Histologia, histoquímica e histometria do intestino de jacaré-do-Pantanal criado em cativeiro¹

Victor M. Aleixo², Leandro N. Pressinoti³, Dérick V.S. Campos³, Raoni de C. Menezes-Aleixo³ e Rosa H.S. Ferraz^{4*}

ABSTRACT.- Aleixo V.M., Pressinoti L.N., Campos D.V.S., Menezes-Aleixo R.C. & Ferraz R.H.S. 2011. [Histology, histochemistry and histometry of the intestine of *Cayman yacare* bred in captivity.] Histologia, histoquímica e histometria do intestino de jacaré-do-Pantanal criado em cativeiro. *Pesquisa Veterinária Brasileira 31(12):1120-1128.* Departamento de Ciências Básicas e Produção Animal, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT 78060-900, Brazil. E-mail: rhsferraz@ufmt.br

Commercial breeding of Caiman yacare has been consolidated in the state of Mato Grosso, Brazil, as an alternative and legal activity for rural properties in the area of its natural occurrence, to restrain predatory hunting and for preservation of the species. Rationalization of the production process in alligator breading is a relatively new action, which allows a better skin quality and integral use, different from the production of skins from animals in nature. Considering the importance of the intestines as being the main place of the major events related to nutrients obtainment for the body metabolism, this study aimed to characterize qualitative and quantitatively the mucosa of the small and large intestine of young *C. yacare*. For the characterization of the intestinal wall structure in optical microscopy and histometry of the mucosa were collected intestinal samples from 16 animals, three of which were also used for the histochemical study. The samples were obtained from five regions, four from the small intestine and one from the large intestine. They were fixed in Bouin solution and processed according to the techniques recommended for paraffin inclusion. Semiserial histological sections (about four micrometers) were obtained and the specimen was deparaffinized, hydrated, and stained with hematoxylin--eosin for the general description and histometric study, which consisted of measuring the frequency of intestinal villi, lengths of epithelium and lamina propria of the mucosa, and mucosal thickness. In the statistical analysis was applied the variance analysis and Tukey test. For the histochemistry study were used the reaction to periodic acid-Schiff, alcian blue pH 1.0 counterstained with hematoxylin and alcian blue pH 2.5 conjugated to the periodic acid-Schiff. For description of the histological structures was used the terminology available in the Histological Nomina .The wall structure of the small and large intestine of the C. yacare was formed by mucosa, muscular and serosa tunics. The mucosal consisted of lining epithelium type simple cylindrical formed by columnar epithelial cells and goblet cells; lamina propria of loose connective tissue and a single layer of muscularis mucosa. The muscular tunic consisted of two stratums, the circular and the longitudinal, being the circular stratum more developed. The serosa was typical. The specializations of the mucosa observed in the small and large intestines respectively, were intestinal villi and folds, and along the regions of the intestines, showed a reduction of its complexity.

¹ Recebido em 26 de março de 2011.

Aceito pra publicação em 14 de setembro de 2011.

² Instituto Federal de Mato Grosso (IFMT), Campus de Cáceres, Avenida dos Ramires s/n, Caixa Postal 244, Distrito Industrial, Cáceres, MT 78200-000, Brasil

³Departamento de Biologia, Universidade do Estado de Mato Grosso

⁽Unemat), Campus de Cáceres, Avenida São João s/n, Cáceres, MT 78200-000.

⁴ Departamento de Ciências Básicas e Produção Animal (DCBPA), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Av. Fernando Corrêa da Costa 2367, Bairro Boa Esperança, Cuiabá, MT 78060-900, Brasil. *Autor para correspondência: <u>rhsferraz@ufmt.br</u>

The histometric study of the mucosa showed statistically significant difference between the small and large intestines. Although the structure of the intestinal wall of *C. yacare* is similar to other crocodilians, the green turtle and the ostrich, it's still necessary studies about the histophysiology that the nutritional management of the species in captivity be incremented.

INDEX TERMS: Caiman yacare, morphology, histometry, commercial breeding.

RESUMO.- A criação de jacaré-do-Pantanal tem se consolidado no estado de Mato Grosso como atividade alternativa e legal para as propriedades rurais na área de ocorrência natural da espécie, coibindo a caça predatória e colaborando na preservação da espécie. A racionalização do processo produtivo na criação de jacaré é uma ação relativamente nova, que permite obter pele de melhor qualidade e de utilização integral, diferentemente daquelas oriundas de animais da natureza. Considerando a importância dos intestinos como sede dos principais eventos relacionados à obtenção de nutrientes para o metabolismo corpóreo, este trabalho teve por objetivo caracterizar qualitativa e quantitativamente a mucosa dos intestinos delgado e grosso de jacaré-do-Pantanal jovens. Para a caracterização ao microscópio óptico da estrutura da parede intestinal e da histometria da mucosa foram coletadas amostras intestinais de 16 animais, sendo três deles também destinados ao estudo histoquímico. As amostras foram obtidas de cinco regiões, sendo quatro do intestino delgado e uma do intestino grosso. Elas foram fixadas em solução de Bouin, processadas de acordo com técnicas preconizadas para inclusão em parafina. Cortes histológicos semi-seriados (quatro micrômetros) foram obtidos e o material foi desparafinizado, hidratado e corado pela hematoxilina-eosina para a descrição geral e estudo histométrico, que consistiu da mensuração da freqüência das vilosidades intestinais; dos comprimentos do epitélio e da lâmina própria da mucosa e da espessura da mucosa. Na análise estatística foi empregada a análise de variância e Teste de Tukey. Para o estudo histoquímico foram utilizadas a reação ao ácido periódico de Schiff, alcian blue pH 1,0 contrastado com hematoxilina e alcian blue pH 2,5 conjugado ao ácido periódico de Schiff. Para a descrição das estruturas histológicas foi empregada a terminologia disponível na Nomina Histologia. A estrutura da parede do intestino delgado e grosso do jacaré-do-Pantanal era constituída pelas túnicas mucosa, muscular e serosa. A mucosa era formada por epitélio de revestimento do tipo cilíndrico simples constituído por epiteliócitos colunares e por exocrinócitos caliciformes; lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo e muscular da mucosa única. A túnica muscular era constituída por dois estrados, o circular e o longitudinal, sendo o estrato circular o mais desenvolvido. A serosa era típica. As especializações da mucosa observadas no intestino delgado e grosso, respectivamente, foram vilosidades e pregas intestinais, e ao longo das regiões dos intestinos, apresentaram diminuição de sua complexidade. O estudo histométrico da mucosa demonstrou diferença estatisticamente significante entre o intestino delgado e grosso. Embora a estrutura da parede intestinal de C. yacare seja semelhante à de outros crocodilianos, a da tartaruga verde e avestruz, ainda se faz necessário estudos sobre a histofisiologia para que o manejo nutricional da espécie em cativeiro seja incrementado.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: *Caiman yacare*, jacaré-do-Pantanal, morfologia, histometria, criação comercial.

INTRODUÇÃO

No Brasil, a criação comercial de jacaré-do-Pantanal no sistema ranching, foi normatizada pela Instrução Normativa nº 169, de 20/02/2008 do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e Recursos Naturais Renováveis (Brasil 2008). Este sistema caracteriza-se pela coleta de ovos na natureza, sua incubação artificial e criação dos animais em cativeiro, possibilitando a instalação de criadouros nas propriedades rurais do pantanal Mato-grossense. Inicialmente implantada como criadouros científicos na região de Cáceres, Mato Grosso, como pequenos projetos restritos a algumas fazendas, com capacidade para 20.000 animais (Aleixo et al. 2002), atualmente encontra-se em pleno desenvolvimento como atividade comercial, com capacidade entre 80.000 a 150.000 (Brasil 2008). Dessa forma, a criação de jacaré--do-Pantanal tem se consolidado no estado de Mato Grosso como atividade alternativa e legal para as propriedades rurais na área de ocorrência natural da espécie, coibindo a caça predatória e colaborando na preservação da espécie. A racionalização do processo produtivo na criação de jacaré é uma ação relativamente nova, que permite obter pele de melhor qualidade e de utilização integral, diferentemente daquelas oriundas de animais da natureza (Bressan 1998, Campos et al. 2005). Ela também viabiliza o aproveitamento da carne, agregando maior valor à atividade comercial melhorando o uso desse recurso natural, evidenciando a natureza sustentável da criação.

O sucesso da espécie, quanto população na natureza, bem como seu crescimento em condições de cativeiro, depende diretamente da eficiência dos processos de digestão e absorção dos alimentos ingeridos. Em condições naturais, o Caiman yacare é exclusivamente carnívoro e oportunista, ingerindo desde insetos, minhocas, caramujos, girinos até cobras, ratos e mamíferos de médio porte (Maciel et al. 2002). Nos intestinos ocorrem os principais eventos relacionados à obtenção de nutrientes para o metabolismo corpóreo, cuja mucosa, um dos elementos estruturais de fundamental importância caracteriza-se tanto como uma camada permeável a nutrientes quanto uma barreira contra compostos nocivos, e até mesmo, contra agentes patogênicos como bactérias, cuja competição com o hospedeiro por nutrientes e a formação de metabólitos depressores do crescimento, podem ter efeitos negativos sobre a mucosa do intestino delgado (Van Leeuwen 2002).

A estrutura da parede dos intestinos delgado e grosso

em crocodilianos, sob seus aspectos microscópicos, foi descrito no aligator-da-Flórida (*Alligator mississippiensis*), no jacaré-do-Pantanal (*Caiman yacare*) e no crocodilo-do-Nilo (*Crocodilus niloticus*), respectivamente, por Reese (1913, 2000), Jin et al. (1990) e Kotzé et al. (1992). Estudos sobre a histofisiologia dos intestinos em crocodilianos embora sejam escassos, se referem ao gênero *Caiman*, como evidenciado nos estudos de Coulson & Hernandez (1974) e Starck et al. (2007). Tendo em vista o interesse econômico da espécie para o Estado de Mato Grosso e a necessidade de se disponibilizar conhecimento que subsidie programas de nutrição do *Caiman yacare* em cativeiro, este trabalho teve por objetivo caracterizar qualitativa e quantitativamente a mucosa dos intestinos delgado e grosso de jacaré-do-Pantanal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a caracterização ao microscópio óptico da estrutura da parede intestinal e da morfometria da mucosa dos intestinos delgado e grosso de jacaré-do-Pantanal Caiman yacare Daudin, 1802, foram coletadas amostras intestinais de 16 animais, sendo três deles também destinados ao estudo histoquímico. As amostras foram obtidas de animais jovens com aproximadamente 2 anos de idade; de ambos os sexos, com massa corpórea de 5 a 6 kg, e imediatamente após a evisceração dos mesmos, no frigorífico da Cooperativa de Criadores de Jacaré-do-Pantanal (Coocrijapan), situada em Cáceres, Mato Grosso. O abate foi executado dentro das normas do Serviço de Inspeção Federal do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (Brasil 1950). Amostras de cerca de dois centímetros (cm) de comprimento foram obtidas de cinco regiões (Fig.1), sendo quatro do intestino delgado: A) duodeno descendente; B) duodeno ascendente, C) jejuno parte cranial e D) jejuno parte caudal; e uma do intestino grosso (região E). Após a obtencão das amostras, as mesmas foram incisadas longitudinalmente para exposição da mucosa, fixadas em solução de Bouin por seis horas e conservadas em solução McDowell (Formol a 2,5% em tampão fosfato a 0,1 M, pH 7,4) para a melhor preservação das estruturas celulares. As amostras obtidas foram desidratadas em séries crescentes de álcool etílico, infiltradas e incluídas em parafina. Cortes histológicos semi-seriados foram obtidos em micrótomo rotativo, totalizando cinco cortes para cada bloco, sendo os mesmos montados em uma única lâmina de vidro. Cada corte possuía quatro micrômetros de espessura e o espaçamento entre eles foi de 100 micrômetros (µm) (Luis et al. 2005). Os cortes seriados montados foram desparafinizados, hidratados e corados pela hematoxilina-eosina (HE).

A caracterização histoquímica da mucosa objetivou a detecção do tipo de mucina secretada pelas células epiteliais e a constituição das proteoglicanas da membrana basal. Para tanto foram utilizadas as seguintes técnicas: reação ao ácido periódico de Schiff (PAS) para a identificação de mucinas neutras; alcian blue pH 1,0 contrastado com hematoxilina para a identificação de mucinas ácidas sulfatadas e alcian blue pH 2,5 conjugado ao ácido periódico de Schiff para a detecção simultânea de glicosaminoglicanas ácidas e neutras (Caldini 2002, Myers et al. 2008).

A leitura das lâminas histológicas foi realizada em magnitude de 10, 20, 40 e 100 vezes e a documentação das imagens foi realizada em microscópio ótico acoplado a sistema digital de captação de imagem (Leica QWin 2005). As imagens obtidas foram ajustadas quanto ao brilho e contraste em programa de análise de imagem (Adobe Photoshop CS4®). Para a descrição das estruturas histológicas foi empregada a terminologia disponível na Nomina Histologia preconizada pelo Comitê Internacional em Nomenclatura Histológica Veterinária (International Committee on Veterinary Histological Nomenclature - ICVHN, 1994).

O estudo histométrico (Figs.2A-D) da mucosa intestinal consistiu da verificação da freqüência das vilosidades intestinais por campo óptico; da mensuração dos comprimentos do epitélio e da lâmina própria da mucosa; obtenção da relação entre comprimentos do epitélio e da lâmina própria (CE/CLP) e mensuração da espessura da mucosa medida em três vilosidades intestinais por campo óptico através de programa de análise de imagem (Rasband 1997-2004). Apenas vilosidades seccionadas longitudinalmente da sua base até o seu ápice com uma única camada de células epiteliais foram consideradas para avaliação da espessura da mucosa (Tramonte et al. 2004). Na análise estatística comparou-se a média dos diferentes parâmetros analisados entre as cinco regiões dos intestinos aplicando-se a análise de variância, e para as múltiplas comparações, utilizou-se o Teste de Tukey. Os resultados foram considerados significativos ao nível de 5% (p=0,05) (StatSoft 2004).

RESULTADOS

Histologia e histoquímica intestinal

Em todos os casos (100%, 16 animais) analisados a parede do intestino delgado e grosso de jacaré-do-Pantanal (*Caiman yacare*) apresentou estrutura constituída por mu-



Fig.1. Intestino delgado e grosso (*ex situ*) de *Caiman yacare* para evidenciação dos pontos de coleta dos segmentos. Início (*) e término dos intestinos (•). (A-D) Regiões do intestino delgado e (E) grosso. (A) Duodeno descendente. (B) Duodeno ascendente. (C) Jejuno, parte cranial. (D) Jejuno, parte caudal.



Fig.2. (A-D) Mucosa do intestino delgado mostrando os parâmetros das medidas histométricas. (A) Frequência: foi obtida mensurando-se o número de vilosidades por campo. (B) Comprimento do epitélio da mucosa: a sequência de marcadores (°) interligados por linha amarela evidencia a superfície do epitélio, utilizando-se o mesmo instrumento de marcação procedeu-se a verificação do comprimento da lâmina própria (C) na transição das túnicas mucosa e muscular e a espessura da mucosa (D) mensurando-se a vilosidade do ápice até a sua base. Hematoxilina e eosina. (A-D) 50x.

cosa, muscular com dois estratos: o circular e o longitudinal e serosa (Fig.3A-D).

A mucosa (Fig.3B), constituída por epitélio de revestimento, lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo e muscular da mucosa apresentou especializações que variaram quanto a sua forma, desde vilosidades a pregas intestinais, respectivamente, observadas no intestino delgado e grosso. Na região do duodeno (descendente e ascendente) essas vilosidades eram digitiformes altas e ramificadas (Figs.3A-B) em dois (bifurcadas) ou três (trifurcadas) eixos; na região do jejuno cranial elas apresentaram ápice mais arredondado, e na parte caudal, a forma era irregular (Fig.3C), sendo pouco ramificadas em ambas as regiões do jejuno. No intestino grosso (Fig.3D) a mucosa apresentou pregas baixas de forma irregular. A lâmina própria e a muscular da mucosa na região do duodeno eram camadas escassas e tornaram-se mais evidentes nas regiões caudais do intestino delgado e no grosso, sendo observada nesta última região abundante material intercelular amorfo. Os tipos celulares predominantes na lâmina própria da mucosa foram os fibroblastos, os linfócitos e em menor proporção observaram-se granulócitos acidofílicos. Além de fibroblastos, evidenciou-se esparsas fibras musculares lisas e pequenos vasos sanguíneos, dentre os quais se destacaram as vênulas, capilares e também alguns vasos linfáticos, estes últimos de maior diâmetro que os vasos citados anteriormente. No eixo da vilosidade intestinal, na região do duodeno, observaram-se dois feixes de fibras musculares lisas perpendiculares aos feixes longitudinais da lâmina própria (muscular da mucosa). Na parte caudal do jejuno e no intestino grosso era frequente a presença de aglomerados de linfócitos formando os nódulos linfáticos solitários.

A túnica muscular apresentou os estratos circular e longitudinal (Figs.3A,C) em todas as regiões observadas, no entanto, o estrato muscular mais desenvolvido foi o circular. No duodeno, os feixes musculares em ambos os estrados eram espessos e o tecido conjunto frouxo entre eles era escasso; no jejuno o tecido conjuntivo apresentou-se mais conspícuo e os feixes musculares mais delgados. No intestino grosso, houve uma diminuição da espessura dos estrados circular e longitudinal.

A túnica serosa era típica (Fig.3B), constituída por epi-



Fig.3. (A-C) Corte longitudinal da parede do intestino delgado e (D) grosso. (A) Duodeno, (B) detalhe da vilosidade intestinal bifurcada, (C) jejuno evidenciando a irregularidade das vilosidades. Túnica mucosa: epitélio colunar simples (*), lâmina própria (LP) e muscular da mucosa (MM). Túnica muscular estratos circular (MEC) e longitudinal (MEL), túnica serosa (S) e pregas intestinais (PI). Hematoxilina-eosina. (A-D) 50x.

télio pavimentoso de células mesoteliais apoiado em delgada camada de tecido conjuntivo frouxo subjacente, a lâmina própria serosa.

No epitélio de revestimento dos intestinos delgado e grosso (Figs.4A-D) foram observados dois tipos celulares apoiados sobre a membrana basal, o epiteliócito colunar (epiteliócito absortivo) e o exocrinócito caliciforme (célula caliciforme), embora granulócitos tenham sidos identificados infiltrados entre os epiteliócitos. A membrana basal apresentou-se fracamente marcada pela reação ao PAS.

O epiteliócito colunar (EC) era o tipo celular predominante, possuindo formato prismático, citoplasma acidófilo, núcleo alongado e centralizado, com predomínio de eucromatina e nucléolo evidente e especialização de membrana apical evidenciada pelo *limbus striatu* (borda estriada), positivamente marcado pela reação ao PAS (Fig. 4A-C).

O exocrinócito caliciforme (EC) era mais abundante na parte caudal do jejuno e no intestino grosso em relação às demais regiões. Ele possuía forma de cálice, núcleo arredondado com predomínio de eucromatina, deslocado para a porção basal da célula e citoplasma apical pouco acidófilo onde se observou o produto de secreção celular. Essa secreção apresentou-se como grânulos citoplasmáticos grosseiros e corados em magenta pela reação positiva ao PAS. Também se apresentaram marcada positivamente pelo alcian blue pH 1 e 2,5 associado ao PAS, respectivamente, em azul claro (Fig.4C) e escuro.

O núcleo do granulócito acidofílico era redondo, apresentava citoplasma abundante com poucos grânulos de forma poliédrica, mas de grande volume e corados pela eosina.

Histometria da mucosa intestinal

Os epiteliócitos colunares da vilosidade apresentaram altura aproximada de 65 μ m e seus núcleos alongados apresentaram aproximadamente altura e largura, respectivamente, de 10 e 5 μ m.

Os valores médios obtidos para a frequência de vilosidades intestinais, para o comprimento do epitélio e espessura da mucosa mostraram semelhança entre as quatro regiões do intestino delgado, pois não foi verificada diferença estatisticamente significativa entre elas, diferentemente do observado entre essas regiões e o intestino grosso, onde todos esses parâmetros citados diminuíram com significância estatística (Quadro 1).

Os valores médios obtidos para o comprimento da lâmina própria da mucosa do intestino grosso (2066,58 µm) foram maiores do que aqueles encontrados para cada uma das quatro regiões do intestino delgado. A lâmina própria na região do duodeno ascendente (1977,69 µm) apresentou semelhança significativa aos valores obtidos para as regiões que imediatamente a precedem (duodeno descendente – 2021,80 µm) e sucedem (jejuno parte cranial - 1908,12 µm), no entanto, estas duas regiões diferiram significativamente entre si. O jejuno em sua parte caudal (1947,93 µm) foi significativamente semelhante a todas as regiões que o precedem.



Fig.4. Histoquímica (A-C) do intestino delgado e (D) grosso de Caiman yacare. (A) Epiteliócito colunar da vilosidade intestinal do duodeno entremeado pelo exocrinócito caliciforme (>) e *limbus striatus* (►), ambos marcados positivamente pela reação PAS. (B) Evidencia-se o *limbus striatus* e o exocrinócito caliciforme (>). (C) Reação positiva do exocrinócito caliciforme marcado em azul pelo alcian blue. (D) Exocrinócito caliciforme do intestino grosso. Túnica mucosa: epitélio colunar simples (*) com epiteliócito colunar da vilosidade intestinal (→) e exocrinócito caliciforme (>), lâmina própria (LP) e muscular da mucosa (MM); (o) núcleo da célula muscular lisa. (A,B,D) Ácido periódico de Schiff, (C) alcian blue pH 1,0 contrastado pela hematoxilina. (A, C, D) 400x. (B) 1000x.

DISCUSSÃO

Histologia e histoquímica intestinal

A parede do intestino delgado e grosso de jacaré-do-Pantanal (*Caiman yacare*) apresentou estrutura constituída de mucosa, muscular e serosa não sendo observada a submucosa, embora tenha sido descrita nesta mesma espécie por Jin et al. (1990) e por Kotzé et al. (1992) no crocodilo-do-Nilo.

A túnica mucosa constituída por epitélio, lâmina própria e muscular da mucosa foi semelhante à descrita para o jacaré-do-Pantanal (Jin et al. 1990), animais domésticos (Banks 1992, Bacha Jr & Bacha 2003), galinha doméstica (Bacha Jr & Bacha 2003), avestruz (Monteiro et al. 2009) e tartaruga verde (Magalhães et al. 2010). De acordo com a região analisada foram observadas variações na forma das especializações da mucosa no *C. yacare*, desde vilosidades a pregas intestinais. Dentre as quatro regiões do intestino

Parâmetro	Região do órgão	Média	Desvio padrão	Р
Frequência de vilosidades intestinais (unidade)	Duodeno descendente	8,17ª	1,65	p<0.01
	Duodeno ascendente	7,89 ª	1,75	r ,
	Jejuno, parte cranial	8,68 ª	2,46	
	Jejuno, parte caudal	9,11ª	1,98	
	Intestino grosso	6,31 ^b	1,79	
Comprimento do epitélio (CE) (µm)	Duodeno descendente	20009,21ª	3235,17	p<0.001
	Duodeno ascendente	18699,25ª	3608,62	r ,
	Jejuno, parte cranial	18465,82ª	3005,30	
	Jejuno, parte caudal	19696,46ª	3892,83	
	Intestino grosso	10168,21 ^b	3088,53	
Comprimento lâmina própria da mucosa (CLP) (μm)	Duodeno descendente	2021,80ª	110,52	p<0,05
	Duodeno ascendente	1977,69 ^{ab}	167,17	1 /
	Jejuno, parte cranial	1908,12 ^b	192,40	
	Jejuno, parte caudal	1947,93 ^{ab}	177,07	
	Intestino grosso	2066,58°	35,43	
Relação CE/CLP (μm)	Duodeno descendente	9,95ª	1,84	p<0,001
	Duodeno ascendente	9,51ª	1,92	1
	Jejuno, parte cranial	9,81ª	2,05	
	Jejuno, parte caudal	10,15ª	1,91	
	Intestino grosso	4,91 ^b	1,46	
Espessura da mucosa (μm)	Duodeno descendente	1386,94ª	206,40	p<0.001
	Duodeno ascendente	1339,96ª	218,81	F ,
	Jejuno, parte cranial	1382,94ª	268,27	
	Jejuno, parte caudal	1370,93ª	163,97	
	Intestino grosso	876,19 ^b	288,82	

Quadro 1. Parâmetros analisados nas diferentes regiões dos intestinos delgado e grosso, e respectivas médias, desvio padrão e grau de significância (*p*)

Teste estatístico One-way ANOVA, STATISTICA 7.0 (StatSoft®).

Letras diferentes indicam diferenças significativas entre as regiões (p=0,05).

delgado, as vilosidades intestinais apresentaram variação na sua forma, de digitiformes altas e ramificadas a projeções simples de ápice arredondado, até projeções irregulares e pouco ramificadas. Essa característica evidenciou a modificação pela qual essa especialização de mucosa foi submetida, até que outro tipo, as pregas intestinais típicas do intestino grosso surgissem. Jin et al. (1990) relataram a presença de projeções laterais das vilosidades, caracterizada neste experimento como ramificações ou divisões do eixo principal da vilosidades. Outros relatos mais recentes descreveram as projeções da mucosa do intestino delgado como sendo do tipo vilosidades e as do intestino grosso como pregas intestinais (Jin et al. 1990, Banks 1992, Bacha Jr & Bacha 2003, Monteiro et al. 2009, Magalhães et al. 2010). Segundo Reese (1913, 2000) a mucosa intestinal do aligator-da-Flórida apresentava pregas numerosas arranjadas de modo complexo, termo atualmente empregado somente para descrever as especializações de mucosa no intestino grosso e não mais no delgado, no entanto, os autores foram unânimes em afirmar que esse arranjo se torna menos complexo à medida que se direciona caudalmente no sentido do fluxo da ingesta (Reese 1913, 2000, Jin et al. 1990, Banks 1992, Kotzé et al. 1992, Bacha Jr & Bacha 2003, Monteiro et al. 2009, Magalhães et al. 2010).

As glândulas intestinais (glândulas de Lieberkühn) caracterizadas pela invaginação do epitélio na lâmina própria subjacente (Banks 1992), arranjo comum em aves (Bacha Jr & Bacha 2003, Monteiro et al. 2009) e animais domésticos (Banks 1992, Bacha Jr & Bacha 2003), não foram observadas em *C. yacare* diferentemente do relato de Jin et al. (1990), que afirmaram a presença de glândulas intestinais pouco desenvolvida no duodeno, e por Kotzé et al. (1992), que se referiram a todo o intestino do crocodilo-do-Nilo, semelhante ao observado por Magalhães et al. (2010) na tartaruga verde. Jin et al. (1990) e Magalhães et al. (2010) relataram ainda, a presença dessas glândulas intestinais no intestino grosso, diferente do observado neste experimento.

Segundo Banks (1992) a submucosa é uma túnica que se apresenta constituída de tecido conjuntivo frouxo levemente mais denso do que aquele observado na lâmina própria da túnica mucosa, o que não foi verificado nesta espécie corroborando as informações relatadas por Reese (1913, 2000) para *Alligator mississippiensis*. A presença da submucosa foi descrita por Kotzé et al. (1992) para o crocodilo-do-Nilo, por Banks (1992), Bacha Jr & Bacha (2003) para os animais domésticos, por Bacha Jr & Bacha (2003) para *Gallus gallus domesticus*, por Hildebrand & Goslow (2006) para outros répteis e aves, por Monteiro et al. (2009) para avestruz (*Struthio camelus*) e por Magalhães et al. (2010) para tartaruga verde (*Chelonia mydas*).

Em relação às glândulas submucosas (glândulas de Brunner) elas não foram identificadas em *C. yacare.* Embora Jin et al. (1990) tenham descrito a túnica submucosa, esses autores também não as observaram, fato também relatado em avestruz (Monteiro et al. 2009) e tartaruga verde (Magalhães et al. 2010).

Na túnica muscular do intestino de *C. yacare*, o estrato muscular circular foi o mais desenvolvido conforme descrito por Reese (1913, 2000) e Jin et al. (1990), embora Reese (1913, 2000) relatasse que o estrato circular é duas vezes mais espesso que o longitudinal, e Jin et al. (1990), se referissem ao longitudinal como sendo cinco vezes mais delgado que o estrato circular. Reese (1913, 2000) indicou em suas figuras uma relativa diminuição na espessura da túnica mucosa entre as três regiões do intestino delgado por ele analisadas, conforme também se observou em *C.* *yacare*. Monteiro et al. (2009) relataram que no intestino delgado e grosso de avestruz o estrato longitudinal foi mais delgado do que o circular. Outro aspecto observado em *C. yacare* foi o aumento de tecido conjuntivo entre os feixes musculares nas regiões mais caudais do intestino delgado e grosso, semelhante ao observado por Kotzé et al. (1992) no crocodilo-do- Nilo, que descreveram a presença de distintas camadas de tecido conjuntivo denso entre os feixes musculares. Segundo Reese (1913, 2000) a variação no diâmetro das camadas histológicas do intestino entre animais em hibernação e animais em forrageio ocorre principalmente pela modificação na espessura do tecido conjuntivo da lâmina própria e da túnica muscular.

A constituição da serosa descrita por Reese (1913, 2000) foi de tecido conjuntivo denso repleto de vasos sanguíneos diferente do tecido conjuntivo frouxo observado em *C. yacare*.

O epitélio da túnica mucosa em *C. yacare* era do tipo cilíndrico simples conforme já caracterizado por Jin et al. (1990) nesta mesma espécie, para o crocodilo-do-Nilo por Kotzé et al. (1992), para os animais domésticos (Bacha Jr & Bacha 2003) e no avestruz (Monteiro et al. 2009), no entanto, Reese (1913, 2000) relatou a natureza estratificada do mesmo no aligator-da-Flórida, possivelmente ou pela qualidade óptica do material produzido na época ou por ter investigado animais em hibernação ou jejum conforme relatado por Starck et al. (2007) no jacaré-do-papo-amarelo (*Caiman latirostris*).

Os tipos celulares predominantes neste epitélio eram semelhantes ao descrito por diversos autores em diferentes espécies, e constituíam-se de epiteliócito colunar (EC) e do exocrinócito caliciforme (EC), respectivamente designados anteriormente, de epiteliócito absortivo e célula caliciforme. Apesar dessa diferença de nomenclatura, as características desses tipos celulares descritos pelos autores (Reese 1913, 2000, Jin et al. 1990, Banks 1992, Kotzé et al. 1992, Bacha Jr & Bacha 2003) mostraram se tratar dos mesmos tipos celulares. Apenas uma pequena diferença foi observada na posição do núcleo do EC, neste estudo localizado centralmente em relação ao maior eixo da célula, diferente do relato apresentado por Jin et al. (1990) onde o mesmo posicionou-se na base, provavelmente em virtude dos animais deste experimento estarem em jejum, corroborando a afirmação de Starck et al. (2007) que compararam as diferenças do epitélio em condições de jejum e forrageio. O EC não foi observado no aligator-da-Flórida por Reese (1913, 2000), provavelmente devido ao fato dos animais em questão estarem em estado de hibernação, pois nos relatos e Jin et al. (1992), Banks (1992) e Bacha Jr & Bacha (2003), assim como no presente estudo, esse tipo celular é frequente, principalmente na parte caudal do jejuno e no intestino grosso.

A histoquímica dos componentes da mucosa evidenciou as mucinas secretadas pelo EC, cuja natureza variou de neutra, conforme reação positiva do conteúdo celular e do *limbus striatus* ao PAS, a ácida sulfatada pela marcação desse mesmo conteúdo celular pelo alcian blue, associado ou não ao PAS. A membrana basal, embora marcada fracamente pelo PAS, constituí-se de proteoglicanas neutras.

A lâmina própria da túnica mucosa em C. vacare, constituída de tecido conjuntivo frouxo, também foi descrita por Jin et al. (1990), Banks (1992), Bacha Jr & Bacha (2003), Monteiro et al. (2009) e Magalhães et al. (2010) nas diversas espécies investigadas por esses autores, embora Reese (1913, 2000) relatou a natureza fibrosa da mesma associada a tecido linfático. Além disso, esses autores relataram a presença de linfócitos nesta região, designado de infiltração linfocitária por Jin et al. (1990) e Kotzé et al. (1992), nódulos linfáticos por Banks (1992), agregados de nódulos linfáticos ou Placas de Peyer por Bacha Jr & Bacha (2003) e de acúmulos de linfócitos por Magalhães et al. (2010), no entanto, provavelmente essa diferença refira-se apenas ao termo empregado, e não ao tipo celular encontrado. Em C. vacare esses aglomerados de linfócitos na lâmina própria foram designados de nódulos linfáticos solitários, conforme consta na Nomina Histologia. Outro aspecto relevante dos nódulos linfáticos solitários foi sua distribuição, pois em C. yacare foram mais frequentes na parte caudal do jejuno e no intestino grosso, semelhante ao descrito por Banks (1992) em relação aos animais domésticos.

A muscular da mucosa, constituída por fibras musculares lisas dispostas longitudinalmente era contínua aos dois feixes de fibras musculares, que partindo da muscular da mucosa, penetraram no eixo da vilosidade em direção ao seu ápice. Esse arranjo das fibras musculares lisas provavelmente possibilitou a mobilidade da vilosidade, o que pode ser verificado pelos diferentes graus de dobramento de sua superfície, conferindo aspecto enrugado à mesma, assim como a muscular da mucosa possibilitou o movimento da mucosa como um todo, favorecendo a mistura do conteúdo intestinal. No C. vacare, a muscular da mucosa era discreta na região do duodeno e mais conspícua na porção caudal do jejuno e intestino grosso, constituindo-se única camada, diferente do descrito nesta mesma espécie por Jin et al. (1990), que a referiu como dupla na região do intestino delgado e tripla no intestino grosso. Essas diferenças podem ser atribuídas ao diferente número de animais estudados e ao local de coleta dos fragmentos. Kotzé et al. (1992) afirmaram que a muscular da mucosa consistia principalmente da camada longitudinal externa, sendo a camada circular interna rudimentar ou ausente. Monteiro et al. (2009) e Magalhães et al. (2010) não se referiram a variação de sua espessura ao longo dos intestinos delgado e grosso, mas a descreveram como constituída de uma única camada.

Histometria da mucosa intestinal

A caracteristica do epiteliócito colunar em *C. yacare* corroboraram com a descrição de Starck et al. (2007) para animais em jejum (*Caiman latirostris*), no entanto, a espessura da mucosa obtida em *C. yacare* não pode ser comparada a desses autores por não se verificar o uso do mesmo critério de mensuração da mucosa.

A mensuração da frequência de vilosidades intestinais, comprimento do epitélio, da lâmina própria e espessura da mucosa mostraram ser adequadas para a diferenciação entre intestino delgado e grosso. O mesmo não foi observado entre as quatro regiões do intestino delgado, ou seja, a caracterização dessas partes do ponto de vista estrutu-

Pes q. Vet. Bras. 31(12):1120-1128, dezembro 2011

ral, não deve ser realizada somente por métodos quantitativos, mas também por métodos macroscópicos, microscópicos descritivos e ultraestruturais associados. Assim como mencionado por Jin et al. (1990) e observado em *C. yacare*, a descrição de todos os componentes estruturais da parede desses quatro segmentos do intestino delgado, acrescido da histometria de outras túnicas e não somente da mucosa, poderiam caracterizar melhor cada uma dessas regiões.

As regiões do duodeno descendente (2021,80µm) e jejuno - parte cranial (1947,93µm) apresentaram valores médios significativos e distintos, o que sugere uma possível diminuição do comprimento da lâmina própria em direção as regiões mais caudais do intestino delgado.

CONCLUSÕES

A estrutura da parede do intestino delgado e grosso do jacaré-do-Pantanal (*Caiman yacare*) era constituída pelas túnicas mucosa, muscular e serosa.

A mucosa era formada por epitélio de revestimento do tipo cilíndrico simples constituído pelo epiteliócito colunar da vilosidade e o exocrinócito caliciforme; lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo e muscular da mucosa única.

A túnica muscular era constituída por dois estrados, o circular e o longitudinal, sendo o estrato circular o mais desenvolvido.

A serosa era típica.

As especializações da mucosa observadas no intestino delgado e grosso, respectivamente, foram vilosidades a pregas intestinais, e ao longo das regiões dos intestinos, apresentaram diminuição de sua complexidade.

A histometria da mucosa demonstra diferença significante entre o intestino delgado e grosso, no entanto, somente a mensuração dessa túnica não é eficiente para se diferenciar as regiões do intestino delgado, sendo necessária a mensuração das demais túnicas da parede intestinal.

As diferenças observadas no *C. yacare* neste estudo podem ser atribuídas ao maior número de animais investigados, a idade dos mesmos e ao local de coleta dos fragmentos intestinais.

Embora a estrutura da parede intestinal de *C. yacare* seja semelhante à de outros crocodilianos, a da tartaruga verde e avestruz, respectivamente, representantes de outro grupo de répteis e aves, pormenores que caracterizem a espécie e possam ser correlacionados a histofisiologia e comportamento alimentar, ainda se fazem necessários para que o manejo nutricional da espécie em cativeiro seja incrementado.

Agradecimentos.- Trabalho financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Mato Grosso (Fapemat, Proc. 3.013/2007).

REFERÊNCIAS

Aleixo V.M., Cotta T., Logato P.V.R., Oliveira A.I.G. & Fialho E.T. 2002. Efeitos do uso de farelo de soja e sistemas de alimentação sobre o desempenho de filhotes de jacaré-do-Pantanal (*Caiman yacare* DAUDIN, 1802). Ciência e Agrotecnologia 26:411-417.

- Bacha Jr W.J. & Bacha L.M. 2003. Sistema digestório, p.195-273. In: Ibid. (Eds), Atlas Colorido de Histologia Veterinária. 2ª ed. Roca, São Paulo.
- Banks W.J. 1992. Histologia Veterinária. 2ª ed. Manole, São Paulo, p.426-428.
- Brasil 1950. Lei nº 1.283, de 18 de dezembro 1950, dispõe sobre o Regulamento de Inspeção Industrial e Sanitária dos Produtos de Origem Animal (RIISPOA). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 dez. 1950, p.18161. Disponível em < https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/ l1283.htm> Acesso em 28 mar. 2011.
- Brasil 2008. Instrução Normativa no.169, de 20 de fevereiro de 2008. Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (Ibama). Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 fev.2008. Seção 1, p.57-59.
- Bressan M.C. 1998. Efeito dos fatores pré e pós-abate sobre a qualidade da carne do peito de frango. Tese de Doutorado em Tecnologia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP. 201p.
- Caldini E.G. 2002. Manual de técnicas em histologia e biologia celular do Laboratório de Biologia Celular da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo: consolidação dos procedimentos. Disponível em <http:// www.direxlim.fm.usp.br/download/manualtecnicas.pdf> Acesso em 29 mar. 2010.
- Campos Z., Coutinho M.E.E. & Oliveira T.M. 2005. Abate humanitário de crocodilianos. Circ. Téc. 59, Embrapa Pantanal. 2p.
- Coulson R.A. & Hernandez T. 1974. Intermediary metabolism of reptiles, p.217-247. In: Florkin M. & Sheer B.T. (Eds), Chemical Zoology. Vol.9. Academic Press, New York.
- Hildebrand M. & Goslow G. 2006. Análise da Estrutura dos Vertebrados. 2ª ed. Atheneu, São Paulo, p.201-218.
- ICVHN 1994. Nomina histológica. 2ª ed. International Committee on Veterinary Histological Nomenclature, p.5-6, 13-16.
- Jin S.M., Maruch S.M.G., Rodrigues M.A.M. & Pacheco P. 1990. Histologia geral dos intestinos de *Caiman crocodilus yacare* (Daudin, 1802) (Crocodilia: Reptilia). Revta. Bras. Zool. 7(1/2):111-120.
- Kotzé S.H., Van der Merwe N.J., Van Aswegen G. & Smith G.A. 1992. A light microscopical study of the intestinal tract of the Nile crocodile (*Crocodylus niloticus*, Laurenti 1768). Onderstepoort J. Vet. Res. 59(4):249-252.
- Luis S.B., Maito F.L.D.M., Rados P.V. & Barbachan J.J.D. 2005. Uso de cortes semi-seriados no diagnóstico das lesões inflamatórias periapicais. Revista Brasileira de Patologia Oral, versão HTML. Disponível em http://www.patologiaoral.com.br/texto92.asp Acesso em 18 set. 2009.
- Maciel F.R., Logato P.V.R., Fialho E.T., Freitas R.T.F. & Aleixo V.M. 2003. Coeficiente de digestibilidade aparente de cinco fontes energéticas para o jacaré-do-Pantanal (*Caiman yacare* Daudin, 1802). Ciência e Agrotecnologia, Lavras, 27:675-680.
- Magalhães M.S., Freitas M.L., Silva N.B. & Moura C.E.B. 2010. Morfologia do tubo digestório da tartaruga verde (*Chelonia mydas*). Pesq. Vet. Bras. 30(8):676-684.
- Monteiro C.M.R., Souza N.T.M., Carvalho R.G. & Souza W.M. 2009. Análise histológica do trato gastrintestinal de avestruzes jovens (*Struthio camelus* Linnaeus, 1758). Biotemas 22(3):149-155.
- Myers R.B., Fredenburgh J.L. & Grizzle W.E. 2008. Carbohydrates, p.161-186. In: Bancroft J.D. & Gamble M. (Eds), Theory and Practice of Histological Techniques. Elsevier, USA.
- Rasband W.S. 1997-2004. ImageJ, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA. Disponível em http://rsb.info.nih.gov/ij/ Acesso em 3 jun. 2008.
- Reese A.M. 1913. The histology of the enteron of the Florida alligator. Anat. Rec. 7(4):105-129.
- Reese A.M. 2000. The alligator and its allies. Disponível em <http://www. archive.org/details/alligatoritsalli00rees> Acesso em 20 jan. 2010.

- StatSoft® Inc. 2004. Statistica (Data Analysis Software System), versão 7. Disponível em <http://www.statsoft.com> Acesso em 18 set. 2009.
- Starck J.M., Cruz-Neto A.P. & Abe A.S. 2007. Physiological and morphological responses to feeding in broad-nosed caiman (*Caiman latirostris*). J. Exp. Biol. 210(12):2033-2045.

Tramonte R., Carvalho R.O.M., Farias D.C., Serafim J.D.M., Ortellado D.K.

& d'Acampora A.J. 2004. Alterações da mucosa intestinal em ratos. Estudo morfométrico em três diferentes tratamentos após indução experimental de sepse abdominal aguda. Acta Cirur. Bras. 19(2):120-125.

Van Leeuwen P. 2002. Significance of combined nutritional and morphological precaecal parameters for feed evaluation in nonruminants. Tese de Doutorado, Wageningen University, Holanda. 153p.