

MORFOLOGIA E HISTOLOGIA DOS INTESTINOS MÉDIO E POSTERIOR DE PIRARUCUS

Larissa Arouck Monteiro FRANÇA¹
Sunique Poá Cordeiro BENTES²
Ligia Uribe GONÇALVES³

¹Bolsista IC INPA-PAIC/FAPEAM; ²Bolsista IC INPA-PIBIC/CNPq;
³Orientadora COTI/INPA

INTRODUÇÃO

Estudos morfológicos ajudam a compreender a morfofisiologia e a biologia do animal, visando contribuir na conservação e criação deste. Atualmente, com a forte pressão da pesca e por ter um alto valor comercial, o Pirarucu, *Arapaima gigas*, tem apresentado crescente interesse na aquicultura. E estudos morfológico e histológicos do seu trato gastrointestinal podem colaborar na confecção de dietas adequadas para a espécie.

O Pirarucu possui hábito alimentar carnívoro que nada lentamente ou que fica à espera de suas presas. Essa espécie é estritamente ictiófaga, isto é, alimenta-se exclusivamente de outros peixes. No geral, peixes carnívoros apresentam intestino curto em relação as espécies onívoras e herbívoras.

O intestino é um tubo repleto de pregas, responsável pelo final da digestão iniciada no estômago e pela absorção de nutrientes, água e íons. No intestino proximal, caracterizado pelo maior desenvolvimento da mucosa, ocorre predominância na absorção de nutrientes. Enquanto, no intestino distal está voltado para a absorção de proteínas e peptídeos (Gonçalves *et al.* 2013)

Em geral, a estrutura histológica do sistema digestório consiste em quatro camadas, a partir do lúmen, a mucosa, formada de tecido epitelial especializado, conjuntivo altamente vascularizado e formação de glândulas; a submucosa, onde se localizam células de defesa; a muscular que varia em tamanho de uma espécie para outra, com uma camada circular interna e outra longitudinal externa e, a serosa, constituída de tecido conjuntivo delicadamente frouxo, com abundância de células adiposas com limitação no epitélio pavimentoso simples (Gaines *et al.* 2012).

A parede intestinal é repleta de células caliciformes responsáveis pela secreção de muco que facilita a passagem do bolo alimentar, solubiliza nutrientes, protege a mucosa de danos físicos e químicos (acidez proveniente do estômago) e de microrganismos patogênicos (Mumford *et al.* 2007; Farrellet *et al.* 2011)

Tendo em vista a importância do pirarucu, seu interesse na aquicultura e a necessidade de conhecimento da morfologia do seu trato gastrointestinal, esse estudo teve como objetivo avaliar histologicamente os intestinos anterior, médio e posterior de pirarucu selvagens. Uma vez que as informações sobre o aparelho digestivo desse peixe são escassas.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente estudo foi aprovado pelo comitê de ética no uso de animais em experimentação e/ou ensino – CEUA, na data 15/01/2015, com o número de protocolo 002/2015.

Os animais foram capturados com rede de arrasto e prontamente sacrificados por secção medular, momento no qual foram realizadas as medidas de comprimento e peso.

Na região ventral de cada peixe foram retiradas as escamas com o auxílio de um facão para facilitar a incisão longitudinal, em seguida foram removidas as vísceras e o trato gastrointestinal, os quais foram limpos com água

destilada e colocados em sacos plásticos acondicionados em caixa de isopor com gelo, para o transporte até o laboratório da Estação Experimental de Aquicultura do INPA.

Com a ajuda de pinças e bisturi, foram retirados os excessos de gordura do TGI, e realizadas as medidas com o auxílio da fita métrica do comprimento do esôfago, estômago e cecos pilóricos e posteriormente os órgãos foram fotografados íntegros. Coletaram-se fragmentos do esôfago, transição esôfago e estômago, estômago (cárdica e pilórica), cecos pilóricos (proximal, medial e distal), os quais foram lavados em solução salina 0,9% e fixados em solução de formol 10% durante 12 horas, posteriormente foram transferidos para solução de álcool 70%.

As amostras foram encaminhadas para o laboratório temático de microscopia eletrônica do INPA, no qual foram cortadas em fragmentos menores e colocadas em cassete, devidamente encaminhadas ao aparelho histotecnológico (LEICA TP 1020) para desidratação conforme protocolo de operação, iniciando pelo álcool 70% e terminando em álcool absoluto. Em seguida, as amostras passaram pelo processo de clareamento ou diafanização em xilol para embeber a peça histológica em substância miscível com o Paraplast Plus®, com duração de 6,5 horas. Após a desidratação das amostras, as peças foram impregnadas em paraplast no aparelho emblocador (LEICA EG1150H) a 60°C, as peças foram colocadas em molde retangular contendo paraplast deixando-se solidificar em placa congeladora (LEICA EG1150HC) em temperaturas a 4°C, formando-se blocos de Paraplast Plus® com o tecido no seu interior.

Os blocos de paraplast contendo os tecidos foram seccionados pela navalha do micrótomo (LEICA RM 2245), obtendo-se cortes de 3 a 5 µm de espessura em forma de fitas. Esses cortes foram distendidos em água quente com temperatura de 43 a 45 graus em aparelho aquecedor (BHD 1701) e dispostos em lâminas e devidamente levadas para estufa.

As lâminas foram coradas com Hematoxilina - Eosina e as lamínulas foram fixadas com a ajuda de cola (Permal), logo em seguida as lâminas foram levadas a estufa. As lâminas foram encaminhadas para análise em microscópio óptico e fotografadas com câmera científica no laboratório temático de microscopia eletrônica (LTME).

Nas análises morfológicas, realizou-se a definição do comprimento relativo do intestino (CRI). Onde o comprimento do intestino e o comprimento do corpo do animal foram medidos, e em seguida calculados o CRI através da operação aritmética da divisão. O comprimento do intestino foi dividido pelo comprimento do animal dando o resultado final para o CRI.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais apresentaram peso médio $48,8 \pm 14,34$ kg e comprimento padrão médio de $1,70 \pm 0,14$ m. O comprimento do TGI variou de 2,88 a 3,15 m, considerando o início do esôfago até o final do intestino. O comprimento do intestino está correlacionado com a dieta do animal (Rotta 2003), peixes que se alimentam de material fibrosos tendem a apresentar intestinos mais compridos. Por outro lado, peixes carnívoros que tem a dieta baseada em proteína, possuem um estômago grande e intestino curto, sendo que a relação entre o comprimento relativo do intestino (CRI) varia entre 0,2 a 2,5 (Rotta 2003). O CRI obtido para o Pirarucu foi de 1,35, valor que está dentro do esperado para uma espécie carnívora.

Macroscopicamente, o intestino se apresentou como um órgão tubular, com parede rígida, sendo que a espessura maior foi verificada no intestino médio. O intestino encontra-se enovelado em toda cavidade abdominal (Figura1). Histologicamente foi possível analisar diferentes camadas de tecido conhecidas como mucosa, submucosa, muscular e serosa. As camadas mucosa e muscular apresentam variações nas dimensões do intestino, quanto mais próximo do intestino distal estas camadas apresentam dimensões menores, ou seja, no intestino proximal a camada muscular apresentava-se mais espessa.

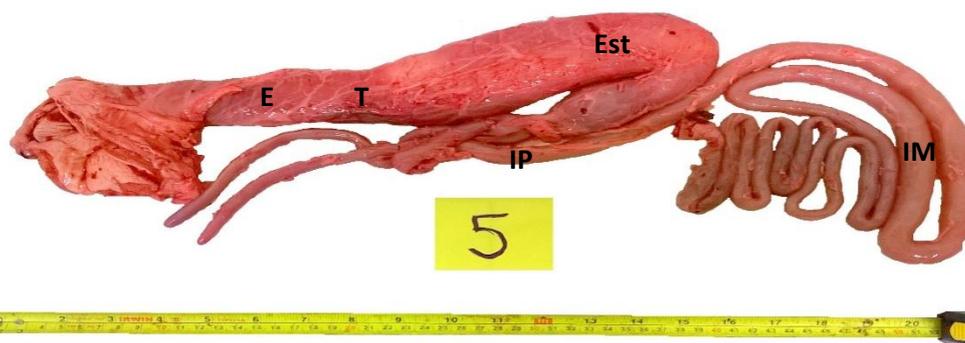


Figura 1. Trato gastrointestinal inteiro: (E) Êsofago, (T) Transição, (Est) Estômago, (CP) Ceco Pilóricos, (IP) Intestino Proximal, (IM) Intestino Médio, (ID) Intestino Distal. Imagem: Larissa França.

A mucosa é constituída por epitélio e está em contato direto com a luz do tubo digestivo (lúmen), contendo a presença de pregas intestinais que aumentam a superfície de revestimento do intestino (Santos 2004). A submucosa é constituída por tecido conjuntivo frouxo, com presença de vasos sanguíneos e nervos que se estendem até à mucosa (Figura 2). A muscular é formada por dois tipos de subcamadas, a camada circular interna e a longitudinal externa e por fim, a serosa é uma fina camada composta por células pavimentosas localizada na região mais externa do material.

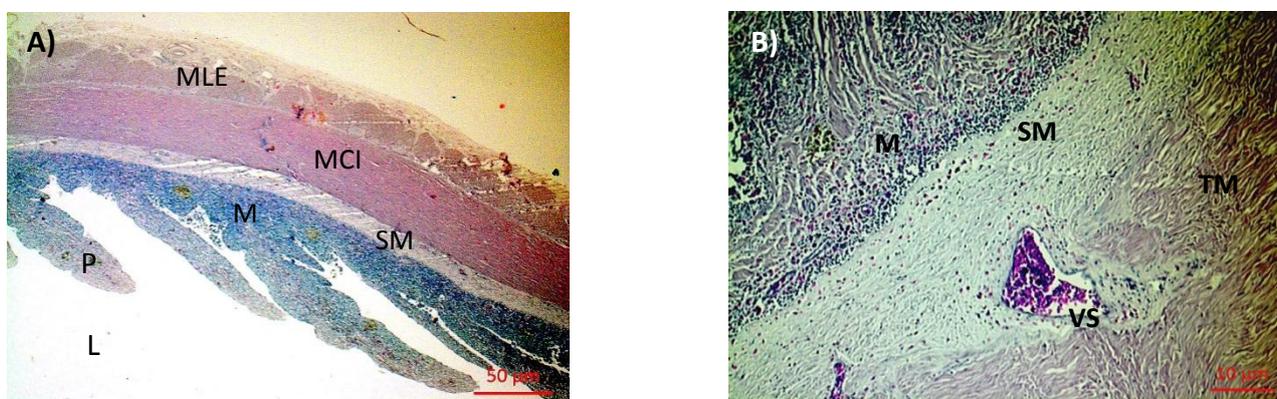


Figura 2. Cortes transversal do intestino do Pirarucu. (A) corte transversal do intestino distal (2,5x): (L) Lúmen, (P) Pregas, (M) Mucosa, (SM) Submucosa, (MCI) Muscular Circular Interna, (MLE) Muscular Longitudinal Externa. (B) Vista ampliada da parte do intestino proximal com a presença de vaso sanguíneo (10x): (M) Mucosa, (SM) Submucosa, (TM) Túnica Muscular, (VS) Vaso Sanguíneo. Imagens: Larissa França.

O epitélio, principal constituinte da mucosa, é composto basicamente por células epiteliais colunares, os enterócitos, com as pregas voltadas para a luz do intestino. Junto com os enterócitos, foram encontradas células caliciformes, que possuem a função de secretar muco, para envolver melhor o alimento e assim ter asmelhoriasna sua passagem pelo TGI. O muco tambémforneceuma barreira previnando o ataque deagentes patogénicos. E os linfócitos, com função de imunológica, são encontrados em várias partes da camada epitelial na forma de pequenas células arredondadas e fortemente corados.

O intestino proximal apresentou numerosas pregas alongadas, as quais estão relacionadas à melhor absorção dos nutrientes, pois aumentam a superfície de contato com o bolo alimentar, nesse momento conhecido como quimo. As camadas mucosa e muscular mostraram-se bem desenvolvida nessa parte do intestino indicando a predominância da absorção de nutrientes nessa região e a submucosa possuía um significativo espaçamento onde foi encontrado vasos sanguíneos calibrosos. Com base nas análises, a presença das células caliciformes não foi muito representativa na região proximal, conforme dito por Borges *et al.* (2010), que número de células caliciformes se mostrava inferior em relação ao intestino distal.

No intestino médio do Pirarucu, as pregas apresentaram-se mais alongadas e mais ramificadas (Figura 3). Foi possível perceber a presença de linfócitos nessa região, trabalhando na imunização do tecido contra microrganismos patogênicos. Células com diferentes funções, como as caliciformes, foram vistas com uma maior concentração no ápice das pregas, onde o muco será secretado e misturado com o bolo alimentar ajudando na passagem, semelhante ao encontrado em Cal (2006).

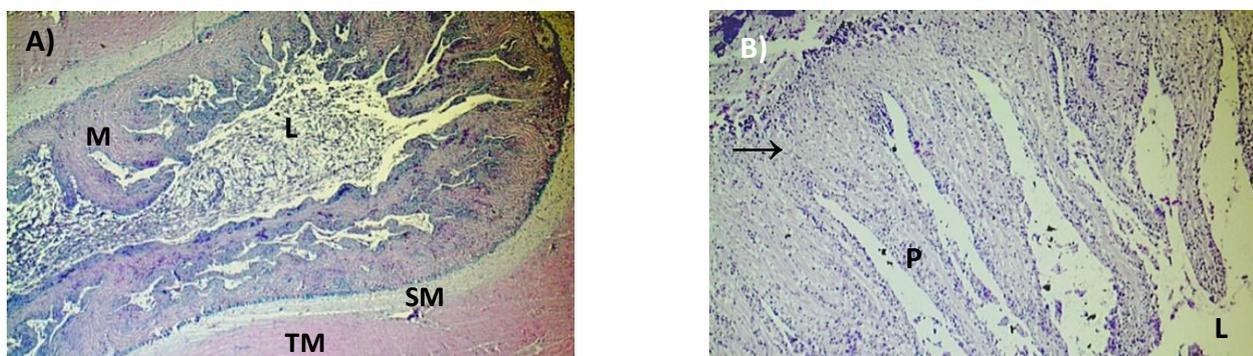


Figura 3. Cortes transversal da região proximal e média do intestino. (A) Vista de 2,5x da região proximal: (L) Lúmen, (M) Mucosa, (SM) Submucosa, (TM) Túnica Mucosa. (B) Vista aumentada em 10x apresentou (V) vilosidades mais alongadas e ramificadas, (→) a presença de linfócitos. Imagens: Larissa França.

No intestino distal, as pregas não possuíam mais tantas dobras, apresentaram-se um pouco mais altas, mais espessas e em menor quantidade quando comparada com as do intestino proximal. Durante as análises, foi possível perceber uma redução nas dimensões da região muscular. As células caliciformes foram consideradas numerosas, concentradas entre a mucosa e a submucosa. A presença dessas células em grande quantidade é bem significativa, pois o muco secretado está relacionado com a lubrificação e condução do bolo fecal, direcionando para o exterior.

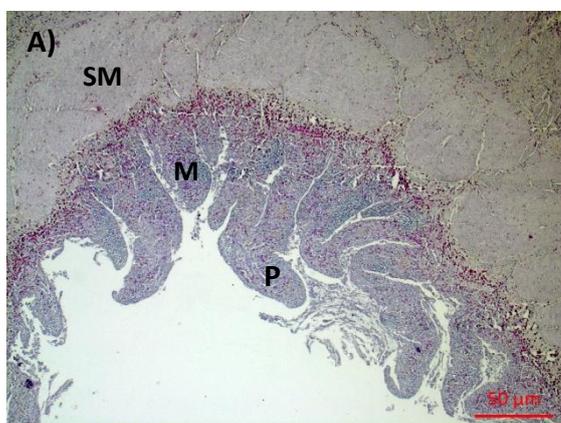


Figura 4. Visão do intestino distal no corte transversal: A camada submucosa (SM) apresentou-se bastante espessa, (M) Mucosa com (P) Pregas mais curtas e mais próximas. (2,5x). Imagens: Larissa França.

CONCLUSÃO

A estrutura histológica do intestino do pirarucu é semelhante à de outros peixes carnívoros, apresentando a mucosa, submucosa, muscular e serosa. Curto em relação ao seu corpo, possui variações na espessura e na complexidade das pregas ao longo do tubo.

REFERÊNCIAS

- Borges, J. C. S; Sanches, E. G; Oliveira, M. S; Silva, J. R. M. C. 2010. Anatomia e histologia gastrintestinal da garoupa-verdadeira *Epinephelus marginatus* (Lowe, 1834) (Teleostei, Serranidae). *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 407-414.
- Cal, J. A. 2006. *Histologia do trato digestório de surubim-pintado (*Pseudoplatystoma coruscans* – Agassiz – 1829)*. Dissertação de mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP. 88pp.
- Farrell, A. P; Jr, J. J Cech; Richards, J.G; Stevens, E.D. 2011. *Encyclopedia of fish physiology: from genome to environment. The senses, supporting tissues, reproduction, and behavior. Volume 1.* Vancouver, BC, Canada.
- Gaines, A. P. L; Lozano, L. E. S; Viana, G. M; Monteiro, P. C; Araújo, C. S. O. 2012. Alterações teciduais em intestino de pirarucu, arapaima gigas (schinz, 1822), infectado pelo nematoda *Spirocamallanus inopinatus* (travassos, 1929). *Aphia*. 149p.
- Gonçalves, L. U.; Rodrigues, A.P.O.; Moro, G.V. ; Cargin-Ferreira, E. ; Cyrino, J.E. P. 2013. Morfologia e fisiologia do sistema digestório de peixes. In: Fracalossi, D.M; Cyrino, J.E.P. (Org.). *NUTRIAQUA Nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira*. 2 ed. Florianópolis, SC: Ministério da Pesca e Aquicultura.
- Mumford, S; Heidel, J; Smith, C; Morrison, J; MacConnell, B; Blazer, V. 2007. *Fish Histology and Histopathology. Normal Histology*. 26p.
- Rotta, M. A. 2003. Aspectos gerais da fisiologia e estrutura do sistema digestivo dos peixes relacionados à piscicultura. Corumbá, MS. 12p.
- Santos, M. F. 2004. O trato digestivo. p. 284 – 316. In: Junqueira, L.C.; Carneiro, J. *Histologia Básica*. 10 ed. Rio de Janeiro, RJ. Editora Guanabara Koogan.