



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS- CCA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

TRANSPORTADORES INTESTINAIS EM CODORNAS JAPONESAS
(*COTURNIX JAPONICA*) EM DIFERENTES FASES

Dissertação

EUDES FERNANDO ALVES DA SILVA

Mestrando

Areia/PB

Fevereiro de 2019

EUDES FERNANDO ALVES DA SILVA

**TRANSPORTADORES INTESTINAIS EM CODORNAS JAPONESAS
(*COTURNIX JAPONICA*) EM DIFERENTES FASES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia

Área de concentração: Produção de não- ruminantes

Comitê de Orientação:

Patrícia Emília Naves Givisiez – Orientadora (CCA/UFPB)

Ricardo Romão Guerra – Co-orientador (CCA/UFPB)

José Humberto Vilar da Silva – Co-orientador (CCHSA/UFPB)

Areia/PB

Fevereiro de 2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A474t Alves da Silva, Eudes Fernando.

TRANSPORTADORES INTESTINAIS EM CODORNAS JAPONESAS
(COTURNIX JAPONICA) EM DIFERENTES FASES / Eudes
Fernando Alves da Silva. - Areia UFPB/CCA, 2019.
ix 41 f. : il.

Orientação: Patrícia Emília Naves Givisiez.
Coorientação: Ricardo Romão Guerra, José Humberto Vilar
da Silva.
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCA.

1. coturnicultura. 2. qPCR. 3. transportadores de
hexoses. I. Givisiez, Patrícia Emília Naves. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

PARECER DE EFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: "TRANSPORTADORES INTESTINAIS EM CODORNAS JAPONESAS (*COTURNIX JAPONICA*) EM DIFERENTES FASES"

AUTOR: Eudes Fernando Alves da Silva

ORIENTADORA: Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez

JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO

EXAMINADORES:

Profª. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Celso José Bruno de Oliveira
Examinador
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Gregório Murilo de Oliveira Júnior
Examinador
Universidade Federal de Sergipe

Areia, 14 de fevereiro de 2019

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

EUDES FERNANDO ALVES DA SILVA– Filho de Fernando Alves da Silva e Paula Adriana Alves da Silva, nasceu no dia 02 de fevereiro de 1993 na cidade de Remígio, no estado da Paraíba. Graduou-se em Zootecnia pela Universidade Federal da Paraíba em julho de 2016. Em março do ano seguinte ingressou no Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da mesma universidade, na área de concentração de Produção de não-ruminantes, sob orientação da Profa. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez, defendendo a dissertação em fevereiro de 2019.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus por ser essencial em minha vida.

A minha mãe Paula Adriana Alves da Silva, que sempre se esforça para me dar o melhor. Aos meus Avôs maternos, Paulo Alves da Silva e Benedita Raimundo de Melo, pelo apoio incondicional, por sempre estarem presente, sendo exemplo em minha vida.

Aos meus tios: Ramildo, Tarciana (minha segunda mãe), Silvia, Kaliana, aos meus irmãos: Wiliana, Paulo, Aline, aos meus sobrinhos: Julia, Lucas e Heloísa.

A VOCÊS DEDICO!

*...E no final você ainda vai olhar para trás e agradecer cada tropeço.
Acredite, Deus não falha.
(Autor desconhecido)*

*Qualquer coisa que valha a pena ter
Vale a pena o suficiente para se lutar por ela...
Quando fica difícil temos que lutar um pouco mais
(Cheryl)*

Sumário

1. Introdução	12
2. Revisão de literatura:.....	14
2.1 Desenvolvimento da mucosa intestinal:	14
2.2 Digestão e absorção de carboidratos	16
2.3 Transportadores de hexoses:	19
3. Metodologia:	25
3.1 Local:.....	25
3.2 Delineamento experimental:	25
3.3 Colheita de tecido e extração de RNA total:	27
3.4 Síntese de cDNA e RT- PCR:	27
3.5 Análise estatística:.....	28
4. Resultados e discussão:	29
5. Conclusão	36
6. Referências bibliográficas:	37

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição percentual e calculada das rações.....	26
Tabela 2. Genes em estudo, identificação da sequência de referência no GenBank e sequência dos primers utilizados na qPCR.....	28

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Expressão relativa do RNAm para os transportadores de hexoses (<i>SGLT1</i> , <i>GLUT2</i> e <i>GLUT5</i>) no duodeno e no jejuno de codornas japonesas aos 1, 14 e 21 dias de vida.....	29
Figura 2. Expressão relativa do RNAm para os transportadores de hexoses (<i>SGLT1</i> , <i>GLUT2</i> e <i>GLUT5</i>) no duodeno e no jejuno de codornas japonesas aos 42 e 49 dias de vida.....	33

ALVES DA SILVA, E. F. **Transportadores intestinais em codornas japonesas (*Coturnix japonica*) em diferentes fases.** Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB. Orientadora: Prof. Dr^a Patrícia Emília Naves Givisiez.

Resumo: O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a expressão gênica do co-transportador de sódio e glicose do tipo 1 (*SGLT1*) e dos transportadores de glicose do tipo 2 e 5 (*GLUT2* e 5) em codornas japonesas em diferentes fases. Foram utilizadas 80 codornas japonesas de um dia de vida, fêmeas, criadas em condições semelhantes à de criação para a produção, com alimentação e água *ad libitum*. O delineamento foi o inteiramente casualizado, e os tratamentos foram as diferentes idades (1, 14, 21, 42 e 49 dias de vida), compostos por 3 repetições cada. Nos respectivos dias de vidas, foram escolhidos aleatoriamente três aves e eutanasiadas, em seguida realizou-se a colheita de amostras de duodeno e jejuno para avaliação da expressão de gênica dos transportadores intestinais, usando a técnica de RT-PCR. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5% de probabilidade. Entre 1 e 21 dias de idade, a expressão relativa de *SGLT1* reduziu aos 14 dias em ambos os segmentos intestinais e voltou a aumentar apenas no jejuno aos 21 dias, a expressão de *GLUT2* aumentou em relação a idade em ambos os segmentos intestinais e a expressão do *GLUT5* também aumentou em relação a idade, entretanto apenas no jejuno. O aumento na expressão desses transportadores em relação a idade pode ser um mecanismo compensatório com a finalidade de aumentar a absorção dos seus substratos. Os maiores valores de expressão relativa do *SGLT1* foram observados aos 49 dias no duodeno, já o *GLUT5* os maiores valores de expressão foram observados aos 42 dias do duodeno e aos 49 dias no jejuno, esses maiores valores podem ser atribuídos ao início da fase de postura, como forma de garantir a máxima absorção dos nutrientes. Diante disso, conclui-se a expressão gênica relativa dos transportadores intestinais de hexoses *SGLT1*, *GLUT2*, e *GLUT5* foram alteradas em função das diferentes fases de criação em codornas japonesas.

Palavras chave: coturnicultura, qPCR e transportadores de hexoses.

ALVES DA SILVA, E. F. **Intestinal transporters and Japanese quail (*Coturnix japonica*) in different phases.** Dissertation (Master in Animal Science). Graduate Program in Animal Science. UFPB. Paraíba-PB. Advisor: Prof. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez.

Abstract: The experiment was carried out with the objective of evaluating the gene expression of the sodium and glucose co-transporter type 1 (*SGLT1*) and glucose transporters type 2 and 5 (*GLUT2* and *GLUT5*) in Japanese quails in different phases. Eighty-eight Japanese one-day-old female categories, reared in conditions similar to the creation of a production, with feed and water ad libitum, were used. The design was the casual encounter, were used as different ages (1, 14, 21, 42 and 49 days of life), composed of 3 replicates each. The baseline data of the experimental harvest were as follows: the samples collected and euthanized, then duodenum and jejunum samples were collected for the evaluation of the gene expression of intestinal transporters using a RT-PCR technique. Data were submitted to analysis of variance and as a means of comparison by the Tukey test at 5% probability. Between 1 and 21 days of age, an expression related to *SGLT1* reduced at 14 days in both intestines and increased again only at 21 days, with *GLUT2* expression in relation to age in both intestinal segments and expression of *GLUT5* also increased in relation to an age, just not being jejunum. The increase in transport capacity over one can be a compensatory mechanism with the purpose of increasing the load of its substrates. The highest values of relative expression of *SGLT1* were observed at 42 days of duodenum, whereas *GLUT5* the highest expression values were observed at 42 days of duodenum and at 49 days in jejunum, these higher values can be recognized at the beginning of the posture phase As a way to ensure maximum absorption of nutrients. Therefore, we conclude that the relative gene expression of the intestinal transporters of *SGLT1*, *GLUT2* and *GLUT5* hexoses has been altered in several breeding phases in Japanese quails.

key words: coturniculture, qPCR and hexoses transporter.

1. Introdução

O intestino delgado é a porção mais longa do trato gastrointestinal, responsável principalmente pelos processos de digestão e absorção. Nas aves, a digestão de carboidrato tem início no intestino delgado, mais precisamente no duodeno, pela ação das enzimas advindas do pâncreas, e em seguida pela ação das enzimas presentes nas membranas dos enterócitos. Os produtos da digestão são em sua maioria glicose, entretanto, também há a formação de frutose.

Apesar de estarem bem esclarecidos em muitas espécies animais, os processos absorptivos inerentes ao intestino delgado ainda não estão completamente elucidados em todas as espécies de aves domésticas. A absorção dos produtos da digestão no intestino delgado pode ser realizada através de dois processos: absorção paracelular ou absorção transcelular (KARASOV, 2017). Devido às características moleculares que muitos produtos da digestão possuem e pelas próprias particularidades das membranas do enterócito (CHEN et al., 2015), faz-se necessário o auxílio de proteínas transportadoras específicas para mediar o transporte desses produtos durante a absorção transcelular.

No caso dos produtos da digestão de carboidratos da dieta são absorvidos pelo co- transportador de sódio e glicose do tipo 1 (*SGLT1*), presente na membrana apical dos enterócitos (RASHID et al., 2016), sendo esse transportador capaz de transportar tanto a glicose como a galactose e pelos transportadores de glicose (*GLUTs*), sendo o *GLUT3* específico para frutose, também presente na membrana apical; e o *GLUT2* presente na membrana basolateral, capaz de transportar tanto frutose como glicose e galactose (BYERS et al., 2017).

Estudos em muitas espécies de aves, mostram que os padrões de expressão dos transportadores de nutrientes se alteram durante o desenvolvimento do animal. Estudos conduzidos por Gilbert et al. (2007) e Li et al. (2008) em frangos de corte; Dong et al. (2012) em pombos domésticos e Weintraut et al. (2015), em perus mostram que essas aves apresentam baixos níveis de expressão dos transportadores de nutrientes à eclosão. A menor expressão gênica é explicada pelo menor número de enterócitos e baixa funcionalidade e maturação dos mesmos (CHEN et al., 2018), menor altura de vilosidade (menor área de absorção) e falta do estímulo químico proporcionado pelo contato com alimento (LI et al., 2008). Entretanto, com o aumento da idade, os níveis de expressão de

muitos transportadores aumentam linearmente, isso seria necessário para assegurar a máxima absorção dos nutrientes e assegurar a vida das aves.

Em codornas japonesas isso não é diferente, nos estudos de Andrade et al. (2018) avaliando a expressão gênica de transportadores intestinais (*SGLT1* E *GLUT2*) em codornas japonesas em relação a idade, foi possível observar um aumento na expressão de ambos os transportadores no jejuno até os 14 dias de vida e em seguida se reduziu, sugerindo assim que a capacidade de absorver nutrientes por esses transportadores aumenta até os 14 dias de vida.

A absorção eficiente dos nutrientes é importante para otimizar o crescimento e desenvolvimento do pintinho durante o período embrionário e pós-nascimento (ZHANG e WONG, 2017). A compreensão sobre as mudanças na expressão de transportadores intestinais de nutrientes durante a desenvolvimento da ave pode melhorar a compreensão sobre a melhor forma de utilizar os nutrientes da dieta (WEINTRAUT et al., 2015), como também sobre as formulações das dietas, estando esses fatores diretamente relacionados com o desempenho produtivo da ave.

Entretanto, ainda não se tem o total conhecimento sobre a ontogenia dos transportadores intestinais em codornas japonesas, ou seja, como são seus padrões de expressão em relação às fases desses animais. Diante disso, objetivou avaliar a expressão gênica dos transportadores de hexoses (*SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5*) em codornas japonesas em diferentes fases.

2. Revisão de literatura:

2.1 Desenvolvimento da mucosa intestinal:

O intestino delgado é a porção mais longa do trato gastrointestinal, sendo responsável pela digestão e absorção dos nutrientes (BOLELI et al., 2002), sendo dividido anatomicamente em três regiões distintas: duodeno, jejuno e íleo (MACARI, 2003; SCANESA e PIERZCHALA-KOZIECB, 2014; DENBOW, 2015). O sistema digestório das aves, ao nascer, encontra-se anatomicamente completo, porém suas capacidades funcionais se encontram imaturas (MAIORKA et al., 2002). No entanto, com o avançar da idade, o trato gastrintestinal sofre um processo de maturação, envolvendo adaptações morfofisiológicas que o tornam aptos para desempenhar com maior capacidade os processos de digestão e absorção dos nutrientes da dieta.

Durante as duas primeiras semanas de vida, após a eclosão, o intestino das aves sofre alterações, incluindo o crescimento das vilosidades intestinais, aumento da taxa de proliferação dos enterócitos e da atividade das enzimas digestíveis e do número de transportadores intestinais (GILBERT et al., 2010). Essas alterações ocorrem principalmente em resposta a presença do alimento no intestino, sendo importantes para assegurar a digestão e absorção adequadas dos nutrientes na dieta (UNI et al., 1995 e BOLELI et al., 2002). Esse processo é comum às aves objetivando aumentar o aproveitamento dos nutrientes da dieta, rica em carboidratos, lipídeos e proteínas (MAIORKA et al., 2002; LI et al., 2008).

O processo de desenvolvimento da mucosa intestinal decorre primariamente através de dois processos citológicos associados: renovação celular (proliferação e diferenciação celular) e perda de células (extrusão celular), sendo o equilíbrio entre esses dois processos chamados de *turnover* intestinal (MAIORKA et al., 2002).

Entre as células presentes no intestino delgado, os enterócitos são os responsáveis pela digestão final dos nutrientes, bem como pela absorção (transporte transcelular) destes produtos (ANDRADE et al., 2018). Entretanto para que estas funções sejam efetivas, essas células precisam se tornarem maduras funcionalmente para que possam exercer sua funcionalidade adequadamente (FERNANDEZ-ALARCON et al., 2016). Essa maturação ocorre durante a migração dessas células da cripta até ápice das vilosidades e é dependente da síntese de proteínas estruturais. (MACARI, 2003).

Contudo, na primeira semana de vida pós-eclosão o intestino delgado das aves se desenvolve mais intensamente, sendo observadas alterações morfológicas das vilosidades intestinais nos três segmentos intestinais visando expandir a área de superfície absorptiva pelo aumento do número de células presente nas vilosidades (MAIORKA et al., 2002; UNI et al., 2003). Estas alterações morfológicas foram observadas por UNI et al. (1995), os quais contabilizaram aumentos de 25 a 100% entre 4 e 10 dias pós-eclosão na altura e perímetros das vilosidades intestinais de aves pesadas e leves em todos os segmentos intestinais. Crescimento similar a este também foram observados em frangos de corte por UNI et al. (1998), com aumento progressivo do número de enterócitos em relação à idade das aves. O aumento do tamanho das vilosidades pode ser atribuído ao aumento no número e do tamanho das células que a compõem, quando maior o número de células, maior o tamanho das vilosidades (MACARI, 2003).

As criptas começam a se formar no primeiro dia pós-eclosão, tornando-se mais visíveis no segundo e terceiro dia, apresentando função direta no aumento do número de células nas vilosidades (UNI et al., 2003). Isso porque é nessa região onde ocorrem os processos de proliferação, diferenciação e maturação celular, (BOLELI et al., 2002) a medida que as células presentes nessa região sofrem mitoses, as células resultantes migram até o ápice das vilosidades, sendo posteriormente expulsos para o lúmen intestinal (UNI et al., 2001). Estudos demonstram aumento na profundidade das criptas no duodeno e no jejuno em relação a idade, em galinha leves e pesada e em frangos de corte (UNI et al., 1995; 1998).

Essas alterações são atribuídas ao acesso à alimentação, fator marcante para esses aumentos, o aumento do contato com o alimento, causa um efeito sobre as criptas, levando ao aumento na geração de células, que irão atingir a maturidade enquanto sobem para o ápice das vilosidades. Segundo UNI et al. (1995), MAIORKA et al. (2002) e GILBERT et al. (2010) o acesso ao alimento pode ser considerado como fator primário para o desenvolvimento da mucosa intestinal, principalmente o aumentar da altura das vilosidades, entretanto a privação alimento impediu o crescimento das vilosidades e reduz o tempo de renovação das células epiteliais.

Essas alterações na morfologia intestinal também são observadas em codornas japonesas; nos achados de Andrade et al. (2018), avaliando a ontogenia sobre morfologia intestinal de codornas japonesas, foi constatado um aumento na altura da vilosidade

intestinais em relação a idade, sendo observado as maiores alturas aos 42 dias de vida no duodeno e aos 49 dias de vida no jejuno e íleo, seguindo de uma redução dos valores. Já as criptas se encontram pequenos e rudimentares, aumentando rapidamente o número após a eclosão. Os maiores valores foram observados aos 35 dias no duodeno e jejuno, entretanto no íleo os maiores valores foram observados aos 49 dias. Essas alterações ocorreram possivelmente em resposta a entrada na postura, como um mecanismo para aumentar a área absorptiva e máxima a absorção de nutrientes da dieta.

Além dessas modificações, as enzimas digestivas também têm sua atividade alteradas em relação a idade e podem alterar a morfologia intestinal. Durante todos os estágios de desenvolvimentos das aves é possível observar alterações nas atividades de enzimas digestivas intestinais (GILBERT et al., 2007). Estudos de UNI et al. (1995) foram possíveis observar aumento de algumas secreções das enzimas pancreáticas (dissacarídeos) em relação a idade (4 e 21 dias), possivelmente esse aconteça em resposta ao aumento dos nutrientes no intestino delgado, se fazendo necessário maior atividade das enzimas digestíveis para digerir esses nutrientes. Esse aumento da digestão, proporciona mais substrato passível de ser absorvido, e isso também causa um estímulo para o desenvolvimento da mucosa intestinal, como tentativa de aumentar a área absorptiva.

Essas alterações na mucosa intestinal podem ser um mecanismo adaptativo à dieta fornecida aos animais após a eclosão, rica em carboidrato e proteína. As alterações morfológicas estão diretamente relacionadas com o melhor aproveitamento da dieta, tendo efeito direto sobre o desempenho do animal.

2.2 Digestão e absorção de carboidratos

Os produtos da digestão dos carboidratos da dieta são os principais produtos absorvido pelo intestino delgado das aves, sendo usados para a produção de energia, síntese de glicogênio no fígado e músculo, síntese de ácidos graxos e de aminoácidos não essenciais (VIERA et al., 2002). Porém, para serem usados na síntese desses compostos, os carboidratos presentes na dieta necessitam passar pelo processo de digestão e os produtos resultantes devem ser captados e transportados pelas membranas do intestino delgado através de processos de absorção.

Digestão é o processo de hidrólise ou quebra física e química das partículas da dieta, até a liberação de monômeros capazes de serem absorvidos no intestino delgado por meio dos enterócitos. O processo digestivo se inicia na cavidade oral e finaliza-se no intestino delgado. Neste processo ocorre através da ação de enzimas específicas presentes no trato gastrointestinal e nas suas glândulas acessórias (glândulas salivares, pâncreas e fígado), assim como a partir de processos mecânicos, tais como apreensão, deglutição, trituração e maceração dos alimentos (ARGENSIO, 2006).

Esse processo pode ser dividido em dois estágios, chamados de digestão luminal e digestão membranosa (ARGENSIO, 2006 e HERDT, 2008). A digestão luminal acontece no lúmen intestinal, pela ação das enzimas intestinais presentes nas glândulas acessórias e as produzidas pelo próprio trato gastrointestinal, que atuam no lúmen intestinal. Já a digestão membranosa acontece na parede do intestino delgado, mais precisamente nas membranas dos enterócitos (GILBERT et al., 2007), pela ação de enzimas específicas quimicamente ligados a membrana (HERDT, 2008).

Em praticamente todas as espécies animais, o processo digestivo se inicia na cavidade bucal por meio da enzima alfa-amilase salivar, (VILAR DA SILVA et al., 2014); entretanto, em aves, não ocorre produção da alfa-amilase salivar. A completa ausência de dentes e da alfa-amilase salivar faz com que o bico das aves tenha como função exclusiva a apreensão e deglutição do alimento (VIEIRA et al., 2002). Apesar disso, alguns autores acreditam que as aves apresentem a alfa-amilase, entretanto em quantidades não substanciais, supondo até a possibilidade da atuação dessa enzima no esôfago das aves, causando uma pequena digestão.

A digestão mais efetiva do amido nesses animais se inicia no intestino delgado, mais precisamente no duodeno pela ação das enzimas exócrinas advindas do pâncreas (LI et al., 2008). O pâncreas secreta alfa-amilase pancreática que atuam sobre o amido no lúmen intestinal, hidrolisando as ligações alfa-1,4, da amilose gerando como produto a maltose e maltotriose, essa enzima também atua sobre a amilopectina levando a formação da dextrina-limite. (ARGENSIO, 2006 e VILAR DA SILVA et al., 2014).

Entretanto esses compostos ainda não são capazes de serem absorvidos, devido ao grande tamanho dessas moléculas, sendo necessário a ação das enzimas secretadas pelo epitélio intestinal para produção de produtos passíveis de serem absorvidos, sendo essa fase chamada de digestão membranosa (ARGENSIO, 2006). As enzimas secretadas

nessa fase são: a maltase (que hidrolisa a maltose e a maltotriose à glicose) e a isomaltase (que hidrolisa a dextrina-limite em glicose e maltose) (VIEIRA et al., 2002). Após a ação conjunta das enzimas advindas do pâncreas e da parede intestinal, o amido é digerido até seu monômero, a glicose, que é o produto final passível de ser absorvido.

Além da glicose, o processo digestivo dos carboidratos da dieta também pode leva à formação de sacarose durante a fase luminal (VIEIRA et al., 2002), sendo essa hidrolisada pela enzima sacarase, secretada pela parede intestinal, que rompem ligação do tipo beta-1,2 da sacarose, liberando, assim, frutose e glicose.

O processo de absorção é o movimento dos produtos da digestão pelas membranas intestinais, e em seguida para dentro do sistema vacular, no caso das aves, o jejuno é a porção intestinal onde ocorrer a maior parte dos processos absorptivos (VIEIRA et al., 2002). Esse processo pode acontecer por dois tipos de mecanismos: difusão paracelular e transporte transcelular (KORASOV, 2017). Na difusão paracelular os substratos são passivamente absorvidos através de espaços intercelulares (GARCIA-AMADO et al., 2005) ou junções de oclusão, sendo um processo onde não há requerimento energético (GOFF et al., 2006). Essas junções proporcionam resistência à passagem de alguns íons, resistência essa pode ser superada se as forças eletroquímicas que impulsionam os íons forem suficientemente grandes. Esse processo é conhecido como arrastamento de solutos e é dependente principalmente de gradientes de concentração e do tamanho das moléculas (FERRARIS, 2001).

Já no transporte transcelular, moléculas ou macromoléculas produzidas no final do processo digestivo e presentes no lúmen adentram os enterócitos através da membrana apical e depois atravessam a membrana basolateral em direção ao sangue (BOLELI et al., 2002; RASHID et al., 2016). Esse tipo de transporte depende da presença de transportadores intestinais. Essas proteínas são necessárias para que ocorra o transporte transmembrana dos produtos da digestão que não são capazes de se difundir pela membrana do enterócitos (bicamada lipídica), tais como glicose, frutose, galactose, peptídeos, aminoácidos e íons.

2.3 Transportadores de hexoses:

Como consequência da degradação dos polissacarídeos da dieta são produzidos glicose, frutose e galactose (GILBERT et al., 2007; BEIYR et al., 2017 e KAMINSKI AND WONG, 2018). O transporte destes produtos pela membrana apical e basolateral dos enterócitos é mediado por proteínas transportadoras de monossacarídeos (FERRARIS, 2001 e SUN et al., 2015), devido ao maior peso molecular e por serem hidrofílicos, o que os impede de se difundir-se através dos poros da membrana (JESSE et al., 2006). Esse transporte é mediado por duas famílias de proteínas: a família de transportadores de glicose (GLUT), codificados pelo gene SLC2, onde o transporte é realizado por difusão facilitada, e a família de co-transportador de glicose dependente de sódio (SGLT), codificado pelo gene SLC5, quando o transporte é dependente do gradiente de concentração do sódio (BRAUN e SWEAZEA, 2008).

Em humanos já foram identificados 14 tipos diferentes das proteínas transportadoras de glicose (GLUT), podendo as mesmas serem categorizadas em 3 classes, (classe I – GLUTs 1 a 4 e 14; classe II - GLUTs 5,7,9 e 11; e classe III - GLUTs 6, 8, 10, 12, 13 ou HMIT). A maioria desses genes foram identificadas como resultado do sequenciamento do genoma humano (HUSSAR et al., 2014; MUECKLER e THORENS, 2013). No entanto, não há indícios sobre a presença de todas estes transportadores em aves. Estudos comprovaram apenas a presença de GLUTs 1, 2, 3, 5, 8, 9, 12 e 13 em aves, atualmente não há comprovação da existência em aves dos GLUTs 4 e 7, sugerindo-se assim a perda de genes codificadores destes transportadores durante o processo evolutivo das aves (BYERS et al., 2017).

Acredita-se que todos os membros da família GLUT tenham se originado de um ancestral comum. Durante a evolução, os membros duplicados teriam adquirido especialidade de modo que eles desenvolvessem especificidade de substrato, ou pudessem ser regulados de alguma forma que fosse vantajosa para a espécie (BYERS et al., 2017). Nesse tipo de transporte, a glicose é movimentada através das membranas celulares com o auxílio de uma proteína carreadora (GOLF et al., 2007), de uma área de maior concentração para uma de menor, sem haver a necessidade de gasto energético.

A família SGLT é formada também por cerca de 14 proteínas diferentes (CHEN et al., 2018), sendo capazes de transportam a molécula de glicose ou galactose contra seu gradiente de concentração. Essas proteínas possuem dois locais de fixação, um para o sódio e outro para a glicose. Junto a isso, a concentração dos íons de sódio no meio

intracelular é menor do que a do meio extracelular, o que proporciona energia para o transporte (concentração mantida pela bomba de sódio e potássio Na/K ATPase, com gasto de energia) (WOOD e TRAYHURN, 2003). São consideradas como proteínas simporte, pois efetuam o transporte de duas ou mais moléculas no mesmo sentido e ao mesmo tempo através das membranas (GOLF et al., 2007).

Em especial no intestino dos animais já foram identificados os *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT5*, *GLUT7*, *GLUT8*, *GLUT9*, *GLUT12* (CHEN et al., 2018, BYERS et al., 2017) e *SGLT1*, *SGLT 3* (GILBERT et al., 2007), *SGLT5* (EBRAHIMI et al., 2015) e *SGLT6* (LI et al., 2008). Entretanto, ainda não se compreende muito bem os mecanismos de transporte realizados por todas essas proteínas transportadoras. No caso das aves domésticas, atualmente os estudos se concentram em avaliar a expressão relativa de *GLUT1*, *GLUT2*, *GLUT5* e *SGLT1* no intestino, pois são mais bem caracterizados, em relação aos seus substratos e mecanismos regulatórios.

De modo geral, a absorção ou transporte de glicose, galactose e frutose pode ser dividida em duas etapas: a primeira é mediada pelas proteínas *SGLT1* e *GLUT5* na membrana apical dos enterócitos, que captam os monossacarídeos e os transportam para o citoplasma (HUSSAR et al., 2014). Com o aumento da concentração extracelular dessas moléculas, o *GLUT2*, localizado na superfície basolateral dos enterócitos, facilita a liberação dessas moléculas no sistema circulatório (RODER et al., 2014).

A proteína *SGLT1* está localizada na membrana apical do enterócito, e transporta glicose e galactose, juntamente com Na⁺, do lúmen intestinal para o citosol (CHEN et al., 2018). Esse transportador tem alta afinidade, mas baixa capacidade (ROTMISTROVA, 2015). O transporte ocorre quando se acoplam, ao mesmo tempo, uma molécula de glicose e duas de sódio nos sítios do transportador, levando a uma mudança de conformação desse transportador, resultado na abertura do poro de membrana para o interior da célula e liberação das moléculas de sódio, a favor do seu gradiente de concentração. Em seguida, esse transportador perde sua afinidade pela glicose, que é liberada dentro da célula contra seu gradiente de concentração. A liberação da molécula de glicose estimula o transportador a retornar a sua conformação inicial, possibilitando a ligação de novas moléculas de sódio e glicose para que o processo seja repetido (BOLELI et al., 2002). O gradiente de concentração do sódio, necessário para esse transporte, é mantido pela bomba de sódio e potássio, com gasto de energia (BRAUN & SWEAZEA, 2008); por isso, esse transporte é ativo secundário (DENBOW, 2015).

Segundo Gilbert et al. (2007), o *SGLT1* é o principal transportador de glicose no intestino delgado, com expressão relativa de RNAm de 6 a 29 vezes mais do que os outros transportadores de hexoses. Animais sem a proteína *SGLT1* não sobrevivem se receberem dietas contendo glicose, indicando seu papel fundamental na absorção de glicose (RODER et al., 2014). A expressão relativa do RNAm desse transportador já pode ser identificada durante o desenvolvimento embrionário em frangos e em perus (de OLIVEIRA et al., 2009), como também em muitos outros animais.

A atividade dessa proteína é claramente modulada pela glicose, dependendo das concentrações intestinais de glicose luminal e das concentrações dietéticas do Na⁺, (FERRARI, 2001). Animais alimentados com dietas contendo baixos níveis de sódio podem ter absorção de glicose reduzida.

O *GLUT5* está presente na membrana apical dos enterócitos e é responsável pelo transporte exclusivo da frutose (SCANESA e PIERZCHALA-KOZIECB, 2014) do lúmen intestinal para o meio extracelular dos enterócitos (HUSSAR et al., 2016). É um transportador de alta afinidade (SWEAZEA et al., 2006), principalmente expresso na porção do jejuno e na parte terminal do íleo. A expressão relativa de seu RNAm é constantemente afetada pelo nível de frutose na dieta (FERRARIS, 2001). A presença de um transportador específico para a frutose se deve ao fato de apesar de ser uma hexose, ser uma cetona e ter propriedades ligeiramente diferentes (BOLELI et al., 2002).

Em muitas espécies de animais, a expressão do *GLUT5* foi descrita nos rins, gordura, músculo esquelético, cérebro e esperma, entretanto, é ainda questionável devido ao baixo nível de frutose nesses tecidos. Uma hipótese para a existência desse transportador nos tecidos citados seria sua possível capacidade em transportar outros substratos, não apenas a frutose (MUECKLER e THORENS, 2013).

A maioria dos estudos avaliando padrões de expressão de transportadores intestinais de monossacarídeos em aves de produção não avaliaram esse transportador, devido à baixa quantidade de frutose na dieta de aves. Entretanto, Gilbert et al. (2007) relataram aumento da quantidade de RNAm para *GLUT5* com a decorrer da idade em frangos de corte. O próprio desenvolvimento intestinal durante as primeiras semanas de vida justifica esse aumento devido às alterações morfológicas e ao aumento no número de células (referenciar).

SHIMIZU et al. (2018) avaliaram a expressão dos transportadores de hexoses (*SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5*) em frangos de corte submetidos a alimentação *ad libitum* e jejum, observando redução na expressão de todos transportadores quando submetidos a jejum, entretanto, foi observado uma redução maior na expressão relativa do RNAm para o *GLUT5* em relação aos outros transportadores. Os autores sugerem que esse transportador possua mecanismos de regulação diferente dos outros transportadores em situação de jejum.

O *GLUT2* é o transportador de glicose presente na membrana basolateral do intestino e rins. Essa proteína também é altamente expressa em hepatócitos no fígado e nas células beta pancreáticas (ROTMISTROVA, 2015). A absorção por esse transportador ocorre por difusão facilitada, independente de sódio e sem gasto de energia (ARAÚJO et al., 2008). Além da glicose, essa proteína também tem a capacidade de transportar outras moléculas, como a frutose e a galactose (HUSSAR et al., 2015; CHEN et al., 2018), sendo um transportador de baixa afinidade (KONO et al., 2005; MUECKLE e THORENS, 2013).

Essa proteína medeia o fluxo de glicose dos enterócitos para o sangue (RODER et al., 2014). Apesar de estar presente principalmente na membrana basolateral dos enterócitos, estudos recentes mostram que essa proteína também pode estar presente na membrana apical dos enterócitos. Estudos em humanos e em camundongos sugerem a presença dessa proteína na membrana apical de forma permanente, em indivíduos onde a proteína *SGLT1* está ausente (MUECKLE e THORENS, 2013). Junto a isso, a presença dessa proteína na membrana apical pode ser importante para maximizar a absorção de glicose, quando há elevado nível de glicose no lúmen intestinal.

O mecanismo de absorção das hexoses na borda em escova dos enterócitos ocorre pela ação coordenada dessas duas proteínas, o transporte realizado pelo *SGLT 1* causa aumento na concentração de glicose no interior das células, sendo então possível atravessar a membrana basolateral dos enterócitos para a circulação sanguínea por meio da difusão facilitada (*GLUT2*).

Em fetos de mamíferos, o transporte das hexoses para fora do enterócito é realizado pelo *GLUT1*, entretanto sua expressão é reduzida gradualmente durante o desenvolvimento intestinal (BOLELI et al., 2002). Segundo ROTMISTROVA (2015), o *GLUT1* é expresso no estômago glandular e no intestino delgado das aves, porém em

concentração insignificante. Esse transportador tem grande importância durante o período embrionário com influência direta sobre a sobrevivência durante esse período (MUECKLE e THORENS, 2013).

Embora os padrões de expressão relativa de RNAm para os transportadores GLUTs e SGLTs tenham sido bem caracterizados em mamíferos, relativamente ainda são poucos os conhecimentos sobre os padrões de expressão de ambos no trato gastrointestinal das aves (HUSSAR et al., 2015). Seus mecanismos de transporte no intestino ainda não estão completamente compreendidos. Em aves comerciais ou domésticas, há estudos avaliando a expressão dos transportadores de glicose intestinal, em várias dinâmicas experimentais e várias espécies como modelos experimentais.

Apesar disso, já é entendido que alguns fatores exercem influência sobre a expressão dos transportadores intestinais, entre elas a própria idade da ave. Estudos demonstram que a maioria dos transportadores intestinais têm sua expressão aumentada em decorrência da idade (KAMINSKI e WONG, 2018). Nos estudos de Gilbert et al. (2007) em frangos de corte, foi possível observar aumento linear na expressão relativa do RNAm dos transportadores *SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5*, durante o 20º dia de incubação até o 14º dia pós-eclosão. Li et al. (2008) também avaliando frangos de corte relataram aumento de 28,8 vezes no nível de expressão do *SGLT1*, 104% vezes no nível de expressão do *GLUT2* e 45,4 vezes no nível de expressão para o *GLUT5*, desde o 18º dia de incubação até o dia 14º pós eclosão. Resultado semelhante foram relatados em pombos domésticos por Dong et al. (2012), onde também foi observado aumento linear na expressão relativa do RNAm dos *SGLT1* e *GLUT2* do 9º dia de incubação até o 14º dia pós-eclosão.

Os resultados de todos esses trabalhos mostram que os perfis de expressão dos transportadores de nutrientes mudam conforme a idade. O aumento da disponibilidade de nutrientes específicos (aumento do estímulo químico), causado pela mudança da dieta, as mudanças na morfologia intestinal (aumento das vilosidades) e o aumento no número de enterócitos maduros funcionais são fatores considerados como indutores do aumento de expressão.

A compreensão sobre o desenvolvimento funcional intestinal junto com a conhecimento sobre os padrões de expressão de transportadores de nutrientes intestinais e como esses podem ser afetados podem auxiliar para os melhores índices produtivos das

aves; isso seria possível pois os transportadores de nutrientes estão diretamente relacionados com o processo absorptivo dos nutrientes da dieta. Esse melhor aproveitamento da dieta pode causar vários impactos positivos, como uma redução dos custos da dieta, menor impacto ao ambiente (de Oliveira et al., 2009) e melhor resultado produtivo para a ave. Atrelado a isto, o desenvolvimento do intestino, das enzimas digestivas e das proteínas de transportadores são importantes fatores que podem afetar a absorção de nutrientes e, portanto, o crescimento do animal (CHEN et al., 2005).

Uma maior compreensão sobre a capacidade do intestino delgado em assimilar seus produtos da digestão pode auxiliar nos conhecimentos de formulação de ração. Os conhecimentos sobre os transportadores de nutrientes podem ser fundamentais para formular dietas que melhor acomodem o perfil de enzimas digestivas e transportador de nutrientes (GILBERT et al., 2007). Se fazendo necessários novos estudos, em outras dinâmicas experimentais a fim de elucidar as lacunas de conhecimento.

3. Metodologia:

Todos os procedimentos envolvendo manipulação animal foram previamente submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da UFPB (CEUA), sob o protocolo de nº 3705/14.

3.1 Local:

O experimento foi conduzido no Módulo de Avicultura e as análises laboratoriais no Laboratório de Avaliação de Produtos de Origem Animal (LAPOA), ambos pertencentes ao Departamento de Zootecnia, Centro de Ciências Agrárias- Campus II, da Universidade Federal da Paraíba.

3.2 Delineamento experimental:

Foram utilizadas 80 codornas japonesas (*Coturnix coturnix japonica*), fêmeas de um dia de vida, com peso médio inicial de 6,9 gramas. As aves foram pesadas e distribuídas aleatoriamente em oito baterias com dimensões de 70 x 50 x 30 cm, equipadas de bebedouros e comedouros. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, composto de 5 tratamentos, compostos pelas diferentes idades (1, 14, 21, 42 e 49 dias), com 3 repetições cada.

Utilizou-se de condições semelhantes à de criação comercial, com fornecimento de alimento e água *ad libitum*. Os manejos foram realizados duas vezes ao dia, às 8:00 e às 15:00 horas durante todo o período experimental. Aos nove dias de vida as aves foram vacinadas contra Newcastle via oral, seguido as recomendações do manual da linhagem. A temperatura e ventilação foram controladas por meio do manejo de cortinas presentes nas laterais do galpão.

As rações foram formuladas para atender as exigências nutricionais de codornas japonesas nos diferentes períodos de criação conforme informações contidas em Silva & Costa (2009) (**Tabela 1**).

Aos 1, 14, 21, 42 e 49 dias de vida, foram selecionadas 3 aves aleatoriamente, as quais foram pesadas e em seguida sacrificadas por deslocamento cervical para colheita de amostras dos segmentos do intestino delgado (duodeno e jejuno).

Tabela 1. Composição percentual e calculada das dietas

Ingredientes (%)	Fases de criação		
	Cria (1-21 dias)	Recria (22-42 dias)	Pré-postura (43 dias - 5% de postura)
Milho 7,88% PB	47,369	54,585	52,023
Farelo de Soja, 45% PB	46,852	38,837	39,972
Óleo de soja	2,682	3,641	1,870
Calcário	1,372	1,177	4,345
Fosfato Bicálcico	0,840	0,801	0,821
Sal comum	0,557	0,557	0,560
DL-Metionina, 99%	0,135	0,145	0,152
Colina	0,070	0,070	0,070
L-Treonina, 98%	--	0,063	0,063
Suplemento vitamínico ¹	0,025	0,025	0,025
Suplemento mineral ²	0,050	0,050	0,050
Antioxidante ³	0,010	0,010	0,010
Antimicrobiano ⁴	0,015	0,015	0,015
Coccidiostático ⁵	0,020	0,020	--
Total	100,00	100,00	100,00
Composição calculada			
Energia metabolizável, kcal/kg	2900	3050	2800
Proteína Bruta, %	25,00	22,00	22,00
Metionina digestível, %	0,461	0,438	0,440
Metionina+Cistina digestível, %	0,800	0,740	0,800
Lisina digestível, %	1,294	1,101	1,118
Treonina digestível, %	0,8635	0,820	0,820
Valina digestível, %	1,079	0,945	0,945
Triptofano digestível, %	0,2954	0,252	0,225
Arginina digestível, %	1,646	1,416	1,430
Isoleucina digestível, %	1,013	0,876	0,882
Leucina digestível, %	1,920	1,730	1,707
Cálcio, %	0,850	0,750	1,950
Fósforo disponível %	0,320	0,300	0,300
Potássio, %	0,994	0,869	0,870
Sódio, %	0,240	0,240	0,240

¹Suplemento vitamínico por kg de ração: vit. A - 15.000.000 UI; vit. D3 - 1.500.000 UI; vit. E - 15.000 UI; vit. B1 - 2,0 g; vit. B2 - 4,0 g; vit. B6 - 3,0 g; vit. B12 - 0,015 g; ácido nicotínico - 25 g; ácido pantotênico - 10 g; vit. K3 - 3,0 g; ácido fólico - 1,0 g;

²Suplemento mineral por kg de ração: Mn - 60 g; Fe - 80 g; Zn - 50 g; Cu - 10 g; Co - 2 g; I - 1 g; veículo q.s.p. - 500 g; ³Etoxiqum - 10 g; veículo q.s.p. - 1.000 g;

⁴Bacitracina de Zinco; ⁵Poulcox

3.3 Colheita de tecido e extração de RNA total:

Para a quantificação dos transportadores *SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5*, em cada abate foram colhidas amostras de aproximadamente 3 cm do duodeno e jejuno, de 3 animais escolhidos aleatoriamente. Os tecidos foram abertos longitudinalmente e lavados com solução salina estéril (NaCl 0,9%). Foi realizado raspado da mucosa em cada amostra com o auxílio de uma lâmina de bisturi estéril. Os raspados foram colocados em microtubos, identificados e congelados imediatamente em nitrogênio líquido, sendo posteriormente armazenado em freezer -80°C até a realização das análises.

A extração de RNA foi realizada utilizando-se o kit Qiagen RNeasy Mini (Cat. n.74104, Qiagen, EUA) de acordo com as recomendações do fabricante, também foram avaliadas concentração e qualidade do RNA em espectrofotômetro de microvolume (Colibri, Titertek Berthold, Alemanha), utilizando as relações de absorbância de 260/280 e 260/230 para atestar a qualidade do RNA extraído. Em seguida o RNA foi armazenado em freezer -80°C .

3.4 Síntese de cDNA e RT- PCR:

O RNA extraído foi utilizado para a síntese do cDNA por meio da reação de transcrição reversa (RT), utilizando-se o kit Affinity Script PCR cDNA Synthesis (Agilent Technologies), de acordo com as recomendações do fabricante. O método de PCR em tempo real foi realizado utilizando o kit de PCR Brilliant III Ultra-Fast SYBR® QPCR Master Mix (Agilent Technologies) e os ciclos da RT- PCR foram realizados usando o termociclador Stratagene Mx3005P (Agilent Technologies). A reação em cadeia da polimerase foi realizada sob as seguintes condições: 95°C por 3 min (1 ciclo), 95°C durante 15s, e 60°C durante 20 segundos (40 ciclos), 95°C por 1 min, 55°C durante 30 segundos, e 95°C durante 30 segundos (1 ciclo).

Foram utilizados os iniciadores para os genes *SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5* apresentados na **Tabela 2**. A abundância relativa do mRNA de *SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5* foi determinada usando o método $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ (Livak, 2001), os valores de Ct de cada amostra foram padronizados para o mRNA de β -actina.

Tabela 2. Genes em estudo, identificação da sequência de referência no GenBank e sequência dos primers a serem utilizados na qPCR.

Gene (Nome)	GenBank ID	Primer Direto/ Primer Reverso
<i>SGLT1</i>	XM_415247	F GCCATGGCCAGGGCTTA R CAATAACCTGATCTGTGCACCAGTA
<i>GLUT2</i>	Z22932	F CACACTATGGGCGCATGCT R ATTGTCCCTGGAGGTGTTGGTG
<i>GLUT5</i>	XM_417596	F TTGCTGGCTTTGGGTTGTG R GGAGGTTGAGGGCCAAAGTC
β -actina	x00182.1	F ACCACTGGCATTGTCATGGACTCT R TCCTTGATGTCACGGACGATTTCC

3.5 Análise estatística:

A expressão relativa do RNAm para os transportadores intestinais *SGLT1*, *GLU2* e *GLUT5* foram avaliadas em função dos tratamentos (1 vs. 14 vs. 21 dias e aos 42 vs. 49 dias de vida das codornas). Os tratamentos foram submetidos à análise de variância e, quando significativos, as médias comparadas pelo teste Tukey ao nível de 5% de probabilidade. Todas as análises estatísticas foram utilizando o software estatístico R (2008).

4. Resultados e discussão:

Os dados presentes na **Figura 1** são referentes a expressão relativa do RNAm para os transportadores de hexoses (*SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5*) no duodeno e no jejuno de codornas japonesas aos 1, 14 e 21 dias de vida.

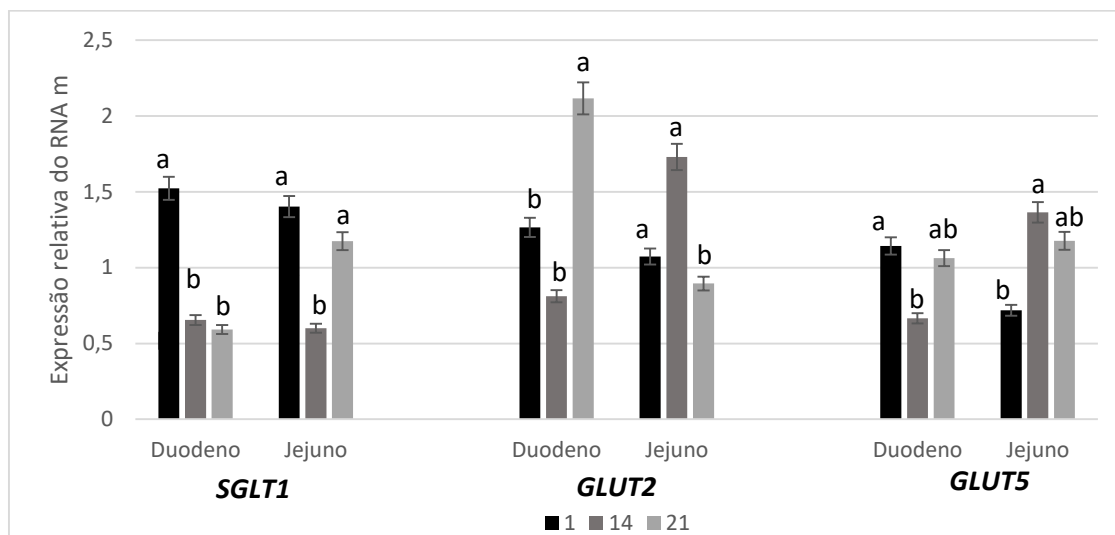


Figura 1- Expressão relativa do RNAm para os transportadores *SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5* em codornas japonesas em diferentes idades (1, 14 e 21 dias de vida). Letras minúsculas iguais indicam médias semelhantes entre idades dentro de cada segmento intestinal.

Os dados representados na **Figura 1** mostram que a expressão relativa do RNAm dos transportadores intestinais de hexoses em codornas japonesas tem sua regulação afetada em relação a idade (1, 14 e 21 dias de vida). O *SGLT1* apresentou maiores valores de expressão no primeiro dia de vida ($p < 0.05$) em ambos os segmentos intestinais, com uma diminuição significativa aos 14 dias de idade. Ao vigésimo primeiro dia de vida, há aumento na expressão relativa desse transportador ($p < 0.05$) apenas no jejuno.

O *SGLT1* é um dos principais transportadores intestinais presente na membrana apical dos enterócitos, sendo capaz de transportar tanto glicose como galactose. Estudos em outras espécies de aves, como frangos de corte e pombos domésticos, relataram aumento linear na expressão relativa desse transportador em relação à idade, sendo possível observar esse comportamento ainda no período embrionário (GILBERT et al., 2007; DONG et al., 2012).

Os autores afirmam que o aumento na expressão relativa do transportador pode estar relacionado ao seu papel chave no processo de absorção de glicose, indicando que o *SGLT1* é o principal caminho de transporte para a absorção da glicose pelo intestino delgado nessas aves. Junto a isso, sugerem que capacidade de captação de glicose aumenta com a idade em frangos e em pombos domésticos, até uma determinada idade. Esse aumento seria uma forma que o organismo animal encontrou para tentar maximizar a absorção de glicose, visto que o mesmo desempenha papel essencial dentro do metabolismo animal.

Entretanto, nossos resultados diferem desses trabalhos, o que pode indicar que, apesar das codornas japonesas expressarem esse transportador, o mesmo não tenha a mesma importância no processo de absorção de glicose durante as primeiras semanas de vida, tendo o mecanismo passivo de absorção uma importância maior. Estudos com aves silvestres mostram a completa ausência desse transportador, sugerindo a predominância do transporte passivo na absorção glicose (FERRARI, 2001). É importante que se entenda que os mecanismos que regulam o transporte de moléculas transmembrana não são iguais em todas as espécies de animais (BYERS et al., 2017).

Nos achados de Andrade et al. (2018) avaliando a expressão gênica desse transportador em codornas em diferentes idades (1, 14, 21, 28 e 35 dias) foi observado aumento na expressão desse transportador até os 14 dias de vida, sugerindo assim que a capacidade de captação de glicose aumenta nessas aves, até essa idade; entretanto, nesse trabalho as amostras foram analisadas em formas de pool, o que explicar essa diferença entre os resultados.

A presença de *GLUT2* na membrana apical, demonstrada em algumas situações por estudos recentes (RODER et al., 2014; FERRARIS et al., 2018; SHIMIZU et al., 2018) poderia possivelmente explicar a redução na expressão desse transportador nas primeiras semanas de vida das codornas. Apesar dessa possibilidade, não há comprovação da real localização desse transportador em codornas japonesas, Estudos de imunohistoquímica seriam necessários para identificar sua posição e a presença ou não nas duas membranas dos enterócitos.

O *GLUT2* é um transportador presente na membrana basolateral dos enterócitos (GILBERT et al., 2007), todavia, em determinadas situações também pode estar presente na membrana apical. Em nossos achados, é observado um aumento em sua expressão

relativa em ambos os segmentos em relação a idade, sendo observado valor maior ($p<0,05$) na expressão relativa desse transportador ao vigésimo primeiro dia de vida do duodeno. Porém, no jejuno os maiores valores de expressão ($p<0,05$) foram encontrados ao décimo quarto dia de vida.

O aumento na expressão de *GLUT2* observado ao longo da idade no presente estudo também foi observado em outras espécies de aves, como frangos de corte e pombos (GILBERT et al., 2007; MOTT et al., 2008; DONG et al., 2012). Entretanto, o aumento de forma linear relatado anteriormente foi mais lento do que o aumento relatado para outros transportadores intestinais. Por outro lado, em perus foi observado uma redução na expressão desse transportador em relação a idade (WEINTRAUT et al., 2015).

Os nossos resultados estão de acordo com os observados por Andrade et al. (2018), onde a expressão relativa desse transportador no jejuno aumentou até os 14 dias de vida em codornas japonesas e em seguida diminuiu. Foi sugerido que a capacidade de absorver glicose por esse transportador aumenta ao longo da idade, se estabilizando em determinado momento.

O *GLUT5* é um transportador exclusivo de frutose presente na membrana apical dos enterócitos, cuja expressão é regulada principalmente pelo nível de frutose da dieta. Entretanto, ao que parece, a ontogenia também é um fator que causa regulação na expressão desse transportador. Em nosso estudo, a dieta apresenta baixos valores de frutose e ainda assim há aumento na expressão relativa do transportador em relação a idade. No duodeno o maior valor de expressão ($p<0,05$) foi observado no primeiro dia de vida, sendo reduzido no décimo quarto dia de vida e voltando a aumentar ($p<0,05$) no vigésimo primeiro dia de vida. Entretanto, no jejuno há um aumento ($p<0,05$) na expressão desse transportador desde o primeiro dia de vida até o vigésimo primeiro dia de vida.

Na literatura já são relatados outros trabalhos em aves onde a expressão gênica desse transportador também aumentou em relação a idade. Nos estudos conduzidos por Gilbert et al. (2007), em frangos de corte, Mott et al. (2008) em frangos (machos e fêmeas) e por Weintraut et al. (2015) em perus (machos e fêmeas), foi possível observar o aumento linear da expressão gênica desse transportador durante as primeiras semanas de vida.

O aumento na expressão desse transportador em relação a idade pode ser um indicativo do evento genético “hard-wired”, em que as influências de resquícios genéticos deixados pelos antepassados selvagens ainda estão presentes na genética da ave atual, determinando um padrão específico de expressão (MOTT et al., 2008). Segundo Weintraut et al. (2015) essa regulação positiva é uma resposta inata que prepara a ave para consumir uma dieta a base de frutas, rica em frutose, entretanto, isso não seria necessário para aves comerciais onde a dieta é a base de milho e soja, mas a indução gênica ainda é mantida. Assim, no caso das codornas, o aumento na expressão do *GLUT5* seria um resquício deixado pelos seus ancestrais selvagens, como um efeito genético inato.

O aumento na expressão relativa desse transportador também pode ser uma forma do organismo tentar maximizar a absorção de frutose, visto que a mesma está presente em pequenas quantidades na dieta. Em aves de vida selvagem, a frutose é a principal fonte energética. Apesar das codornas serem aves domesticadas (ou em processo de domesticação), elas podem ainda terem a frutose como principal fonte de energia e o aumento relativo da expressão desse transportador ser uma forma de tentar maximizar a absorção dessa hexose, sendo necessários novos estudos a fim de comprovar essa suposição. Nesse caso, existe a possibilidade dos baixos níveis de frutose presentes na soja e no milho causarem indução positiva na expressão do *GLUT5*, semelhante ao que é observado em ratos e camundongos (FERRARIS, 2001), na tentativa de aumentar a absorção da frutose.

Existe também a possibilidade que o nível de expressão relativa de RNAm de *GLUT5* não ser totalmente paralelo ao nível da proteína no intestino (SHIMIZU et al., 2018). Nos estudos de Garcia-Barros, (2010) foi possível observar aumento significativo na expressão relativa do RNAm para o *GLUT5*, porém sem efeitos sobre o número de transportadores *GLUT5*. Esse resultado sugere a existência de outros mecanismos regulatórios pós-transcricionais que podem regular a síntese proteica desse transportador, além da sua própria expressão gênica.

Finalmente, há ainda a possibilidade que esse transportador não seja exclusivo para o transporte de frutose no intestino de codornas. Realmente, a expressão desse transportador em outros tecidos além dos intestinos, incluindo rins, gordura, músculo esquelético, cérebro e espermatozoides, são indicativos de que não haja exclusividade

para substrato em muitas espécies de animais, devido aos baixos níveis de frutose nesses tecidos (MUECKLER e THORENS, 2013).

Os dados presentes na **Figura 2** são referentes a expressão relativa do RNAm para os transportadores de hexoses (*SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5*) no duodeno e no jejuno de codornas japonesas aos 42 e 49 dias de vida.

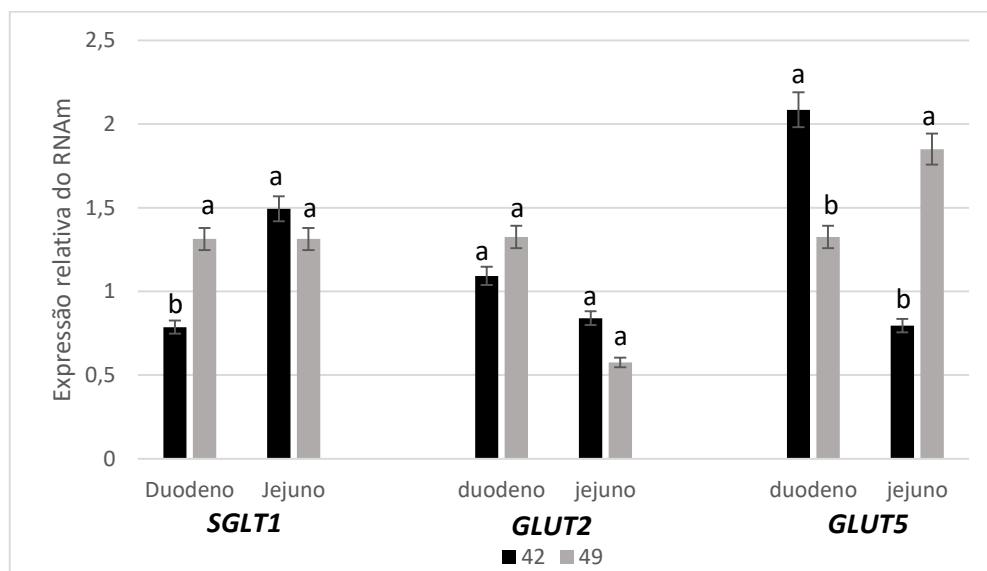


Figura 2- Expressão relativa do RNAm para os transportadores *SGLT1*, *GLUT2* e *GLUT5* em codornas japonesas aos 42 e 49 dias de idade. Letras minúsculas iguais indicam médias semelhantes entre idades dentro de cada segmento intestinal.

Os dados representados na **Figura 2** mostram que a expressão relativa do RNAm dos transportadores intestinais de hexoses em codornas japonesas que estavam em fase de postura, portanto, aos 42 e 49 dias de vida. A expressão relativa do RNAm para o transportador *SGLT1* aumentou ($p < 0,05$) aos 49 dias de vida em relação aos 42 dias no duodeno e, no jejuno, não foi observado diferenças entre as duas idades avaliadas.

O aumento na expressão relativa desse transportador pode ser atribuída à entrada da ave na fase de postura, o que ocorre aos 40 dias de vida, aproximadamente, e resulta em alterações no seu metabolismo a fim de assegurar a produção de ovos. Na literatura, poucos estudos relatam os efeitos do início da postura sobre o intestino delgado, tanto morfológicamente como e sobre a expressão gênica dos transportadores intestinais de nutrientes. Sabe-se que há aumento na densidade das vilosidades aos 42 dias de idade em

codornas japonesas (Andrade et al., 2018), sugerindo que o processo de absorção de nutrientes pode ser favorecido pelo aumento da área absorptiva e provavelmente para dar suporte ao início da postura. Diante disso, pode-se supor que o aumento na expressão relativa do *SGLT1* nessas idades, visto no presente estudo, possa ser um efeito regularório positivo sobre a expressão relacionado com a entrada da ave na fase de postura, de tal forma a proporcionar maior absorção de glicose e aporte energético para suprir as demandas. Segundo Ferraris (2001), a expressão gênica do transportador *SGLT1* pode ser influenciada por mudanças nas exigências fisiológicas, tendo efeito direto sobre a expressão relativa desse transportador. Em mamíferos, estudos demonstram que animais em lactação ou em gestação têm a expressão relativa desse transportador aumentada, como forma de atender aumento da demanda fisiológica de absorção de glicose.

Essa teoria ganha mais força quando se observa os valores de expressão do *GLUT5*, sendo que maior ($p < 0,05$) expressão foi encontrada no duodeno aos 42 dias e no jejuno aos 49 dias de idade. Semelhante ao que foi observado para *SGLT1*, a entrada na fase de postura possivelmente teve efeito positivo sobre a expressão relativa desse transportador como forma de aumentar a absorção de nutrientes, mais especificamente a frutose.

Além das mudanças desencadeadas pela entrada na postura, existe a possibilidade do efeito da dieta. Com a entrada na fase de postura, as aves recebem nova dieta, que apresenta menor teor de energia metabolizável. Portanto, a maior expressão de transportadores de hexoses aos 42 e 49 dias (*SGLT1* e *GLUT5*), pode ser uma tentativa de compensar a menor quantidade de energia disponível. Vários estudos comprovam que a redução de um nutriente da dieta pode causar regulação positiva sobre a expressão gênica de seus transportadores intestinais específicos (FERRARIS, 2001; CHEN et al., 2005). Desta forma, haveria um mecanismo compensatório que promoveria maior absorção do nutriente que está em menor quantidade (DENBOW, 2015).

Ressalta-se, ainda, que a entrada na fase de postura representa gasto energético extra para ave, e esse aumento na expressão desses transportadores seria essencial para suprimento das maiores demandas energéticas, através de maior absorção de glicose e frutose da dieta. A capacidade de absorção de glicose é compatível com as exigências fisiológicas, podendo ser ultrapassadas por um fator de segurança (FERRARIS, 2001).

Em relação ao *GLUT2* a expressão relativa desse transportador não diferiu ($p>0,05$) entre as duas idades avaliadas (42 e 49 dias), tanto no duodeno como no jejuno, entretanto, diferente da expressão do *SGLT1* e *GLUT5*, os valores diminuíram em relação as demais idades (14 e 21 dias). A expressão relativa de alguns transportadores intestinais tende a aumentar até uma determinada idade, e em seguida, diminuir e estabilizar (DONG et al., 2012), provavelmente a expressão relativa do *GLUT2* possa ter estabilizado e não houve diferenças visíveis entre as idades. Andrade et al. (2018) observaram que *GLUT2* tem um pico de expressão aos 14 dias, e em seguida a expressão reduz e se estabiliza nas demais idade estudadas (21, 28 e 35 dias).

5. Conclusão

A expressão gênica relativa dos transportadores intestinais de hexoses *SGLT1*, *GLUT2*, e *GLUT5* foram alteradas em função das diferentes fases de criação em codornas japonesas. Além disso, apesar dos baixos níveis de frutose da dieta, as codornas apresentam valores altos de expressão para seu transportador (*GLUT5*), o que pode indicar que essas aves têm maior capacidade de absorver e utilizar a frutose como fonte de energia, sendo necessário estudos futuros a fim de comprovar essa possibilidade.

Estudos futuros devem também abordar, além de padrões de expressão genica dos transportadores, avaliações referentes à própria proteína, como quantidade, localização e atividade.

6. Referências bibliográficas:

- AINSWORTH, S. J.; STANLEY, R. L.; EVANS, D. J. R. Developmental stages of the Japanese quail. **Journal Anatomical**. v.216, p. 3–15, 2010.
- ANDRADE, M. F. S.; MOREIRA FILHO, A. L. B.; ALVES DA SILVA, E. F. Expression of glucose transporters and morphometry in the intestine of Japanese quails after hatch. **Journal of Comparative Physiology B**. v. 189(1), p.61-68, 2018. Doi: <https://doi.org/10.1007/s00360-018-1188-8>.
- ARGENZIO, R. A. Funções gerais do trato gastrintestinal e seu controle. In: DUKES, HH; SWENSEN. M.J. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de janeiro: Guanabara Koogan. Última edição. p. 353- 363, 2006.
- BOLELI, I.C.; MAIORKA, A.; MACARI, M. Estrutura funcional do trato digestório. In: MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, p. 75-95, 2002.
- BOHÓRQUEZ, D.V.; BOHÓRQUEZ, N.E.; FERKET, P.R. Ultrastructural development of the small intestinal mucosa in the embryo and turkey poult: a light and electron microscopy study. **Poultry Science**. v. 90, p 842– 855, 2011. Doi: <https://doi.org/10.3382/ps.2010-00939>.
- BRAUN, E.J., SWEAZEA, K. L. Glucose regulation in birds. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.151B, p.1-9, 2008. Doi: :10.1016/j.cbpb.2008.05.007.
- BYERS, M. S.; HOWARD, C.; WANG, X. Avian and mammalian facilitative glucose transporters. **Microarrays**. p. 6- 7, 2017. Doi: 10.3390/microarrays6020007.
- CHEN, H.; PAN, Y.; WONG, E. A. Dietary protein level and stage of development affect expression of an intestinal peptide transporter (cPepT1) in chickens. **American Society for Nutritional Sciences**. v. 05, p. 193-198, 2005. Doi: 10.1093/jn/135.2.193.
- CHEN, C.; YIN, Y.; TU, Q. Glucose and amino acid in enterocyte: absorption, metabolism and maturation. **Frontiers In Bioscience**. v. 23, p. 1721-1739, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev059>.
- CHEN, M.; LI, X.; YANG, J. Growth of embryo and gene expression of nutrient transporters in the small intestine of the domestic pigeon (*Columba livia*). **Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)**. v. 16, p. 511-523, 2015. Doi: 10.1631/jzus.B1400340.
- DE OLIVEIRA, J. E.; DRUYAN, I. S.; UNI, Z. Prehatch intestinal maturation of turkey embryos demonstrated through gene expression patterns. **Poultry Science**. v. 88, p. 2600–2609, 2009. Doi: 10.3382/ps.2008-00548.
- DENBOW, D. M. Gastrointestinal Anatomy and Physiology. In:Akers, R.M.; DENBOW, D,M. **Anatomy and Physiology of Domestic Animals**, Second Edition, p. 483- 526, 2015.

DONG, X. Y.; WANG, Y. M.; YUAN, C. The ontogeny of nutrient transporter and digestive enzyme gene expression in domestic pigeon (*Columba livia*) intestine and yolk sac membrane during pre- and posthatch development. **Poultry Science**. v. 91, p. 1974–1982, 2012. Doi: <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2012-02164>.

DONG, X. Y.; WANG, Y. M.; SONG, H. H. Effects of in ovo injection of carbohydrate solution on small intestine development in domestic pigeons (*Columba livia*). **American Society of Animal Science**. v. 91, p. 3742–3749, 2013. Doi: [doi:10.2527/jas2013-6400](https://doi.org/10.2527/jas2013-6400).

EBRAHIMI, R.; JAHROMI, M. F.; LIANG, J. B. Effect of dietary lead on intestinal nutrient transporters mRNA expression in broiler chickens. **BioMed Research International**. v. 2015, p. 1-8, 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/149745>.

FERNANDEZ-ALARCON, M. F.; TROTTIER, N.; STEIBEL, J. P. Interference of age and supplementation of direct-fed microbial and essential oil in the activity of digestive enzymes and expression of genes related to transport and digestion of carbohydrates and proteins in the small intestine of broilers. **Poultry Science**. v. 96, p. 1–11, 2017. Doi: [10.3382/ps/pex039](https://doi.org/10.3382/ps/pex039).

FERRARIS, R. P. Dietary and developmental regulation of intestinal sugar transport. **Biochemical Journal**. v. 360, p. 265–276, 2001. Doi: [10.1042/bj3600265](https://doi.org/10.1042/bj3600265).

FERRARIS, R. P.; CHOE, J.; PATEL, C. R. Intestinal absorption of fructose. **The Annual Review of Nutrition**. v.11, p. 4–27, 2018.

GARCÍA-BARRIOS, A.; GUILLÉN, N.; GASCÓN, S. Nitric oxide involved in the IL-1-induced inhibition of fructose intestinal transport. **Journal of Cellular Biochemistry**. v. 111, p. 1321–1329, 2010. Doi: [10.1002/jcb.22859](https://doi.org/10.1002/jcb.22859).

GARCÍA-AMADO, M. A.; DEL CASTILLO, J. R.; EGEE PEREZ, M. et al. Intestinal D-glucose and L-alanine transport in Japanese quail (*Coturnix coturnix*). **Poultry Science**, v.84, p. 947–950, 2005.

GILBERT, E. R.; LI, H.; EMMERSON, D. A. Dietary protein composition influences abundance of peptide and amino acid transporter messenger ribonucleic acid in the small intestine of 2 lines of broiler chicks. **Poultry Science**. v.89, p. 1663–1676, 2010.

GILBERT, E. R.; LI, H.; EMMERSON, D. A. et al. Developmental regulation of nutrient transporter and enzyme mRNA abundance in the small intestine of broilers. **Poultry Science**, v. 86, p. 1739–1753, 2007. Doi: [10.1093/ps/86.8.1739](https://doi.org/10.1093/ps/86.8.1739).

GOFF, J. P. Distúrbios do metabolismo de carboidratos e lipídios. In: DUKES, H.H.; SWENSEN, M.J. **Fisiologia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Última edição. p 510–519, 2006.

HE, X.; HAO, D.; LIU, C. Effect of supplemental oregano essential oils in diets on production performance and relatively intestinal parameters of laying hens. **American Journal of Molecular Biology**. v.7, p.73–85, 2017. Doi: <http://dx.doi.org/10.4236/ajmb.2017.71006>.

HERDT, T. H. Digestão e absorção: o processo não- fermentativo. In: CUNNINGHAM, J. G.; KLEIN, B.G. **Tratados de fisiologia animal**. 4. ed. Rio de Janeiro. 341-366. 2006.

HUSSAR, P.; POPOVSKA-PERCINIC, F.; JÄRVEOTS, T. Immunohistochemical study of hexose transporters GLUT-2 and GLUT-5 in birds gastrointestinal tract. **Journal of Agricultural Science and Technology A**. v.5, p.194-198, 2015. Doi: 10.17265/2161-6256/2015.03.006.

HUSSAR, P.; POPOVSKA-PERCINIC, F.; PENDOVSKI, L. Effect of t-2 mycotoxin on glut-2 expression in the broiler's gastrointestinal tract. **Papers on Anthropology**. v. XXV/2, p. 9–14, 2016. Doi: <http://dx.doi.org/10.1515/macvetrev-2016-0089>.

LI, H.; GILBERT, E. R.; ZHANG, Y. Expression profiling of the solute carrier gene family in chicken intestine from the late embryonic to early post-hatch stages. **Journal compilation**. v. 39, p. 407–424, 2008. Doi: doi:10.1111/j.1365-2052.2008.01744.x.

LI, H.; CHEN, X.; WANG, X. Changes in relative organ weights and intestinal transporter gene expression in embryos from white Plymouth Rock and WENS Yellow Feather Chickens. **Comparative Biochemistry and Physiology**. v. 164, p. 368–375, 2013. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpa.2012.11.016>.

LIVAK, K, J.; SCHMITTGEN T. D. Analysis os relative gene expressiom data using real-time quantitative PCR na the e (-Denta Delta c (T)) Method. **PubMed**. v.25, p. 402-410, 2001.

KARASOV, W. H. Integrative physiology of transcellular and paracellular intestinal Absorption. **Journal of Experimental Biology**. v. 220, p. 2495-2501, 2017. Doi: 10.1242/jeb.144048.

KAMINSKI, N. A. e WONG, E. A. Differential mRNA expression of nutrient transporters in male and female chickens. **Poultry Science**. v. 97, p. 313–318, 2018. Doi: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pex262>.

KONO, T.; NISHIDA, M.; NISHIKI, Y. Characterisation of glucose transporter (GLUT) gene expression in broiler chickens. **British Poultry Science**. v. 46, p 510-515, 2005. Doi: <http://dx.doi.org/10.1080/00071660500181289>.

MACARI. M. Adaptações digestivas pós-eclosão. In: IV Simpósio Brasil Sul de Avicultura 08 a 10 de abril de 2003. **Anais...** Chapecó, SC, Brasil.

MAIORKA, A.; BOLELI, I. C.; MACARI, M. Desenvolvimento e Reparo da Mucosa Intestinal In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. (Ed.) **Fisiologia Aviária Aplicada a Frangos de Corte**. 2. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, p.113-123, 2002.

MOTT, C. R.; SIEGEL, P. B.; WEBB JR., K. E. Gene expression of nutrient transporters in the small intestine of chickens from lines divergently selected for high or low juvenile body weight. **Poultry Science**. v. 87, p. 2215–2224, 2008. Doi: :10.3382/ps.2008-0010.

MUECKLER, M. E THORENS, B. The SLC2 (GLUT) family of membrane transporters. **Molecular Aspects of Medicine – Journal.** v.34, p.121–138, 2013. Doi: 10.1016/j.mam.2012.07.001.

R DEVELOPMENT CORE TEAM (2008) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. ISBN 3-900051-07-0. <http://www.r-project.org>. Accessed 28 Sept 2018

RASHID, A.; SHARMA, S. K.; TYAGI, J. S. Incubation temperatures affect expression of nutrient transporter genes in japanese quail. **Asian Journal of Animal and Veterinary Advances.** v. 11, p. 538-547, 2016. Doi: 10.3923/ajava.2016.538.547.

RODER, P. V.; GEILLINGER, K. E.; ZIETEK, T. S. The Role of SGLT1 and GLUT2 in Intestinal Glucose Transport and Sensing. **PLOS ONE.** v.9, 2014. Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089977>.

ROTMISTROVA, A. Glucose transporters in ostrich gastrointestinal tract. 2015. 52 f. **Tese** (Doutorado) - Agriculture, Department Of Developmental Biology, University Of Tartu, Tartu, 2015.

SCANESA, C. G.; PIERZCHALA- KOZIEC, K. Biology of the gastro-intestinal tract in poultry. **Avian Biology Research.** v. 7, p. 193–222, 2014. Doi: 0.3184/175815514X14162292284822.

SHIMIZU, K.; KOMAKI, Y.; FUKANO, N. Transporter gene expression and transference of fructose in broiler chick intestine. **Japan Poultry Science Association.** v. 55, p. 137-141, 2018. Doi: 10.2141/jpsa.0170095.

SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. **Tabela para codornas japonesas e europeias.** 2.ed. **Jaboticabal**, SP: FUNEP, 110p. 2009.

SUN, X.; ZHANG, H.; SHEIKHAHMADI, A. Effects of heat stress on the gene expression of nutrient transporters in the jejunum of broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*). **Int Journal Biometeorol.** v. 59 p. 127–135, 2015. Doi: 10.1007/s00484-014-0829-1.

SWEAZEA, K. L.; BRAUN, E. J. Glucose transporter expression in English sparrows (*Passer domesticus*). **Comparative Biochemistry and Physiology.** v. 44, p. 263–270, 2006. Doi: 10.1016/j.cbpb.2005.12.027.

UNI, Z.; GANOT, S.; SKLAN, D. Posthatch development of mucosal function in the broiler small intestine. **Poultry Science.** v.77, p. 75–82, 1998. Doi: <https://doi.org/10.1093/ps/77.1.75>.

UNI, Z.; NOY, Y.; SKLAN, D. Posthatch changes in morphology and function of the small intestines in heavy and light strain chicks. **Poultry Science.** v. 74, p. 1622–1629, 1995. Doi: <https://doi.org/10.3382/ps.0741622>.

UNI, Z.; SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre- and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. **Poultry Science**. v. 82, p. 320–327, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1093/ps/82.2.320>

UNI, Z.; SMIRNOV, A.; SKLAN, D. Pre-and posthatch development of goblet cells in the broiler small intestine: effect of delayed access to feed. **Poultry Science**. v. 82, p. 320–332, 2003. Doi: <https://doi.org/10.1093/ps/82.2.32>.

UNI, Z.; GANOT, S.; GEYRA, A. Changes in growth and function of chick small intestine epithelium due to early thermal conditioning. **Poultry Science**. v. 80, p. 438–445, 2001. Doi: [10.1093/ps/80.4.438](https://doi.org/10.1093/ps/80.4.438).

VILAR DA SILVA, J. H.; COSTA, F. G. P.; LIMA, R. B. Digestão e absorção das proteínas. In: SAKOMURA, N. K.; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. **Nutrição de não ruminantes**. Jaboticabal: FUNEP, p. 97- 109, 2014.

VIEIRA, S. L. Carboidratos: digestão e absorção. MACARI, M.; FURLAN, R.L.; GONZALES, E. **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: Funep, p. 125-133, 2002.

WEINTRAUT, M. L.; KIM, S.; DALLOUL, R. A. Expression of small intestinal nutrient transporters in embryonic and posthatch turkeys. **Poultry Science**. v. 00, p. 1–9, 2015. Doi: <http://dx.doi.org/10.3382/ps/pev310>.