

Morfologia comparativa do diafragma do sagui-de-tufo-branco e do sagui-de-cara-branca

Thais Borges Lessa^{1*}
Luana Célia Stunitz da Silva¹
Maria Vitória Piemonte Constantino¹
Paulo Ramos da Silva Santos¹
Antônio Chaves de Assis Neto²
Pedro Primo Bombonato²
Carlos Eduardo Ambrósio³

¹PPG em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres
Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de São Paulo
Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Paiva, 87, CEP 05508 270, São Paulo – SP, Brasil
²Departamento de Cirurgia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo
³Departamento de Ciências Básicas, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos

Universidade de São Paulo
*Autor para correspondência
thaisblessa@usp.br

Submetido em 20/06/2011
Aceito para publicação em 19/10/2011

Resumo

Os saguis do gênero *Callithrix* possuem uma grande importância na área da pesquisa, não somente por sua ocorrência nos ecossistemas da América do Sul e América Central, mas também devido ao seu pequeno porte e facilidade no manejo. Objetivou-se caracterizar a ultraestrutura do diafragma de quatro animais adultos da espécie *C. jacchus* e quatro animais da espécie *C. geoffroyi* que vieram a óbito por causas naturais. Os diafragmas foram coletados, dissecados e fixados em formaldeído 10% e analisados através da microscopia eletrônica de varredura. Notou-se a presença de uma membrana externa de tecido conjuntivo, de fibras musculares cilíndricas dispostas em fileiras perpendiculares ao eixo longitudinal e agrupadas em fascículos. Em *C. jacchus* observou-se uma arquitetura descontínua e linear das fibras, obtendo-se uma contagem de sete e oito fascículos em machos e fêmeas, respectivamente. Em *C. geoffroyi* a fibra se apresentava de forma contínua, mas também linear, obtendo-se um total de nove e seis fascículos para o macho e a fêmea, respectivamente. A arquitetura das fibras musculares e a contagem de fascículos da face costal do diafragma sugerem divergências entre as espécies *C. geoffroyi* e *C. jacchus* e entre machos e fêmeas, intra e interespecies.

Palavras-chave: Anatomia veterinária, Diafragma, Microscopia eletrônica de varredura, Primatas, Sagui

Abstract

Comparative morphology of the diaphragm of white tufted-ear marmoset and the white-fronted marmoset. The marmosets of the *Callithrix* genus have a great importance in the research field, not only for

its occurrence in the ecosystems of South America and Central America, but also because of its small size and easy management. This study aimed to characterize the ultrastructure of the diaphragm of four adult animals of the *C. jacchus* species and four animals of the *C. geoffroyi* species that died from natural causes. Diaphragms were collected, dissected, and fixed in 10% formaldehyde and analyzed through scanning electron microscopy. It was observed the presence of an external membrane of connective tissue, with cylindrical muscle fibers arranged in rows perpendicular to the longitudinal axis and grouped into fascicles. In *C. jacchus* it was observed a discontinuous and linear fibers' architecture, resulting in a score of 7 and 8 fascicles for male and female, respectively. In *C. geoffroyi* the fiber had a continuous shape, but also linear, yielding a total of 9 and 6 fascicles for male and female, respectively. The architecture of muscle fibers and the count of fascicles of the coastal face of the diaphragm suggest differences between the species *C. geoffroyi* and *C. jacchus* and between males and females, intra- and interspecies.

Key words: Diaphragm, Marmoset, Primates, Scanning electron microscopy, Veterinary anatomy

Introdução

De acordo com Liebich e König (2005) a anatomia, encontra-se integrante da morfologia, a qual é a ciência que trata das formas, e apresenta como foco o estudo da estrutura, da forma, da posição e da coordenação funcional das partes do corpo animal. E no caso da comparação e descrição destas estruturas, com vistas a estabelecer os seus critérios de classificação, tem-se a chamada anatomia comparada. E é devido à mesma que tem sido possível demonstrar a inter-relação filogenética de vários grupos de animais, esclarecendo também diversas peculiaridades estruturais (ELLENPORT, 1981).

Tendo em vista o alto parentesco entre primatas e o ser humano, tanto por sua extraordinária semelhança anatômica e comportamental, bem como por suas similaridades bioquímicas e hormonais, a escolha de espécies do novo mundo em prol das pesquisas biomédicas recai, primeiramente, sobre os símios de menor porte físico. Principalmente os do gênero *Callithrix*, devido ao seu baixo custo de manutenção e fácil manuseio. Tais primatas possuem uma grande importância na área da pesquisa, não somente por sua ocorrência nos ecossistemas da América do Sul e Central, mas também devido à sua grande diversidade na natureza (EPPLÉ, 1970; MANSFIELD, 2003).

Os calitriquídeos, quando mantidos em cativeiro, apresentam como principal causa de óbito a insuficiência cardiorrespiratória, seguida por inanição, insuficiência renal e eutanásia (EPIPHANIO, 1997). Desta forma, o músculo diafragma, que possui o formato de uma cúpula e encontra-se presente somente nos mamíferos,

detém uma significativa importância para o processo respiratório, visto ser o responsável por 75% do volume torácico durante a respiração em repouso (AGOSTONI; SANT'AMBROGIO, 1970). Entretanto, além desta função respiratória, o diafragma apresenta ainda a função de separar a cavidade torácica da cavidade abdominal, ajudando no reflexo do vômito, na saída da urina e das fezes por conta do aumento intra-abdominal de pressão, assim como também na prevenção do refluxo ácido do estômago por exercer uma pressão na região da cárdia (MAISH, 2010).

Sua importância também ganha destaque em pesquisas realizadas no âmbito dos enxertos no intuito de reparação de defeitos diafragmáticos que muitas vezes culminam com a formação de hérnias diafragmáticas, estas apresentando alta incidência na medicina veterinária (PINTO FILHO et al., 2003).

Diante do exposto e devido aos escassos trabalhos acerca da anatomia comparada do músculo diafragma objetivou-se então caracterizar a ultraestrutura do diafragma nas espécies *C. jacchus* e *C. geoffroyi*, e possíveis divergências interespecíficas e entre machos e fêmeas, intra e interespecies.

Material e Métodos

Foram utilizados quatro saguis-de-tufo-branco (*Callithrix jacchus*), dois machos e duas fêmeas, e quatro saguis-de-cara-branca (*Callithrix geoffroyi*), dois machos e duas fêmeas, todos adultos, com idades entre três e oito anos, apresentando entre 188 e 284g.

Os animais vieram a óbito por causas naturais e foram encaminhados ao Laboratório de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Universidade de São Paulo (USP) logo após a morte e fixados e mantidos por imersão de formaldeído a 10% para estudos anatômicos.

Após a fixação procedeu-se à dissecação por meio de incisão e rebatimento em sentido dorsal da pele na linha mediana ventral, do manúbrio do osso esterno até a cicatriz umbilical, com posterior retirada da fáscia subcutânea e grupos musculares em antímeros. Permitindo assim acesso ao músculo diafragma, tanto pela sua face torácica quanto pela abdominal, de acordo com Lessa et al. (2011). Em seguida, procedeu-se sua retirada, efetuando-se uma incisão ao longo das porções lombares, costais e esternais.

Posteriormente foram coletados fragmentos de 1,0cm de comprimento da região costal do diafragma, lavados em água destilada por 20min e pós-fixados em solução de tetróxido de Ósmio a 1% (Polyscience®, Inc. USA) por 2h. Os fragmentos foram desidratados em séries crescentes de etanol (50% a 100%), durante 30min em cada série. A desidratação ao ponto crítico do CO₂ ocorreu em aparelho Balzers CPD 020 (FMVZ-USP). As amostras foram montadas em bases metálicas de alumínio (*stub*) utilizando-se cola de carbono e metalizadas com ouro no aparelho EMITECH K550

(FMVZ-USP), analisadas e fotografadas ao microscópio eletrônico de varredura (Morgagni 268D - Phillips®) do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Resultados

A análise macroscópica do diafragma *in situ* e *ex situ* permitiu a observação de suas faces costal, esternal e lombar ou pilar diafragmático, bem como a visualização das três aberturas em sua extensão: o hiato esofágico para a passagem do esôfago, o forame da veia cava para a passagem da veia cava caudal, e o hiato aórtico para a passagem da Aorta, veia ázigos e ducto torácico (Figuras 1A e 1B).

Durante a análise da microscopia eletrônica de varredura, observou-se que nas amostras retiradas das espécies *C. jacchus* e *C. geoffroyi* havia a presença de uma membrana externa de tecido conjuntivo, o epimísio, bem como fibras musculares dispostas em fileiras perpendiculares ao eixo longitudinal, que se encontravam agrupadas em fascículos. Estas fibras apresentavam um formato cilíndrico e arquitetura de forma contínua e linear.

Na fêmea da espécie *C. geoffroyi* (Figura 2A) obteve-se a contagem de seis fascículos, enquanto

FIGURA 1: (A) Vista lateral esquerda do músculo diafragma *in situ* evidenciando a sua face esternal (1) e face costal esquerda (2). (B) Face torácica do diafragma *ex situ* evidenciando a face esternal (1), face costal direita (2), face costal esquerda (3), face lombar ou pilar diafragmático direito (4), face lombar ou pilar diafragmático esquerdo (5), centro tendíneo (6), forame da veia cava caudal (7), hiato esofágico (8) e hiato aórtico (9).

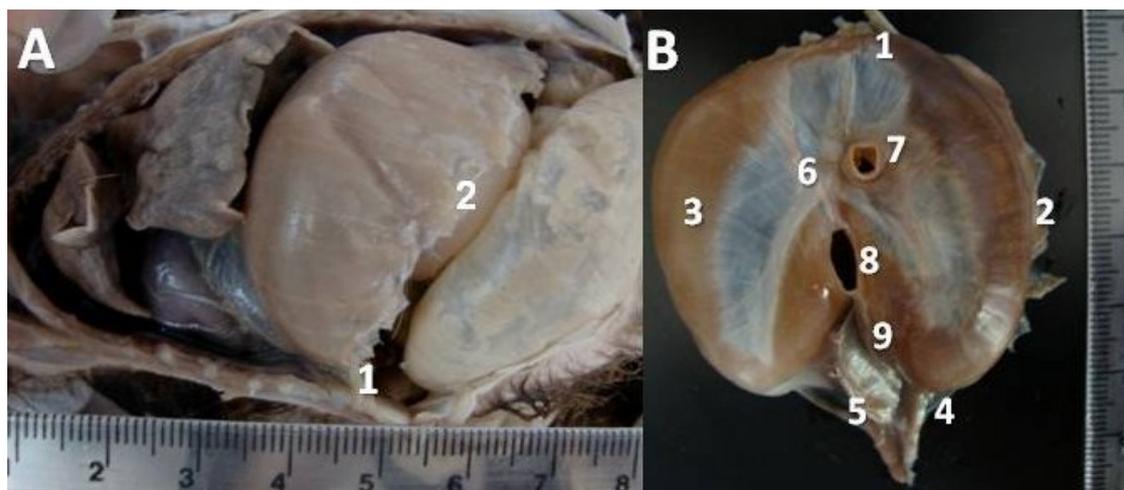
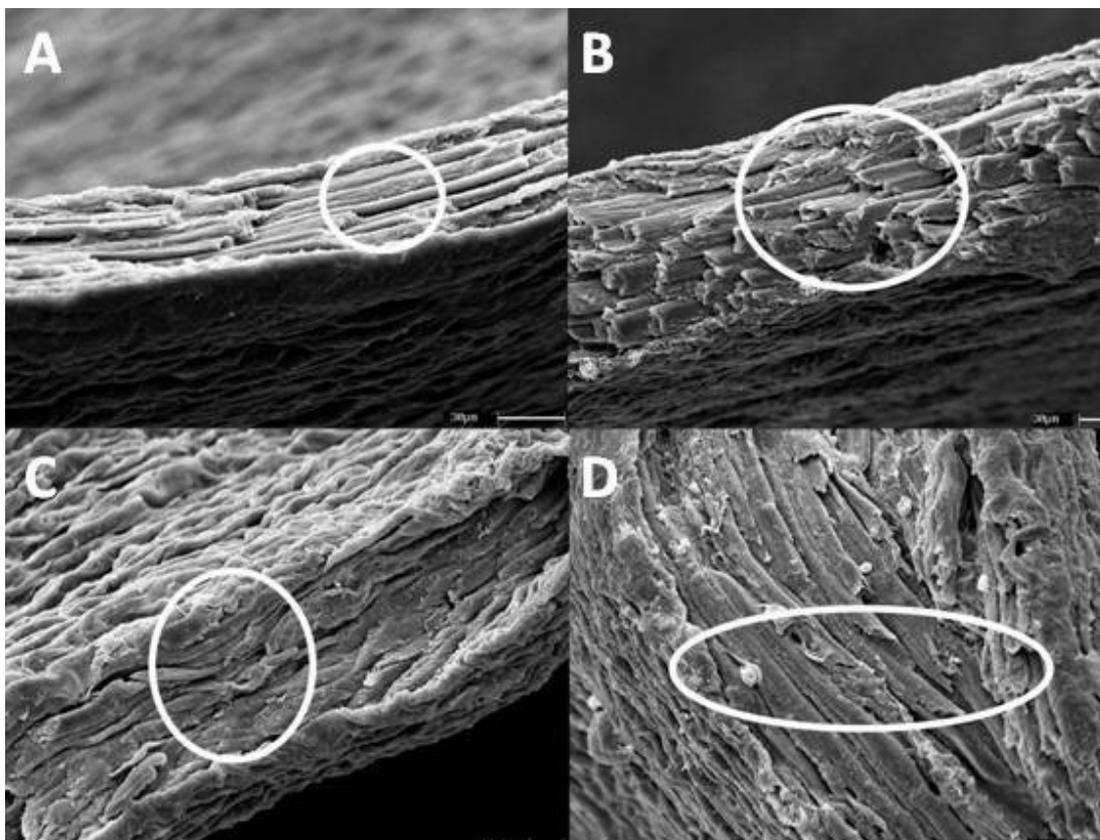


FIGURA 2: Microscopia eletrônica de Varredura de secção longitudinal da face costal do músculo diafragma da espécie *Callithrix geoffroyi* (A e B) e *Callithrix jacchus* (C e D). Observam-se as fibras dispostas em fileiras perpendiculares ao eixo longitudinal agrupadas em fascículos. Em A e B observa-se a fibra muscular com formato cilíndrico e arquitetura contínua e linear. (A) Diafragma da fêmea, seis fascículos (Barra= 20µm); (B) Diafragma do macho, nove fascículos (Barra= 20µm). Em C e D observa-se a fibra muscular com formato cilíndrico e arquitetura descontínua e tortuosa. (C) Diafragma do macho, sete fascículos, (Barra= 20µm); (D) Diafragma da fêmea, oito fascículos (Barra= 20µm).



que no macho notou-se a presença de nove fascículos (Figura 2B). Na espécie *C. jacchus*, a fibra muscular apresentava-se com formato cilíndrico, com uma arquitetura descontínua e tortuosa disposta em fileiras perpendiculares ao eixo longitudinal agrupadas em fascículos. No macho obteve-se a contagem de sete fascículos (Figura 2C) e na fêmea, oito (Figura 2D).

Discussão

O desenvolvimento do diafragma ocorre de forma rápida durante a vida fetal. Fato essencial para a função respiratória e conseqüentemente para a sobrevivência do animal (YAMASHIRO et al., 1984).

Nos músculos esqueléticos, as fibras estão organizadas em feixes revestidos pelo epimísio,

observado também no presente estudo. Do epimísio partem alguns septos finos de tecido conjuntivo denominados de perimísio dividindo-o assim em fascículos. Cada fibra muscular, por sua vez, é envolvida por uma delicada camada de fibras reticulares, formando o endomísio (GONZALES; SARTORI, 2002). Nos mamíferos os músculos são compostos por fibras curtas e cônicas dispostas em fileiras perpendiculares ao eixo longitudinal dos fascículos e possuindo descontinuidade na arquitetura das fibras, característica relevante para garantir o sincronismo na contração do músculo longo (ENGLISH; WEEKS, 1987; LOEB et al., 1987, GAUNT; GANS, 1990), corroborando com os achados deste trabalho.

Estudos histológicos realizados com a parte costal do diafragma de diversos mamíferos, demonstraram

que esta estrutura é composta por três tipos de fibras: lombares, esternais e costais. Relata-se ainda, que os animais de menor porte apresentam o diafragma com fibras de menor diâmetro, com aspecto mais homogêneo e coloração vermelha; em contrapartida, nos animais de médio porte, inclusive no homem, o diafragma apresentou-se mais heterogêneo e com diâmetro das suas fibras de tamanho intermediário, variando de 34 a 60µm entre o grupo de animais de pequeno e de grande porte (GAUTHIER; PADYKULA, 1966). Os diâmetros das fibras das espécies estudadas também se apresentam homogêneos assim como os descritos por esses autores.

Em mamíferos de pequeno porte, como em cães e gatos o diafragma possui uma arquitetura das fibras de forma curta, estando as mesmas arrançadas em uma única camada de músculo, corroborando com a arquitetura dos animais estudados (GORDON et al., 1989; BORIEK et al., 1998; 2001; 2002).

Segundo Fawcett (1986), no cão a arquitetura da fibra muscular e do seu tecido conjuntivo circundante são os fatores que determinam as propriedades mecânicas do diafragma. Em estudo conduzido por Boriek et al. (1998), a respeito do diafragma de cachorros sem raça definida, foi constatada a presença de uma arquitetura descontínua das fibras com um grande número de fibras intermediárias entre as inserções próximas ao centro tendíneo e à parede costal.

Em outros mamíferos de pequeno porte, como o gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) as características anatômicas observadas em seu diafragma são similares àquelas presentes em animais de laboratório e domésticos (AMORIM JÚNIOR et al., 1993). Apresentando também uma simetria dos fascículos musculares para esta espécie bem como para o coelho (*Oryctolagus cuniculus*) e o sagui-de-tufo-branco (*C. jacchus*) (POMPEU et al., 1992; AMORIM JÚNIOR et al., 1993). Além disso, na contagem de tais fascículos um total de oito fascículos em cada antímero do diafragma foi relatado para o coelho (POMPEU et al., 1992). Corroborando assim com os achados deste trabalho ao analisar as espécies *C. geoffroyi* e *C. jacchus*.

Nos cães não se observou a correlação entre a espessura do diafragma com a massa corpórea animal,

tendo em vista que a espessura muscular da parte costal de tal estrutura ao longo dos fascículos se mostrou essencialmente constante (BORIEK et al., 1998). Assim como também observado na espessura da parte costal dos diafragmas do sagui-de-tufo-branco e do sagui-de-cara-branca em relação a sua massa corpórea. Todavia tanto a espessura bem como a massa do diafragma pode ser afetada por doenças e maior ou menor exercícios em cativeiro. Essas diferenças regionais na espessura, que também podem ter origem no número, na composição ou no tamanho das fibras musculares, têm por consequência a alteração da relação entre a força desenvolvida pela ativação de regiões particulares do diafragma e a sua ação no sistema respiratório (MARGULIES, 1991).

Os achados da microscopia eletrônica de varredura demonstraram que a arquitetura das fibras musculares apresentava uma disposição semelhante entre as espécies analisadas, *C. jacchus* e *C. geoffroyi*. Da mesma forma como houve uma proximidade numérica quando da contagem de fascículos da face costal do diafragma entre as espécies *C. geoffroyi* e *C. jacchus* e entre machos e fêmeas, intra e interespecies. O que pode ser sugestivo da forte proximidade filogenética entre as duas espécies animais estudadas.

Agradecimentos

Ao criadouro comercial de animais selvagens, AJBSoares, pela disponibilidade e fornecimento dos animais analisados, à Médica Veterinária Marta Brito Guimarães e à Dr^a Rose Eli Grassi Rici, técnica de laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Cirurgia da FMVZ-USP.

Referências

- AGOSTONI, E.; SANT'AMBROGIO. The diaphragm. In: CAMPBELL, E. J. M.; AGOSTONI E.; NEWSON DAVIS, J. (Eds). **The respiratory muscles – mechanics and neural control**. Cap. 6. Philadelphia and London: W. B. Saunders Company, 1970. p. 145.
- AMORIM JÚNIOR, A. A. DE; BITENCOURT, A. M.; AMORIM, M. J. A. A. L. Ramificação e distribuição dos nervos frênicos no diafragma de sagui (*Callithrix jacchus*). **Revista Brasileira de Ciências Morfológicas**, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 108-113, 1993.

- BORIEK, A. M.; MILLER, C. C.; RODARTE, J. R. Muscle fiber architecture of the dog diaphragm. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 84, p. 318-326, 1998.
- BORIEK, A. M.; ORTIZE, J.; ZHU, D. Fiber architecture of canine abdominal muscles. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 92, p. 725-735, 2002.
- BORIEK, A. M.; ZHU, D.; ZELLER, M.; RODARTE, J. R. Inferences on force transmission from muscle fiber architecture of the canine diaphragm. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, Bethesda, v. 280, p. R156-R165, 2001.
- ELLENPORT, C. R. Introdução Geral. In: GETTY, R. (Ed.). **Anatomia dos animais domésticos**. Cap. 1. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. p. 3.
- ENGLISH, A. W.; WEEKS, O. L. An anatomical and functional analysis of cat bicep femoris and semitendinosus muscle in domestic goats. **Journal of Morphology**, Malden, v. 191, p. 161-175, 1987.
- EPIPHANIO, S. **Patologia comparada de primatas da família Callitrichidae Gray, 1802 mantidos em cativeiro**. 1997. 108 f. Dissertação (Mestrado em Patologia Experimental e Comparada) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade São Paulo, São Paulo, 1997.
- EPPLE, G. Maintenance breeding and development of marmoset monkeys in captivity. **Folia Primatologica**, Basel, v. 12, p. 56-76, 1970.
- FAWCETT, D. W. **A textbook of histology**. Philadelphia: Saunders, 1986. 858 p.
- GAUNT, A. S.; GANS, C. Architecture of chicken muscles: short-fibre patterns and their ontogeny. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, London, v. 240, p. 351-362, 1990.
- GAUTHIER, G. F.; PADYKULA, H. A. Cytological studies of fiber type in skeletal muscle. A comparative study of mammalian diaphragm. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 28, p. 333-354, 1966.
- GONZALES, E.; SARTORI, J. R. Crescimento e metabolismo muscular. In: MACARI, M.; FURLAN, R. L.; GONZALES, E. (Eds). **Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte**. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2002. p. 279-297.
- GORDON, D. C.; HAMMOND, G. M.; FISHER, J. T. Muscle-fiber architecture innervation and histochemistry in the diaphragm of the cat. **Journal of Morphology**, Malden, v. 201, p. 131-143, 1989.
- LESSA, T. B.; SILVA, L. C. S.; CONSTANTINO, M. V. P.; SANTOS, P. R. S.; AMBRÓSIO, C. E.; ASSIS-NETO, A. C. Abordagem no ensino da dissecação do diafragma de primatas não-humanos. **Journal of Morphological Science**, São Paulo, v. 28, p. 3, 2011.
- LIEBICH, H. G.; KÖNIG, H. E. Introducción. In: LIEBICH, H. G.; KÖNIG, H. E. (Ed.). **Anatomía de los animales domésticos – Aparato locomotor**. Cap. 1. 2. ed. Madrid: Editorial Medica Panamericana, 2005. p. 90.
- LOEB, G. E.; PRATT, C. A.; CHANAUD, C. M. Distribution and innervation of short interdigitated muscle fibers in parallel-fibered muscles of the cat hindlimb. **Journal of Morphology**, Malden, v. 191, p. 1-15, 1987.
- MAISH, M. S. The Diaphragm. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 90, p. 955-968, 2010.
- MANSFIELD, K. Marmosets models commonly used in biomedical research. **Comparative Medicine**, v. 53, n. 4, p. 383-392, 2003.
- MARGULIES, S. S. Regional variation in canine diaphragm thickness. **Journal of Applied Physiology**, Bethesda, v. 70, n. 6, p. 2663-2668, 1991.
- PINTO FILHO, S. T. L.; BRONDANI, J. T.; GRAÇA, D. L.; SCHOSSLER, J. E. Restauração do diafragma de felino com enxerto autólogo de pericárdio. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 18, p. 471-477, 2003.
- POMPEU, E.; LIBERTI, E. A.; OSAKA, J. T.; RODRIGUES, A. J. JR.; TOLOSA, E. M. C. The rabbit's diaphragm innervation. **Revista Brasileira de Ciências Morfológicas**, São Paulo, v. 1, p. 33-36, 1992.
- YAMASHIRO, S.; HARRIS, W. H.; STOPPS, T. P. Ultrastructural study of developing rabbit diaphragm. **Journal of Anatomy**, Maiden, v. 139, n. 1, p. 67-79, 1984.