

## EVOLUCIÓN CON LA EDAD DE LOS MECANISMOS DE BARRERA INTESTINAL.

Delgado R<sup>1</sup>., García J<sup>1</sup>., Badiola I<sup>2</sup>., Pérez de Rozas A<sup>2</sup>., Menoyo D<sup>1</sup>., Carabaño R<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal E.T.S.I.Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid. <sup>2</sup>CreSA (UAB-IRTA) Barcelona

### RESUMEN.

Se destetaron 106 gazapos de 20 camadas a los 26 d de edad con un peso de  $429 \pm 57$  g y se sacrificó 1 animal por camada a los 26, 31, 38, 45 y 52 d de edad. La longitud de las vellosidades intestinales y la profundidad de las criptas en el yeyuno se redujeron entre los 26 y los 31 d en un 26 y 9% respectivamente. De los 31 a los 38 días se observó un aumento tanto de la longitud de las vellosidades como de las criptas. A partir de esta edad no se observaron cambios en las vellosidades, que mostraron valores similares a las determinadas en el destete, mientras que las criptas siguieron aumentando ligeramente (9%). El grado de similitud de la microbiota cecal entre animales de la misma edad (que varió entre un 89, 1 y un 95,3%) fue superior al grado de similitud entre animales de diferentes edades (que varió entre un 82,3% y un 92,5%). La variabilidad en la composición de la microbiota fue menor a los 45 y 52 d de edad (mostrando un grado de similitud del 92,5% entre ambas edades) en comparación con la observada entre las primeras edades (26, 31 y 38 d, que varió entre 82,3 y 86,7%). Los menores grados de similitud se observaron entre los animales lactantes y los animales de 31 y 38 d de edad.

**Palabras clave:** *edad, morfología mucosa, microbiota, conejo.*

### INTRODUCCIÓN

El destete es un periodo de estrés para el gazapo, lo que unido a un desarrollo incompleto de su capacidad digestiva y a la inmadurez de su respuesta inmune frente a los patógenos, dan lugar a una mayor susceptibilidad para contraer enfermedades digestivas que se convierten en la principal causa de mortalidad y morbilidad de los gazapos alrededor del destete (De Blas et al., 1999; Gallois et al., 2005). Esto se refleja en una menor ganancia de peso post-destete en comparación con los conejos lactantes de su misma edad, siendo esta tendencia más acusada cuanto más temprano se realice el destete, aunque estas diferencias son compensadas durante el periodo total del cebo (Méndez et al., 1986). Distintos trabajos (Gutiérrez et al., 2002; Campín et al., 2003; Gómez Conde et al., 2007) han detectado una atrofia de las vellosidades tras el destete, sin embargo Gallois et al. (2005) no observaron dicha reducción de las vellosidades. La transición de leche a pienso va a dar lugar a la colonización del tracto digestivo por la microbiota lo cual, es esencial para mantener la salud intestinal, porque junto al sistema inmune ayuda a prevenir la proliferación de las bacterias patógenas (Carabaño et al., 2006). Por tanto, es de gran importancia

caracterizar adecuadamente los cambios que se producen en el animal alrededor del destete para desarrollar estrategias que mejoren su salud y estimulen su crecimiento. Por ello el objetivo de nuestro trabajo fue estudiar la evolución del desarrollo de la morfología de la mucosa y de la microbiota cecal con la edad.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Gazapos de 20 camadas se destetaron con 26 d de edad con un peso medio de  $429 \pm 56,6$  g y se alojaron individualmente. Los gazapos tuvieron acceso *ad libitum* al agua y a un pienso comercial (Cunilactal, Nanta,S.A.), también suministrado a sus madres, con un 15,8% de PB, un 35,7% de FND, un 16,7% de FAD y un 3,3% de LAD y sin antibióticos. El contenido estimado en energía digestible fue de 11,0 MJ/kg MS. Para realizar los experimentos se sacrificaron un total de 106 gazapos por dislocación cervical de forma que se sacrificó 1 conejo de cada camada a los 26, 31, 38, 45 y 52 d de edad. Todos los animales fueron sacrificados entre las 10 y las 13 horas. En la prueba de histología se utilizaron un total de 89 gazapos ya que se descartaron las muestras de aquellos animales cuya morfología intestinal estaba dañada después del procesado de las muestras y no permitía realizar las mediciones pertinentes. Las mediciones se realizaron según de acuerdo a la metodología utilizada por Gómez-Conde et al. (2007). Para los análisis de microbiología se recogió 1 g de contenido cecal de 8 gazapos de cada edad y la biodiversidad de la microbiota se determinó mediante RFLP de acuerdo con Chamorro et al. (2009). El efecto de la edad sobre los parámetros de crecimiento y la morfología intestinal se analizó mediante un análisis de varianza en donde la edad y la camada fueron las principales fuentes de variación. Las medias se compararon mediante un test t-student protegido.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El peso de los animales, su velocidad de crecimiento e ingestión aumentaron con la edad ( $P < 0.001$ ; Tabla 1). La ingestión y la velocidad de crecimiento de los gazapos de este experimento fueron en el periodo de 26 a 30 d de edad un 20 y 45% inferiores a lo que por edad y tipo genético les correspondería (Gutiérrez et al., 2003). En este periodo estos animales están ingiriendo de media  $816 \text{ kJ/kg PV}^{0.75}$ , valor que se encuentra por encima de las necesidades de mantenimiento pero que es aproximadamente un 18% inferior a la cantidad de energía necesaria para alcanzar velocidades de crecimiento normales (Parigi-Bini y Xiccato, 1998). Esta menor ingestión tras el destete también fue observada por Gallois et al. (2005) en animales destetados a 21 y 35 d de edad. Pese a que la ingestión aumentó con la edad, los animales mostraron un peso a 51 d en torno a un 20% inferior a lo esperado. A pesar de estos resultados no hubo mortalidad en la prueba.

En la tabla 2 se muestran los resultados de la evolución con la edad de la morfología de la mucosa del yeyuno. La longitud de las vellosidades y la profundidad de las criptas se redujeron un 26% y un 9%, respectivamente, en animales de 31 d respecto a los animales lactantes de 26 d de edad. Esta aparente atrofia intestinal post destete concuerda con el reducido consumo de pienso observado en este periodo (Gallois et al., 2005). Distintos autores en porcino indican que un consumo reducido en los días siguientes al destete es la causa de una la atrofia intestinal observada en esta especie que puede llegar a reducir la longitud de las vellosidades hasta en un 50% (Van der Klis y Jansman, 2002). En conejos también se ha observado reducciones de las vellosidades 10 días post destete aunque la magnitud de este efecto es menor y variable (28-13%) con el tipo de dieta, llegándose a observar hasta incrementos del 28% con dietas con contenidos moderados en fibra soluble (Gutiérrez et al., 2002; Gallois et al., 2005; Gómez-Conde et al., 2007). Sin embargo, al contrario de lo observado en los trabajos anteriores, en este trabajo también se redujo la profundidad de las criptas (10%) a los 31 días, si bien la cripta aumenta de los 31 a los 38 días. A igual de lo que ocurre en cerdos, la proliferación de células de la cripta lleva un retraso respecto al daño causado en las vellosidades. De cualquier modo, parece que el posible daño en la vellosidad es transitorio. A partir de los 38 d y hasta los 52 d, la profundidad de la cripta (9%,  $P < 0,05$ ) y la longitud de la vellosidad (7%,  $P > 0,05$ ) aumentaron, haciendo que la relación vellosidad/cripta permaneciera constante.

En la Figura 1 se muestra el dendograma que ilustra el grado de similitud (SR, %) correspondiente a la microbiota cecal, mientras que en la Tabla 3 se recoge la media del grado de similitud dentro de cada edad y entre las distintas edades. La agrupación de los animales en los diferentes clusters indica que el grado de similitud dentro de cada edad (que varió entre un 89,1 y un 95,3%) fue superior al grado de similitud entre distintas edades (que varió entre un 82.3 y un 92.5%. Tabla 3). La variabilidad en la composición de la microbiota cecal fue menor a los 45 y 52 d de edad (SR del 92,5% entre ambas) en comparación con edades más tempranas (26, 31 y 38 d. Tabla 3). Estos resultados coinciden con la estabilización del llenado del ciego y del tracto digestivo. Los menores grados de similitud se observan entre los animales lactantes (26 d) y los animales de 31 y 38 d de edad, lo cual estaría relacionado con un mayor desarrollo del ciego y la colonización microbiana que tiene lugar a estas edades (Padilha et al., 1995). No se observó efecto de la camada ( $P > 0.10$ ) en la composición de la microbiota.

**Tabla 1: Evolución con la edad de los rendimientos productivos de gazapos destetados a 26 d de edad.**

|                            | Periodo, d        |                   |                   |                   | rsd  | P <sub>periodo</sub> <sup>2</sup> |
|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|------|-----------------------------------|
|                            | 26-30             | 30-37             | 37-44             | 44-51             |      |                                   |
| N                          | 86                | 63                | 42                | 21                |      |                                   |
| Velocidad crecimiento, g/d | 22,2 <sup>a</sup> | 32,1 <sup>b</sup> | 37,9 <sup>c</sup> | 40,5 <sup>d</sup> | 11,2 | 0,001                             |
| Consumo, g/d               | 50,8 <sup>a</sup> | 61,8 <sup>b</sup> | 84,4 <sup>c</sup> | 96,5 <sup>d</sup> | 16,0 | 0,001                             |

Medias con letras diferentes indican que difieren con P < 0,050

**Tabla 2. Evolución con la edad de la longitud de las vellosidades, profundidad de las criptas y relación entre ambos en el yeyuno.**

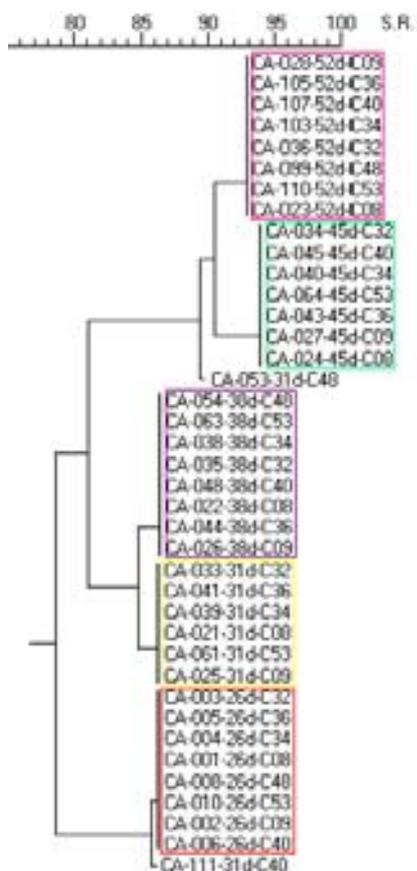
|                            | Edad              |                   |                   |                   |                   | rsd   | P     |        |
|----------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------|-------|--------|
|                            | 26d               | 31 d              | 38 d              | 45 d              | 52d               |       | Edad  | Camada |
| n                          | 18                | 20                | 18                | 16                | 17                |       |       |        |
| Longitud vellosidad, µm    | 595 <sup>b</sup>  | 441 <sup>a</sup>  | 564 <sup>b</sup>  | 579 <sup>b</sup>  | 603 <sup>b</sup>  | 114,8 | 0,001 | 0,015  |
| Profundidad cripta, µm     | 85,1 <sup>b</sup> | 76,6 <sup>a</sup> | 96,3 <sup>c</sup> | 99 <sup>c,d</sup> | 105 <sup>d</sup>  | 8,86  | 0,001 | 0,43   |
| Relación vellosidad/cripta | 6,98 <sup>a</sup> | 5,87 <sup>b</sup> | 5,80 <sup>b</sup> | 5,85 <sup>b</sup> | 5,71 <sup>b</sup> | 1,14  | 0,021 | 0,035  |

<sup>a, b, c, d</sup> En cada edad las letras minúsculas diferentes indican los valores difieren con P < 0,05.

**Tabla 3: Media y desviación estándar de la similitud de la microbiota del ciego dentro de cada edad y entre las distintas edades.**

|      | 26 d  |     | 31 d  |     | 38 d  |     | 45 d  |     | 52 d  |     |
|------|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|-------|-----|
|      | media | sd  |
| 26 d | 90,5  | 2,4 |       |     |       |     |       |     |       |     |
| 31 d | 84,8  | 1,0 | 89,1  | 2,6 |       |     |       |     |       |     |
| 38 d | 82,3  | 1,2 | 86,7  | 2,0 | 90,6  | 1,8 |       |     |       |     |
| 45 d | 86,2  | 1,5 | 87,1  | 1,4 | 84,4  | 1,4 | 93,5  | 0,8 |       |     |
| 52 d | 86,0  | 2,2 | 86,1  | 2,1 | 84,3  | 1,4 | 92,5  | 0,4 | 95,3  | 1,2 |

**Figura 1: Dendrograma que muestra el grado de similitud (S. R.) de los patrones de las bandas de PCR-RFLP del ciego (Para cada animal se muestra: identificación animal – edad sacrificio – identificación de la camada)**



## BIBLIOGRAFÍA

- Campin J., Eiras P., Rebollar P.G., Carabaño R. 2003. ITEA., 24: 660-662.
- Carabaño R., Badiola I., Licolis D., Gidenne T. 2006. Ilvo, Merelbeke, Belgium. pp: 221-227.
- Chamorro S., De Blas C., Grant G., Badiola I., Menoyo D., Carabaño R. 2009. J. Animal. Sc., 88:170-180.
- De Blas J.C., Gutiérrez I., Carabaño R. 1999. XV Curso de Especialización FEDNA. Avances en Nutrición y Alimentación Animal., pp: 67-80.
- Gallois M., Gidenne T., Fortun-Lamothe L., Le Huerou-Luron I., Lalles JP. 2005. Reprod. Nutr. Dev., 45: 109-122.
- Gómez-Conde M.S., García J., Chamorro S., Eiras P., García-Rebollar P., Pérez de Rozas A., Badiola I., De Blas J.C., Carabaño R. 2007. J. Animal Sc., 85: 3313-3321.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas J.C. 2002. J. Animal Sc., 80: 1029-1037.
- Gutiérrez I., Espinosa A., García J., Carabaño R., De Blas J.C. 2003. Animal Res., 52: 461-471.
- Méndez J., De Blas J.C., Fraga M.J. 1986. J. Anim Sci., 62: 1624-1634.
- Padilha M.T.S., Licois D., Gidenne T., Carré B., Fonty G. 1995. Reprod. Nutrition Dev., 35: 375-386.
- Parigi Bini R., Xiccato G. 1998. Wallingford Oxon, UK: CABI Publishing, CAB International. pp: 103-132.
- Van Der Kils J.D., Jansman A.J.M. 2002. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, The Netherlands. pp: 15-36.