la membrana plasmàtica.

2.2.2.2.2. Cèl.lules enteroendocrines

Constitueixen la minoria de les cèl.lules epitelials tant en les vellositats com en les criptes, tot i que predominen en les segones. Es tracta de cèl.lules petites i piramidals, amb un àpex estret que limita amb la llum intestinal. Presenten vesícules citoplasmàtiques secretores, generalment subnuclears, que buiden el seu contingut en l'espai paracel.lular i subepitelial per exocitosi, a través de la membrana basolateral.

Gràcies a la microscòpia electrònica, han estat classificades en nombrosos tipus diferents segons el contingut, densitat, mida i grandària dels grànuls secretors (**Neutra, 1988**). Les seves funcions serien de coordinació i control dels processos gastrointestinals.

2.2.2.3. Altres cèl.lules epitelials

S'han trobat cèl.lules de Paneth en algunes aus però no en el pollastre (**Hodges, 1974**). Tant sols **Humphrey i Turk (1974)** en parlen en el budell de pollastre però no en donen més detalls, doncs, es tracta d'imatges obtingudes al microscopi òptic.

Pel que fa referència a altres cèl.lules epitelials descrites a l'intestí de mamífers, tal com és el cas de les cèl.lules en plomall i les cèl.lules en copa (**Madara i Trier, 1987**), no ha estat posada de manifest la seva presència en l'intestí de pollastre.

2.2.3. TEIXIT LIMFÀTIC ASSOCIAT A L'INTESTÍ

Al llarg de l'intestí prim, oposats al mesenteri i distribuïts uniformement, apareixen agregats de teixit limfàtic recoberts per un epitelí especialitzat anomenats plaques de Peyer i que formen part del teixit limfàtic associat a l'intestí (GALT). Aquestes estructures són el nexa d'unió entre el contingut intestinal i el sistema immune (Owen, 1977).

Cada placa de Peyer està formada per un fol·licle de cèl·lules limfoides localitzat per sota la *muscularis mucosae*, rodejat per una corona formada bàsicament per limfòcits B i una àrea interfol·licular molt rica en vècules, que permeten el pas de cèl·lules immunocompetents des de la sang fins a la placa de Peyer. Cada fol·licle, en la seva corresponent zona mucosal, presenta una cúpula o àrea prominent formada per làmina pròpia rica en limfòcits B, T, cèl·lules plasmàtiques i macròfags. Aquesta cúpula està recoberta per un epitelí molt ric en limfòcits intraepitelials i on hi ha cèl·lules especialitzades, les cèl·lules M. La seva funció és la de posar en contacte els antígens de la llum intestinal amb les cèl·lules immunocompetents subjacents. Aquestes cèl·lules no presenten microvil·lis però en la seva superfície apical hi ha nombrosos replegaments de la membrana (Pabst, 1987 i Burns i Maxwell, 1986).

2.3. QUANTIFICACIÓ DE LA SUPERFÍCIE EPITELIAL D'ABSORCIÓ

L'intestí prim és la zona principal d'absorció dels nutrients (Hudson *et al.*, 1971). Les necessitats nutritives i, per tant, la capacitat d'absorció intestinal, varien segons l'estat fisiològic tal com s'ha esmentat anteriorment.

Al llarg del temps, han estat desenvolupades diverses tècniques per a la determinació de la superfície epitelial de l'intestí que han significat un avanç en l'expressió dels resultats d'absorció de nutrients i per tant en els coneixements de la funció digestiva. Els mètodes experimentals més utilitzats a l'actualitat, tal com se'n fa ressò la bibliografia, es resumeixen a continuació:

1. Mètodes morfomètrics basats en les mesures realitzades sobre seccions de l'intestí amb l'objecte de determinar el factor d'amplificació de la superfície luminal degut a la presència de plects circulars, vellositats i microvil·lis. En el cas de les

vellositats també han estat emprades tècniques de microdissecció per a l'aïllament de les mateixes i així poder-ne calcular la seva superfície (Ecknauer *et al.*, 1982 i Ono *et al.*, 1987).

Els mètodes morfomètrics han estat molt utilitzats, però, són molt poques les ocasions en les que tots els factors determinants de la superfície d'absorció han estat considerats simultàniament. Així, hi ha nombrosos autors que realitzen estudis en diverses espècies animals, on quantifiquen el factor d'amplificació de les vellositats tot obviant però, el dels microvil·lis (Fisher i Parsons, 1950; Hall i Byrne, 1989; Holt *et al.*, 1984; Snipes i Kriete, 1991; Van den Ingh *et al.*, 1991; Warren, 1939 i Wood, 1944). De la mateixa manera, Chambers i Grey (1979); Ferrer *et al.* (1991) i Van Dongen *et al.* (1976), duen a terme estudis morfològics on, només fan mesures de microvil·lis. En canvi, Ferraris *et al.* (1989) realitza un estudi complet en rata, ratolí i iguana en el que quantifica la superfície d'absorció considerant la presència de plecs circulars, de vellositats i de microvil·lis.

2. Mètodes estereològics. L'estereologia és una part de la matemàtica que, recolçant-se en els principis de l'estadística geomètrica, permet inferir, a partir de dades preses en un espai n dimensional de la mostra, paràmetres pertanyents a un espai de dimensió superior. Aquests mètodes varen ésser utilitzats per Stenling i Helander (1981) en rata i per Strong *et al.* (1990) en pollastre.

3.MATERIAL I MÈTODES

3.1. ANIMALS D'EXPERIMENTACIÓ

Els animals emprats per a realitzar aquest treball, han estat pollastres mascles blancs Leghorn de la línia comercial Dekalb X-L, de dues, tres, cinc i dotze setmanes d'edat, procedents de la granja avícola Gibert (Cambrils, Tarragona). Una vegada s'ha produït l'eclosió, els animals s'han criat a l'estabulari de la Facultat de Farmàcia, amb un cicle de llum-fosc de 12 hores i en condicions de temperatura i humitat estandaritzades. Per al seu nodriment s'ha utilitzat pinso Iniciarina fins les quatre setmanes i pinso Gordina (Gallina Blanca Purina, Barcelona) fins les dotze. Durant la seva primera setmana de vida han gaudit d'una font addicional de calor.

3.2. OBTENCIÓ DE LES MOSTRES

Primer de tot s'ha pesat l'animal (Figura 4), després s'ha sacrificat per decapitació, s'ha dessagnat i se li ha practicat una laparotomia abdominal. Per evitar possibles alteracions en els resultats, tots els pollastres han estat sacrificats a la mateixa hora. A continuació, s'ha extret tot l'intestí, s'ha eliminat el mesenteri i s'ha submergit en sèrum fisiològic (NaCl 0,9%) a 4 °C. Per a l'estudi s'ha agafat els següents segments: duodè (nansa duodenal), jejú (considerat des del final de la nansa duodenal fins al diverticle de Meckel) i ili (des d'aquest fins a la unió fleocecal). S'ha mesurat la llargària (L) de cadascun d'aquests trams intestinals segons el mètode de Leopold (1953), disposant-los en línia recta sense tensió, sobre paper de filtre. Aquest paràmetre és necessari per al càlcul de la superfície nominal (SN), en la que s'ha considerat l'intestí com una estructura cilíndrica, sense tenir en compte la presència de vellositats i de microvil·lis. La SN és el producte de la llargària de cada segment pel seu perímetre (P), mesurat en les seccions transversals dels blocs de parafina, tal com es descriu a continuació (apartat 3.4.).

De cada segment intestinal s'han pres 3 porcions, una porció central d'1 mm de llargària aproximada, per a ésser utilitzat en l'estudi al microscopi electrònic de transmissió (MET) i 2 porcions proximals a l'anterior, d'1 cm de llargària aproximada usades per l'estudi a nivell de microscopi òptic. D'aquestes dues, una s'ha destinat a l'obtenció de talls transversals i l'altre a la de talls longitudinals.

Aquest estudi s'ha dut a terme a nivell macroscòpic, a nivell de microscòpia òptica i a nivell de microscòpia electrònica de transmissió, tal com es descriu a continuació.

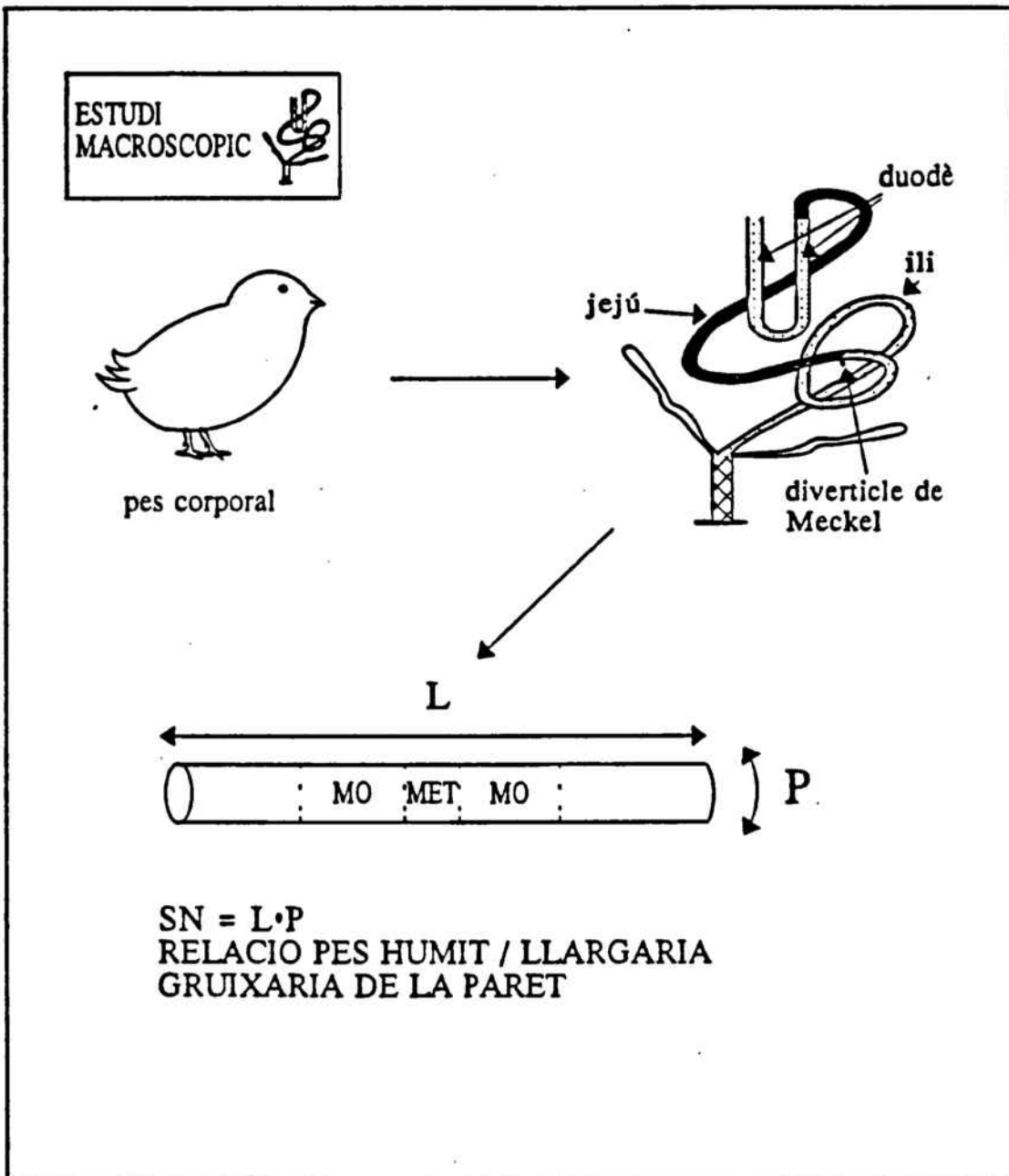


Figura 4. Esquema del procediment seguit per a l'obtenció de les dades macroscòpiques (MO microscòpia òptica, MET microscòpia electrònica de transmissió, SN superfície nominal, L llargària, P perímetre). (Barniol, 1993)

3.3. ESTUDI MACROSCÒPIC

S'ha determinat la llargària exacta mitjançant un peu de rei de les seccions d'1 cm i el seu pes humit, prèviament eixugades amb molta cura extenent-lo al damunt de paper de filtre humit, per tal de poder calcular la gruixària de la paret intestinal i també per poder expressar els resultats morfològics per unitat de pes. La gruixària de la paret s'ha calculat segons Toloza i Diamond (1992), a partir de la superfície nominal i de la relació pes humit/llargària i tenint en compte que la densitat del teixit intestinal és de 1,06 g/ml (Rotllan, 1990).

3.4. MICROSCÒPIA ÒPTICA

3.4.1. *FIXACIÓ I DESHIDRATACIÓ DEL TEIXIT*

El fixador emprat ha estat formol al 6%, preparat a partir de formol al 35% en aigua destil·lada, on hi han restat les mostres durant 48 hores (Figura 5). Tot seguit, s'han relitzat una sèrie de rentats en aigua corrent durant 1 hora per tal que no quedin restes de fixador que podrien interferir en la inclusió de les mostres. S'ha iniciat aleshores, el procés de deshidratació en una sèrie d'alcohol etílic de gradació creixent (50°, 70°, 90°, 96° i absolut) essent la durada del bany en cadascun d'ells de 4-5 hores.

3.4.2. *INCLUSIÓ DEL TEIXIT*

Com a líquid intermediari s'ha usat tolué, on s'han submergit les mostres durant un temps no superior a 45 minuts, per tal que el material no s'endureixi. La inclusió s'ha realitzat en parafina a 60 °C durant 12 hores, s'ha procedit a fer un canvi de la parafina, on el teixit hi roman 8 hores més, i s'han confeccionat els blocs amb l'ajut de les pinces de Leuckart. Les mostres s'han orientat en funció de si volem aconseguir seccions longitudinals o transversals de l'intestí. Els blocs s'han seccionat amb un microtom (Jung) de manera seriada amb un gruix de 10 µm, prenent 24 mostres separades entre sí 200 µm (transversals) o 40 mostres cada 50 µm (longitudinals) i s'han recollit en un bany histològic a 37-40 °C on hi s'ha dissol't pols de gelatina a fi i efecte de que els talls es descomprimeixin i s'adhereixin bé al portaobjectes.

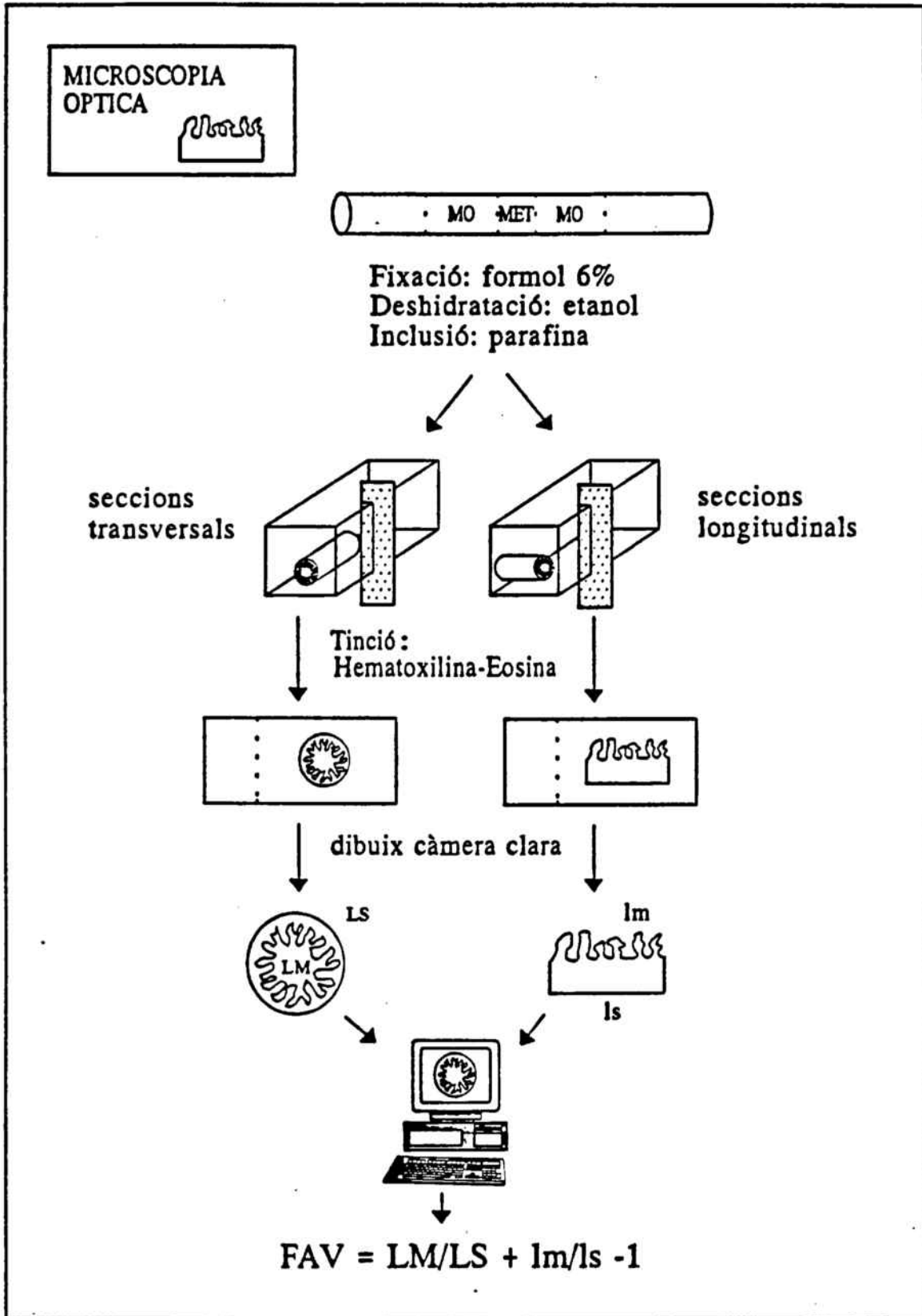


Figura 5. Esquema del procediment seguit per a l'obtenció de les dades de microscòpia òptica (MO). (MET microscòpia electrònica de transmissió, LS, LM, ls, lm capes serosals i mucosals en talls transversals i longitudinals respectivament, FAV factor d'amplificació de vellositats). (Barniol, 1993)

3.4.3. TINCIÓ DE LES SECCIONS

La tècnica que hem emprat ha estat la doble tinció Hematoxilina de Delafield-Eosina. Aquests colorants són aquosos per la qual cosa és necessari, prèviament a la tinció, procedir al desparafinament de la mostra amb xilè durant 15 minuts, en cubetes de vidre i posterior hidratació en una sèrie d'alcohol etílic de gradació decreixent (absolut, 90° i 70°, amb 10 minuts per cada pas). El protocol que hem seguit ha estat:

- A) Rentat en aigua destil.lada durant 10 minuts.
- B) Tinció amb hematoxilina de Delafield durant 5 minuts.
- C) Rentats en aigua corrent tenint cura de no perdre les mostres del portaobjectes.
- D) Rentat en aigua destil.lada durant 1 minut.
- E) Tinció amb eosina durant 3 o 4 minuts.
- F) Rentat en aigua destil.lada durant un temps suficient perquè no hi hagi restes de colorant no fixat.

Posteriorment, s'han deshidratat els talls en una cadena d'alcohol etílic de gradació creixent (90°, 95° i absolut) en banys de 10 minuts de durada i finalment en un bany de xilè durant 10 minuts. Un cop les preparacions són eixutes es tanquen amb resina DPX i ja es pot procedir a la seva observació al microscopi òptic.

3.4.4. DETERMINACIÓ DEL FACTOR D'AMPLIFICACIÓ DE LES VELLOSTATS

Amb l'ajut d'una càmera clara acoplada al microscopi s'han realitzat dibuixos de les seccions transversals i longitudinals, sobre un paper, obtenint-se un mínim de vuit il.lustracions per cada bloc. Per valorar l'augment de la superfície mucosal deguda a la presència de vellositats intestinals i també el perímetre intestinal, els dibuixos s'han processat mitjançant un sistema de anàlisi d'imatges (IMAT, Hewlett Packard). Primer de tot les imatges s'han captat a través d'un scanner treballant

amb una resolució de 100 píxels per polzada. Per a cada imatge s'obté un arxiu que es tracta posteriorment amb el programa IMAT (creat en els Serveis Científico-Técnicos de la U.B.), el qual executa un processament per lots (BATCH) :

- A) Binarització: procés per a transformar la imatge que s'ha captat en una imatge de dos nivells. Aquests nivells representen dues tonalitats extremes de color del traçat de la imatge. S'aconsegueix d'aquesta manera que aparegui el fons blanc i el contorn de la imatge negra.
- B) Esqueletització: disminució del gruix del contorn de la imatge fins a 1 píxel d'amplada, assolint així una major precisió en el càlcul.
- C) Extracció automàtica de vores: resseguiment automàtic del traçat de la imatge a la vegada que es realitza la quantificació d'una serie de variables (àrea, perímetre, ...).

Finalment s'imprimeixen els resultats que, en el nostre cas, són els perímetres mucosal i serosal. Amb la relació que s'obté dels perímetres es calcula el factor d'amplificació de les vellositats (FAV) segons Warren (1939) mitjançant la fórmula següent:

$$FAV = Lm/Ls + lm/l_s - 1$$

on Lm és el perímetre mucosal i Ls el serosal en talls transversals i lm i l_s en talls longitudinals.

3.5. MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA DE TRANSMISSIÓ

3.5.1. FIXACIÓ

Les mostres d'1 mm de llargària, abans esmentades (apartat 3.2), s'han fixat pel mètode proposat Karnovsky (1965). Es tracta de submergir el teixit en una barreja de glutaraldehyd al 2,5 % i paraformaldehyd al 2 % en solució amortidora de fosfats 0,2 M (pH=7,4), a 4° C durant 2 hores. Acabat aquest procés, les mostres s'han rentat amb solució amortidora de fosfats 0,1 M (pH=7,4) durant 1 hora amb canvis cada 15 minuts. A continuació, (Figura 6) s'ha procedit a l'osmificació o post-fixació

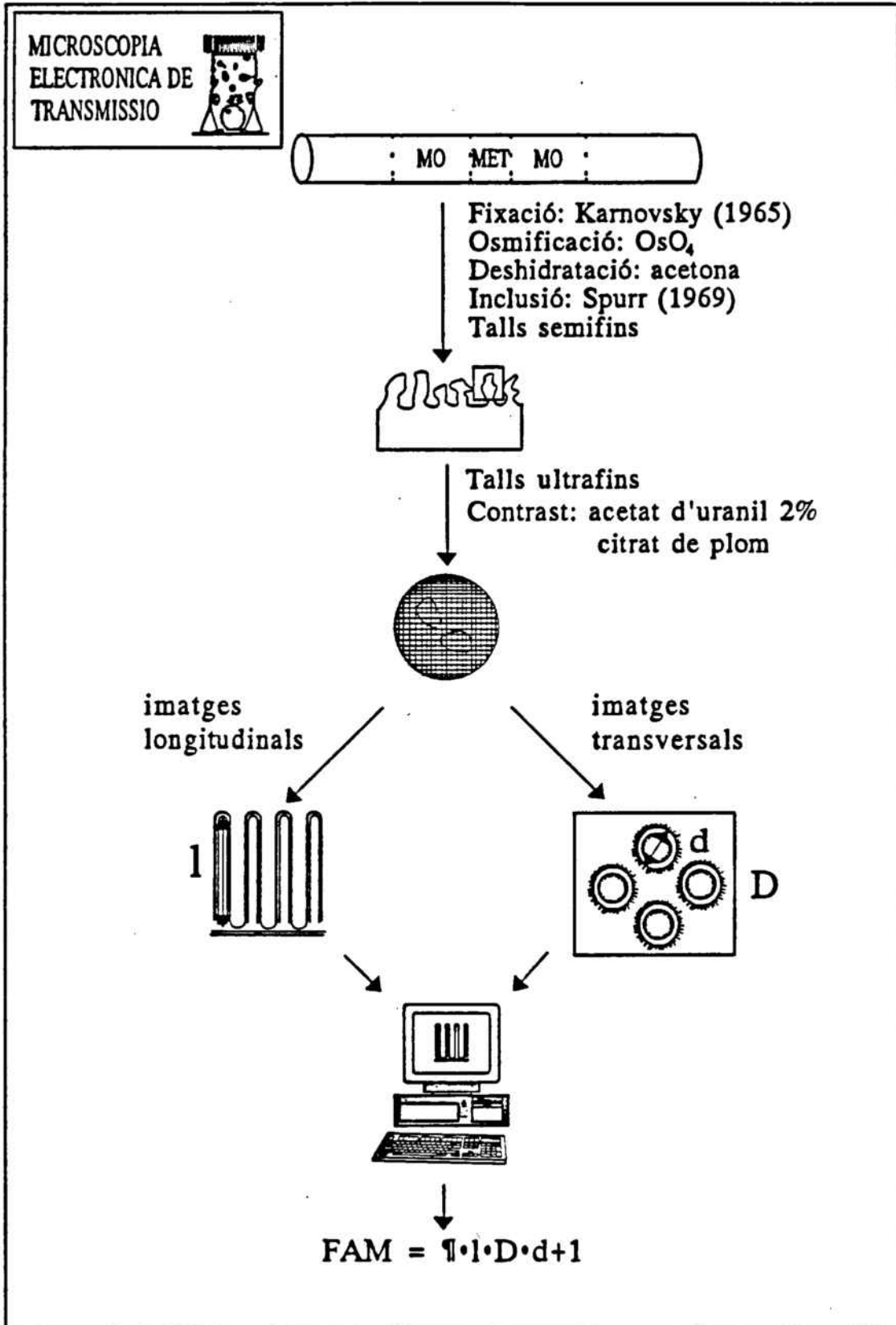


Figura 6. Esquema del procediment seguit per a l'obtenció de les dades de microscòpia electrònica de transmissió (MET). (MO microscòpia òptica, l llargària, d diàmetre, D densitat, FAM factor d'amplificació de microvil·lis. (Barniol, 1993)

amb una solució de OsO_4 a l'1 % en solució amortidora de fosfats o en aigua destil.lada, durant 1 hora a 4° C. Els rentats s'han realitzat amb solució amortidora si l' OsO_4 ha estat dissolt en solució amortidora o bé amb aigua destil.lada si ho ha estat en aquesta.

3.5.2. DESHIDRATACIÓ I INCLUSIÓ

Com a agent deshidratant s'ha usat una sèrie progressiva d'acetona de gradació creixent (50%, 70%, 90%, 96% i 100%). El primer bany (acetona al 50%) ha estat de 10 minuts i els restants de 2 x 10 minuts, excepte el d'acetona al 100% on s'han dut a terme 3 canvis de 10 minuts cadascun.

La inclusió en resina s'ha realitzat segons la tècnica descrita per **Spurr (1969)**, consta de 5 components (ERL, DER, NSA, S-1 i DBP) que s'han barrejat adequadament per a obtenir la duresa del bloc desitjada tot dependent de la consistència del material a estudiar. Les mostres s'han submergit en una solució constituïda per 1 volum de resina i 3 volums d'acetona (3:1), on hi romanen durant una hora. A continuació, s'ha augmentat la concentració de resina a 2 volums (2:2), mantenint-hi el teixit durant 2 hores i, finalment, a 3 volums (3:1), durant 5 hores. Els blocs es confeccionen amb resina pura mitjançant un motlle de sil.licona i es col.loquen en una estufa a 60 °C durant 48 hores per tal que la resina polimeritzi.

3.5.3. ULTRAMICROTOMIA I CONTRAST DE LES REIXETES

A fi i efecte de poder triar la zona a observar (punta de la vellositat), cadascun dels blocs obtinguts, s'ha estudiat primer a nivell de microscòpia òptica. Els blocs s'han piramidat (piramitom Reichert, model TM60) i s'han realitzat talls semifins d'1 μm de gruix amb l'ultramicrotòtom (Reichert Jung, model Ultracut), utilitzant ganivetes de vidre. Les seccions, recollides sobre portaobjectes, s'han tenyit amb blau de metilè al 0,5% en bòrax a l'1%, durant 50 segons i, després d'haver-les rentat amb aigua bidestil.lada, s'han assecat en una placa calefactora a 80 °C. Es repiramiden els blocs, considerant la zona desitjada, i s'obtenen els talls ultrafins de 60 nm de gruixària utilitzant ganivetes de diamant. Les seccions es col.loquen sobre reixetes de coure (200 forats/reixeta) i es contrasten amb sals de metalls pesants, per tal d'augmentar el contrastat de l'estructura. La tècnica emprada ha estat la següent:

A) Flotació de les reixetes en una solució aquosa d'acetat d'uranil al 2 % durant 30 minuts a temperatura ambient.

B) Rentats amb aigua desionitzada (qualitat Milli-Q) i assecat de les reixetes per la banda del darrera amb paper de filtre.

D) Flotació en citrat de plom segons Reynolds (1963), durant 10 minuts a temperatura ambient, i rentat amb aigua desionitzada (qualitat Milli-Q).

De cada tram intestinal estudiat (duodè, jejú i ili) s'han confeccionat un promig de 3 blocs amb 2 mostres per bloc, per cada pollastre.

3.5.4. OBTENCIÓ D'IMATGES FOTOGRÀFIQUES

Les reixetes s'han observat al microscopi electrònic de transmissió (Philips, model EM-301) a un potencial d'acceleració de 60-80 kV. De cada reixeta s'han obtingut fotografies dels microvil.lis, a 5.500 i 16.000 augments, segons siguin longitudinals o transversals, respectivament. S'han impressionat un mínim de 10 negatius en el cas dels microvil.lis transversals i un mínim de 15 en el dels longitudinals i en cadascun d'ells la qualitat de les imatges ha de permetre mesurar un terme mig de 10 microvil.lis. Els negatius obtinguts es processen directament a l'analitzador d'imatges (Kontron, model IBAS2), mitjançant la següent rutina :

A) Captació de la imatge del negatiu a estudiar mitjançant la càmera de video (funció TVON).

B) Emmagatzematge de la imatge en la memòria per tal de realitzar, tot seguit, la seva manipulació (funció TV INPUT),

C) Correcció de la il.luminació (funció LOWPAS, SHDEF, SHADE), mitjançant un conjunt de filtres de baix pas.

D) Identificació de la imatge segons la nomenclatura triada per tal de diferenciar-la de les restants (funció FILE IDENTIFICATION).

E) Calibració externa de l'escala en μm , tenint en compte l'amplificació del

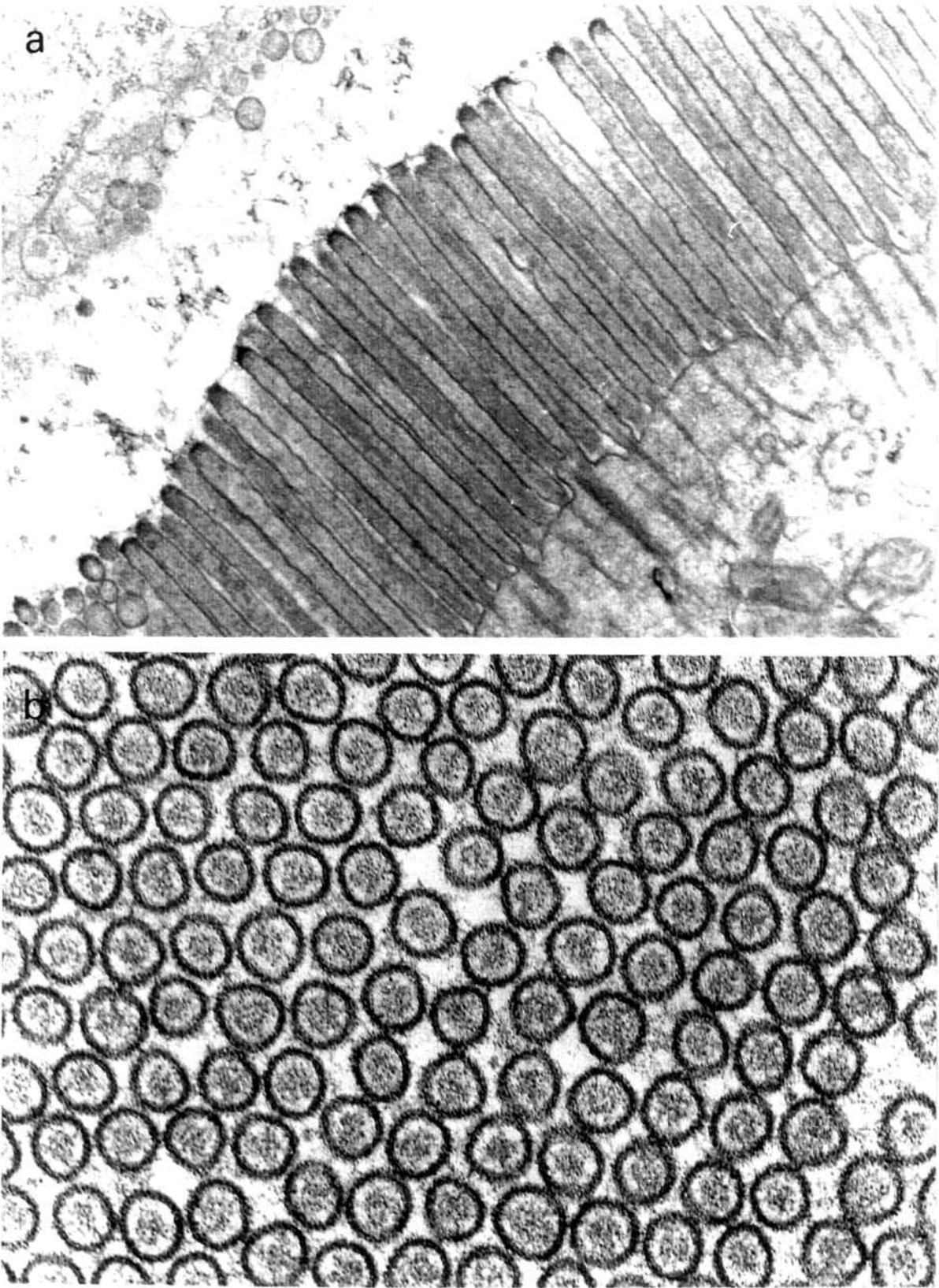


Figura 7. a) Secció longitudinal dels microvil·lis observada amb el microscopi electrònic de transmissió. x33.500. b) Secció transversal dels microvil·lis observada amb el microscopi electrònic. x97.600.

microscopi (funció SCALE).

F) Aplicació d'un filtre per a ressaltar els contorns de la imatge i corregir el possible desenfocament (funcions EMPHAS i ENHCON).

G) Esqueletització de la imatge, és a dir, disminució del gruix del seu contorn (funció BTHINN).

H) Mesura automàtica de cadascun dels segments traçats (funció MEASUR).

I) Rutina d'interactivitat, només utilitzada en cas de microvil.lis transversals, per delimitar un àrea concreta i calcular la densitat d'aquests (funció EDIT).

J) Impressió i emmagatzematge de les dades (funció OUTSLG).

Mitjançant aquest sistema s'ens ha permès mesurar: la llargària dels microvil.lis en les seves imatges longitudinals i el diàmetre i la densitat d'aquests en les seves imatges transversals. Amb aquests resultats s'ha calculat el factor d'amplificació dels microvil.lis (FAM) segons Ferraris *et al.* (1989):

$$FAM = \pi.l.d.D + 1$$

on l és la llargària dels microvil.lis, d el diàmetre i D la densitat.

3.6. ANÀLISI ESTADÍSTICA

Les dades obtingudes en l'estudi macroscòpic, en l'òptic i en l'electrònic, s'han analitzat usant mètodes d'anàlisi de la variança (ANOVA) de models lineals. Per al contrast d'hipòtesi s'ha utilitzat un nivell α del 0,05, fixant-se els intervals d'estimació en un 95 %. S'ha cregut convenient efectuar una anàlisi comparativa des de dues vessants diferents: l'edat de l'animal i el tram intestinal sotmès a estudi. Tant en el text com en les taules el símbol "=" s'ha utilitzat quan no hi ha elements suficients per a descartar la hipòtesi nul.la i els símbols "<" i ">" quan se'n disposa.

4.RESULTATS

A continuació es presenten les dades obtingudes en aquest estudi morfomètric realitzat en animals de 2 setmanes (2 set), 3 setmanes (3 set), 5 setmanes (5 set) i 12 setmanes d'edat (12 set). Es mostra per a cada pollastre, la mitjana (M), l'error estàndard (ϵ) i el nombre de dades (n), per cadascuna de les edats i per als diferents segments intestinal estudiats, duodè (D), jejú (J) i ili (I). Per algunes de les variables, tals com el perímetre intestinal, les relacions del contorn mucosal i serosal així com també la llargària, diàmetre i densitat dels microvil·lis, el resultat presentat per cada animal és en realitat la mitjana d'un nombre determinat de dades (10-15). En els diagrames de barres es representen les mitjanes i els errors estàndard.

Enquadrem les dades obtingudes en tres nivells diferents:

- macroscòpic
- microscòpia òptica (MO)
- microscòpia electrònica de transmissió (MET).

A més, hi ha un quart grup de resultats que hem anomenat resultats finals, en els que integrem dades procedents dels altres tres nivells per tal de calcular noves variables.

4.1. ESTUDI MACROSCÒPIC

4.1.1. EVOLUCIÓ DEL PES DELS ANIMALS

Mostrem a la taula 1 l'evolució del pes dels animals en la que s'observa que els animals augmenten de pes en funció de l'edat.

4.1.2. LLARGÀRIA DELS SEGMENTS INTESTINALS

A la taula 2 i a la figura 8 es mostren els resultats obtinguts de la mesura de la llargària del duodè, jejú i ili. Veiem que per al duodè hi ha un augment de la llargària en els animals de 3 setmanes respecte els de 2, mentre que pels de 5 setmanes roman constant enfront els de 3, i que torna a augmentar a les 12 setmanes.

Pel que fa a l'estudi regional, el duodè és el segment més curt, seguit de l'ili i del jejú, no havent-hi, en el cas dels animals de 2 i de 12 setmanes diferències estadísticament significatives entre el jejú i l'ili.

4.1.3. PERÍMETRE DELS SEGMENTS INTESTINALS

S'exposen els resultats del perímetre intestinal a la taula 3 i a la figura 9, dels quals podem comentar que mentre en el duodè augmenta amb l'edat, en el jejú i l'ili romanen invariables a partir de les 3 setmanes.

Observant els diferents segments en les diferents edats, es veu que tenen un perímetre constant al llarg de tot l'intestí prim a les 2 i 3 setmanes. No succeeix el mateix a les 5 i 12 setmanes en les que el perímetre disminueix en sentit distal.

4.1.4. SUPERFÍCIE NOMINAL DELS SEGMENTS INTESTINALS

Calculem la superfície nominal a partir del producte de la llargària del segment intestinal pel seu perímetre i correspon a la superfície serosal, assumint que l'intestí és un cilindre. Els resultats, calculats a partir de les taules 2 i 3 es troben representats a la taula 4 i a la figura 10.

De l'estudi d'aquests valors podem dir, que hi ha un augment de la superfície nominal tant en el duodè com en el jejú en funció de l'edat, en canvi l'ili no presenta canvis entre les 2 i les 5 setmanes, existint-ne, però, entre les 5 i les 12 i les 2 i les 12 setmanes.

Per regions hi ha una disminució en sentit distal excepte a les 2 setmanes on no hi ha diferències estadístiques significatives entre el jejú i l'ili.

4.1.5. RELACIÓ PES HUMIT/LLARGÀRIA

Aquest paràmetre és necessari per poder calcular la gruixària de la paret i també per expressar tots els resultats respecte el pes humit de l'intestí. Els trobem representats tant a la taula 5 com a la figura 11, on s'hi poden observar que per tots els segments hi ha un augment significatiu en el pas de 3 a 5 setmanes.

L'estudi regional mostra en el duodè un augment envers el jejú i aquest no varia respecte l'ili a les 2 i 12 setmanes, mentre que a les 3 i a les 5 setmanes els valors del jejú són més grans que els de l'ili.

4.1.6. GRUIXÀRIA DE LA PARET

A la taula 6 i al figura 12 es mostren els valors de la gruixària de la paret calculada a partir de la superfície nominal, la llargària del segment i de la relació pes humit/llargària. No es veu una variació significativa d'aquesta variable al llarg del desenvolupament a excepció del duodè que presenta el màxim valor a les dues setmanes i després no mostra diferències notables. En el cas de l'ili s'han trobat diferències entre els animals de 3 i els de 12 setmanes.

Pel que fa als diferents segments, podem dir que el duodè presenta els valors més alts de totes tres regions en totes les edats, no existint diferències entre els animals de 3 i els de 12 setmanes.

Taula 1. Pes corporal (g) dels animals de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.							
2 set	Pes	3 set	Pes	5 set	Pes	12 set	Pes
19	67,7	3	137,5	1	365,0	6	1.346
20	69,5	4	169,1	2	318,0	7	1.535
21	93,7	5	175,3	13	471,9	11	1.291
22	84,0	8	135,0	14	456,7	12	1.550
23	95,0	9	183,4	15	500,8	17	1.325
		10	165,0	16	414,5	18	1.140
M	82,0	M	160,9	M	421,2	M	1.364
ε	5,6	ε	8,2	ε	28,3	ε	63,6
n	5	n	6	n	6	n	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Pes pollastres 2 set < 3set < 5 set < 12 set

Taula 2. Llargària (cm) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	13,8	32,1	30,2	3	16,5	35,0	31,3	1	-	-	-	6	28,5	53,9	50,8
20	12,5	26,9	23,3	4	15,4	36,5	30,2	2	-	-	-	7	22,2	51,2	46,9
21	14,1	30,7	32,0	5	15,7	32,5	27,5	13	16,7	44,0	40,2	11	28,0	44,8	47,7
22	12,3	30,7	30,3	8	17,3	38,4	30,2	14	20,5	42,8	37,2	12	21,2	51,4	44,5
23	13,8	29,3	26,8	9	19,2	39,0	30,7	15	19,8	41,5	39,4	17	22,8	47,1	44,1
				10	15,4	40,8	35,3	16	17,9	41,4	33,9	18	21,8	42,2	34,8
M	13,3	29,9	28,5	M	16,6	37,0	30,9	M	18,7	42,4	37,7	M	24,1	48,4	44,8
ε	0,4	0,9	1,6	ε	0,6	1,2	1,0	ε	0,9	0,6	1,4	ε	1,3	1,8	2,2
n	5	5	5	n	6	6	6	n	4	4	4	n	6	6	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set = 5 set < 12 set J: 2 set < 3 set < 5 set < 12 set I: 2 set = 3 set < 5 set < 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D < J = I 3 set: D < I < J 5 set: D < I < J 12 set: D < J = I</p>

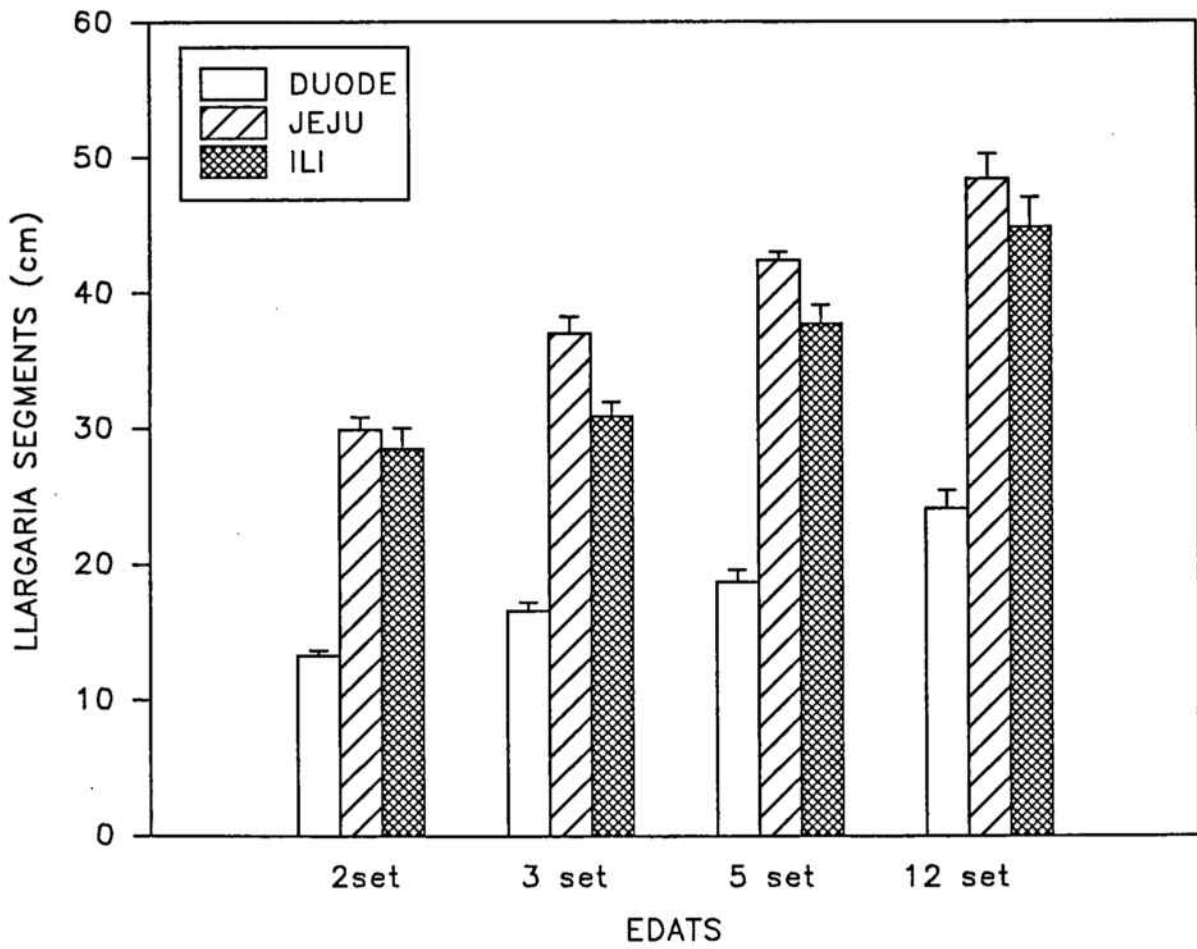


Figura 8. Llargària (cm) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 3. Perímetre intestinal (cm) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	-	0,78	-	3	1,11	1,01	0,92	1	1,09	0,91	0,91	6	1,33	1,44	1,03
20	-	0,68	-	4	1,13	0,96	1,01	2	1,44	0,85	0,90	7	1,52	-	1,34
21	0,80	0,67	0,73	5	1,10	1,20	0,95	13	-	1,16	0,78	11	1,33	1,13	1,16
22	0,87	0,80	0,74	8	1,00	1,22	0,89	14	1,34	1,13	1,03	12	1,44	1,18	0,99
23	-	-	-	9	0,93	0,90	1,08	15	1,18	1,21	0,93	17	1,30	1,09	0,86
				10	1,03	1,09	-	16	1,17	1,15	0,89	18	1,61	1,13	1,03
M	0,84	0,73	0,74	M	1,05	1,06	0,97	M	1,24	1,07	0,91	M	1,42	1,19	1,07
ε	0,03	0,03	5·10 ⁻³	ε	0,03	0,05	0,03	ε	0,06	0,06	0,03	ε	0,05	0,06	0,07
n	2	4	2	n	6	6	5	n	5	6	6	n	6	5	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set < 5 set < 12 set</p> <p>J: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>I: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J = I</p> <p>3 set: D = J = I</p> <p>5 set: D > J > I</p> <p>12 set: D > J > I</p>

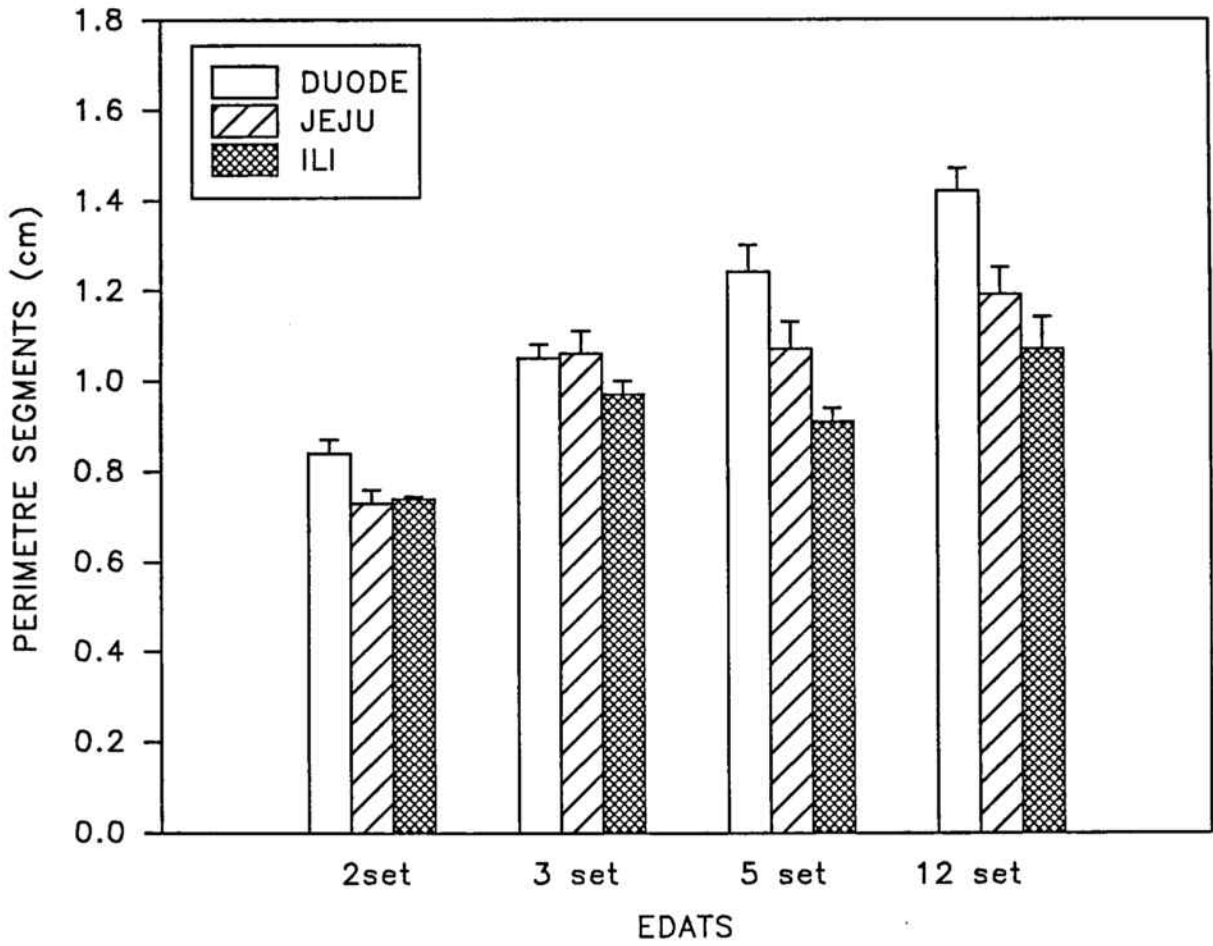


Figura 9. Perímetre intestinal (cm) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 4. Superfície nominal (cm²) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	-	25,0	-	3	18,0	35,4	28,8	1	-	-	-	6	27,3	77,6	52,3
20	-	18,3	-	4	16,6	34,7	30,5	2	-	-	-	7	33,7	-	62,9
21	11,3	20,6	23,3	5	16,5	39,0	26,1	13	-	51,1	31,3	11	36,3	50,6	55,3
22	10,7	24,6	22,4	8	16,8	46,8	26,9	14	26,1	48,4	38,4	12	29,1	60,6	44,0
23	-	-	-	9	17,9	35,1	33,2	15	22,7	50,2	36,6	17	28,3	51,3	37,9
				10	15,1	44,5	-	16	19,6	47,6	30,2	18	35,0	47,7	35,8
M	11,0	22,1	22,9	M	16,8	39,2	29,1	M	22,8	49,3	34,1	M	31,6	57,6	48,6
ε	0,3	1,6	0,4	ε	0,4	2,2	1,3	ε	1,9	0,8	2,0	ε	1,7	5,5	4,3
n	2	4	2	n	6	6	5	n	3	4	4	n	6	5	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set < 5 set < 12 set</p> <p>J: 2 set < 3 set < 5 set < 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set < 12 set, però 2 set < 5 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D < J = I</p> <p>3 set: D < I < J</p> <p>5 set: D < I < J</p> <p>12 set: D < I < J</p>

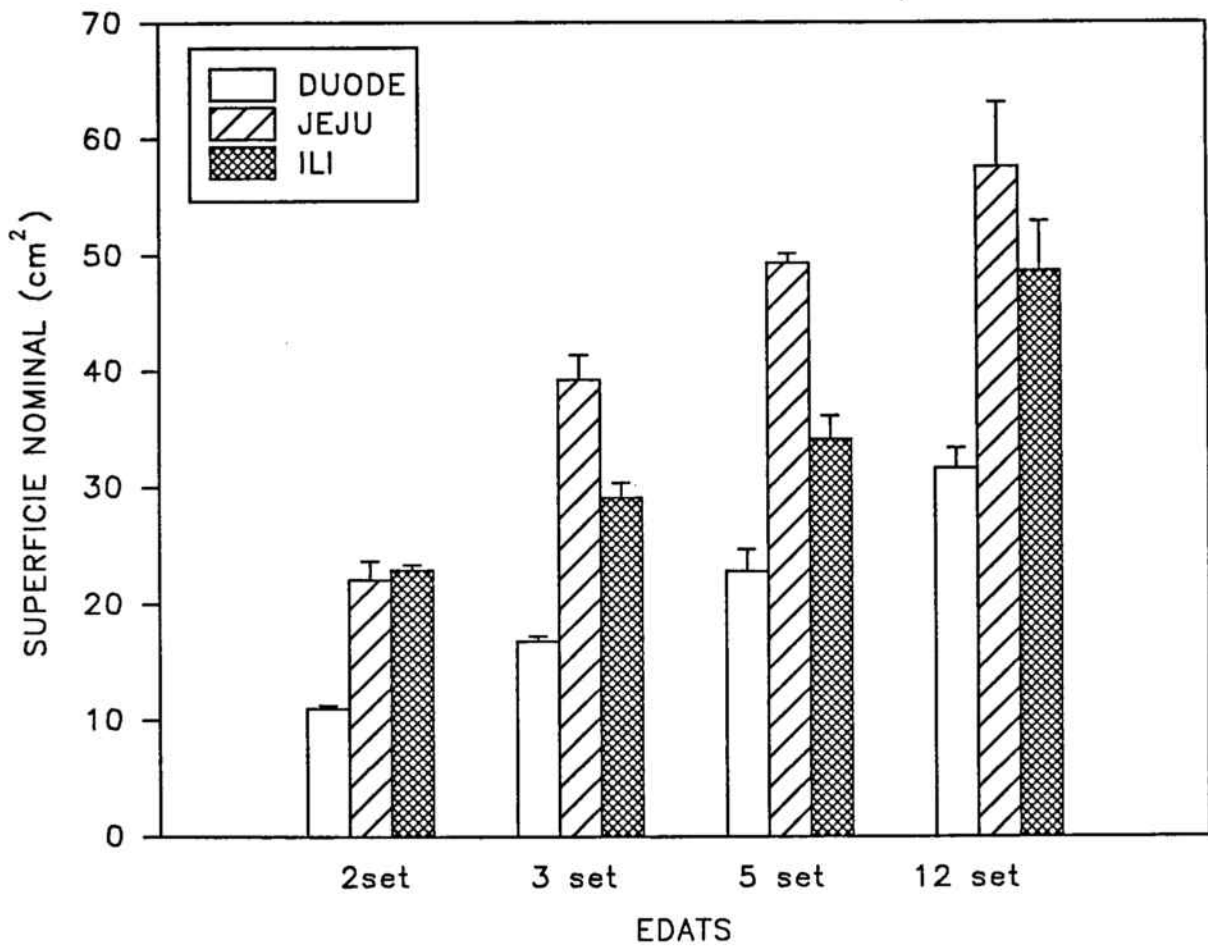


Figura 10. Superfície nominal (cm²) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 5. Relació pes humit/llargària (mg/cm segment intestinal) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	156,7	135,8	114,4	3	168,2	79,4	72,2	1	312,8	174,5	139,6	6	261,4	190,7	152,7
20	160,6	85,7	105,2	4	160,4	96,6	93,9	2	265,3	250,4	176,3	7	283,5	145,4	172,6
21	167,6	65,5	120,2	5	166,0	122,9	85,2	13	293,8	159,2	130,7	11	218,0	162,0	171,5
22	263,2	85,0	84,1	8	178,1	207,5	116,6	14	233,6	228,3	135,9	12	263,5	159,6	132,8
23	145,2	142,3	82,2	9	190,2	112,2	125,3	15	255,7	194,0	138,9	17	242,6	150,0	142,6
				10	151,4	151,5	71,6	16	183,6	130,3	96,1	18	323,3	213,5	152,2
M	178,7	102,9	101,2	M	169,0	128,4	94,1	M	257,5	189,4	136,2	M	265,4	170,2	154,1
ε	24,4	13,0	6,9	ε	4,6	14,1	7,3	ε	15,3	12,1	7,5	ε	14,2	13,1	9,4
n	10	10	10	n	12	12	12	n	12	12	12	n	12	12	12

ANÀLISI ESTADÍSTICA	
Efecte de l'edat	D: 2 set = 3 set < 5 set = 12 set J: 2 set = 3 set < 5 set = 12 set I: 2 set = 3 set < 5 set = 12 set
Diferències regionals	2 set: D > J = I 3 set: D > J > I 5 set: D > J > I 12 set: D > J = I

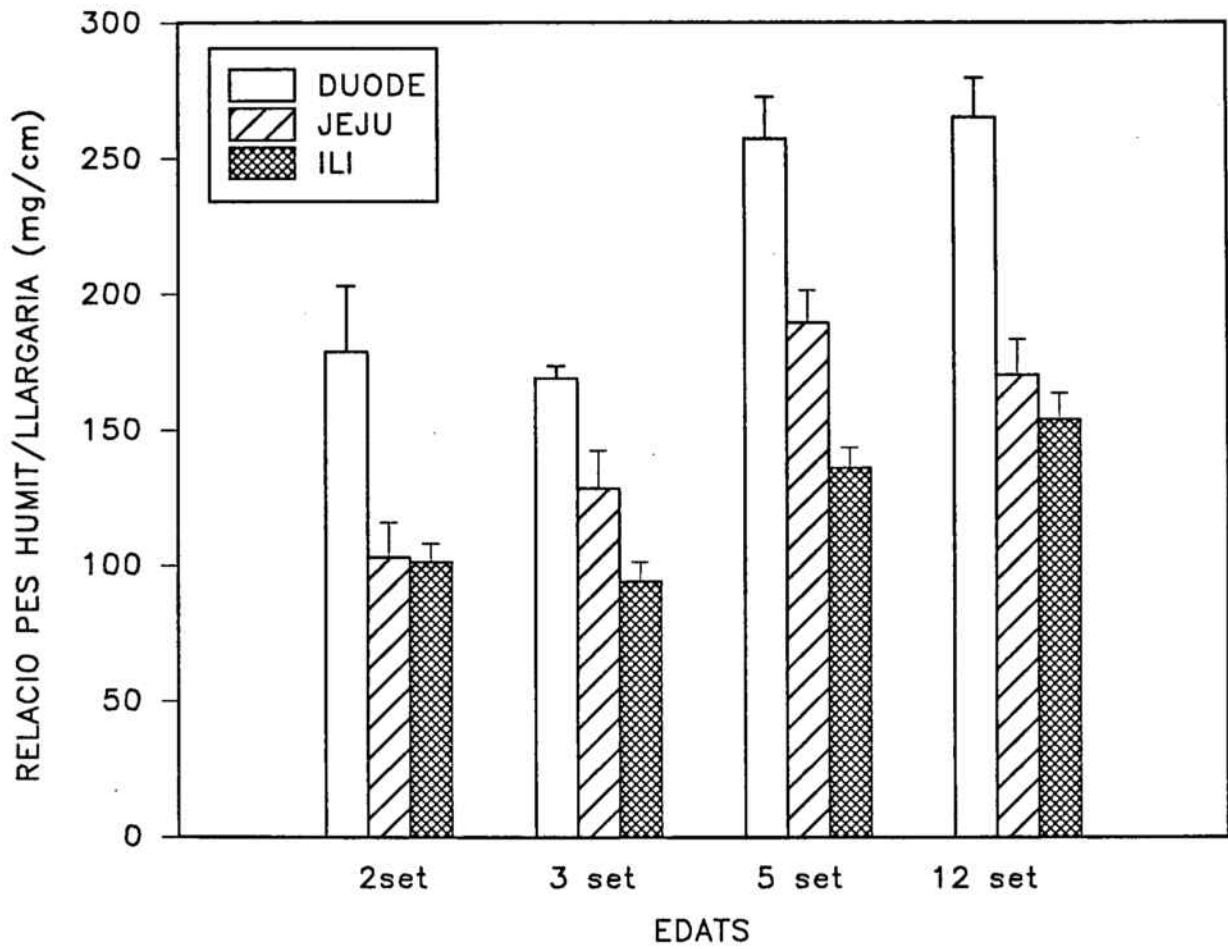


Figura 11. Relació pes humit /llargària (mg/cm) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 6. Gruxària de la paret intestinal (cm) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	-	0,164	-	3	0,142	0,074	0,074	1	-	-	-	6	0,185	0,125	0,140
20	-	0,119	-	4	0,134	0,096	0,088	2	-	-	-	7	0,176	-	0,122
21	0,198	0,092	0,155	5	0,142	0,097	0,085	13	-	0,129	0,158	11	0,155	0,135	0,139
22	0,285	0,100	0,107	8	0,168	0,160	0,124	14	0,164	0,190	0,124	12	0,173	0,128	0,126
23	-	-	-	9	0,193	0,118	0,109	15	0,204	0,151	0,141	17	0,176	0,130	0,156
				10	0,139	0,131	-	16	0,148	0,169	0,102	18	0,189	0,178	0,139
M	0,246	0,119	0,131	M	0,153	0,113	0,096	M	0,172	0,144	0,131	M	0,176	0,139	0,137
ε	0,04	0,02	0,02	ε	9·10 ⁻³	5·10 ⁻³	9·10 ⁻³	ε	0,02	0,02	0,01	ε	5·10 ⁻³	0,01	5·10 ⁻³
n	2	2	2	n	6	6	5	n	3	4	4	n	6	5	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set > 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>J: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 3 set < 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D > J = I</p> <p>3 set: D > J = I</p> <p>5 set: D > J = I</p> <p>12 set: D > J = I</p>

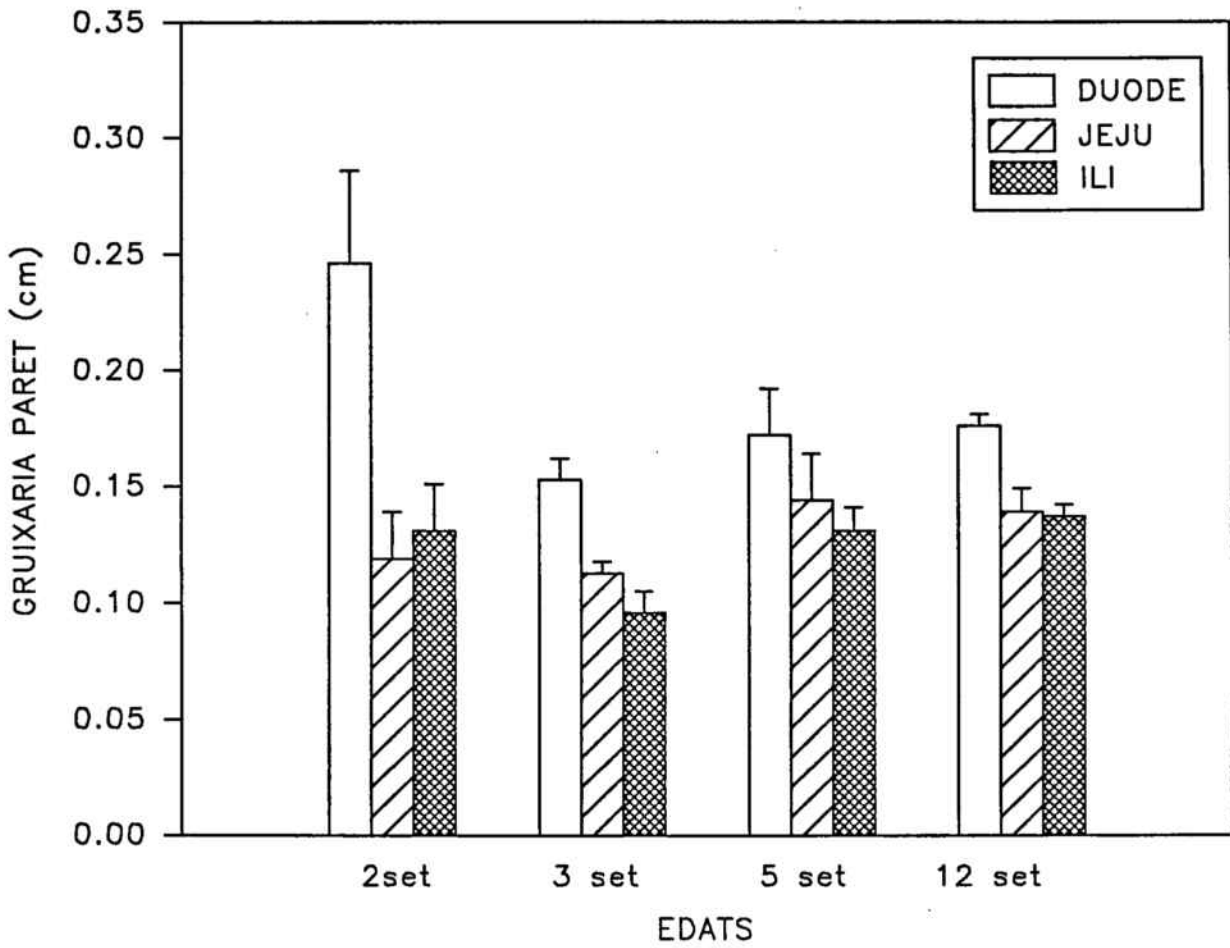


Figura 12. Gruixària de la paret (cm) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

4.2. MICROSCÒPIA ÒPTICA

4.2.1. RELACIÓ DEL CONTORN MUCOSAL RESPECTE DEL SEROSAL

Aquesta relació s'ha fet tant per seccions transversals com per longitudinals i per això s'adjunten taules i gràfiques per cadascuna d'elles, la taula 7 i la figura 13 i la taula 8 i la figura 14, respectivament. Com ja s'ha dit en una secció anterior (Materials i mètodes), aquests valors són necessaris pel càlcul del factor d'amplificació degut a les vellositats.

L'estudi d'ambdós factors no ha donat els mateixos resultats estadístics. Per les seccions transversals, veiem que tant per al duodè com per al jejú hi ha un augment en el pas de 2 a 3 setmanes i després roman constant. En l'ili és més complicat, ja que en un primer moment no hi han diferències significatives degudes a l'edat, però després s'observa que aquesta relació és més petita a les 2 que a les 12 setmanes i també a les 3 que a les 12. Per les seccions longitudinals el duodè presenta el mateix comportament que en el cas anterior i el jejú i l'ili es mantenen constants al llarg de l'edat, a excepció del jejú on la relació, a les 2 setmanes, és més petita que a les 5.

En l'estudi regional trobem que a les 2 setmanes els tres segments no presenten diferències tant en seccions transversals com longitudinals. A les 3 setmanes el duodè és més gran que el jejú, però el jejú només presenta valors més grans que l'ili en seccions transversals, no en longitudinals. El jejú presenta envers l'ili a les 5 setmanes un augment significatiu (en ambdòs tipus de relacions), mentre que en el duodè la relació augmenta en les seccions transversals i es manté igual en les longitudinals respecte el jejú. Per als animals de 12 setmanes el comportament és el mateix en de les relacions transversals i longitudinals essent en el cas del duodè igual que en el jejú i aquesta relació més gran que en el cas de l'ili.

4.2.2. FACTOR D'AMPLIFICACIÓ DE LES VELLOSTATS

Calculat a partir de les relacions del contorn mucosal respecte del serosal, com ja s'ha dit, els valors es presenten a la taula 9 i a la figura 15.

Al llarg del desenvolupament, el duodè presenta un increment de les 2 a les 3 setmanes, decreix fins a les 5 i no hi ha diferència entre aquesta edat i les 12 setmanes. El jejú presenta un màxim valor a les 3 setmanes, que després sembla

no variar amb l'edat. I finalment l'ili no presenta variacions, al llarg del desenvolupament.

Pel que fa a l'estudi regional, a les 2 setmanes no hi han variacions, a les 3 hi ha una disminució en sentit distal, i a les 5 i a les 12 setmanes el duodè no presenta diferències significatives enfront del jejú, i aquest té un valor major que l'ili.

Taula 7. Relació del contorn mucosal respecte del serosal en seccions transversals del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
	19	-	3,1	-	3	8,3	8,0	4,0	1	6,2	3,6	2,4	6	10,3	6,0
20	-	5,7	-	4	10,6	8,3	4,3	2	11,5	7,4	-	7	7,9	9,6	4,5
21	4,8	4,5	3,8	5	10,6	7,5	4,4	13	7,0	-	4,1	11	5,9	6,3	4,8
22	5,4	5,4	3	8	6,6	5,8	3,0	14	8,0	6,5	4,6	12	6,9	5,9	5,4
23	-	-	-	9	8,2	6,4	3,0	15	6,5	7,4	5,6	17	7,4	6,8	4,8
				10	9,6	5,4	-	16	8,4	6,4	4,2	18	8,8	7,2	5,9
M	5,1	4,7	3,4	M	8,9	6,9	3,7	M	7,9	6,3	4,2	M	7,7	6,7	5,1
ε	0,3	0,6	0,4	ε	0,7	0,5	0,3	ε	0,8	0,7	0,5	ε	0,6	0,6	0,2
n	2	4	2	n	6	6	5	n	6	5	5	n	6	6	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>J: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set < 12 set i 3 set < 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J = I</p> <p>3 set: D > J > I</p> <p>5 set: D > J > I</p> <p>12 set: D = J > I</p>

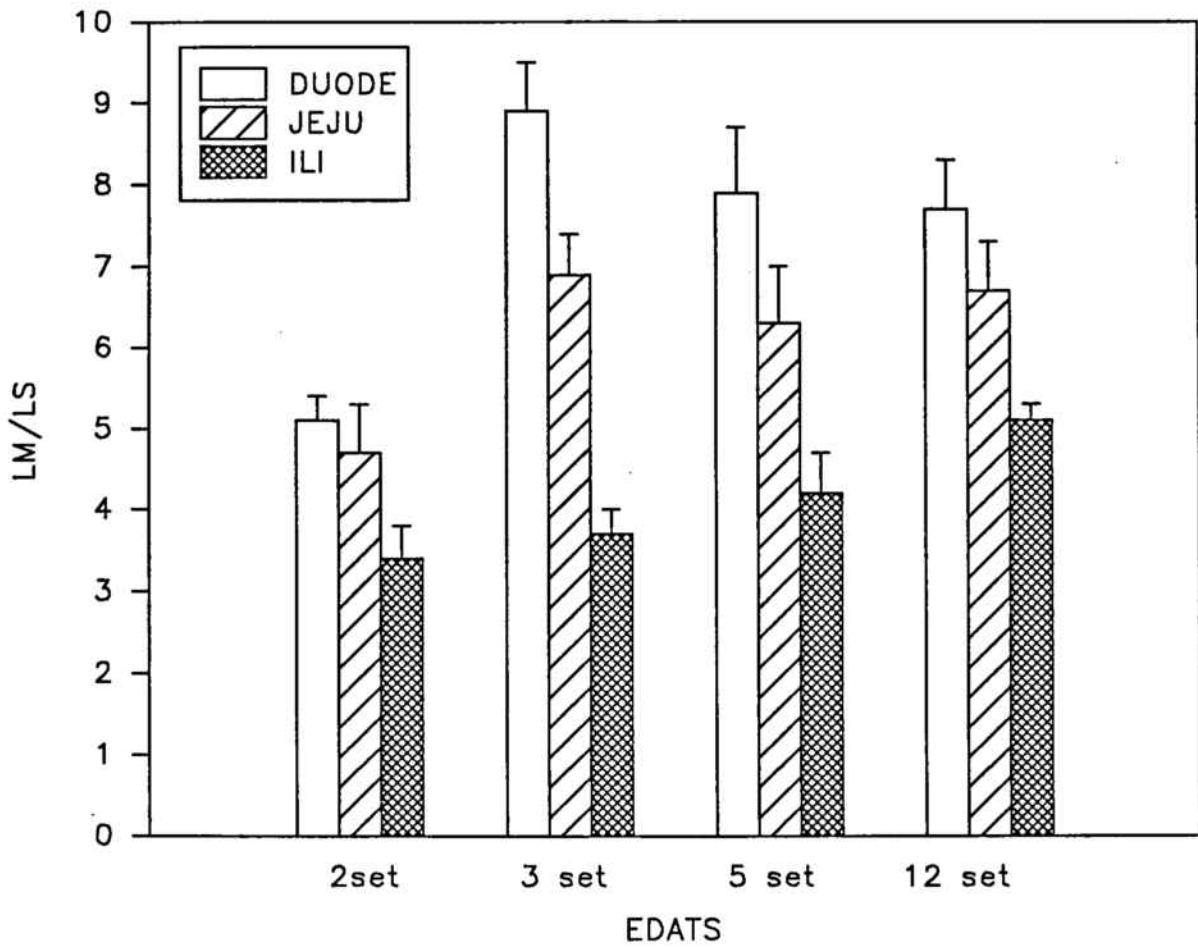


Figura 13. Relació del contorn mucosal respecte del serosal en seccions transversals del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 8. Relació del contorn mucosal respecte el serosal en seccions longitudinals del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	6,2	7,0	5,3	3	-	8,7	-	1	-	-	4,7	6	11,6	13,1	6,0
20	6,4	6,2	6,2	4	15,7	11,4	6,6	2	12,4	9,5	8,4	7	12,2	12,5	5,4
21	6,6	5,5	4,4	5	16,0	10,1	8,8	13	5,6	9,1	7,3	11	-	7,7	4,8
22	8,1	8,4	4,7	8	10,0	5,9	5,0	14	14,7	9,8	7,0	12	6,0	4,2	6,6
23	-	5,7	7,1	9	16,0	4,9	5,6	15	11,0	12,3	8,6	17	13,9	9,7	6,6
				10	16,0	8,6	-	16	11,4	11,8	5,1	18	9,1	12,4	6,4
M	6,8	6,6	5,5	M	14,7	8,3	6,5	M	11,0	10,5	6,8	M	10,6	9,9	5,7
ε	0,4	0,5	0,5	ε	1,2	1,0	0,8	ε	1,5	0,6	0,7	ε	1,4	1,4	0,3
n	4	5	5	n	5	6	4	n	5	5	6	n	5	6	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>J: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set < 5 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J = I</p> <p>3 set: D > J = I</p> <p>5 set: D = J > I</p> <p>12 set: D = J > I</p>

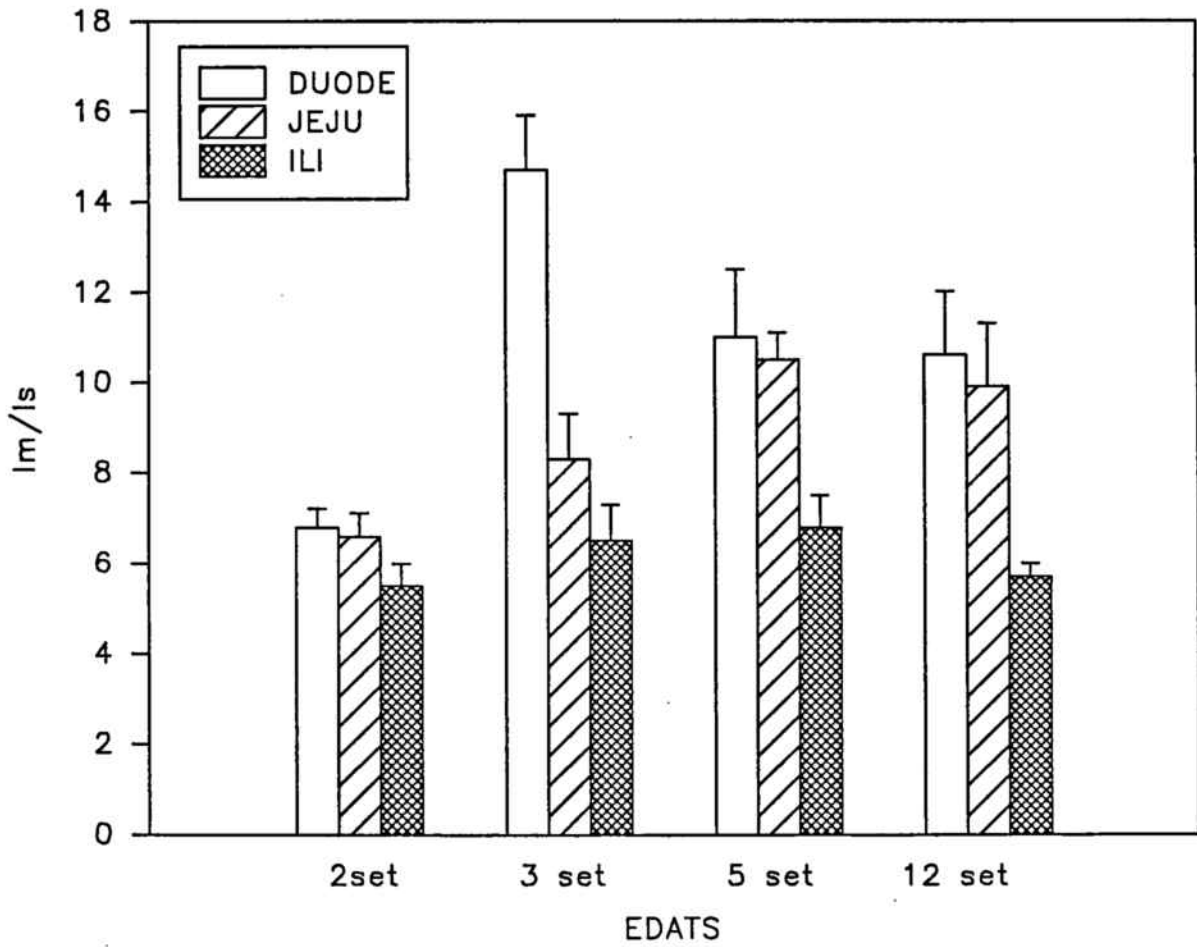


Figura 14. Relació del contorn mucosal respecte del serosal en seccions longitudinals del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 9. Factor d'amplificació de les vellositats del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	-	9,1	-	3	-	15,7	-	1	-	-	6,1	6	20,9	18,1	10,3
20	-	10,9	-	4	25,6	18,7	9,9	2	22,9	15,9	-	7	19,1	21,1	8,9
21	10,4	9,0	7,2	5	19,6	16,6	12,2	13	11,6	-	10,4	11	-	13,0	8,6
22	12,5	12,8	7,3	8	21,6	10,7	7,0	14	21,7	15,3	10,6	12	11,9	9,1	11,0
23	-	-	-	9	23,2	10,3	7,6	15	16,5	18,7	13,2	17	20,3	15,5	10,4
				10	24,6	13,1	-	16	18,8	17,2	8,3	18	16,9	18,6	11,3
M	11,4	10,4	7,2	M	22,9	14,2	9,2	M	18,3	16,8	9,7	M	17,8	15,9	10,1
€	1,0	0,9	0,05	€	1,1	1,4	1,1	€	2,0	0,8	1,2	€	1,6	1,8	0,4
n	2	4	2	n	5	6	4	n	5	4	5	n	5	6	6

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 3 set > 5 set = 12 set > 2 set J: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J = I 3 set: D > J > I 5 set: D = J > I 12 set: D = J > I</p>

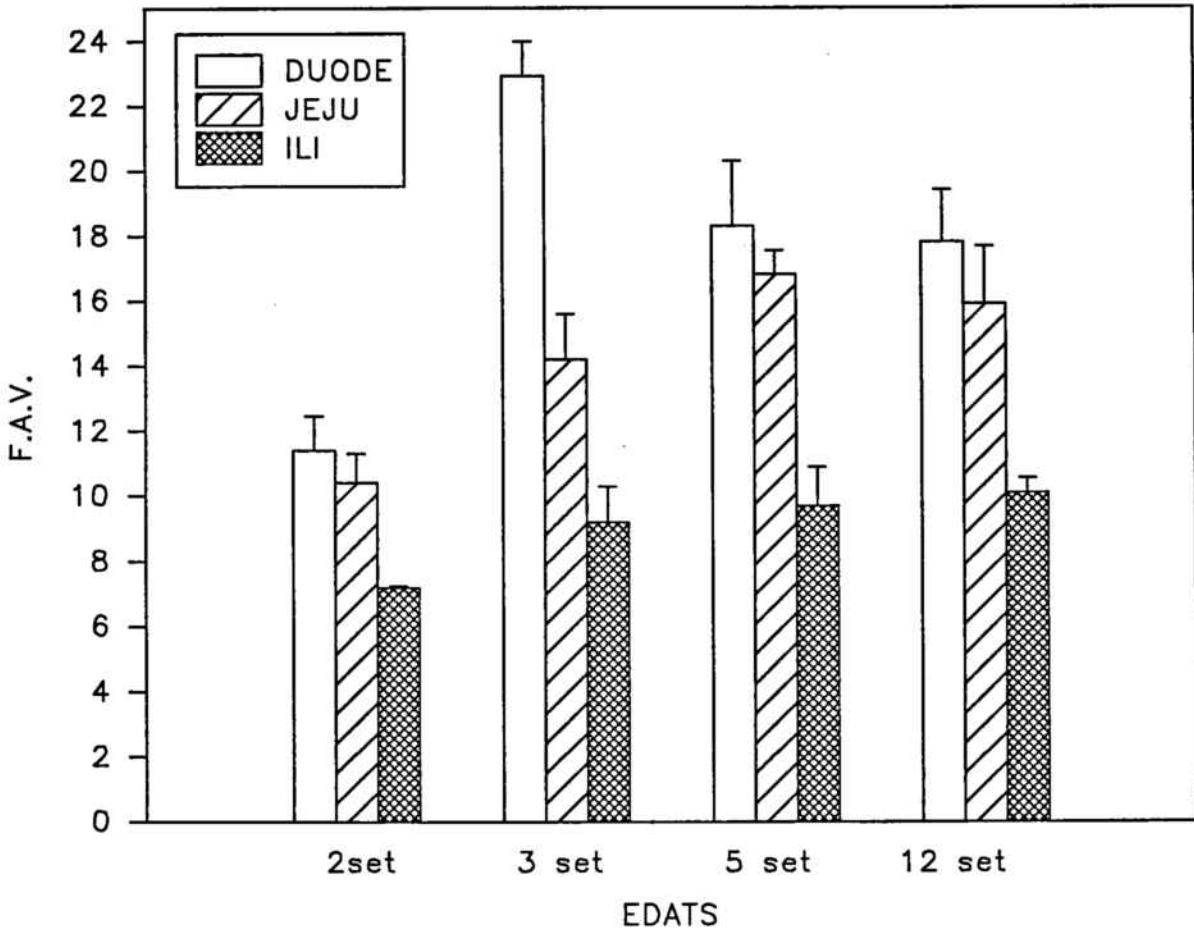


Figura 15. Factor d'amplificació de les vellositats del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

4.3. MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA DE TRANSMISSIÓ

4.3.1. LLARGÀRIA DELS MICROVIL.LIS

Els resultats obtinguts es presenten a la taula 10 i a la figura 16. L'estudi dels diferents segments a les diferents edats mostra, que no hi ha variació al llarg del desenvolupament. En el duodè a les 2 setmanes hi ha diferències estadísticament significatives entre els animals de 2 i de 12 setmanes i en el jejú i l'ili entre els de 2 i 12 i entre els de 3 i 12 setmanes.

El resultat de l'estudi regional, és igual per a totes les edats, no hi ha diferències entre el duodè i el jejú, presentant aquests segments microvi.lis més llargs que l'ili.

4.3.2. DIÀMETRE DELS MICROVI.LIS

A la taula 11 i a la figura 17 hi figura el diàmetre dels microvi.lis, podent-hi observar que no hi han variacions entre cap de les quatre edats en estudi, a excepció del duodè i el jejú que a les 2 setmanes que tenen un diàmetre menor que a les 12 setmanes.

Pel que fa a l'estudi regional, no hi ha diferències significatives entre els diferents segments.

4.3.3. DENSITAT DELS MICROVI.LIS

Tant a les 2, com a les 3, a les 5 i a les 12 setmanes, la densitat és molt similar. Per regions, la densitat del duodè, tant a les 3 com a les 12 setmanes, és més gran que la del jejú i l'ili, essent aquestes últimes semblants entre si. Tot això es pot deduir dels valors representats en la taula 12 i la figura 18.

4.3.4. FACTOR D'AMPLIFICACIÓ DELS MICROVI.LIS

Representat tant a la taula 13 com a la figura 19, només es troben diferències a tenir en compte a nivell de l'ili entre 3 i 12 setmanes, en el qual el valor en el primer cas és menor que en el segon.

Per regions s'obté que l'ili presenta els valors més baixos davant del duodè i del jejú, entre els que no hi ha diferències.

Microcòpia electrònica de transmissió

Taula 10. Llargària dels microvil·lis (μm) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	1,00	1,80	0,97	3	1,14	1,11	0,78	1	1,41	1,40	0,94	6	1,45	1,85	0,93
20	1,14	1,45	0,86	4	1,22	1,01	0,81	2	1,12	1,39	0,73	7	-	1,98	-
21	1,67	1,37	1,05	5	1,71	1,29	0,89	13	-	1,93	1,08	11	-	2,17	1,42
22	1,38	1,52	1,09	8	1,39	1,79	0,91	14	-	-	1,36	12	-	2,24	1,52
23	1,49	1,54	0,93	9	1,32	1,34	0,89	15	1,61	1,92	1,11	17	1,96	1,65	1,17
				10	1,65	1,74	-	16	1,59	1,62	1,04	18	1,92	1,27	1,01
M	1,34	1,54	0,98	M	1,40	1,38	0,86	M	1,43	1,65	1,04	M	1,78	1,86	1,21
ϵ	0,1	0,07	0,04	ϵ	0,09	0,1	0,03	ϵ	0,1	0,1	0,08	ϵ	0,2	0,2	0,1
n	5	5	5	n	6	6	5	n	4	5	6	n	3	6	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set < 12 set</p> <p>J: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set < 12 set i 3 set < 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set < 12 set i 3 set < 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J > I</p> <p>3 set: D = J > I</p> <p>5 set: D = J > I</p> <p>12 set: D = J > I</p>

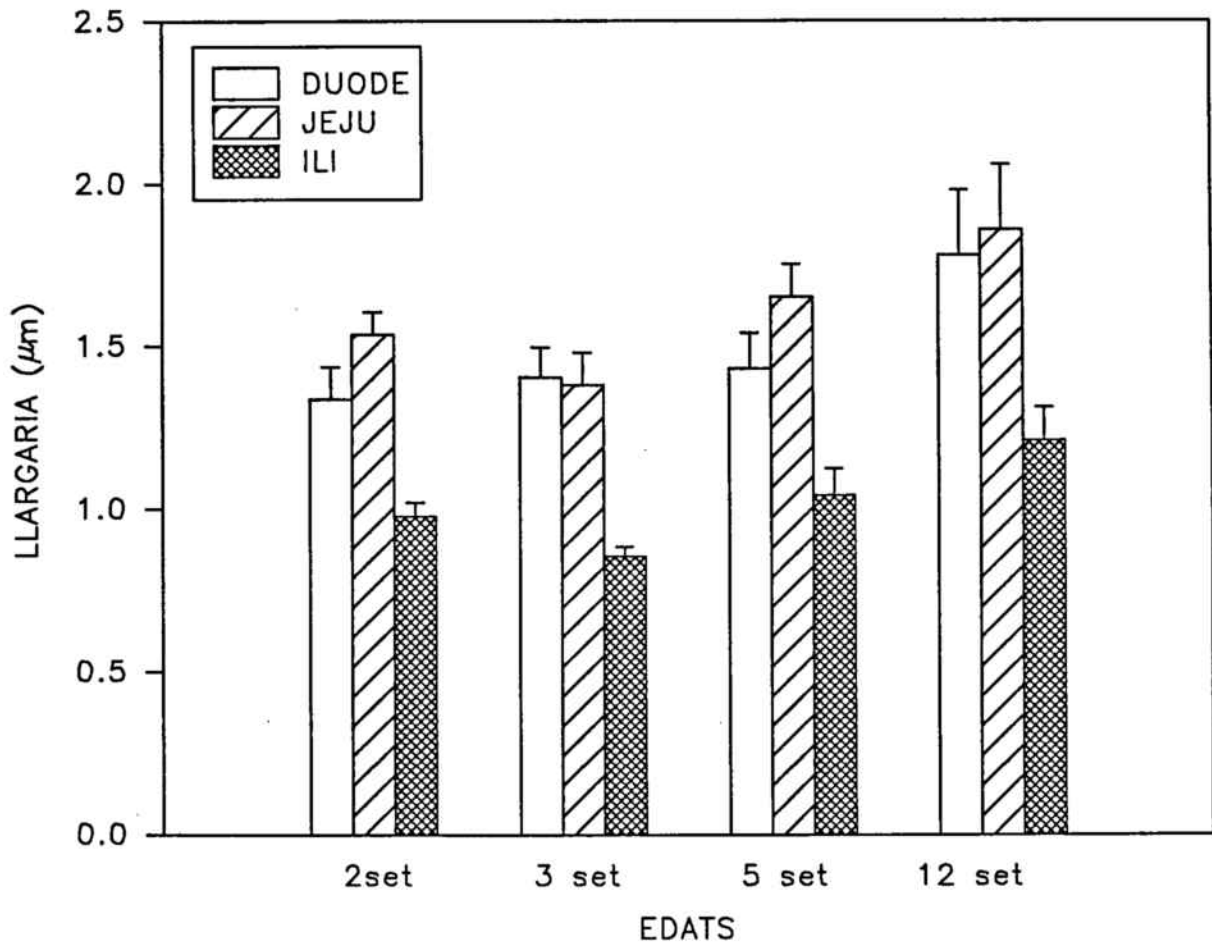


Figura 16. Llargària dels microvil·lis (μm) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Microcòpia electrònica de transmissió

Taula 11. Diàmetre dels microvil·lis (μm) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	0,086	0,083	0,086	3	0,075	0,085	0,082	1	0,075	0,076	0,083	6	0,067	0,078	0,082
20	0,068	0,080	0,071	4	0,067	0,077	0,088	2	-	0,084	0,077	7	-	0,074	-
21	0,081	0,082	0,082	5	0,075	0,088	0,084	13	-	0,078	0,082	11	-	0,071	0,076
22	0,076	0,084	0,095	8	0,077	0,079	0,083	14	-	-	0,077	12	-	0,077	0,077
23	0,081	0,084	0,088	9	0,066	0,080	0,077	15	0,079	0,088	0,072	17	0,067	0,077	0,079
				10	0,072	0,075	-	16	0,080	0,083	0,078	18	0,067	0,079	0,076
M	0,078	0,083	0,084	M	0,072	0,081	0,083	M	0,078	0,082	0,078	M	0,067	0,076	0,078
ϵ	$3 \cdot 10^{-3}$	$7 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-3}$	ϵ	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	ϵ	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-3}$	ϵ	-	$1 \cdot 10^{-3}$	$1 \cdot 10^{-3}$
n	5	5	5	n	6	6	5	n	3	5	6	n	3	6	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set > 12 set</p> <p>J: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set > 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J = I</p> <p>3 set: D = J = I</p> <p>5 set: D = J = I</p> <p>12 set: D = J = I</p>

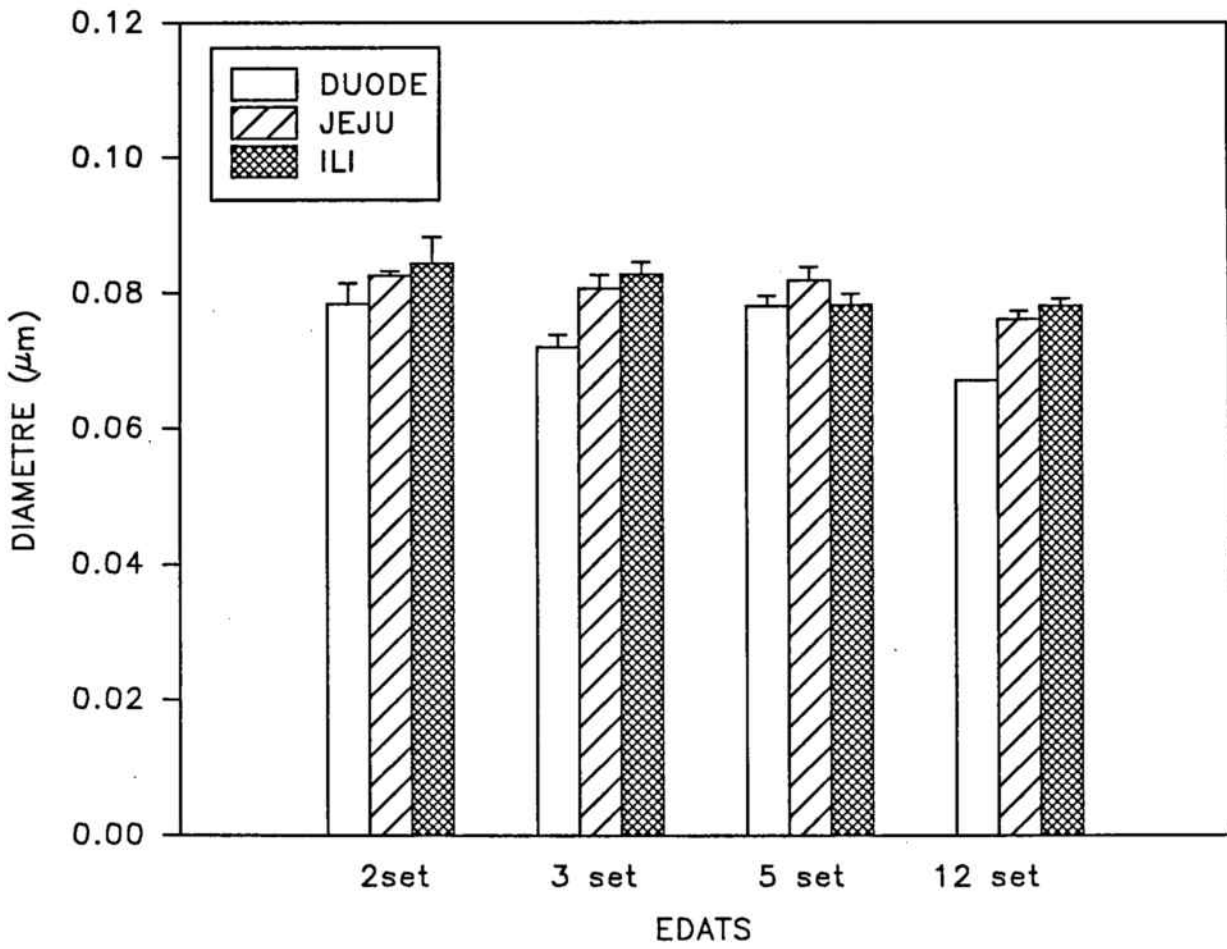


Figura 17. Diàmetre dels microvil·lis (μm) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Microcòpia electrònica de transmissió

Taula 12. Densitat dels microvil·lis ($n/\mu\text{m}^2$ de teixit) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	101,3	95,4	84,5	3	105,0	93,3	75,8	1	94,8	111,0	96,5	6	119,3	97,8	102,9
20	120,0	88,0	120,5	4	139,0	98,4	80,8	2	-	86,5	97,2	7	-	86,7	-
21	105,1	82,5	113,5	5	131,9	93,1	98,2	13	-	94,4	91,9	11	-	104,6	117,3
22	127,5	101,1	82,3	8	101,0	92,0	91,2	14	-	-	96,2	12	-	96,6	99,3
23	96,3	100,4	91,3	9	161,8	98,7	97,0	15	103,7	60,4	128,6	17	126,2	81,1	95,3
				10	115,0	102,9	-	16	90,4	86,3	93,2	18	105,7	77,4	85,3
M	110,1	93,5	98,4	M	125,6	96,4	88,6	M	96,3	87,7	100,6	M	117,0	90,7	100,0
ε	5,9	3,6	7,8	ε	9,4	1,7	4,4	ε	3,9	8,2	5,7	ε	6,0	4,3	5,2
n	5	5	5	n	6	6	6	n	3	5	6	n	3	6	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA	
Efecte de l'edat	D: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set J: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set
Diferències regionals	2 set: D = J = I 3 set: D > J = I 5 set: D = J = I 12 set: D > J = I

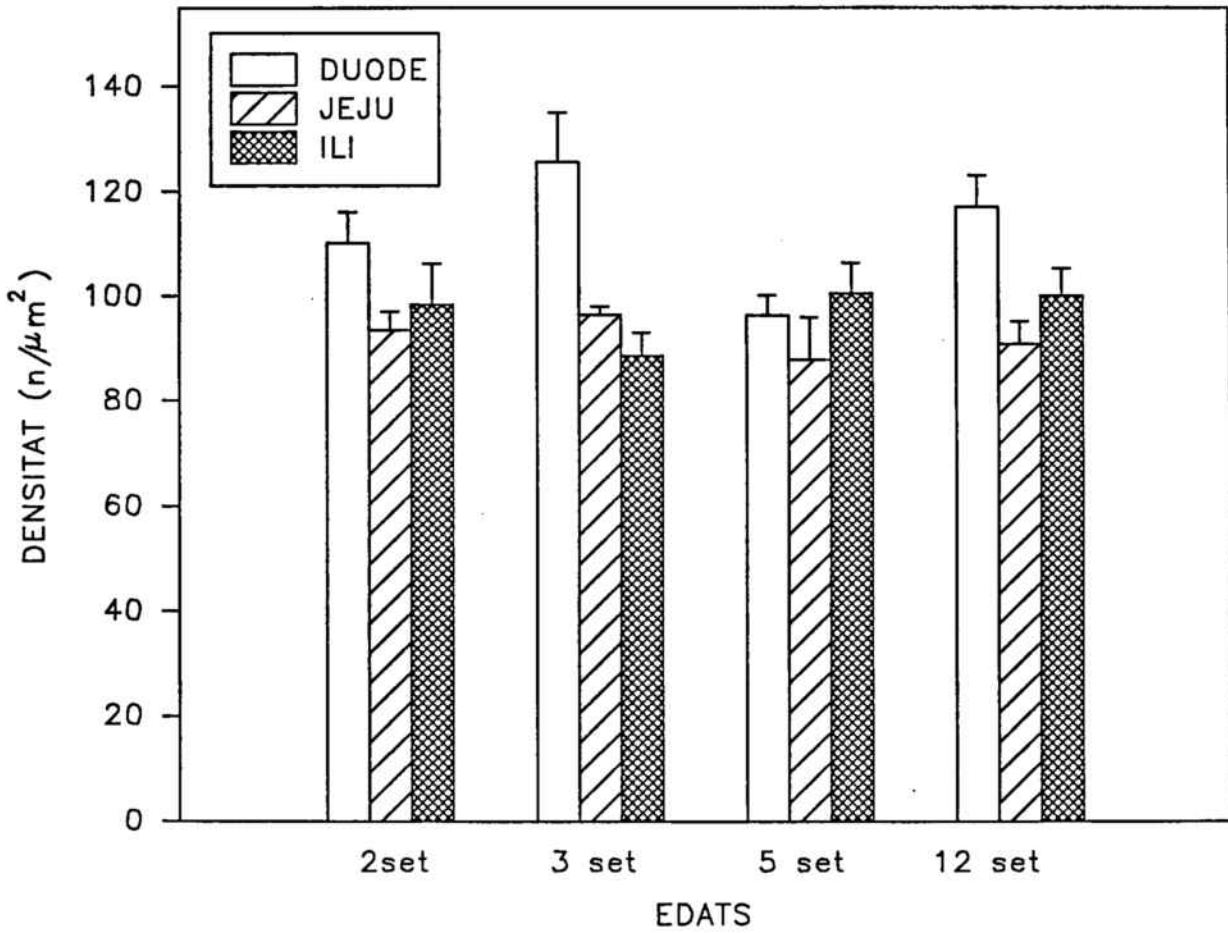


Figura 18. Densitat dels microvil·lis ($n/\mu\text{m}^2$) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Microcòpia electrònica de transmissió

Taula 13. Factor d'amplificació dels microvil·lis del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	28,4	45,8	23,1	3	29,2	28,7	16,2	1	32,5	38,1	24,6	6	37,4	45,3	25,7
20	30,2	33,0	24,1	4	36,7	25,0	19,1	2	-	32,7	18,2	7	-	40,9	-
21	45,7	30,1	31,7	5	54,1	34,2	24,0	13	-	45,7	26,6	11	-	51,6	40,8
22	43,0	41,6	27,8	8	35,0	41,9	22,6	14	-	-	32,6	12	-	53,4	37,5
23	37,5	41,8	24,5	9	45,3	34,2	21,9	15	42,5	33,0	33,3	17	52,0	33,8	28,7
				10	43,9	43,2	-	16	37,1	37,4	24,7	18	44,6	25,4	21,6
M	37,0	38,5	26,2	M	40,7	34,5	20,8	M	37,4	37,4	26,7	M	44,7	41,7	30,8
ε	3,4	2,9	1,6	ε	3,6	2,9	1,4	ε	2,9	2,3	2,3	ε	4,2	4,4	3,6
n	5	5	5	n	6	6	5	n	3	5	6	n	3	6	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set J: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 3 set < 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J > I 3 set: D = J > I 5 set: D = J > I 12 set: D = J > I</p>

Microscòpia electrònica de transmissió

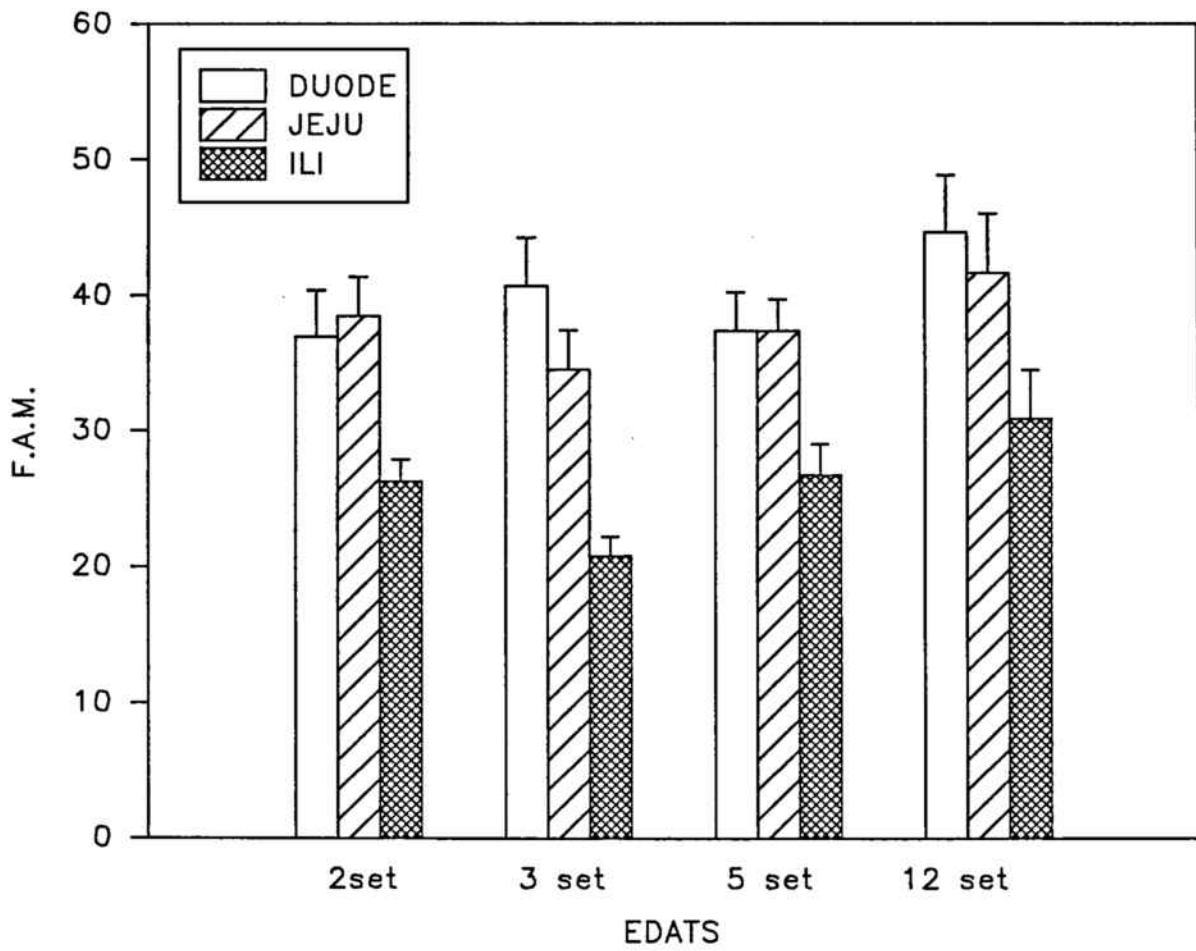


Figura 19. Factor d'amplificació dels microvil·lis del duodè, jejú i ili en pòllastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

4.4. RESULTATS FINALS

4.4.1. FACTOR D'AMPLIFICACIÓ TOTAL

Fins ara s'ha estudiat per separat l'augment de la superfície epitelial degut a les vellositats (FAV) i als microvil·lis (FAM). Mitjançant el factor d'amplificació total s'engloba a tots dos, ja que s'obté a partir del producte d'ambdós factors (FAV x FAM). El valor obtingut es troba representat tant a la taula 14 com a la figura 20 i es pot observar que hi ha una certa invariabilitat d'aquest valor al llarg de l'edat, exceptuant que en el duodè i el jejú de 2 setmanes és menor que en el de 3 i en l'ili de 3 setmanes és menor que en el de 12.

Per regions, es troba que el duodè té uns valors que no difereixen del jejú essent aquests a la vegada més grans que els de l'ili, a les 2 i a les 5 setmanes. En canvi, a les 3 i a les 12 setmanes hi ha una disminució en sentit distal.

4.4.2. SUPERFÍCIE LUMINAL TOTAL

Aquesta variable fa referència a la superfície epitelial total per segment intestinal, el càlcul de la qual s'ha fet a partir de la superfície nominal (taula 4) i del factor d'amplificació total (taula 14).

Es representen els valors obtinguts a la taula 15 i a la figura 21. Les dissensions que es troben són diferents per cadascun dels segments. Així per al duodè hi ha un augment a les 3 setmanes seguida d'una estabilització a les 5, i un altre augment a les 12, i per al jejú només hi ha un augment a les 3, i per a l'ili a les 5.

En l'estudi regional les diferències en cadascuna de les edats són paleses. Mentre que a les 2 setmanes no hi ha una diferència entre tots tres segments, a les 3 hi ha un augment del jejú respecte de l'ili, a les 5 del jejú respecte el duodè i de l'ili i, finalment, a les 12 una disminució de l'ili respecte del duodè i d'aquest respecte del jejú.

A la taula 16 es mostra la superfície luminal total referida a tot l'intestí, veient-se un augment d'aquesta en funció de l'edat.

Finalment a la taula 17 i la figura 22, s'expressa aquesta variable en funció de la

llargària de cada segment intestinal. Els resultats de l'anàlisi estadístic donen un comportament idèntic per al duodè i per al jejú on els valors són menors a les 2 que a les 3 setmanes. L'ili no presenta diferències al llarg de les diferents edats, però cal tenir en compte que el valor a les 2 setmanes és menor que a les 5 i a les 3 menor que a les 12.

Regionalment, a les 2 setmanes, no obtenim diferències significatives, mentre que a les 3 hi ha un augment en sentit oral a l'igual que a les 12. A les 5 setmanes només s'aprecia una disminució de l'ili envers el jejú.

4.4.3. SUPERFÍCIE LUMINAL PER UNITAT DE PES HUMIT

Calculada a partir de la superfície luminal total per unitat de llargària (taula 17) i de la relació pes humit/llargària, es possible expressar la superfície luminal total per unitat de pes humit. No existeixen gaire variacions, ja que només s'observa una disminució a nivell del duodè entre les 2 i les 3 setmanes.

Més complex resulta l'estudi regional, on a les 2 setmanes el jejú presenta els valors més elevats, a les 3 és el duodè el de major valor seguit del jejú i després de l'ili i a les 5 i a les 12 setmanes l'ili presenta els valors més baixos respecte el jejú i el duodè que es comporten igual.

Taula 14. Factor total d'amplificació del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	-	416,6	-	3	671,6	450,1	-	1	-	-	150,4	6	781,7	820,4	264,3
20	-	360,3	-	4	939,2	468,1	188,9	2	-	520,4	-	7	-	863,2	-
21	447,4	270,9	228,2	5	1061,2	567,8	293,5	13	-	-	276,2	11	-	671,5	350,6
22	537,7	532,0	168,9	8	755,4	447,9	158,3	14	-	-	345,9	12	-	485,5	412,6
23	-	-	-	9	-	352,7	166,2	15	700,6	617,7	439,3	17	1055,5	517,4	298,3
				10	1080,5	565,6	-	16	698,2	644,2	205,4	18	753,6	472,4	243,7
M	492,6	395,0	198,6	M	901,6	475,4	201,7	M	699,4	594,1	283,4	M	863,6	638,4	313,9
ε	45,1	54,6	29,7	ε	81,6	33,2	31,2	ε	1,2	37,6	51,0	ε	96,3	70,8	30,6
n	2	4	2	n	5	6	4	n	2	3	5	n	3	6	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>J: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 3 set < 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J > I</p> <p>3 set: D > J > I</p> <p>5 set: D = J > I</p> <p>12 set: D > J > I</p>

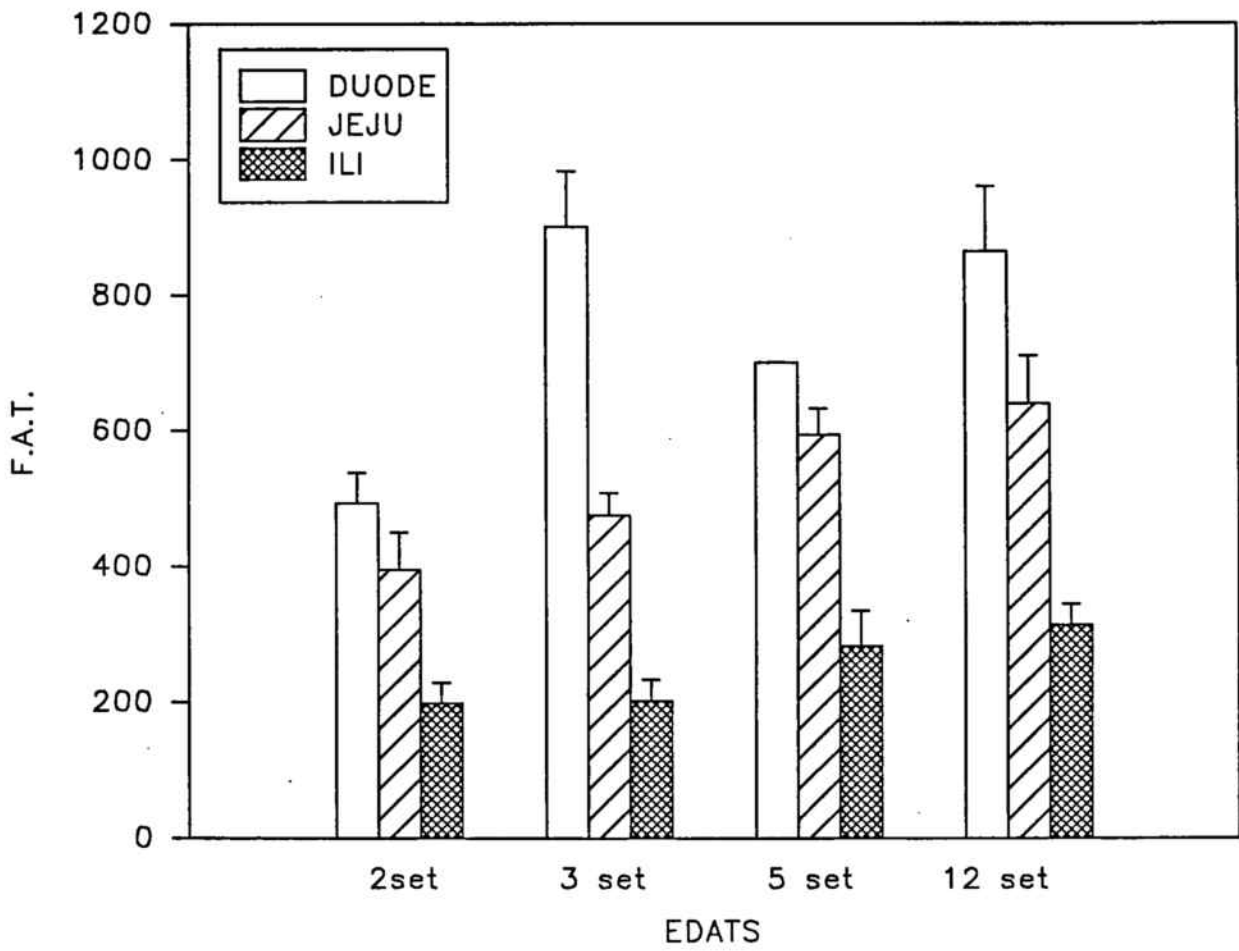


Figura 20. Factor d'amplificació total del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 15. Superfície luminal total (cm²/segment intestinal) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
	19	-	10.430	-	3	12.061	15.910	-	1	-	-	-	6	21.313	63.677
20	-	6.590	-	4	15.602	16.246	5.762	2	-	-	-	7	-	-	-
21	5.047	5.572	5.323	5	17.510	22.141	7.667	13	-	-	8.651	11	-	33.956	19.402
22	5.754	13.067	3.787	8	12.690	20.984	4.254	14	-	-	13.271	12	-	29.948	18.177
23	-	-	-	9	-	12.381	5.513	15	15.914	31.020	16.098	17	29.912	26.561	11.314
				10	16.360	25.184	-	16	13.724	30.671	6.197	18	26.391	22.552	8.737
M	5.401	8.915	4.555	M	14.845	18.808	5.799	M	14.819	30.846	11.055	M	25.872	35.239	14.289
ε	353	1.735	768	ε	1.057	1.939	705	ε	1.094	174	2.231	ε	2.496	7.349	2.014
n	2	4	2	n	5	6	4	n	2	2	4	n	3	5	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set = 5 set < 12 set</p> <p>J: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set < 5 set = 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J = I</p> <p>3 set: D = J > I</p> <p>5 set: J > D = I</p> <p>12 set: J > D > I</p>

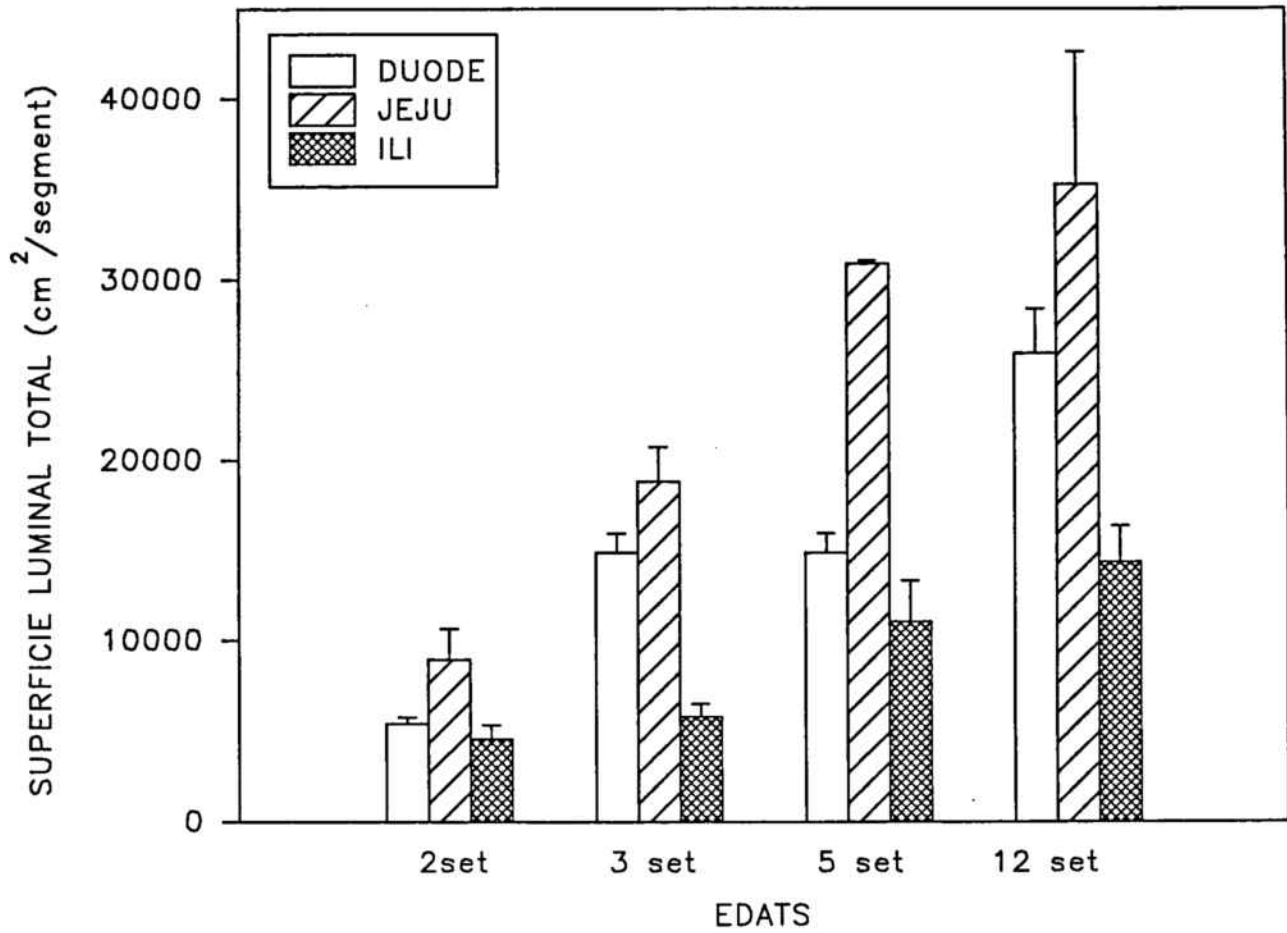


Figura 21. Superfície luminal total (cm²/segment) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 16. Superfície luminal total (cm²) de l'intestí prim en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set	n.	3 set	n.	5 set	n.	12 set
19	-	3	-	1	-	6	98.807
20	-	4	37.610	2	-	7	-
21	15.942	5	47.322	13	-	11	-
22	22.608	8	37.929	14	-	12	-
23	-	9	-	15	63.032	17	67.787
		10	-	16	50.593	18	57.680
M	19.275	M	40.954	M	56.813	M	74.758
ε	3.332	ε	3.185	ε	6.219	ε	12.374
n	2	n	3	n	2	n	3

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Superfície luminal total (cm²) de l'intestí prim a les 2 set = 3set = 5 set = 12 set,
però 2 set < 5 set i 3 set < 12 set

Taula 17. Superfície luminal per unitat de llargària (cm²/cm segment intestinal) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	-	324,9	-	3	749,1	454,6	-	1	-	-	-	6	747,8	1.181,4	272,0
20	-	245,0	-	4	1.059,2	455,1	190,9	2	-	-	-	7	-	-	-
21	410,3	181,5	166,8	5	1.167,3	681,4	278,8	13	-	-	215,2	11	-	757,9	406,7
22	467,8	425,6	125,0	8	754,0	546,5	140,9	14	-	-	356,8	12	-	572,9	408,5
23	-	-	-	9	-	317,5	179,6	15	803,7	747,5	408,6	17	1.311,9	563,9	256,5
				10	1.113,0	616,5	-	16	766,7	740,9	182,8	18	1.210,6	534,4	251,0
M	439,1	294,3	145,8	M	968,5	510,2	197,5	M	785,2	744,2	290,8	M	1.090,1	722,1	319,0
€	28,8	52,7	20,9	€	90,4	53,7	29,1	€	18,5	3,3	54,5	€	173,6	121,3	36,4
n	2	4	2	n	5	6	4	n	2	2	4	n	3	5	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>J: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set</p> <p>I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set, però 2 set < 5 set i 3 set < 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: D = J = I, però D > I</p> <p>3 set: D > J > I</p> <p>5 set: D = J > I</p> <p>12 set: D > J > I</p>

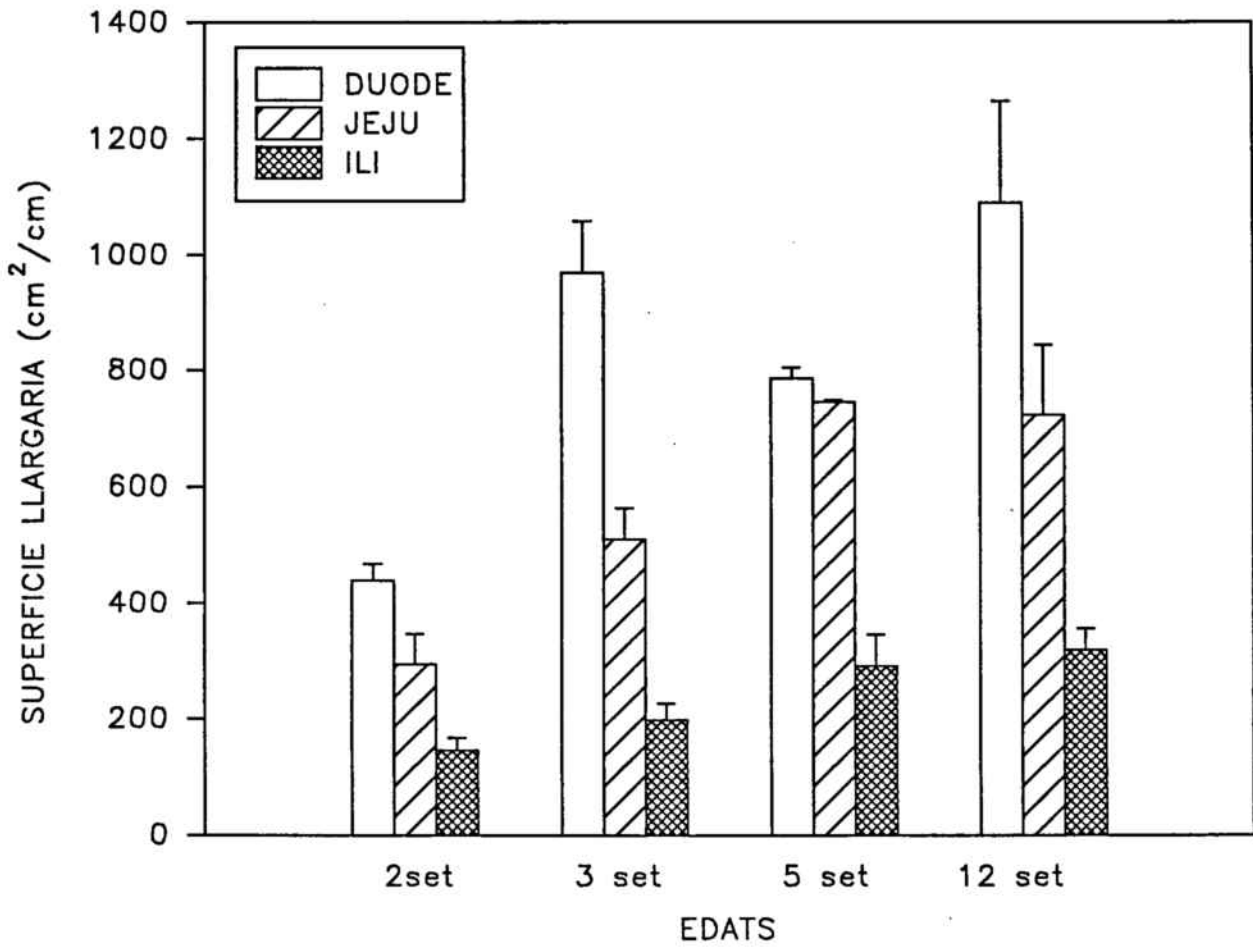


Figura 22. Superfície luminal per unitat de llargària (cm²/cm) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

Taula 18. Superfície luminal per unitat de pes humit (cm²/mg) del duodè (D), jejú (J) i ili (I) en pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes d'edat.

n.	2 set			3 set			5 set			12 set					
	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I	n.	D	J	I
19	-	2,4	-	3	4,4	5,7	-	1	-	-	-	6	2,9	6,2	1,8
20	-	2,8	-	4	6,6	4,6	2,0	2	-	-	-	7	-	-	-
21	2,4	2,8	1,4	5	7,0	5,5	3,3	13	-	-	1,6	11	-	4,7	2,4
22	1,8	5,0	1,5	8	4,2	2,6	1,2	14	-	-	2,6	12	-	3,6	3,1
23	-	-	-	9	-	2,8	1,4	15	3,1	3,8	2,9	17	5,4	3,8	1,8
				10	7,3	4,0	-	16	4,2	5,7	1,9	18	3,7	2,5	1,6
M	2,1	3,2	1,4	M	5,9	4,2	2,0	M	3,6	4,8	2,3	M	4,0	4,1	2,1
ε	0,3	0,6	0,05	ε	0,7	0,5	0,5	ε	0,5	0,9	0,3	ε	0,5	0,6	0,3
n	2	4	2	n	5	6	4	n	2	2	4	n	3	5	5

ANÀLISI ESTADÍSTICA

Efecte de l'edat	<p>D: 2 set < 3 set = 5 set = 12 set J: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set I: 2 set = 3 set = 5 set = 12 set</p>
Diferències regionals	<p>2 set: J > I = D 3 set: D > J > I 5 set: D = J > I 12 set: D = J > I</p>

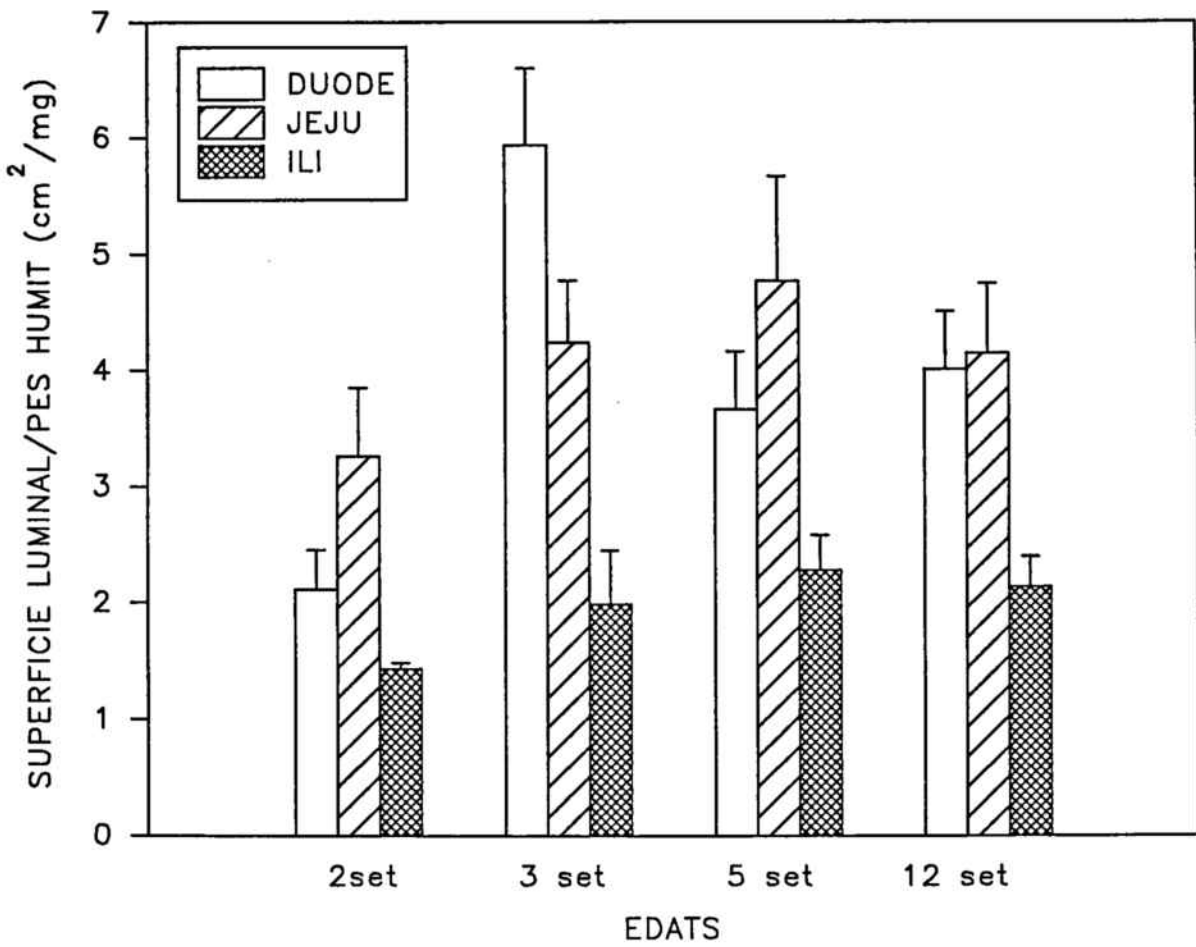


Figura 23. Superfície luminal per unitat de pes humit (cm^2/mg) del duodè, jejú i ili en pollastres de 2 set, 3 set, 5 set i 12 set d'edat.

5.DISCUSSIÓ

En la present Memòria s'ha determinat la superfície epitelial de l'intestí prim (duodè, jejú i ili) del pollastre, al llarg del desenvolupament. Per assolir aquest objectiu s'han emprat mètodes morfomètrics senzills i molt utilitzats per autors que, com en el nostre cas, fan ús de les dades morfomètriques en un intent d'integrar-les amb les fisiològiques (Boyne *et al.*, 1966; Ferraris *et al.*, 1989; Fisher i Parsons, 1951 i Thomson, 1986). Aquesta tècnica va ésser posada a punt al nostre Laboratori per Barniol (1993) a l'intestí prim, per que és en aquesta zona, i més concretament en el jejú, on és produeix majoritàriament l'absorció de nutrients (Hudson, 1971). El volum d'estructures a mesurar, i la dificultat que representa l'obtenció de talls ultrafins per a l'observació del teixit al microscopi electrònic de transmissió, va fer que només es poguessin fer les mesures en animals d'un i de set dies d'edat. Es tracta doncs, ara, d'aplicar la metodologia a les edats més significatives en el desenvolupament del pollastre, per tal de fer un seguiment el més extens possible de les variacions en la superfície d'absorció al llarg del desenvolupament i poder així aprofundir més en el coneixement dels canvis fisiològics, que es produeixen en el pollastre, sobretot pel que fa referència a l'absorció de monosacàrids (Rovira, 1993) i d'aminoàcids (Padrós, 1993).

Han estat seleccionades les edats de 2, 3, 5, i 12 setmanes, juntament amb les d'1 i 7 dies de Barniol (1993) per ésser aquestes les més significatives en el desenvolupament del pollastre (Buddington i Diamond, 1989, Padrós, 1993 i Rovira, 1993).

En l'estudi realitzat han estat considerats tots els factors morfològics que poden augmentar la superfície epitelial i, per aquesta raó, la part experimental s'ha escomès des de tres nivells diferents: nivell macroscòpic (llargària i perímetre dels segments intestinals, relació pes humit/llargària i gruixària de la paret intestinal), nivell de microscòpia òptica (factor d'amplificació de les vellositats) i nivell de microscòpia electrònica de transmissió (factor d'amplificació dels microvil·lis). Els resultats obtinguts s'han integrat, finalment, en el càlcul de noves variables que tenen en consideració tots els factors esmentats, a fi i efecte de poder conèixer amb exactitud quina és l'àrea en contacte amb el contingut intestinal.

5.1. NIVELL MACROSCÒPIC

En aquest nivell s'han determinat totes les variables susceptibles d'ésser mesurades

sense necessitat d'amplificació: pes corporal dels animals i llargària, perímetre i pes humit dels diferents segments intestinals. Cal exceptuar-ne, però, el perímetre que, per qüestions metodològiques, ha estat mesurat en les seccions transversals del teixit.

L'increment de pes observat en els animals és el previst per a mascles de gallina ponedora, tal com indica l'experiència de que es disposa al Laboratori, així com de les dades presentades pel **National Research Council dels E.U.A. (1984)**.

La llargària dels segments intestinals és un bon indicador dels hàbits alimentaris de l'animal i dels seus requeriments energètics i és a més una dada molt utilitzada en estudis parasitològics en els quals sovint és necessari conèixer l'extensió de la invasió intestinal (**Freehling, 1987**). La tècnica utilitzada per a la mesura d'aquesta variable ha estat la de **Leopold (1953)** ja que permet assolir un elevat grau d'estandarització, es coneix la llargària real del segment intestinal, és molt ràpid i senzill de realitzar i a més, el teixit no queda malmès, per la qual cosa el mateix segment pot ésser utilitzat en posteriors mesures morfomètriques.

Valorant els resultats de l'estudi macroscòpic, s'aprecia que al llarg del desenvolupament hi ha un increment molt notable de la llargària dels segments intestinals, del seu perímetre i de la relació pes humit/llargària, no variant notablement la gruixària de la paret intestinal.

Pel que fa referència a la llargària dels segments, i considerant també les dades de **Barniol (1993)**, s'observa com l'increment d'aquesta variable es produeix sobretot durant la primera setmana de vida posteclosional, essent després l'increment més gradual i similar per als tres segments. Segons **Doskocil (1967)**, durant la primera setmana de vida del pollastre és quan l'intestí prim presenta un major grau de desenvolupament i això es posa també de manifest en els resultats de **Baranyiová (1972)**, obtinguts, però, en femelles Leghorn, on després dels deu dies d'edat el creixement s'estabilitza. De l'anàlisi regional se'n dedueix que, en totes les edats estudiades, el jejú i l'ili són més llargs que el duodè.

El perímetre presenta un increment gradual amb el desenvolupament, en el cas del duodè, essent més constant per al jejú i per a l'ili, en els quals només hi ha un increment significatiu entre les 2 i les 3 setmanes d'edat. El perímetre no presenta variacions regionals quan l'animal és jove, mentre que a les 12 setmanes el duodè

és el que presenta un major perímetre seguit del jejú i per últim de l'ili.

En calcular la superfície nominal, es comprova el comportament de la llargària i del perímetre amb el desenvolupament. Així, si es comparen les dades de les 12 setmanes amb les de 2 setmanes, s'observa que aquesta variable augmenta 2,9 vegades per al duodè, 2,6 per al jejú i 2,1 per a l'ili. Per al duodè i per al jejú l'increment més notable es produeix entre les 2 i 3 les setmanes i per a l'ili entre les 5 i les 12 setmanes.

De l'estudi regional se'n desprèn que a totes les edats el duodè és el segment amb menys superfície nominal, ja que la seva contribució a la superfície de tot l'intestí prim oscil·la, segons l'edat entre el 20 i el 23 %. En el cas del jejú, la seva contribució és a les 2 setmanes igual que la de l'ili (40 %), mentre que a partir de les 3 setmanes el jejú adquireix més importància (41-46 % del total) que no pas l'ili (32-34 %).

L'increment observat en la gruixària de la paret intestinal durant la primera setmana de vida (Barniol 1993), no és tant notable en les edats estudiades a la present Memòria, on les dades no mostren pràcticament variacions excepte un gran descens del duodè entre les 2 i 3 setmanes. Aquest és un resultat present en altres espècies animals tals com el conill (Buddington i Diamond, 1990) i la rata (Tolozà i Diamond, 1992). A l'igual que aquests autors també s'ha detectat una reducció d'aquesta variable en sentit distal.

Així doncs, des del punt de vista macroscòpic, al llarg del desenvolupament, s'observa un increment de la superfície nominal del mateix ordre per a tots els segments. Durant el període de temps estudiat, el jejú és el segment amb una major superfície nominal i el duodè és el que presenta la paret més gruixuda.

5.2. NIVELL DE MICROSCÒPIA ÒPTICA

La preparació del teixit per a la seva observació amb el microscopi òptic així com la del microscopi electrònic de transmissió, sobretot en el procés de fixació, pot produir l'encongiment de les estructures cel·lulars i la contracció de la musculatura de les vellositats (Ono *et al.*, 1987). Segons Stenling i Helander (1981), la fixació del teixit ocasiona, tant sols tenint en consideració el nivell macroscòpic, una

reducció en la llargària de l'intestí del 3 %. Tant mateix, **Gheri Bryk i Gheri (1990)** comproven que aquesta reducció, avaluada a nivell de microscòpia òptica, es manifesta per igual en tots els segments intestinals i no es modifica amb l'edat. Així doncs, els resultats del perímetre intestinal i del factor d'amplificació de les vellositats exposats, són valorats per defecte. Tot assumint, però, que aquest error és el mateix per a tots els segments i edats, les comparacions segueixen essent vàlides. En canvi, les modificacions que es produeixen a nivell de microscòpia electrònica són més notables i menys evaluables. En aquest cas, és la fixació, la deshidratació, la inclusió, la compressió dels talls, etc. que segons **Weibel i Paumgartner (1978)** pot causar una sobrestimació del 25 % en el cas de les mesures realitzades en microvil·lis.

Amb la tècnica de **Warren (1939)**, el factor d'amplificació de les vellositats es calcula a partir de la relació del contorn mucosal respecte del serosal en seccions transversals i longitudinals de l'intestí. Els resultats del contorn varien significativament segons la secció considerada, essent més gran en els talls longitudinals. Aquest fet també fou observat per **Stenling i Helander (1981)** que, mitjançant tècniques estereològiques, quantificaren el factor d'amplificació de les vellositats en les seccions transversals i el compararen amb l'obtingut en les seccions longitudinals. Aquesta diferència podria ésser deguda a un major encongiment del teixit en sentit transversal respecte el longitudinal. Donada, però, la magnitud de la diferència (la relació de contorns és un 41 % inferior en les seccions transversals) seria més correcte atribuir-la a una assimetria en la forma i disposició de les vellositats en considerar l'eix longitudinal o transversal de l'intestí.

Segons **Yamauchi i Isshiki (1991)**, a l'intestí prim dels pollastres Leghorn d'un dia, les vellositats són digitiformes, per tant la aparença externa de les vellositats no podria determinar les variacions del contorn. Sí que ho podria fer, en canvi, la densitat de les vellositats si aquestes fossin més denses en sentit longitudinal que no pas en sentit transversal. Per aquests mateixos autors, quan l'animal té 10 dies la forma de les vellositats és laminar i això pot afectar el diferent comportament dels contorns sobretot si les vellositats es disposen amb el seu eix major orientat longitudinalment.

Els resultats posen de manifest un comportament bastant similar per a ambdues relacions. En general es pot afirmar que per al duodè i per al jejú hi ha un increment notable sobretot en les primeres edats i que per a l'ili no hi ha modificacions

graduals, existint per a les relacions transversals un increment nomès entre edats extremes. Regionalment hi ha un descens en sentit distal.

Aquests resultats es reflecteixen en calcular el factor d'amplificació de les vellositats. Tenint en compte les dades de Barniol (1993), s'observa que per al duodè i per al jejú no hi ha diferències des del dia de l'eclosió fins a les 2 setmanes; a les 3 setmanes hi ha un increment i després els valors es mantenen pràcticament invariables. En canvi, l'ili no presenta modificacions notables amb el desenvolupament.

De l'estudi regional se'n dedueix una reducció en sentit distal, essent a les 3 setmanes d'edat quan les diferències entre el duodè i l'ili són més manifestes.

Les dades obtingudes en el càlcul del factor d'amplificació de les vellositats són de l'ordre de les presents a la bibliografia per altres espècies animals (Boyne *et al.*, 1966; Ecknauer *et al.*, 1982; Diamond i Karasov, 1984; Fisher i Parsons, 1950; Karasov *et al.*, 1986; Péntzes i Skála, 1977; Stenling i Hellander, 1981; Thomson, 1986 i Wood, 1944) i lleugerament inferiors a les trobades per Levin i Mitchell (1984) en pollastres adults.

Pel que fa a les variacions observades amb el desenvolupament, existeix certa controvèrsia, referent al factor d'amplificació de les vellositats i el seu desenvolupament (hi ha autors que nomès mesuren l'alçada de les vellositats i n'hi ha altres que a partir de l'alçada i el diàmetre calculen a més la superfície). Així Kapadia i Baker (1976), Péntzes i Skála (1977) i Hohn *et al.* (1978) en la rata; Warren (1939) en l'home i Weaver i Carrick (1989) en el conill porquí troben una reducció amb l'edat. Per a Clarke (1977), Rother *et al.* (1977) i Forrester (1972), usant també, com animal d'experimentació, la rata, aquesta variable es manté constant al llarg del desenvolupament. En canvi, Holt *et al.* (1984), en rata i Fry *et al.* (1962) en el ratolí, troben que l'alçada de les vellositats del duodè i del jejú no varia amb l'edat però augmenta un 20 % en l'ili.

Pel que fa referència a les variacions regionals en la grandària de les vellositats, la majoria d'autors descriuen, tal com també ha estat detectat en la present Memòria, una reducció d'aquesta variable en sentit distal tant en la rata (Ecknauer *et al.*, 1982; Gardner i Steele, 1989; Holt *et al.* 1984; Karasov *et al.*, 1986; Péntzes i Skála, 1977; Stenling i Helander, 1981 i Wood, 1944), com en el ratolí i en la

iguana (Karasov *et al.*, 1986). En canvi, Boyne *et al.* (1966), també en rata, troba una major superfície per al jejú, seguit del duodè i per últim l'ili; Fell *et al.* (1963) aprecia la mateixa superfície per al jejú i ili i ambdós més gran que el duodè i per últim Fisher i Parsons (1950), detecten un increment en sentit aboral. En el pollastre Levin i Mitchell (1984), en un estudi que només inclou el jejú i l'ili, troben un factor d'amplificació decreixent en sentit distal.

5.3. NIVELL DE MICROSCÒPIA ELECTRÒNICA DE TRANSMISSIÓ

El factor d'amplificació dels microvil·lis, calculat a partir de la seva llargària, diàmetre i densitat, i tenint també en compte les dades de Barniol (1993), mostra un increment des del dia de l'eclosió fins a les 2 setmanes, mantenint-se a partir d'aleshores pràcticament constant fins a les 12 setmanes de vida.

Regionalment, el dia de l'eclosió no hi ha diferències regionals; a la setmana de vida s'intueix una reducció en sentit distal, però que no es manifesta estadísticament i, a partir de les 2 setmanes, la relació sempre és la mateixa; no hi ha diferències entre el duodè i el jejú, essent el factor d'amplificació dels microvil·lis en aquests darrers segments intestinal més gran que no pas a l'ili. A l'igual que s'havia comprovat amb el factor d'amplificació de les vellositats, les diferències regionals entre el duodè i l'ili són més marcades a l'edat de 3 setmanes.

En la present Memòria hom ha considerat el factor d'amplificació dels microvil·lis tan sols de les cèl·lules de l'extrem apical de les vellositats. A l'hora de calcular el factor total d'amplificació (producte dels factors d'amplificació de les vellositats i dels microvil·lis) s'ha considerat que les cèl·lules de la cripta tenen el mateix factor d'amplificació. Tanmateix, tant en el pollastre (Ferrer *et al.*, 1991) com en altres espècies animals (Madara i Trier, 1987 i Stenling i Helander, 1981), es coneix una reducció notable del factor d'amplificació dels microvil·lis al llarg de l'eix vellositat-cripta, degut bàsicament a la variable llargària. La complexitat de la preparació de les mostres, però, fa molt difícil mesurar totes les variables en diferents zones de la vellositat a més de la cripta, per la qual cosa tal i com fan altres autors (Ferraris *et al.*, 1989), s'ha assumit que el factor d'amplificació dels microvil·lis no varia i és el mateix per a totes les zones de l'epiteli.

Pel que fa referència a les variables utilitzades en el càlcul del factor d'amplificació

dels microvil·lis, s'observa que pràcticament no varien amb el desenvolupament. Cal exceptuar-ne però la llargària dels microvil·lis que presenta un increment i el diàmetre un descens entre edats extremes. Aquest comportament contrari entre les variables llargària i diàmetre és també present al llarg del cec de pollastre (Ferrer *et al.*, 1991) i al llarg del desenvolupament embrionari (Overton i Shoup, 1962).

Els resultats de la llargària i del diàmetre dels microvil·lis són de l'ordre dels esmentats per altres autors en el pollastre (Hodges i Michael, 1975 i Humphrey i Turk, 1974) i són lleugerament inferiors als obtinguts en mamífers (Ferraris *et al.*, 1989; Merrill *et al.*, 1967 i Thomson, 1986). Això comporta, per tant, que el factor d'amplificació també sigui més petit (Brown, 1962; Anderson i Taylor, 1973; Palay i Karlin, 1959; i Stenling i Helander, 1981).

En calcular el factor d'amplificació total, a partir del factor d'amplificació de les vellositats i el dels microvil·lis s'observa que per al duodè i per al jejú hi ha un increment entre les 2 i les 3 setmanes d'edat. Per a l'ili, només s'ha trobat diferències entre les 3 i les 12 setmanes d'edat. Des del punt de vista regional, bàsicament es manté la reducció en sentit aboral observada per al factor d'amplificació de les vellositats i per al dels microvil·lis.

La superfície luminal total dels segments presenta un increment amb el desenvolupament, bàsicament degut a l'augment observat en la superfície nominal. En el cas del duodè aquest increment es produeix bàsicament entre les 2 i les 3 setmanes, després es manté i es duplica a les 12 setmanes. El jejú l'increment és gradual fins a les 5 setmanes i després es manté i l'ili presenta un notable augment entre la primera i la segona setmana de vida en que es duplica (Barniol, 1993) i entre les 3 i les 5 setmanes en que també es duplica. L'increment observat amb el desenvolupament és més notable per al duodè, seguit del jejú i per últim de l'ili.

Regionalment, la superfície luminal total és més gran per al jejú, seguit del duodè i per últim de l'ili, essent aquestes diferències molt més manifestes a les 12 setmanes.

La superfície luminal expressada per unitat de llargària mostra uns increments més lleugers que en expressar-la per segment. Per al duodè i per al jejú es produeix entre les 2 i les 3 setmanes i per a l'ili entre edats extremes. De l'estudi regional s'ha obtingut en tots els grups d'edat, una reducció en sentit aboral.

En expressar aquesta variable per unitat de pes humit, nomès s'observen diferències per al duodè, entre les 2 i les 3 setmanes de vida. En l'estudi regional, el jejú és el segment que presenta els valors més alts excepte a les 3 setmanes, on el duodè és el de valors més elevats.

A l'hora de valorar la participació de la superfície epitelial en l'absorció intestinal la majoria d'autors descriuen una reducció en l'absorció de nutrients en algunes espècies, al llarg dels anys (Buddington i Diamond, 1989 i Chen *et al.*, 1990). En el cas del pollastre, en la primera setmana post-eclosional Obst i Diamond (1989) considerant tot l'intestí prim, no troben tal efecte, ans el contrari a l'expressar els resultats referits al pes corporal aprecien un increment en l'absorció fins a la segona setmana, essent a partir d'aleshores quan declina la capacitat tissular per acumular monosacàrids. Soriano i Planas (1992 a i b) no observen cap reducció durant la primera setmana de vida en el cas del jejú, tant per a monosacàrids com per a aminoàcids. Tanmateix, aquesta hi és present en el cas del duodè i molt més manifesta en el de l'ili. La capacitat d'acumulació per als monosacàrids és màxima en el jejú, seguit de l'ili, essent amb ambdós segments molt més gran que en el duodè. Per als aminoàcids, l'ili és el segment que marcadament es distancia més del jejú i del duodè.

En fer un estudi comparatiu amb els resultats d'acumulació de monosacàrids i d'aminoàcids obtinguts per Soriano i Planas (1992 a i b) es pot comprovar que de la present Memòria se'n dedueix un increment en la superfície d'absorció al llarg del desenvolupament per la qual cosa les variacions fisiològiques observades caldria atribuir-les més que a canvis morfològics a modificacions en els sistemes de transport.

6. CONCLUSIONS

De l'estudi que s'ha realitzat en el duodè, el jejú i l'ili de pollastres de 2, 3, 5 i 12 setmanes, es pot concloure el següent:

A) respecte les diferents edats

- 1- L'increment de la llargària i de perímetre dels diferents segments intestinals, és duu a terme sobretot en la primera setmana de vida, essent després més gradual, la qual cosa es posa de manifest quan es calcula la superfície nominal. El jejú presenta la major superfície nominal i el duodè la paret més gruixuda.
- 2- El factor d'amplificació de les vellositats, presenta un augment per al duodè i per al jejú a les 3 setmanes, no per a l'ili, que presenta uns valors poc variables al llarg del desenvolupament.
- 3- La llargària i diàmetre dels microvil·lis, presenten un comportament contrari al llarg del desenvolupament, ja que mentre la primera augmenta entre edats extremes, l'altre disminueix.
- 4- El factor d'amplificació dels microvil·lis no mostra variacions al llarg del desenvolupament, a excepció de l'ili que presenta un increment entre les 3 i les 12 setmanes.
- 5- El factor d'amplificació total, presenta per al duodè i per al jejú, un increment entre les 2 i les 3 setmanes i per a l'ili entre les 3 i les 12.
- 6- La superfície total, referida per segment i per unitat de llargària, té un increment amb el desenvolupament, que és més lleuger en el segon cas. Però expressada per unitat de pes humit, les diferències només són paleses per al duodè, que augmenta entre les 2 i les 3 setmanes.

B) de l'estudi regional

- 1- El jejú i l'ili són els segments més llargs. El perímetre no presenta variacions fins a les 12 setmanes on hi ha una disminució en sentit distal.
- 2- El duodè és el segment amb menor superfície nominal, seguit de l'ili i

finalment per al jejú que adquireix la màxima importància a les 3 setmanes.

- 3- La gruixària de la paret presenta una reducció en sentit aboral.
- 4- El factor d'amplificació de les vellositats disminueix en sentit distal.
- 5- La llargària dels microvil·lis és menor en l'ili que en els altres dos segments, mentre que el diàmetre no presenta diferències significatives. La densitat no mostra variacions al llarg de l'intestí, a excepció del duodè a l'edat de 5 i 12 setmanes, on presenta valors més grans que els altres dos segments intestinals.
- 6- El factor d'amplificació dels microvil·lis no mostra diferències entre el duodè i el jejú, essent els factors d'aquests dos segments més grans que el de l'ili.
- 7- El factor d'amplificació total es redueix en sentit aboral.
- 8- La superfície luminal total, expressada per segment, és més gran en el jejú, després en el duodè i per últim en l'ili. Expressada per llargària hi ha una disminució aboral i referida al pes humit, és el jejú el de valor més elevat, excepte a les 3 setmanes, edat a la qual el duodè presenta la major superfície.

7. BIBLIOGRAFIA

- Anderson, J.H. i Taylor, A.B.**, Scanning and transmission electron microscopic studies on jejunal microvilli of the rat, hamster and dog, *J. Morphol.*, 141: 281-292, 1973.
- Baranyiová, E.**, Influence of deutectomy, food intake and fasting on the digestive tract dimensions in chickens after hatching, *Acta Vet. Brno*, 41: 373-384, 1972.
- Barniol, G.**, Estudi morfològic de la superfície epitelial de l'intestí prim de pollastre, Tesina de Llicenciatura, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, 1993.
- Batt, H. E.**, A study of the normal histology of the fowl, Report of the Ont. Vet. College, 21-31, 1925.
- Boller, K., Vestweber, D. i Kemler, R.**, Cell-adhesion molecule uvomorulin is localized in the intermediate junctions of adult epithelial cells, *J. Cell Biol.*, 100: 327-332, 1985.
- Boyne, R., Fell, B. F. i Robb, I.**, The surface area of the intestinal mucosa in the lactating rat, *J. Physiol.*, 570-575, 1966.
- Brown, A.L.**, Microvilli of the human jejunum epithelial cell, *J. Cell Biol.*, 12: 623-627, 1962.
- Buddington, R.K. i Diamond, J.M.**, Ontogenic development of intestinal nutrient transporter, *Annu. Rev. Physiol.*, 51: 601-619, 1989.
- Buddington, R.K. i Diamond, J.M.**, Ontogenic development of monosaccharide and amino acid transporters in rabbit intestine, *Am. J. Physiol.*, 259: G544-G555, 1990.
- Buddington, R.K. i Diamond, J.M.**, Ontogenic development of nutrient transporters in cat intestine, *Am. J. Physiol.*, 263: G605-G616, 1992.
- Burns, R. B. i Maxwell, M. H.**, Ultrastructure of Peyer's patches in the domestic fowl and turkey, *J. Anat.*, 147: 235-243, 1986.
- Calhoun, M. L.**, The microscopic anatomy of the digestive tract of Gallus domesticus, *Iowa State Coll. J. Sci.*, 7: 261-270, 1932.

Chambers, C. i Grey, R. D., Development of the structure components of the brush border in absorptive cells of the chick intestine, Springer-Verlag, 1979.

Chen, T.S., Currier, G.J. i Wabner, C.L., Intestinal transport during life span of the mouse, *J. Gastroenterol.*, 45: 129-133, 1990.

Clarke, R. M., The effects of age on mucosal morphology and epithelial cell production in rat small intestine, *J. Anat.*, 123: 805-811, 1977.

Diamond, J.M. i Karasov, W.H., Effect of dietary carbohydrate on monosaccharide uptake by mouse small intestine *in vitro*, *J. Physiol.*, 349: 419-440, 1984.

Doskocil, J., Effect of different frequency of food intake on the weight and chemical composition of body and gastrointestinal tract in chickens, *Sb VSZ Brno B*, 36: 429-437, 1967.

Ecknauer, R., Vadakel, T. i Wepler, R., Intestinal morphology and cell production rate in aging rats, *J. Gerontol.*, 37: 151-155, 1982.

Farquhar, M. G. i Palade, G. E., Functional complexes in various epithelia, *J. Cell Biol.*, 17: 375-412, 1963.

Fell, B. F., Smith, K. A. i Campbell, R. M., Hypertrophic and hyperplastic changes in the alimentary canal of the lactating rat, *J. Path. Bact.*, 85: 179-188, 1963.

Fernando, M. A. i McCraw, B. M., Mucosal morphology and cellular renewal in the intestine of chicken following a single infection of *Eimeria acervulina*, *J. Parasitol.*, 59: 493-501, 1973.

Ferraris, R. P., Lee, P.P. i Diamond, J.M., Origin of regional and species differences in intestinal glucose uptake, *Am. J. Physiol.*, 257: G689-G697, 1989.

Ferrer, R., Planas, J.M., Durfort, M. i Moretó, M., Morphological study of the caecal epithelium of the chicken (*Gallus gallus domesticus* L.), *Br. Poult. Sci.*, 32: 679-691, 1991.

Fisher, R. B. i Parsons, D. S., The gradient of mucosal surface area in the small

intestine of the rat, *J. Physiol.*, 84: 272-282, 1950.

Forrester, J. M., The number of villi in the rat's jejunum and ileum: effect of normal growth, partial enterectomy and tube feeding, *J. Anat.*, 111: 283-291, 1972.

Freehling, M., A comparison of 2 techniques for measuring intestinal length, *J. Wildl. Manage.*, 51: 108-111, 1987.

Fry, R.J.M., Leshner, S. i Kohn, H.I., Influence of age on the transit time of cells of mouse intestinal epithelium. III. Ileum. *Lab. Invest.*, 11: 289-293, 1962.

Gardner, M.L.G. i Steele, D.L., Is there circadian variation in villus height in rat small intestine?, *Q. J. Exp. Physiol.*, 74: 257-265, 1989.

Gheri Bryk, S. i Gheri, G., On the development of the chick embryo colon: a computerized morphometric study, *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, 104: 97-118, 1990.

Graney, P. O., Electron microscopic observations on the morphology of intestinal capillaries in the chicken and the transcapillary passage of chylomicra during fat absorption, *Anat. Rec.*, 157: 250-261, 1967.

Hall, G. A. i Byrne, T. F., Effects of age and diet on small intestinal structure and function in gnotobiotic piglets, *Res. Vet. Sci.*, 47: 387-392, 1989.

Hanson, W. R., Osborne, J. W. i Sharp, J. G., Compensation by the residual intestine after intestinal resection in the rat. I. Influence of amount of tissue removed, *Gastroenterol.*, 72: 701-705, 1977.

Hodges, R. D., Digestive system. En: *The histology of the fowl*, Academic Press Inc. London, 1974.

Hodges, R. D. i Michael, E., Structure and histochemistry of the normal intestine of the fowl, *Cell Tissue Res.*, 160: 125-138, 1975.

Hohn, P., Gabbert, H. i Wagner, R., Differentiation and aging of the rat intestinal mucosa. II. Morphological, enzyme histochemical and disc electrophoretic aspects of the aging of the small intestinal mucosa. *Mech. Age. Develop.*, 7: 217-226,

1978.

Holt, P. R., Pascal, R. R. i Kotler, D. P., Effect of aging upon small intestinal structure in the fischer rat, *J. Gerontol.*, 39: 642-647, 1984.

Hopfer, U., Characterization of microvillus membrane vesicles, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 4: 865-867, 1985.

Hudson, D. A., Levin, R. J. i Smith, D. H., Absorption from the alimentary tract. En: *Physiology and Biochemistry of the domestic fowl*, Academic Press, London, 1971.

Humphrey, C. D. i Turk, D. E., The ultrastructure of normal chick intestinal epithelium, *Poult. Sci.*, 53: 990-1000, 1974.

Jamil, K., Transporte de monosacáridos en vesículas apicales del intestino delgado y grueso del *Gallus gallus domesticus*, Tesi doctoral, Universitat de Barcelona, 1993.

Johnson, L.R., Regulation of gastrointestinal mucosal growth, *Physiol. Rev.*, 68: 457-502, 1988.

Kapadia, S. i Baker, S. J., The effects of alterations in villus shape on the intestinal mucosal surface of the albino rat: The relationship between mucosal surface area and the crypts, *Digestion*, 14: 256-268, 1976.

Karasov, W.H., Solberg, D.H. i Diamond, J.M., What transport adaptations enable mammals to absorb sugars and aminoacids faster than reptiles?, *Am. J. Physiol.*, 249: G271-G283, 1986.

Karnovsky, M. J., A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy, *J. Cell Biol.*, 27: 2-13, 1965.

Kédinger, M., Simon-Assman, P., Bouziges, F., Arnold, C., Alexandre, E. i Haffen, K., Importance of a fibroblastic support for in vitro differentiation of intestinal endodermal cells and for their response to glucocorticoids, *Cell. Diff.*, 20: 171-182, 1987.

- Le Bivic, A., Bosc-Biern, I. i Reggio, H.,** Characterization of a glycoprotein expressed on basolateral membrane of human intestine epithelial cells and cultured colonic cells lines, *Eur. J. Cell Biol.*, 46: 113-120, 1988.
- Leopold, A. S.,** Intestinal morphology of gallinaceous birds in relation to food habits, *J. Wildl. Manage.*, 17: 197-203, 1953.
- Levin, R. J. i Mitchell, M. A.,** Problems involved in correlating changes of functional diffusive and anatomical surface areas of the upper and lower chicken small intestine during fasting, *Br. Poult. Sci.*, 25: 27-31, 1984.
- Lichtenberger, L. M. i Trier, J. S.,** Changes in gastrin levels, food intake and duodenal mucosal growth during lactation, *Am. J. Physiol.*, 237: E98-E105, 1979.
- Lipkin, M.,** Proliferation and differentiation of gastrointestinal cells in normal and disease states. En: *Physiology of the Gastrointestinal Tract*, Ed. Johnson, L.R., Raven Press, New York, 1981.
- Louvard, D.,** The function of the major cytoskeletal components of the brush border. *Current Opinion in Cell Biol.*, 1:51-57, 1989.
- Madara, J. L. i Trier, J. S.,** Structure and permeability of goblet cell tight junctions in rat small intestine, *J. Membr. Biol.*, 66: 145-157, 1982.
- Madara, J.L. i Trier, J.S.,** Functional morphology of the mucosa of the small intestine. En: *Physiology of the gastrointestinal tract*, Ed. Johnson L. R., Raven Press, New York, 1987.
- Maroux, S., Coudrier, E., Feracci, H., Gorvel, J. P. i Louvard, D.,** Molecular organization of the intestinal brush border, *Biochem.*, 70: 1297-1306, 1988.
- Mc Lelland, J.,** Digestive system. En: *Forms and function in birds*, Eds. King, A. S. i Mc Lelland, J., Academic Press, London, New York, Toronto, 1979.
- Moe, H.,** On goblet cells, specially of the intestine of some mammalian species, *Int. Rev. Cytol.*, 4: 299-334, 1955.

- Merril, T.G., Sprinz, H. i Tousimis, A.J.**, Changes of intestinal absorptive cells during maturation: an electron microscopic study of prenatal, postnatal, and adult guinea pig ileum, *J. Ultrastruct. Res.*, 19: 304-326, 1967.
- Moran, E. T., JR**, Digestion and absorption of carbohydrates in fowl and events through perinatal development, *J. Nutr.* 115: 665-674, 1985.
- National Research Council**, Nutrient Requirements of Poultry, National Academy Press, Washington, 1984.
- Neutra, M. R.**, The gastrointestinal tract. En: Cell and tissue biology. A text of histology, Ed. Weiss L., Urban and Schwarzenberg, Baltimore, 1988.
- Obst, B. S., Diamond, J. M.**, Ontogenetic development of nutrient transporters in chicken intestine, *Auk*, 109: 451-464, 1992.
- Ono, K, Sohma, M., Sator, Y. i Tanaka, H.**, Scanning electron microscopic determination of quantitative parameters of villi in the rat jejunum, *Anat. Anz. Jena*, 163: 277-280, 1987.
- Otte, W.**, The diseases of fowls, with particular consideration of anatomy and hygiene, Richard Schoetz, Berlin, 1928.
- Overton, J. i Shoup, J.**, Fine structure of cell surface specializations in the maturing duodenal mucosa of the chick, *J. Cell Biol.*, 21: 75-85, 1964.
- Owen, R. L.**, Sequential uptake of horseradish peroxidase by lymphoid follicle epithelium of Peyer's patches in the normal unobstructed mouse intestine: an ultrastructural study, *Gastroenterol.*, 72: 440-451, 1977.
- Pabst, R.**, The anatomical basis for the immune function of the gut, *Anat. Embryol.*, 176: 135-144, 1987.
- Padrós, N.**, Estudi ontogènic del transport intestinal de L-Prolina en el *Gallus gallus domesticus*, Tesina de Llicenciatura, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, 1993.

- Palay, S.L. i Karlin, L.J.**, An electron microscopic study of the intestinal villus. I. The fasting animal., *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 5: 363-372, 1959.
- Pénzes, L. i Skála, I.**, Changes in the mucosal surface area of the small gut of rats of different ages, *J. Anat.*, 217-222, 1977.
- Planas, J.M., Oliveras, M., Ferrer, R. i Moretó, M.**, Estudio morfológico y del transporte de 3-oxi-metil-D-glucosa en recto y coprodeo de pollo, XXII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, Badajoz (España), 1987.
- Reynolds, E. S.**, The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy, *J. Cell Biol.*, 17: 208-212, 1963.
- Rother, P., Walther, M., Scheller, G. i Blume, R.**, Morphometrische Untersuchungen zur histologischen Biomorphose der Wand des Dünndarms, *Z. Mikrosk. Anat. Forsch.*, 87: 97-110, 1973.
- Rotllan, E.**, Estudi estereològic de la superfície luminal del jejú i dels cecs de pollastre, Tesina de Llicenciatura, Universitat de Barcelona, 1990.
- Rovira, N.**, Estudi ontogènic del transport intestinal d'Ó-Metil-D-Glucòsid en el *Gallus gallus domesticus*, Tesina de Llicenciatura, Facultat de Farmàcia, Universitat de Barcelona, 1993.
- Schwarze, E.**, Anatomía de las aves. En: Compendio de anatomía veterinaria, Ed. Acribia, Zaragoza, 1980.
- Snipes, R. L. i Kriete, A.**, Quantitative investigation of the area and volume in different compartments of the intestine of 18 mammalian species, *Z. Säugetierkunde*, 56: 225-244, 1991.
- Soriano, E. i Planas, J.M.**, Acumulación de L-prolina en el intestino delgado de pollo a lo largo del desarrollo, XXV Congreso de la Sociedad Española de Ciencias Fisiológicas, Córdoba, 1992a.
- Soriano, E. i Planas, J.M.**, Transport of α -methyl-D-glucoside by chicken small intestine during development, *Z. Gastroenterol.*, 30: 234, 1992b.

- Specian, R. D. i Oliver, M. G.**, Functional biology of intestinal goblet cells, *Am. J. Physiol.*, 260: C183-C193, 1991.
- Spurr, A. R.**, A low viscosity epoxy resin embedding medium for electron microscopy, *J. Ultrastruct. Res.*, 26: 36-43, 1969.
- Stenling, R. i Helander, H. F.**, Stereological studies on the small intestinal epithelium of the rat, Springer-Verlag, pp. 11-21, 1981.
- Strong, T. R., Reimer, P. R. i Bram, E. J.**, Morphometry of the galliform cecum: a comparison between Gambel's quail and the domestic fowl. *Cell Tissue Res.*, 259: 511-519, 1990.
- Thomson, A. B. R.**, Resection of rabbit ileum: effect on jejunal structure and carrier-mediated and passive uptake, *Q. J. Exp. Physiol.*, 71: 29-46, 1986.
- Toloz, E. M. i Diamond, J.**, Ontogenic development of nutrient transporters in rat intestine, *Am. J. Physiol.*, 263: G593-G604, 1992.
- Torner, P.G., Carr, K.E. i Wyburn, G.M.**, The digestive system. An ultrastructural atlas and review, Butterworths, Londres, 1971.
- Trier, J. S.**, Studies on small intestine crypt epithelium.II. Evidence for and mechanisms of secretory activity by undifferentiated crypt cells of the human small intestine, *J. Cell Biol.*, 18: 599-620, 1963.
- Turk, D. E.**, The anatomy of the avian digestive tract as related to feed utilization, *Poult. Sci.*, 61: 1225-1244, 1982.
- Van Dongen, J. M., Visser, W. J., Daems, W. Th. i Galjaard, H.**, The relation between cell proliferation, differentiation and ultrastructural development in rat intestinal epithelium, *Cell Tissue Res.*, 174:183-199, 1976.
- Van der Ingh, T. S. G. A. M., Kroghdahl, A., Olli, J. J., Hendriks, H. G. C. J. M. i Koninkx, J. G. J. F.**, Effects of soybean-containing diets on the proximal and distal intestine in Atlantic salmon (*Salmo salar*): a morphological study, *Aquaculture*, 94: 297-305, 1991.

Warren, R., Serosal and mucosal dimensions at different levels of the dog's small intestine, *Anat. Rec.*, 75: 427-437, 1939.

Weaver, L. T. i Carrick, B. M., Changes in upper intestinal epithelial morphology and kinetics in the growing guinea pig, *Pediatr. Res.*, 26: 31-33, 1989.

Weibel, E.R. i Paumgartner, D., Integrated stereological and biochemical studies on hepatocytic membranes. II. Correction of section thickness effect on volume and surface density estimates, *J. Cell Biol.*, 77: 584-597, 1978.

Wood, H. O., The surface area of the intestinal mucosa in the rat and in the cat, *J. Anat. Lond.*, 78: 103-115, 1944.

Yamauchi, K. i Isshiki, Y., Scanning electron microscopic observations on the intestinal villi in growing white Leghorn and broiler chickens from 1 to 30 days of age, *Br. Poult. Sci.*, 32: 67-78, 1991.