

COMPARAÇÕES HISTOLÓGICAS E ULTRA-ESTRUTURAIS DO PERITÔNIO DE SAGUIS E PEIXES

WESLEY ANTUNES MEIRELES, LUANA CÉLIA STUNITZ DA SILVA

Pós-graduandos em Anatomia dos animais domésticos e silvestres, FMVZ/USP.

DIOGO NADER PALERMO, RONALDO AGOSTINHO DA SILVA, ROSE ELI GRASSI RICCI

Técnicos do Setor de Anatomia, Departamento de Cirurgia da FMVZ/USP.

ANTÔNIO CHAVES DE ASSIS NETO

Professor do Programa de Pós-graduação em Anatomia dos animais domésticos e silvestres, FMVZ/USP. E-mail para correspondência: wesley.meireles@usp.br

RESUMO: Neste estudo foram realizadas comparações histológicas e ultraestruturais do peritônio de sagui-de-tufo-preto jovem e adulto, e dos peixes Curimatá e Robalo-flexa, sendo de águas continentais e marinhas, respectivamente. Análises morfométricas foram realizadas, demonstrando que o número de células/mm² e diâmetro dos espaços intercelulares no sagui-de-tufo-preto adulto. Entretanto, foi observado presença de corpúsculo de Vater-Pacini no peritônio do Curimatá. Cromatóforos foram encontrados nos dois tipos de peixes, através do exame histológico e/ou ultra-estrutural. Células mesoteliais do peritônio parietal das espécies estudadas coraram positivamente pela técnica citoquímica do Ácido Periódico de Schiff. Houve forte correlação entre o diâmetro dos espaços intercelulares e comprimento dos prolongamentos celulares em todas as espécies. Nenhum estudo foi realizado com o peritônio parietal de primatas não-humanos e peixes neotropicais na literatura consultada, sendo necessários estudos mais aprofundados.

PALAVRAS-CHAVE: Peritônio, morfometria, peixes, sagui.

ABSTRACT: In this study we compared the histology and ultrastructure of peritoneum of young and adult marmoset-tufted-black, fish Curimatá and Fat snook, living in freshwater and marine, respectively. Morphometric analysis were performed, showing that the number of cells/mm² and diameter of intercellular spaces were great in the adult marmoset-tufted black. However, we observed the presence of Vater-Pacini corpuscle in the peritoneum of Curimatá. Chromatophores were meeting in due fishes, through of histologic and/or ultrastructure search. Mesothelial cells of the parietal peritoneum of the species studied by the technique positively stained histochemical periodic acid Schiff's. There was a strong correlation between the diameter and length of the intercellular spaces of cell extensions in all species. No study was conducted with the parietal peritoneum of non-human primates and neotropical fishes in the literature consulted, requiring further study.

KEY WORDS: Peritoneum, morphometry, fish, marmoset.

INTRODUÇÃO

A cavidade peritoneal presente nos animais superiores é análogo à cavidade celomática existente nos animais inferiores (Dobbie, 1988). Estando estas formadas pelo peritônio o qual é caracterizado como sendo a maior membrana serosa do corpo, possuindo uma superfície de cerca de 2m² sendo então equivalente à área de cobertura da pele (Lopes *et al.*, 2007; Wal & Jeekel, 2007). É considerada como sendo uma fina membrana contínua e transparente que recobre as vísceras da cavidade abdominal, sendo

este denominado de peritônio visceral, e em sua continuação se reflete sobre a superfície interna da parede da cavidade abdominal e pélvica, este nomeado então como peritônio parietal (Getty *et al.*, 1986; Mendes *et al.*, 2000).

Possui a mesma origem embrionária, a partir do mesoderma, de outras membranas, como as que recobrem a cavidade pleural e o pericárdio (Wal & Jeekel, 2007), porém, expressando muitas características das células epiteliais. Nos machos é um saco completamente fechado, entretanto nas fêmeas possui duas pequenas aberturas para a passagem dos óstios abdominais da tuba uteri-

na (Getty *et al.*, 1986). O espaço entre os peritônios visceral e parietal é denominado de cavidade peritoneal, constituindo no maior espaço extravascular pré-formado do corpo, sendo preenchido por um pequeno volume de líquido denominado de líquido peritoneal (Mendes *et al.*, 2000). Este é constantemente produzido e absorvido tendo como funções lubrificar a cavidade abdominal diminuindo assim o atrito durante o movimento das vísceras, inibir a formação de aderências e uma pequena ação anti-bacteriana (Getty *et al.*, 1986; Mendes *et al.*, 2000).

A membrana peritoneal é composta por uma camada monocelular de células mesoteliais de origem mesenquimal que estão apoiadas em uma lâmina basal fina (Mendes *et al.*, 2000), sendo considerado um epitélio simples estratificado. Esta se encontra aderida a uma camada de tecido conjuntivo frouxo, que por sua vez é constituída por fibras nervosas, vasos sanguíneos e linfáticos e diferentes tipos de colágenos, glicoproteínas, glicosaminoglicanos e proteoglicanos (Michailova *et al.*, 1999). Caracteriza-se como sendo uma membrana semipermeável permitindo assim a difusão passiva de água e solutos, que se deslocam a partir da cavidade peritoneal para os canais linfáticos e sanguíneos ou no sentido contrário, sendo que a parte diafragmática é o principal local reconhecido para a absorção (Lopes, 2007). No citoplasma das células mesoteliais existem estruturas tais como microvilosidades, invaginações, complexas junções intercelulares e organelas os quais variam em quantidade e formatos dependendo da espécie animal (Michailova *et al.*, 1999). Tais microvilosidades possuem como função aumentar a superfície funcional do peritônio e proteger as próprias células mesoteliais de possíveis injúrias (Wal & Jeekel, 2007).

O sagui-de-tufos-pretos (*Callithrix penicillata* - Hershkovitz, 1977) é uma espécie endêmica do Brasil, apresentando pequeno porte, com peso entre 300 e 450 gramas, podendo chegar até 500 gramas (Rylands *et al.*, 2000). Tem hábito alimentar onívoro e é uma espécie arborícola, tendo importância como animal modelo em biotérios (Coimbra-Filho *et al.*, 1981).

O Robalo-flexa (*Centropomus undecimalis* - Block, 1792) é um peixe estuarino de importância comercial, distribuído em quase toda costa brasileira, com hábito alimentar carnívoro (Cerqueira *et al.*, 2005), enquanto o Curimatá (*Prochilodus hartii* - Steindachner, 1875) é um peixe endêmico das bacias dos rios Pardo e Jequitinhonha, possuindo hábito alimentar iliófago (Meireles *et al.*, 2010).

Peixes marinhos já foram utilizados como modelos experimentais para estudos do funcionamento peritoneal devido presença de poros abdominais (George *et al.*, 1982), sendo comparados a fisiologia da criação de um poro abdominal artificial em humanos, durante drenagem de fluidos em tratamentos de patologias e procedimentos cirúrgicos (Dobbie, 1988).

A escassez de conhecimentos sobre a carac-

terização e possíveis comparações da estrutura do peritônio em espécies animais até então não reportadas motivou esta investigação destinada a avaliar o peritônio utilizando duas técnicas distintas, a histologia e a microscopia eletrônica de varredura, em três espécies animais, dois peixes, o Robalo-flexa (*C. undecimalis*) e o Curimatá (*P. hartii*) e um mamífero, o Sagui-de-tufo-preto (*C. penicillata*).

MATERIAL E MÉTODOS

ANIMAIS

No presente experimento, exemplares de peixes Curimatá (*P. hartii*) foram capturados na bacia do rio Pardo em águas continentais e de Robalo-flexa (*C. undecimalis*) foram capturados em águas estuarinas, nos municípios de Águas Vermelhas/MG e Canavieiras/BA, respectivamente. Em seguida, foram sacrificados com solução aquosa de 100 mg/L de hidrocloreto de benzocaína, seguido de imersão em formalina 10%.

Saguis-de-tufo-preto (*C. penicillata*) vieram de um criadouro comercial legalizado pelo IBA-MA, situado na cidade de Atibaia/SP, onde vieram a óbito, foram congelados e posteriormente fixados em solução de formalina 10%.

Todos os animais foram pesados com balança digital e nos peixes, foram medidos o comprimento total com auxílio de um ictiômetro.

HISTOLOGIA E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Fragmentos de tecido do peritônio parietal (cerca de 2 cm) da cavidade abdominal próxima à cicatriz umbilical de um sagui-de-tufo-preto jovem e de adulto e do peritônio parietal de um exemplar de Curimatá e de Robalo-flexa foram coletados no dia 4 de outubro de 2010, sendo pós-fixados em solução de Bouin durante 6 horas, seguido de conservação em álcool 70%, sendo incluídos em parafina e seccionados em série com 5 µm de espessura para preparação de lâminas histológicas coradas com hematoxilina/eosina (HE) e coloração citoquímica com Ácido Periódico de Schiff (PAS).

Fragmentos coletados, conforme descrição anterior, foram conservados também em formalina tamponada 10%, seguido de lavagem com solução de PBS 1X, pós-fixados em tetróxido de ósmio 2%, imerso em ácido tânico por 30 minutos e lavados em água destilada. Em seguida, foram desidratados em soluções de etanol seriadas, montados em bases metálicas de alumínio (stubs) com cimento de carbono e cobertos com ouro, através do aparelho Iom Sputter Balzer SCD - 040 e analisados ao microscópio eletrônico de varredura Zeiss Leo 435 VP do Setor de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Imagens de lâminas coradas com HE e PAS, num total de quatro lâminas/espécime, foram obtidas através do Microscópio de luz Olympus BX3, acoplado à câmera AxioCam HCr com software de captura Axio Vision/Olympus. Esse recurso permitiu realizar as mensurações de número de células por milímetro quadrado e aquisição de imagens.

Imagens capturadas na microscopia eletrônica de varredura, num total de duas micrografias/espécie, foram analisadas com utilização do programa UTHSCSA-Image Tool versão 3.00 para Windows, sendo empregado para mensuração do diâmetro dos espaços intercelulares, número de prolongamentos por célula, comprimento dos prolongamentos. Para mensuração, foram analisadas 10 células/espécime.

ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados são apresentados como Média \pm Desvio Padrão e foram submetidos à Análise de Variância ANOVA e ao teste de Tukey com 5% de significância, assim como teste de correlação de Pearson utilizando-se o software GraphPad Prism 5.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados biométricos indicaram um peso corporal de 350 gramas no sagui-de-tufo-preto adulto e de 70 gramas no jovem (Figura 1A), no presente experimento. O exemplar de Robalo-flexa tinha peso corporal de 52 gramas e comprimento total de 19 cm (Figura 1B), enquanto o exemplar de Curimatá tinha um peso corporal de 240 gramas e comprimento total de 26 cm (Figura 1C).

Avaliação macroscópica do peritônio dos animais revelou uma camada bem aderida à parede muscular nos saguis e uma camada um pouco mais solta nos peixes. No exemplar de Curimatá, o peritônio apresentava uma coloração escura, sugerindo presença de cromatóforos, conforme relatado por Fujii (2000) em outros peixes.

Devido ao fundamental papel do peritônio na diálise e na drenagem de fluidos para o sistema linfático o mesmo tem sido foco de grande interesse para o estudo de sua estrutura e de sua função, por isso mesmo já foi relatado em diversas espécies tais como ratos, camundongos, coelhos, suínos e o ser humano (Ettarh & Carr, 1996). No entanto, nenhum estudo de células peritoneais foi descrito com as espécies do presente trabalho.

Os achados histológicos com lâminas coradas com HE revelaram um mesotélio rico em fibras, presença de fibroblastos, presença de células mononucleares, adipócitos e vasos sanguíneos em todos os animais (Figuras 2A, C, E e G), conforme estudos realizados com ratos (Ballas & Davidson, 2001) e humanos (Binnebosel *et al.*, 2008).

Em relação ao número de células por milímetro quadrado, matematicamente, os maiores valores

foram encontrados no exemplar de Robalo-flexa, podendo indicar que a cavidade peritoneal dos peixes marinhos é uma grande extensão para excreção de substâncias, e que, em algumas espécies, possuem uma complexidade, com canais que fazem a conexão entre a cavidade peritoneal à parede abdominal funcionando como um órgão excretor (George *et al.*, 1982).

As células musculares e algumas peritoneais de todos os animais foram positivas à técnica de coloração PAS, indicando armazenamento de glicogênio e/ou glicoproteínas, glicosaminoglicanas e proteoglicanos, conforme estudos de Wal & Jeekel (2007) com peritônio de ratos.

No exame histológico do peritônio do peixe Curimatá, foi encontrado próximo da região muscular, um receptor de pressão, denominado de corpúsculo de Vater-Pacini (Figura 2G), que é uma estrutura arredondada, em que, uma única fibra mielinizada de grande diâmetro divide-se em muitos ramos pequenos não-mielinizados no interior de uma cápsula, semelhante ao encontrado na pele e articulações de mamíferos (Junqueira & Carneiro, 2004).

Com relação à estrutura peritoneal, foi evidenciada presença de prolongamentos nas células mesoteliais do peritônio utilizando-se da microscopia eletrônica de varredura (Figura 2 B, D e F). Os prolongamentos descritos aqui são formados por microvilos (Lopes, 2007), cílios e/ou estereocílios (Dobbie, 1988), cuja diferenciação é realizada através de técnicas de microscopia eletrônica de transmissão e imunohistoquímica (Bird, 2004).

Quanto ao diâmetro dos espaços intercelulares, cuja estrutura é formada por poros entre as células mesoteliais, foi maior no sagui-de-tufo-preto adulto, sem diferenças estatísticas entre o sagui jovem e os peixes Curimatá e Robalo-flexa. Sugere-se que este dado morfológico tenha correlação com o tamanho do animal, conforme dados realizados por Stylianou *et al.* (1990) que compararam o diâmetro de células mesoteliais de peritônio humano (*in vivo*) e células cultivadas em placas (*in vitro*), sendo sugerido uma relação entre espaço e tamanho dos prolongamentos na formação dos espaços intercelulares.

Na microscopia eletrônica de varredura, foram encontrados pigmentos resultantes da ação de cromatóforos (Figura 2H) no peritônio do Curimatá, também sendo visualizados na histologia e macroscopicamente. Cromatóforos são células especializadas, com muitas projeções citoplasmáticas, contendo pigmentos para coloração de peixes, anfíbios, répteis e cefalópodes (Mojovic & Jovanovic, 2005). Estes animais são capazes de mudar sua cor como uma resposta comportamental de adaptação sob controle do sistema nervoso e endócrino mediado por receptor (Allen *et al.*, 2004). Já é conhecido, que os cromatóforos de pigmentação negra são formados por centros de melanóforos, descritos em vários peixes na região da cabeça, nadadeira caudal e principalmente na região ventral dos peixes (Fu-

jii, 2000), como descrito no presente trabalho, na região ventral do Curimatá e do Robalo-flexa.

Em relação ao comprimento dos prolongamentos celulares, maiores projeções foram encontradas no sagui-de-tufo-preto adulto, seguido pelos peixes Curimatá e Robalo-flexa (sem diferenças estatísticas) e menor no sagui jovem. Sugere-se, assim como descrito para diâmetro dos espaços intercelulares, que este dado tenha relação com o tamanho e/ou idade dos animais, uma vez que houve uma forte correlação entre estas duas variáveis (Tabela 1).

O peritônio pode ser considerado como um órgão, o qual possui uma função protetora às es-

truturas da cavidade abdominal e/ou celomática (Dobbie, 1988). Ele mantém a homeostase devido a passagem de moléculas e a produção de fluido peritoneal, promovendo assim um ambiente para os órgãos intra-abdominais funcionarem corretamente (Stylianou *et al.*, 1990).

O presente estudo teve como objetivo realizar comparações histológicas e ultraestruturais do peritônio de sagui-de-tufo-preto jovem e adulto, com os peixes Robalo-flexa e Curimatá, com descrições e análises morfométricas, visando esclarecer importância, funcionamento e relações nas espécies em estudo.

Tabela 1: Comparações morfométricas e estruturais na histologia e ultraestrutura do peritônio parietal de Sagui-de-tufo-preto jovem e adulto (*C. penicillata*), Curimatá (*P. hartii*) e Robalo-flexa (*C. undecimalis*).

Parâmetros	Sagui jovem	Sagui adulto	Curimatá	Robaloflexa
Nº de células / mm ²	3,2x10 ³ ±0,3ab	2,7x10 ³ ±0,2a	3,3x10 ³ ±0,3ab	3,7x10 ³ ±0,5b
Células mesoteliais PAS positivas	Sim	Sim	Sim	Sim
Presença de corpúsculo de Vater-Pacini	Não	Não	Não	Não
Nº de prolongamentos/células	5,75±0,50a	7,25±0,96a	3,71±0,76b	3,29±0,76b
Diâmetro dos espaços intercelulares (µm)	0,69±0,17a	1,05±0,37b	0,57±0,18a	0,73±0,18a
Comprimento dos prolongamentos celulares (µm)	0,44±0,16a	0,88±0,16b	0,63±0,33c	0,64±0,13c
Presença de cromatóforo	Não	Não	Sim	Sim
Correlação entre diâmetro de espaços intercelulares e comprimento dos prolongamentos celulares (r ²)	0,87	0,88	0,84	0,64

Letras diferentes na mesma linha são estatisticamente diferentes (P<0,05).



Figura 1: Imagens de exemplares de saguis-de-tufos-pretos jovens (A e B); sagui-de-tufos-pretos adulto (C e D); robalo-flexa (C. undecimalis) (B) e curimatá (P. hartii) (C).

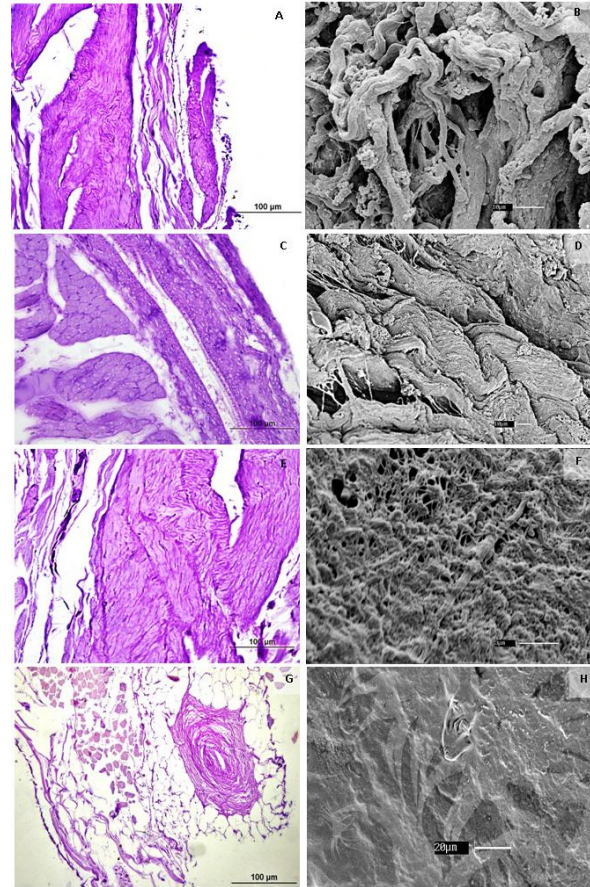


Figura 2: Imagens de histologia e microscopia electronica de varredura do peritônio parietal de sagui-de-tufos-pretos jovens (A e B); sagui-de-tufos-pretos adulto (C e D); robalo-flexa (E e F) e curimatá (G e H). Corpúsculo de Vater-Pacini (seta); Pigmentos de cromatóforos (ponta de seta).

REFERÊNCIAS

- Allen, T.; Awasthi, A.; Rana, S.V.S.** Fish chromatophores as biomarkers of arsenic exposure. 2004. Environmental Biology of Fishes 71: 7-11.
- Ballas, C.B.; Davidson, J.M.** Delayed wound healing in aged rats is associated with increased collagen gel remodeling and contraction by skin fibroblasts, not with differences in apoptotic or myofibroblast cell populations. 2001. Wound Repair Regen. 9: 223-237, 2001.
- Bird, S.D.** 2004. Mesothelial primary cilia of peritoneal and other serosal surfaces. Cell Biology International 28: 151-159.

- Binnebosel, M.; Klinge, U.; Rosch, R.; Junge, K.; Lynen-Jansen, P.; Schumpelick, V.** 2008. Morphology, quality, and composition in mature human peritoneal adhesion. Langenbecks Archives of Surgery 393: 59-66.
- Cerqueira, V.; Mioso, R.; Canarin, M.** 2005. Indução de desova com fertilização natural e artificial e incubação de ovos do robalo-peva (*Centropomus parallelus*). Atlântica 27: 31-38.
- Coimbra-Filho, A.F.; Silva, R.R.; Pissinatti, A.** 1981. Sobre a dieta de *Callitrichidae* em cativeiro. Revista Biotérios 1: 83-93.
- Dobbie, J. W.** 1988. From Philosopher to Fish: The Comparative Anatomy of the Peritoneal Cavity as an Excretory Organ and its Signifi-

- cance for Peritoneal Dialysis in Man. *Peritoneal Dialysis International* 8: 3-6.
- Ettarh, R. R.; Carr, K. E.** 1996. Ultrastructural observations on the peritoneum in the mouse. *Journal of Anatomy* 188: 211-215.
- Fujii, R.** 2000. The regulation of motile activity in fish chromatophores. *Pigment Cell Research* 13: 300-319.
- George, C.J.; Ellis, A.E.; Bruno, D.W.** 1982. On the resemblance of the abdominal pores in rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson*, and some other salmonid spp. *Journal of Fish Biology* 21: 643-647.
- Getty, R; Grossman, J. D.; Sisson, S.** 1986. *Anatomia dos Animais Domésticos*, Vol.1, 5ª ed., Nova Guanabara, Rio de Janeiro.
- Junqueira, L.C.; Carneiro, J.** 2004. *Histologia Básica*, 10ª ed., Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- Lopes, J. V.; Oliveira, P. G.; Sousa, J. B.; Bão, S. N.; Takano, G. H. S.; Leal, I. I. R.** 2007. Histopathologic evaluation of the peritoneum exposed to heat shock. Experimental study in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira* 22: 342-350.
- Mendes, L. C. N.; Periró, J. R.; Marques, L. C.; Borges, A. S.** 2000. Avaliação laboratorial do fluido peritoneal em modelos experimentais utilizados para indução de reação inflamatória intra-abdominal em equinos. *Revista de educação continuada CRMV-SP* 3: 21 – 27.
- Meireles, W.A.; Santos, L.X.; Figueiredo, S.** 2010. A importância e dificuldades do cultivo e reprodução de peixes nativos no Brasil. *Revista V&Z em Minas*. 105: 45-46.
- Michailova, K.; Wassilev, W.; Wedel, T.** 1999. Scanning of transmission microscopic study of visceral and parietal peritoneal regions in the rat. *Annals of Anatomy* 181: 253-260.
- Mojovic, L.V.; Jovanovic, G.N.** 2005. Development of a microbiosensor based on fish chromatophores immobilized on ferromagnetic gelatin beads. *Food Technol. Biotechnol.* 43: 1-7.
- Rylands, A.B.; Scheneider, H.; Langguth, A.; Mittermeier, R.A.; Groves, C.P.; Rodrigues-Luna, E.** 2000. An assessment of the diversity of new words primates. *Neotropical Primates* 8: 61-93.
- Stylianou, E.; Jenner, L.A.; Davies, M.; Coles, G.A.; Williams, J.D.** 1990. Isolation, culture and characterization of human peritoneal mesothelial cells. *Kidney International* 37: 1563-1570.
- Wal, J. B. C.; Jeekel, J.** 2007. Biology of the peritoneum in normal homeostasis and after surgical trauma. *Journal compilation, The Association of Coloproctology of Great Britain and Ireland* 9:9-13.

Data do recebimento 13/XII/2010
Data do aceite 17/VIII/2011