

DESCRIÇÃO E ANÁLISE HISTOLÓGICA DAS GLÂNDULAS ANEXAS DO TRATO DIGESTÓRIO DE *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794), (TELEOSTEI, ERYTHRINIDAE)

*Alexandra da Silva LEMES*³, *Maria del Carmen BRACCINI*^{1,2}

¹PUCRS – Câmpus Uruguaiiana – BR 472 – Km 07 — CP 249, Uruguaiiana RS, 97500-970, Brasil. E-mail: maricar@pucrs.campus2.br

²Laboratório de Histologia e Embriologia, Câmpus Uruguaiiana e NUPILABRU (Núcleo de Pesquisas Ictiológicas, Limnológicas e Aqüicultura da Bacia do Rio Uruguai) – PUCRS.

³Acadêmica do Curso de Ciências Biológicas, FAFIUR, PUCRS, Câmpus Uruguaiiana. alexandralems19@hotmail.com

ABSTRACT - DESCRIPTION AND HISTOLOGICAL ANALYSIS OF THE GLANDULA ANNEX TO THE DIGESTIVE SYSTEM OF *HOPLIAS MALABARICUS* (BLOCH, 1794), (TELEOSTEI, ERYTHRINIDAE). The traíra *Hoplias malabaricus* is largely distributed in the Uruguay river basin and it is very important for this basin. This work describes and analyses histologically the annexed glands of the digestible tube (liver, biliary vesicle and pancreas), giving support to the alimentary ecology apprehension. Twenty adult specimens, from both sex were collected and immediately fixed in neutral formol at 10% and in Bouin. After making the biometry, the digestible tube was removed through a ventral incision and the glands were isolated. The routine histological technique for optical microscopy was applied by means of transversal sections of the liver and biliary vesicle, including paraffin H-E and Goldner Trichromic, Histoplast with H-E and Toluidin blue. The liver is located before the peritoneal cave and is divided into 3 asymmetric lobos: a right, a left and a smaller transversal one, linking the first two. It is irrigated by hepatic artery and one or more portal veins which drain the gastric and intestinal mucose, the swim bladder, the spleen and the pancreas. The liver is a reticulotubular gland covered by a serous capsule, with cylindrical cells in the mesothelium with a sluggish conjunctive tissue. The hepatocytes are polygonal cells, containing spherical nuclei and presenting usually single nucleus, where inclusions of glycogen and lipids are found. The pancreas is diffused and is present in different liver regions, surrounding big vases hepatopancreas and the mesentery enveloping parts of the posterior intestine. The sacciform biliary vesicle is partially fitted into the liver with a opening duct placed before the posterior intestine. It stores the bile secreted by the liver. It shows the light covered by simple columnar epithelial tissue followed by slack conjunctive tissue, a thin layer of plain muscle covered externally by a serousal layer.

Keys words: *Hoplias malabaricus*, liver, pancreas, gall bladder.

RESUMO - A traíra *Hoplias malabaricus* (BLOCH, 1794) é de ampla distribuição e de grande importância na bacia do rio Uruguai. O presente estudo descreve e analisa histologicamente as glândulas anexas do trato digestório (fígado, vesícula biliar e pâncreas), fornecendo subsídios para a compreensão da ecologia alimentar. Foram coletados 20 espécimes adultos de ambos os sexos e imediatamente fixados em formol tamponado a 10% e Bouin. No laboratório de Histologia e Embriologia após a biometria procedeu-se através de uma incisão ventral a retirada do trato digestório e o isolamento das glândulas. Através de secções transversais do fígado e vesícula biliar efetuou-se a técnica histológica de rotina para microscopia óptica, incluindo porções em parafina e coradas com Hematoxilina e Eosina e Tricrômico de Goldner e porções em resina coradas com Hematoxilina e Eosina e Azul de Toluidina. O fígado se localiza anteriormente à cavidade peritoneal e se divide em três lobos assimétricos um direito, um esquerdo e um transversal de menor proporção,

unindo os dois primeiros. O fígado é irrigado pela artéria hepática e uma ou mais veias portas que drenam a mucosa gástrica e intestinal, a bexiga natatória, o baço e o pâncreas. O fígado é uma glândula retículo-tubular coberto por uma cápsula serosa, com células cilíndricas no mesotélio seguido de tecido conjuntivo frouxo. Os hepatócitos são células poligonais com núcleos esféricos e usualmente mononucleados, são encontradas inclusões de glicogênio e lipídios. O pâncreas é difuso e aparece em várias regiões do fígado, ao redor de grandes vasos (hepatopâncreas) e do mesentério envolvendo porções do intestino posterior. A vesícula biliar saculiforme é parcialmente encaixada ao fígado com um ducto de abertura anteriormente ao intestino posterior. Ela armazena a bile secretada pelo fígado. Apresenta a luz revestida por tecido epitelial colunar simples, seguido de tecido conjuntivo frouxo, uma fina camada de músculo liso exteriormente coberta por uma serosa.

Palavras-chave: *Hoplias malabaricus*, fígado, pâncreas, vesícula biliar.

INTRODUÇÃO

Os peixes são os vertebrados mais antigos e numerosos, formando um grande grupo com diversas espécies que têm adotado uma variedade de hábitos alimentares. Algumas espécies são extremamente especialistas em seus hábitos alimentares enquanto outras são onívoras (HOAR *et al.*, 1979).

A fauna piscícola, além de participar na alimentação humana e animal como fonte de proteínas, tem alto valor biológico e desempenha papel recreativo tanto na criação e exploração de espécies ornamentais, como de pesca esportiva (INTELIZANO, 1989).

Hoplias malabaricus (BLOCH, 1794), é uma espécie ictíca que povoa todos os sistemas hidrográficos latino-americanos com exclusão da área transandina e dos rios da Patagônia. É de grande importância na bacia do Rio Uruguai, município de Uruguaiana, região da fronteira Oeste do Rio Grande do Sul. Dada sua abundância, pode ser facilmente coletada, sendo necessárias maiores informações sobre sua biologia e ecologia, com a finalidade de preservar e permitir o gerenciamento de suas populações (QUEROL, 1993).

Segundo CARAMASCHI (1979), esta espécie é insetívora na fase jovem e ictiófaga na fase adulta. Para QUEROL (1993), a traíra tem uma tendência de ingerir exemplares maiores de 12 cm.

Estudos sobre a morfologia do trato digestório dos peixes, aliados à disponibilidade de alimento no ambiente, foram avaliados

através da análise histológica do tubo digestório e do conteúdo gástrico. É de fundamental importância o conhecimento da estrutura trófica do ecossistema, bem como do nível trófico ocupado pelas espécies, para nesse delineamento buscar subsídios para implementação de técnicas de cultivo.

Sabe-se que os diferentes hábitos alimentares determinam diferenças anatômicas e fisiológicas acentuadas no trato digestório, como resultado da adaptação aos mais variados tipos de alimentos. Estudos sobre como e onde agem as enzimas digestivas, indicam que os intestinos por si só produzem apenas parte das enzimas necessárias para a digestão, sendo o complemento realizado pelas enzimas produzidas em glândulas anexas, como o pâncreas, sendo que o fígado e a vesícula biliar também participam na digestão, porém não produzindo enzimas.

O fígado além de participar na digestão também tem função de adaptar as substâncias nutritivas, reabsorvidas pelo intestino, às necessidades do corpo. Todos os componentes prejudiciais devem ser desintoxicados e impedidos de penetrarem no corpo, função esta que o fígado realiza, considerando sua posição estratégica e assim, colaborando com o metabolismo do animal.

Segundo Roux (1922) *apud* HARDER (1975), o fígado dos peixes não tem uma forma própria, o tecido hepático ocupa alguns espaços vazios entre a parede do corpo, o intestino, o baço, a vesícula biliar e o pâncreas.

CHAO (1973) divide o fígado em três lóbulos. Um superior localizado acima da traquéia e outros dois, um direito e outro

esquerdo, enquanto AMLACHER (1954) *apud* HARDER (1975) descrevem-nos com dois lóbulos principais. O lóbulo direito circundando a vesícula biliar, espaço chamado de fôvea *vesicae biliaris* e conhecido como lóbulo da vesícula biliar. O lóbulo principal, localizado no lado esquerdo, que pressiona contra o baço, é conhecido como lóbulo do baço.

A vesícula biliar responde à ingestão de gorduras, que provocam a liberação de colecistoquinina pelo intestino delgado. Este hormônio provoca contrações da túnica muscular da vesícula biliar e a resultante eliminação da bile no duodeno (ROSS & ROWRELL, 1993).

DIAZ *et al.*, (1999) descrevem o pâncreas como sendo uma glândula mista, com funções endócrinas e exócrinas, variando amplamente quanto ao desenvolvimento e localização anatômica, nos diferentes grupos de peixes.

Para HERNANDEZ-BLÁZQUEZ (1995), a maioria dos peixes ósseos apresenta o pâncreas difusamente distribuído, acompanhando a veia porta a partir do momento que ela emerge da serosa intestinal, podendo algumas vezes seguir até o tecido hepático. Para o autor o pâncreas pode concentrar-se entre o mesentério e o intestino quando o fígado é suficientemente desenvolvido.

O pâncreas, encontrado em todos os vertebrados, produz dois grupos de substâncias, as enzimas digestivas liberadas no intestino médio, onde se tornam ativas e hormônios como a insulina e o glucagon, que regulam a concentração de açúcar no sangue.

Este trabalho foi precedido por estudos sobre a biologia e ecologia da traíra (QUEROL, 1993) e do trato digestório (BRACCINI, 2001), entre outros, constatando-se a necessidade de descrever as glândulas anexas como fígado, pâncreas e a vesícula biliar, de modo a obter mais informações sobre sua alimentação, e assim conhecer melhor está espécie com destacada importância na bacia do rio Uruguai.

Com a análise e descrição histológica das glândulas anexas (fígado, vesícula biliar e pâncreas) da traíra, teremos um maior conhecimento sobre sua nutrição, ampliando dados sobre a biologia.

MATERIAIS E MÉTODOS

As coletas foram realizadas no Arroio Felizardo que desemboca no arroio Itapitocai e este no Rio Uruguai.

Foram coletados 14 espécimes com diversas técnicas de pesca. Imediatamente foram fixados em formol tamponado a 10 % e Bouin e acondicionados individualmente em sacos plásticos devidamente etiquetados. Posteriormente, foi efetuada a biometria e a pesagem de cada exemplar. Através de uma incisão ventral foram retiradas as glândulas (fígado, vesícula biliar e pâncreas) do trato digestório. Após pesagem das mesmas, foram conservadas em formol tamponado a 10% e álcool 70% conforme o fixador utilizado.

Realizou-se a descrição da morfologia de cada uma das glândulas anexas com registro fotográfico, e anotações quanto à presença ou não de conteúdo gástrico.

Para a análise histológica, o fígado e a vesícula biliar foram seccionados transversalmente e cada porção devidamente numerada. A seguir utilizou-se a técnica de inclusão em parafina de MARTOJA & MARTOJA-PIERSON (1970) obtendo-se cortes de 5 µm de espessura, corados com H-E e com Tricrômico de Goldner seguindo a técnica de TOLOSA *et al.*, (2003). Para a inclusão em resina seguiu-se a técnica de FERREIRA & CHIARINI-GARCIA (1992), SILVEIRA (2000) e o manual de instruções da resina utilizada. Os corantes usados foram H-E e Azul de Toluidina.

Após análise de cada porção dos referidos órgãos à microscopia óptica, de algumas porções foram realizados registros fotográficos para auxiliar na interpretação dos dados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Hoplias malabaricus apresenta as glândulas anexas do trato digestório dispostas contornando o estômago, na cavidade celomática.

O fígado, responsável por importantes funções metabólicas, recebe pelo sangue nutrientes da digestão, que são transportados para o coração através da veia hepática. É a

maior glândula que se molda de acordo com o espaço na cavidade peritoneal. Produz a bile que é lançada no intestino posterior com função de remover os produtos do metabolismo das células hepáticas e emulsificar gorduras que entraram como parte do alimento ingerido. É um órgão compacto, dividido em três lóbulos assimétricos um direito, um esquerdo e um transversal de menor proporção, unindo os dois primeiros (Fig. 1). Resultados semelhantes são encontrados em *Teutogolabrus adspersus* por CHAO (1973).

Histologicamente o fígado apresenta o parênquima com uma cápsula de revestimento com pouco tecido conjuntivo e um epitélio prismático. No interior do fígado encontramos grande número de células, os hepatócitos. STOSKOPF (1999) descreve de forma semelhante realçando a estrutura lobular. Em cortes transversais, visualizamos que estas células apresentam-se em cordões contornando capilares sinusóides que se irradiam para uma veia central (Fig. 2). Descrição semelhante é citada por DIAZ *et al.*, (1999) estudando *Cynoscion guatucupa* complementando que no fígado dessa espécie não se observam tríades hepáticas verdadeiras como ocorre em mamíferos.

Entre os hepatócitos é produzida a bile. Ela é transportada por ductos biliares revestidos por um epitélio simples cúbico, que passa a epitélio colunar quando aumentam de calibre (Fig 3), dados também citados por DIAZ *et al.*, (1999).

Os hepatócitos são células arredondadas, com núcleo e nucléolo proeminentes, podendo observar-se carregados de inclusões lipídicas em alguns. STOSKOPF (1999), por sua vez ressalta a presença de diferentes inclusões, como glicogênio e lipídios.

Nas paredes de alguns capilares encontramos células fagocitárias ou de Kupffer (fig. 4), também descritos por DIAZ *et al.*, (1999).

Foi visualizada intensa vascularização. Segundo HARDER (1975), na rede de capilares ocorre a mistura do sangue que vem da veia Porta com o da artéria Hepática. Sobre o assunto, Hilton *et al.*, (1984) *apud* HERNANDEZ-BLÁZQUEZ (1995) complementam que a rede de capilares sanguíneos se anastomosam com outros

capilares entrelaçando-se até formar uma rede composta, onde os capilares fundem-se para dar origem aos grandes vasos sanguíneos, que finalmente desembocam na veia hepática.

No lóbulo lateral menor, foi visualizado à microscopia óptica, acúmulo isolado de células formando centros melano-macróforo ao redor de vasos sanguíneos de diferentes calibres (Fig. 5). Sobre estas estruturas DIAZ *et al.*, (1999) descrevem em *Cynoscion guatucupa* como sendo de tamanho variável, situadas perto das artérias hepáticas, ductos biliares e hepatopancreas, cuja composição química seria de lipofuscinas, ceróides e melanina.

A vesícula biliar é o reservatório da bile produzida pelo fígado. Em *Hoplias malabaricus* está parcialmente encaixada na porção interna do lóbulo esquerdo do fígado em vista ventral, ao mesmo tempo percorre longitudinalmente a parede do estômago, envolvendo-o parcialmente. Apresenta-se de forma saculiforme e aspecto elástico. Descrições semelhantes encontramos nos estudos de CHAO (1973) e FANGE & GROVE (1979).

Histologicamente, a vesícula biliar da traíra (Fig. 6) é um órgão oco, apresentando as diversas camadas de forma pouco definidas. Internamente revestido por um epitélio colunar, com algumas células mucosas inseridas entre as prismáticas, seguida por uma fina submucosa de tecido conjuntivo frouxo, uma delicada camada de fibras musculares lisas e externamente um mesotélio. Descrição semelhante à que encontramos nos estudos de FANGE & GROVE (1979).

O pâncreas é uma glândula de difícil visualização, encontrada em diversos locais entre os órgãos da cavidade celomática. É considerada difusa por HERNANDEZ-BLÁZQUEZ (1995). Para detectar sua presença no tecido hepático foram realizados diversos cortes transversais nos três lóbulos do fígado, direito, esquerdo e central. Encontramos os ácinos pancreáticos próximos de grandes vasos sanguíneos do lóbulo hepático esquerdo em vista ventral e no mesentério próximo ao estômago, à vesícula biliar, aos cecos pilóricos e ao intestino médio (Figs 6, 7 e 8). A porção do fígado que apresenta ácinos é citada na literatura de hepatopancreas (DIAZ *et al.*, 1999). Os ácinos apresentam-se envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo rico em fibras,

enviando ramificações ao interior, delineando os lóbulos onde está localizado um vaso sanguíneo central (Fig. 8). Complementando, DIAZ *et al.*, (1999) estudando peixes teleósteos, descrevem a porção exócrina do pâncreas, na forma de glândula acinosa composta, formado por cordões de células cilíndricas com núcleo basal.

Estudos histoquímicos futuros são necessários para obter maiores informações sobre a ultraestrutura destas glândulas para dessa forma compreender e interpretar a importante função que desempenham na digestão dos peixes.

CONCLUSÕES

Neste trabalho descrevemos a histologia das glândulas anexas do trato digestório de *Hoplias malabaricus*. O fígado é uma glândula compacta, constituída por lóbulos. Já o pâncreas, mesmo não sendo individualizado segue a estrutura típica formada por ácinos, enquanto a vesícula biliar se apresenta com os padrões de órgão oco.

O fígado, localizado anteriormente à cavidade abdominal, molda-se no espaço peritoneal. Está dividido em três lóbulos assimétricos, histologicamente semelhante ao de outros teleósteos. É uma glândula reticulo-tubular coberta por uma cápsula serosa. No parênquima hepático é encontrado de forma esparsa, centros melano-macrófagos próximos a vasos sanguíneos. Os hepatócitos estão dispostos em lâminas, anastomosadas ou formando anéis, encontrados ao redor de uma veia central. São células poligonais usualmente mononucleados de forma esférica. No seu interior observamos inclusões de glicogênio e lipídeos.

O pâncreas é difuso, aparecendo em várias regiões da cavidade abdominal. É encontrado no lóbulo esquerdo do fígado em vista ventral e no mesentério entre os órgãos situados na cavidade celomática. O pâncreas é rodeado por uma cápsula de tecido conjuntivo rico em fibras. Suas células apresentam-se localizadas em forma de ácinos ao redor de vasos sanguíneos de grande calibre.

A vesícula biliar apresenta-se bem desenvolvida, ocupando a porção interna do

lóbulo hepático esquerdo, vista ventral, entre este e o estômago. À luz, revestida por tecido epitelial colunar simples, seguido de tecido conjuntivo frouxo, uma fina camada de músculo liso e exteriormente coberta por uma serosa.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem pela bolsa PIBIC-PUCRS e aos setores NUPILABRU e Laboratório de Histologia e Embriologia do Câmpus Uruguaiana por ter permitido o desenvolvimento dessa pesquisa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRACCINI, M. Modificações morfológicas e histológicas do estômago de *Hoplias malabaricus* (BLOCH 1794) (Osteichthyes, Cypriniformes, Erythrinidae) relacionadas à digestão. Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Curso de Pós-Graduação em Biociências, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 2001. 71p.
- CARAMASHI, E. M. P. Reprodução e alimentação de *Hoplias malabaricus* (BLOCH 1794), na represa do Rio Pardo, (Botucatu-SP) (Osteichthyes, Cypriniformes, Erythrinidae). Memória e Mestrado São Carlos, 144 p. Universidade Federal de São Carlos. 1979.
- CHAO, L. N. Digestive system and feeding habits of cunner, *Tautoglabrus adspersus*, a stomachless fish. Fishery Bulletin, v. 71 (2): 1973. p. 565-586.
- DIAZ A. O. *et al.*, Morphological and histochemical characterisation of liver from stripped weakfish, *Cynoscion guatucupa* (CUVIER, 1830) **Biociências**, 1999.
- FANGE, R.; GROVE, D. Digestion. In: Hoar, W. S.; Randall, D. J.; Brett, J.R. (eds). **Fish Physiology**, New York: Academic Press, 1979. V. 8, p. 173-175.
- FERREIRA, R. M. A.; CHIARINI, H. Efeito da fixação e do meio de inclusão na preservação histológica do intestino da traíra *Hoplias malabaricus* (BLOCH 1794). **Rev. Bras. Ciên. Morfol.**, v. 9 (2): 1992. p. 32-37.
- HARDER, W. The Digestive Tract. In: Harder, W. (ed) **Anatomy of Fishes**, v. 1. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele, Obermiller) Stuttgart, p. 159-164. 1975a.
- HERNANDEZ-BLÁZQUEZ, F. J., Estrutura Histológica do fígado e do pâncreas de peixes, p. 39-43, In: II SEMANA SOBRE HISTOLOGIA DE PEIXES. **Resumos...** Jaboticabal, SP. 1995. 153p.
- INTELIZANO, W. Contribuição ao estudo anatômico do estômago da traíra *Hoplias* spp. São Paulo. 115 p. Tese de Mestrado da Universidade de São Paulo. 1989.

- MARTOJA, R. & MARTOJA – PIERSON. M., 1970, **Técnicas de histologia animal** Toray, Massom. Barcelona. 341p.
- QUEROL, E. Biología e Ecología de *Hoplias malabaricus* (BLOCH 1794). (Pisces, Erythrinidae) en la cuenca del Río Uruguay, Brasil. Barcelona-Espanha. Tese de Doutorado. 1993.
- ROSS, M. H. & ROMRELL, L. J. **Histologia: Texto e Atlas**. São Paulo-Brasil. Ed. Panamericana. 2ª ed. p. 481. 779. 1993.

- STOSKOPF, M. **Fish Medicine**. Philadelphia: Ed W.B. Saunders company: p.39-40. 111p. 1999.
- SILVEIRA, S. O. **Curso de preparação de laminas histológicas em matriz de resina**. São Paulo: Erviegas Instrumental Cirúrgico Ltda, 2ª ed. 14 p. 2000.
- TOLOSA, E. M. C. de; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O.A.; NETO, A.S. de F. **Manual de técnicas histológicas normal e patológica: São Paulo**. ed. Manole.2ª.ed.2003.



Figura 1 - Vista geral do Fígado de *H. malabaricus*. Lóbulo maior (1), central (2) e menor (3). Escala 10mm.

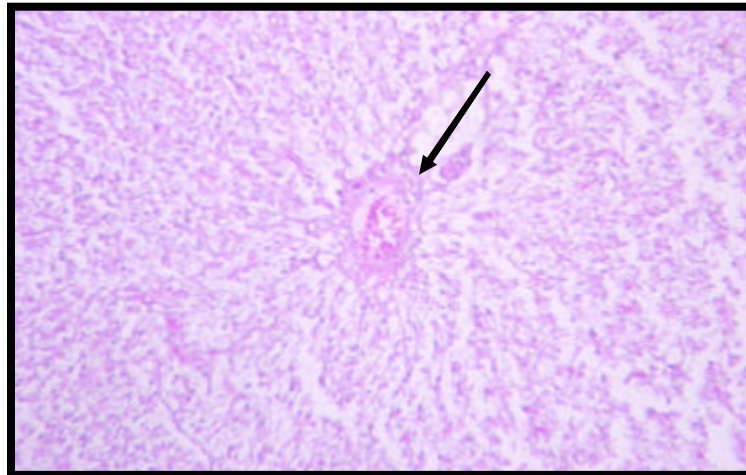


Figura 2 - Sinusóide irradiados na veia central (seta) de *H. malabaricus*. Parafina. HE 40X.

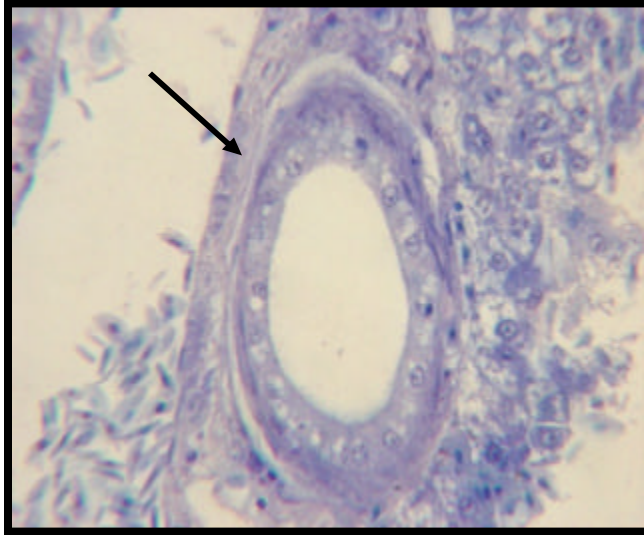


Figura 3 - Fígado de *H. malabaricus*. Ducto biliar no parênquima hepático (seta) Resina. Azul de Toluidina 100X. Toluidina 100X.

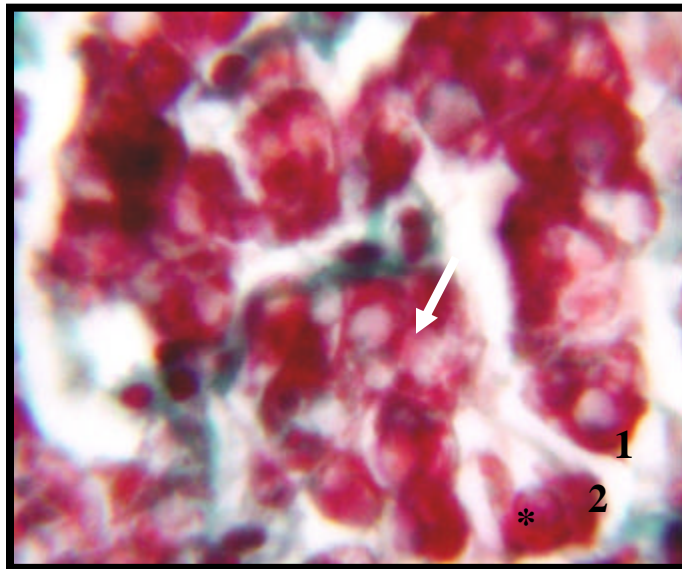


Figura 4 - Fígado de *H. malabaricus*. Hepatócitos (1) com acúmulo de lipídios (seta), sinusóide (2) com células de Kupffer (*). Parafina Tricrômico de Goldner 400X.

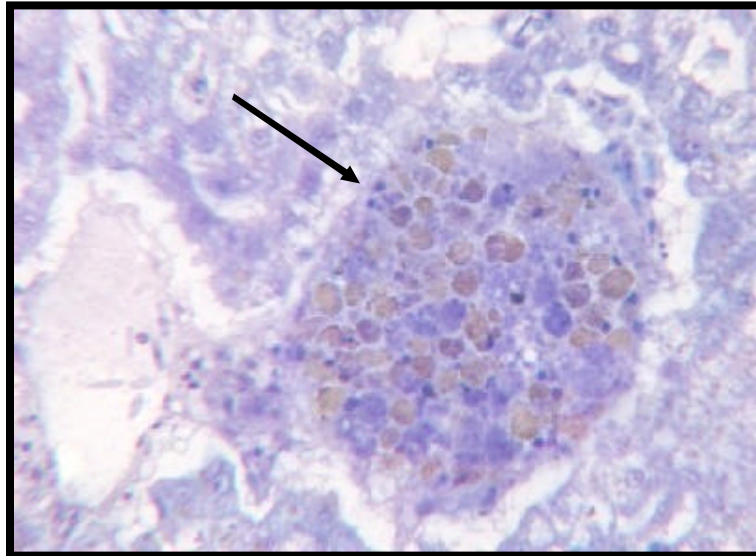


Figura 5 - Fígado de *H. malabaricus*. Centros melano-macrófagos (seta) entre os hepatócitos. Resina. Azul de Toluidina 400X.

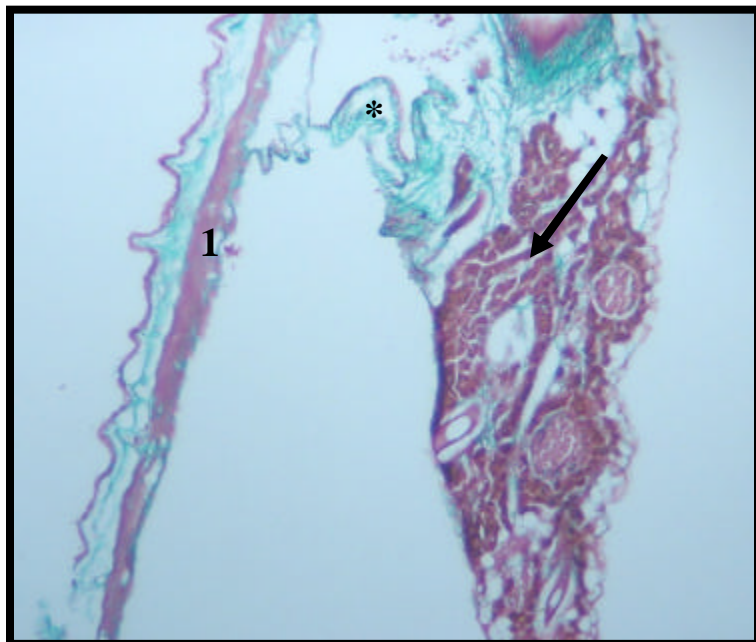


Figura 6 - Pâncreas (seta) de *H. malabaricus* no mesentério (*) próximo a vesícula biliar (1). Parafina. Tricrômico de Goldner 40X.

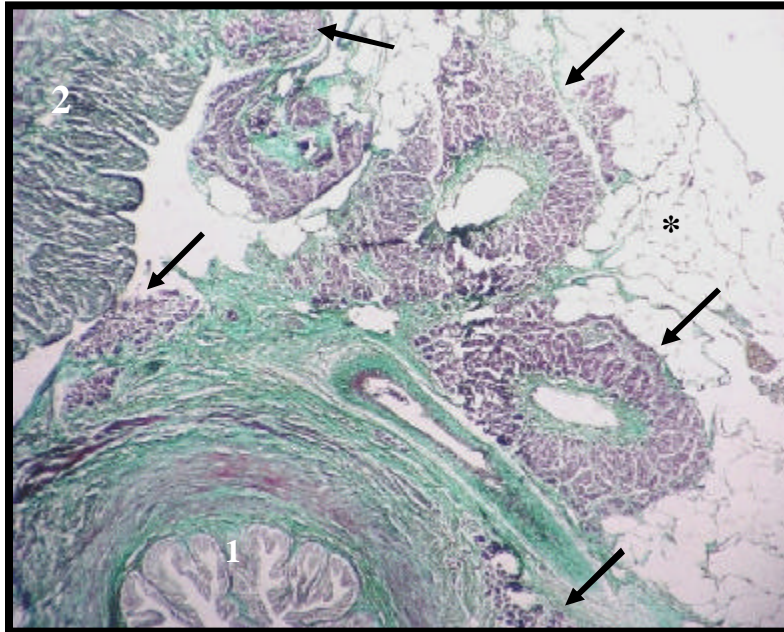


Figura 7 - Ácinos pancreáticos (setas) de *H. malabaricus* entre as paredes do ceco pilórico (1), entre a serosa do intestino médio (2) e mesentério adjacente (*). Parafina. Tricrômico de Goldner 100X.

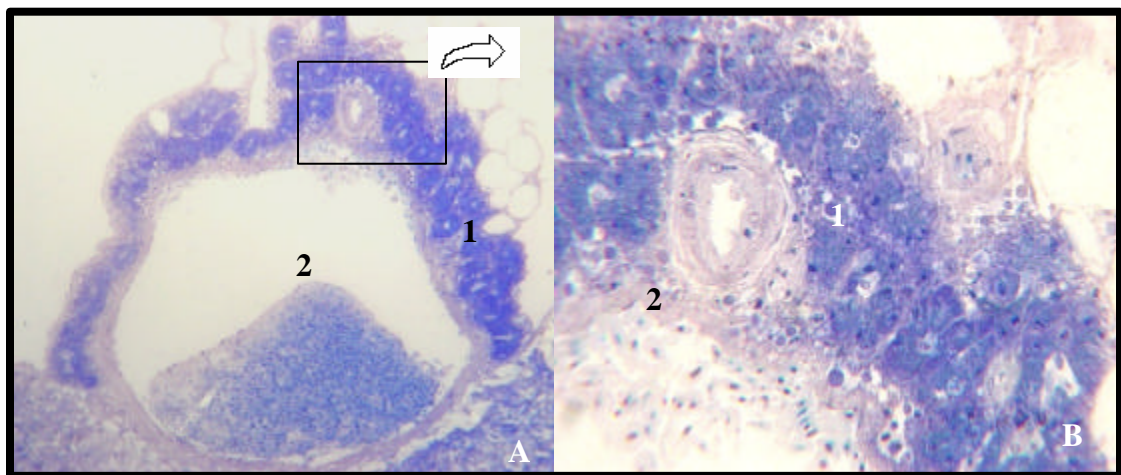


Figura 8 - Hepatopancreas de *H. malabaricus*. A - Ácinos pancreáticos (1) ao redor da veia Porta do fígado (2). Resina. Azul de Toluidina 100X. B - Quadro em aumento 400X. Ácinos pancreáticos (1) e parede da veia Porta Hepática (2).

Recebido: 15/11/2004.

Aceito: 18/12/2004.