

Caracterização histológica e detecção de células endócrinas no estômago de peixes de água doce, com diferentes hábitos alimentares

Eduardo França Castro¹
Cláudio César Fonseca^{1*}
Eliane Menin²
Marco Túlio David das Neves¹

¹Departamento de Veterinária, Universidade Federal de Viçosa, Av. PH Rolfs, s/n,
Centro, 36571-000, Viçosa, MG. fonseca@ufv.br

²Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa,
36571-000, Viçosa, MG
*Autor para correspondência

Aceito para publicação em 30/06/2003

Resumo

Células endócrinas do sistema neuroendócrino gastroenteropancreático desempenham diversas funções na fisiologia da digestão. No entanto, estudos de tais células que propiciem subsídios morfofisiológicos para pesquisas a respeito de aspectos nutricionais que visem o aumento na produção da piscicultura no Brasil, são muito escassos. Foram utilizadas três espécies de Teleostei de água doce, com diferentes hábitos alimentares, das quais foram estudadas a organização estrutural microscópica da parede das diferentes regiões do estômago, além da detecção, quantificação média e distribuição de células endócrinas nestas regiões. Os espécimes foram coletados,

identificados e submetidos aos procedimentos rotineiros para obtenção dos constituintes do aparelho digestório, cujos fragmentos foram submetidos a processamento histológico, desde a fixação, inclusão em parafina, até a coloração. Os resultados obtidos evidenciaram que a estrutura da parede do estômago não apresentou diferenças significativas entre as espécies estudadas e que o número médio de células argirófilas no estômago ($0,0021$ células/ mm^2) é cerca de 38.000 a 57.000 vezes menor, se comparado ao observado em mamíferos, como gambá, camundongo e porco. Embora a detecção de células endócrinas no estômago possa indicar um possível controle endócrino local, estudos mais específicos de detecção de células e de fisiologia da digestão em peixes, são ainda necessários.

Unitermos: células endócrinas, morfologia, estômago, peixes.

Abstract

Endocrine cells of the gastroenteropancretic neuroendocrine system play diverse functions in the physiology of digestion. Although studies with these cellular types in native fresh water fish serve as morphological and physiological aids to research on nutrition, with consequent increase in the production of pisciculture, they are scarce in Brazil. For the present study, three species of fresh water Teleostei with different alimentary habits were used. We studied microscopically the structural organization of the wall of the different regions of the stomach and also the detection, distribution and average quantification of endocrine cells in this region. The specimens were collected, identified and submitted to routine procedures in order to establish the constituents whose fragments underwent histological processing that included fixation, embedding in paraffin, and staining. The results had evidenced that the structure of the wall of the stomach did not present significant differences among the studied species.

The average number of argyrophil cells in the stomach ($0.0021 \text{ cells/mm}^2$) was about 38,000 to 57,000 lower than the number of cells normally observed in mammals such as opossum, mouse and pig. However, more specific endocrine studies are necessary in order to support future research on the phylogeny, physiology and morphology of these and other species of fish.

Key words: endocrine cells, morphology, stomach, fishes.

Introdução

Atualmente já é reconhecida a importância dos estudos morfológicos do aparelho digestório de peixes para o desenvolvimento de uma piscicultura competitiva. No entanto, tem sido muito comum, a criação de peixes nativos sem o prévio conhecimento de suas adaptações tróficas, acarretando consequências no custo da produção, deficiência alimentar e alto índice de mortalidade (Santos, 1999).

Pesquisas a respeito da morfofisiologia do tubo digestivo de espécies nativas são indispensáveis para dar suporte aos estudos direcionados à piscicultura, visando aumentar a produtividade e diminuir custos de produção e mortalidade; fornecem também base para o repovoamento de espécies nativas, de grandes massas de águas continentais, melhorando o condicionamento dos ecossistemas e repovoando espécies em áreas atualmente despovoadas.

Relação entre hábitos alimentares e estrutura do estômago de Teleostei

Segundo Angelescus e Gneri (1949), a cada tipo de regime alimentar correspondem características definidas do aparelho digestório, ou em alguns de seus órgãos, de acordo com o grau de especialização.

Os hábitos alimentares podem se modificar, em uma mesma espécie, de acordo com o habitat, a natureza do alimento, a estação do ano, a idade ou o sexo. As mudanças dos hábitos alimentares, produzidas à medida que o peixe se desenvolve, são acompanhadas por variações marcantes na morfologia do aparelho digestório, como na boca e na estrutura do tubo digestivo (Prejs, 1981).

Entre os Teleostei, existem variações na estrutura, na forma e no tamanho do estômago. Alguns o possuem morfologicamente diferenciado, em outros é de difícil distinção com o intestino, existindo ainda peixes agástricos (Nikolsky, 1963). Angelescu e Gneri (1949) citaram que a ausência de estômago diferenciado e um tubo digestivo longo, ampliam a superfície de absorção dos nutrientes, além de se manter a atividade fisiológica uniforme em toda extensão dos intestinos médio e posterior, características estas associadas a um sistema hepato-pancreático desenvolvido. Para Angelescu e Gneri (1949), Menin (1988) e Menin e Mimura (1992, 1993a e 1993b), a região pilórica do estômago é extremamente desenvolvida, semelhante a uma moela, com túnica muscular espessa em espécies iliófagas como *P. lineatus*, *P. marggravii* e *P. assinis*, respectivamente. Segundo Angelescu e Gneri (1949), a cada tipo de regime alimentar correspondem características definidas do aparelho digestório, ou em alguns de seus órgãos, de acordo com o grau de especialização.

Funções de armazenar alimento, em razão da distensibilidade das regiões cárdena e cecal, e do padrão da mucosa nas distintas regiões do estômago são citadas para espécies onívoras como *Brycon lundii* (Menin e Mimura, 1993b), *Brycon nattereri* (Santos, 1999), *Piaractus mesopotamicus* (Logato, 1995) e para aquelas de diferentes hábitos alimentares (Gomide, 1996; Zavala-Camin, 1996; Welch, 1997; Rojas, 1997).

Um epitélio simples prismático com células mucosas que reveste o estômago, tem sido observado na maioria dos Teleostei

(Fänge e Grove, 1979; Romer e Parsons, 1985; Menin, 1988; Moraes e Barbola, 1995; Santos, 1999).

Nos peixes, anfíbios, répteis e aves as células produtoras de ácido clorídrico, também secretam pepsinogênio, daí a denominação de células oxintopépticas (Helander, 1981), localizadas nas glândulas gástricas.

A muscular da mucosa gástrica no estômago das espécies estudadas não é descrita de forma clara (Menin, 1988; Logato, 1995), existindo entretanto fibras musculares lisas entre as glândulas gástricas, o que pode estar relacionado com o auxílio na contração destas glândulas, como relatado por Santos (1999). Menin (1988), no entanto, identificou a muscular da mucosa no estômago de diversas espécies de peixes de diferentes hábitos alimentares.

Células endócrinas presentes no estômago

Vários autores detectaram a presença de células endócrinas no estômago de diferentes espécies de peixes, como em *Dicentrarchus labrax* (Hernandez et al., 1994_b), *Scophthalmus maximus* (Reinecke et al., 1997), *Tilapia* spp. (Gargiulo et al., 1997), *Lepisosteus osseus* (Groff e Youson, 1997) e *Brimon nattereri* (Santos, 1999).

Com a utilização de técnicas específicas de identificação, em especial a imunocitoquímica, foram identificados vários tipos de mediadores químicos presentes em células endócrinas do estômago de peixes, dentre elas a somatostatina (Coetzee et al., 1991; Groff e Youson, 1997; Reinecke et al., 1997); gastrina (Elbal et al., 1988; Reinecke et al., 1997); insulina (Rombout, 1977; Reinecke et al., 1997); glucagon (Rombout, 1977; Groff e Youson, 1997); polipeptídeo pancreático (Rombout, 1977); substância P (Abad et al., 1986; Elbal et al., 1988); peptídeo intestinal vasoativo (VIP) (Coetzee et al., 1991); neuropeptídeo Y (NPY) (Rombout, 1977); serotonina (Reinecke et al., 1997).

O sistema de células endócrinas gastroenteropancreáticas, juntamente com a regulação entero-neural, controlam a secreção de outros elementos celulares endócrinos, de complexos enzimáticos e de secreções digestivas, como a bile e a secreção pancreática contribuindo assim para os processos digestivos, que propiciam absorção dos nutrientes necessários para o desenvolvimento normal e a manutenção da homeostase animal.

Portanto, o estabelecimento dos padrões morfológicos e morfométricos deste sistema endócrino gastroenteropancreático fornecerá subsídios para o entendimento de possíveis relações entre aspectos morfológicos e fisiológicos dos processos digestivos.

Desta maneira, propusemo-nos a descrever o arranjo das células endócrinas na organização histológica do estômago de *Prochilodus marginatus* (curimba), *Leporinus reinhardti* (piau-três-pintas) e *Salminus brasiliensis* (dourado), espécies de hábito alimentar herbívoro, onívoro e carnívoro, respectivamente, determinar o número médio e a distribuição de células endócrinas no estômago dessas espécies para verificar se o hábito alimentar interfere na distribuição e quantidade de células endócrinas.

Material e Métodos

Animais

Foram utilizados dez peixes adultos *Prochilodus marginatus* (curimba), dez *Leporinus reinhardti* (piau-três-pintas) e dez *Salminus brasiliensis* (dourado), os quais apresentam hábitos alimentares ilíofago, onívoro e carnívoro, respectivamente. Os espécimes utilizados encontravam-se em tanques de piscicultura na Estação de Hidrobiologia e Piscicultura de Três Marias, sendo provenientes do Rio São Francisco, região de Três Marias. Antes da coleta dos fragmentos de estômago, os peixes permaneceram em jejum por 72 horas.

Coleta e fixação

Cada exemplar foi submetido aos procedimentos de rotina dos Laboratórios de Morfologia do Departamento de Veterinária e Morfofisiologia Animal, do Departamento de Biologia Animal, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa, a saber:

- a) eutanásia, por meio de secção transversal na medula espinhal, caudalmente ao osso occipital (Menin, 1994; Santos, 1999); medida do comprimento padrão (Ricker, 1968) e pesagem corporal;
- b) exposição e retirada das vísceras, através de incisão ventral da cavidade celomática, mantida limpa com solução fisiológica para Teleostei de água doce (Hoar e Hickman, 1967);
- c) limpeza externa e interna do tubo digestivo, com solução fisiológica de Teleostei de água doce, perfusão do tubo digestivo com soluções fixadoras (líquido de Bouin ou formol neutro tamponado 4%);
- d) retirada dos fragmentos das regiões cárдica, cecal e pilórica do estômago;
- e) imersão dos fragmentos em frascos contendo as mesmas soluções fixadoras, durante 24-48 horas.

Inclusão e coloração das lâminas histológicas

Após o período de fixação os fragmentos do estômago foram desidratados, diafanizados e incluídos em parafina, segundo Junqueira e Junqueira (1983). Os blocos obtidos foram seccionados semi-seriadamente, em micrótomo Olympus Cut 4055 II a 5 µm de espessura e 25 µm de espaçamento, e os cortes, desparafinizados, hidratados e corados pelas técnicas da

Hematoxilina-Eosina (Junqueira e Junqueira, 1983) para descrição histológica do órgão, Alcian Blue (AB em pH 2,5; McManus e Mowry, 1960), para identificação de glicoproteínas ácidas, Ácido Periódico de Schiff (PAS; McManus e Mowry, 1960), para identificação de glicoproteínas neutras e de Grimelius (Grimelius, 1968), para identificação de células argirófilas.

Análise das preparações histológicas

As lâminas obtidas foram analisadas com auxílio de um microscópio óptico binocular, modelo Olympus CBA, do Setor de Morfologia do DVT/UFV, e de um fotomicroscópio óptico binocular (Olympus BX60) acoplado a computador contendo um software de análise de imagens (Image-Pro Plus, versão 4.0 – Optronics Engineering DEI-470), do DBG/UFV.

Foram observados a organização histológica da parede das diferentes regiões do estômago; a presença e quantificação de células argirófilas e o tipo de secreção das células mucosas das diferentes regiões do estômago.

Identificação e quantificação de células endócrinas argirófilas

Para a identificação e quantificação de células argirófilas foram utilizadas lâminas coradas pela técnica de Grimelius.

A análise quantitativa consistiu no rastreamento da túnica mucosa, em cada segmento, utilizando objetiva de 40X e ocular de 10X. Foram definidas, previamente, unidades de área amostrais (UA) de $0,0185\text{ mm}^2$ de mucosa. Para cada segmento estudado foram observados 40 UA diferentes, a fim de obtermos o número médio de células argirófilas incidentes em $0,74\text{ mm}^2$ da mucosa.

Identificação de células caliciformes no intestino

Para a identificação de células caliciformes no intestino das diferentes espécies estudadas utilizaram-se lâminas coradas com Alcian Blue (AB) e Ácido Periódico de Schiff (PAS), a fim de detectar a presença de células caliciformes, secretoras de glicoproteínas ácidas e de glicoproteínas neutras, respectivamente.

Análise histoquímica das células mucosas do estômago

Para a análise histoquímica das células mucosas do estômago, utilizaram-se lâminas coradas com AB e PAS para detectar a presença de um muco ácido, ou neutro, nas diferentes espécies.

Análise Estatística

Os dados obtidos foram organizados em planilha eletrônica (Excel 97) para posterior análise de variância (Anova), segundo o programa estatístico SAEG 7.1 (Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas – 1997) (Ribeiro, 2001).

Documentação Fotográfica

As fotomicrografias foram obtidas em fotomicroscópio óptico binocular Olympus BX 60, do Laboratório de Citogenética, do Departamento de Biologia Geral, da Universidade Federal de Viçosa, utilizando filme Kodak Color ISO 100.

Resultados

Prochilodus marggravii

Organização Morfológica: O estômago de *Prochilodus marggravii* apresentou o formato de U e pôde ser diferenciado em 3 regiões morfológicas distintas, cada qual apresentando uma organização histológica característica:

Região Cárdica: Túnica mucosa apresentando pregas, revestidas por epitélio simples prismático, com leucócitos infiltrados, lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo rico em leucócitos, presença de glândulas simples tubulares, que se abrem em criptas pequenas, e ausência da muscular da mucosa; túnica muscular espessa, formada, principalmente, por tecido muscular estriado esquelético (Figura 1A) e apresentando variação cranio-caudal, na organização das camadas circular externa e longitudinal interna; túnica serosa delgada, constituída de tecido conjuntivo frouxo revestido de mesotélio.

Região Cecal: Túnica mucosa constituída de epitélio simples prismático, lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo, rica em leucócitos, glandular e com criptas mais profundas, se comparadas com as da região cárdica (Figura 1B) e ausência da muscular da mucosa. Túnica muscular desenvolvida, principalmente a camada muscular circular interna, que constitui quase toda a espessura; túnica serosa formada de tecido conjuntivo frouxo e mesotélio.

Região Pilórica: Túnica mucosa com criptas mais profundas do que as da região cecal (Figura 1C), apresentando epitélio simples prismático, com células mucosas, lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo e ausência da muscular da mucosa; túnica muscular muito desenvolvida (Figura 1D), apresentando feixes de músculo liso, com orientação circular, sustentada por feixes de fibras de músculo liso entremeadas e dispostas longitudinalmente; túnica serosa formada de tecido conjuntivo frouxo e mesotélio.

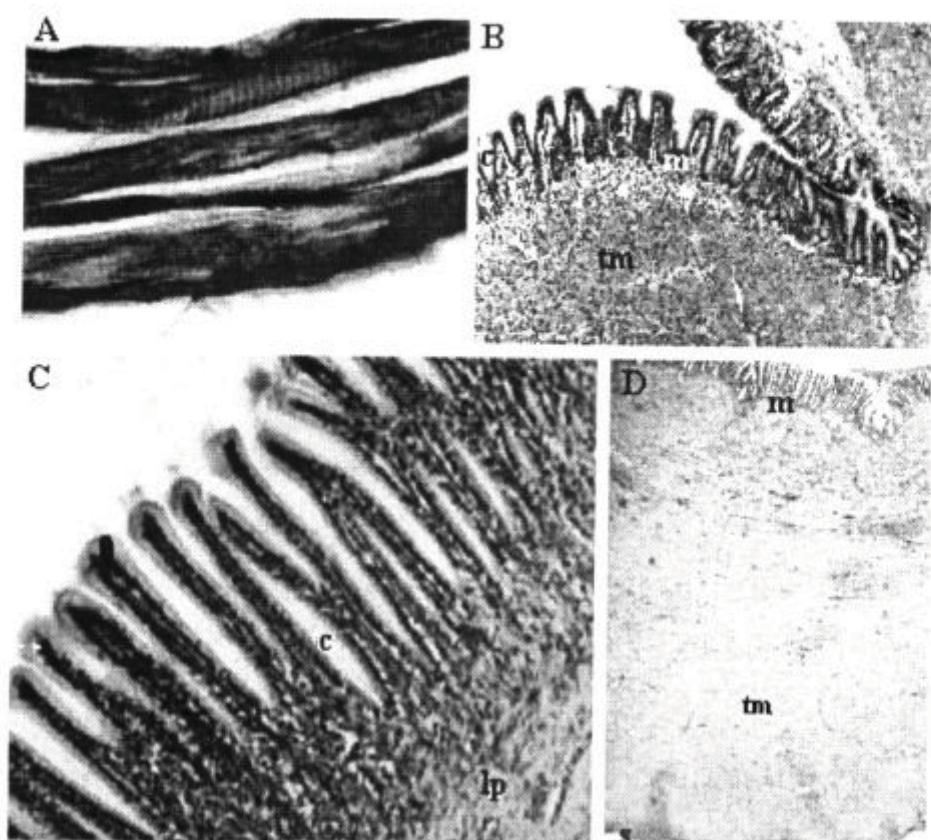


FIGURA 1: Estômago de *Prochilodus marginatus*. A. Músculo estriado esquelético da túnica muscular da região cardíaca. 1000X..B. Região cecal. Criptas (c), mucosa (m), túnica muscular (tm). 100X. C. Mucosa da região pilórica. Epitélio simples prismático (e), criptas profundas (c), lámina própria de tecido conjuntivo frouxo (lp). 200X. D. Panorâmica da parede da região pilórica. Túnica mucosa (m); túnica muscular (tm); túnica serosa (s). 40 X.

Células mucosas no estômago: As células mucosas do estômago desta espécie mostraram-se PAS positivas e AB negativas (Figura 4A, B).

Identificação e quantificação de células endócrinas argirófilas: Foram identificadas células endócrinas na mucosa de todas as regiões do estômago de *Prochilodus marginatus* (Figura 5A).

O estudo quantitativo, embora revelando diferentes números médios de células argirófilas por mm^2 de mucosa nas regiões do estômago de *Prochilodus marginatus* (Tabela 1), não mostrou variação

estatística significativa entre o número médio de células argirófilas dos segmentos estudados. Constatou-se também, através do teste de Tukey, com significância de 5%, que os espécimes utilizados são homogêneos, em relação aos números de células argirófilas obtidos.

Leporinus reinhardti

Organização Histológica: O estômago de *Leporinus reinhardti* é do tipo cecal, em Y e pode ser diferenciado em três regiões morfológicas, cada qual apresentando uma organização histológica distinta.

Região Cárdica: Túnica mucosa apresentando pregas, revestidas por epitélio simples prismático, sendo neste observados leucócitos infiltrados. Logo abaixo deste epitélio, observa-se lámina própria com glândulas tubulares simples que desembocam em pequenas criptas. Muscular da mucosa ausente (Figura 2A); túnica muscular desenvolvida, podendo ser dividida em circular interna e longitudinal externa (Figura 2A), e apresentando variação em sua organização cranio-caudal; túnica serosa delgada, formada de tecido conjuntivo frouxo revestido de mesotélio.

Região Cecal: Túnica mucosa com criptas mais profundas que as da região cárdica, apresentando epitélio simples prismático, lámina própria rica em glândulas, envolvidas por tecido conjuntivo frouxo, e ausência da muscular da mucosa (Figura 2B); túnica muscular constituída das camadas interna circular e longitudinal externa (Figura 2C); túnica serosa delgada e formada de tecido conjuntivo frouxo revestido de mesotélio (Figura 2C).

Região Pilórica: Túnica mucosa contendo as criptas mais profundas do estômago, apresentando epitélio simples prismático, lámina própria aglandular e ausência da muscular da mucosa (Figura 2D); túnica muscular desenvolvida, apresentando variações na região pilórica (Figura 2E); túnica serosa formada de tecido conjuntivo frouxo revestido por mesotélio (Figura 2E).

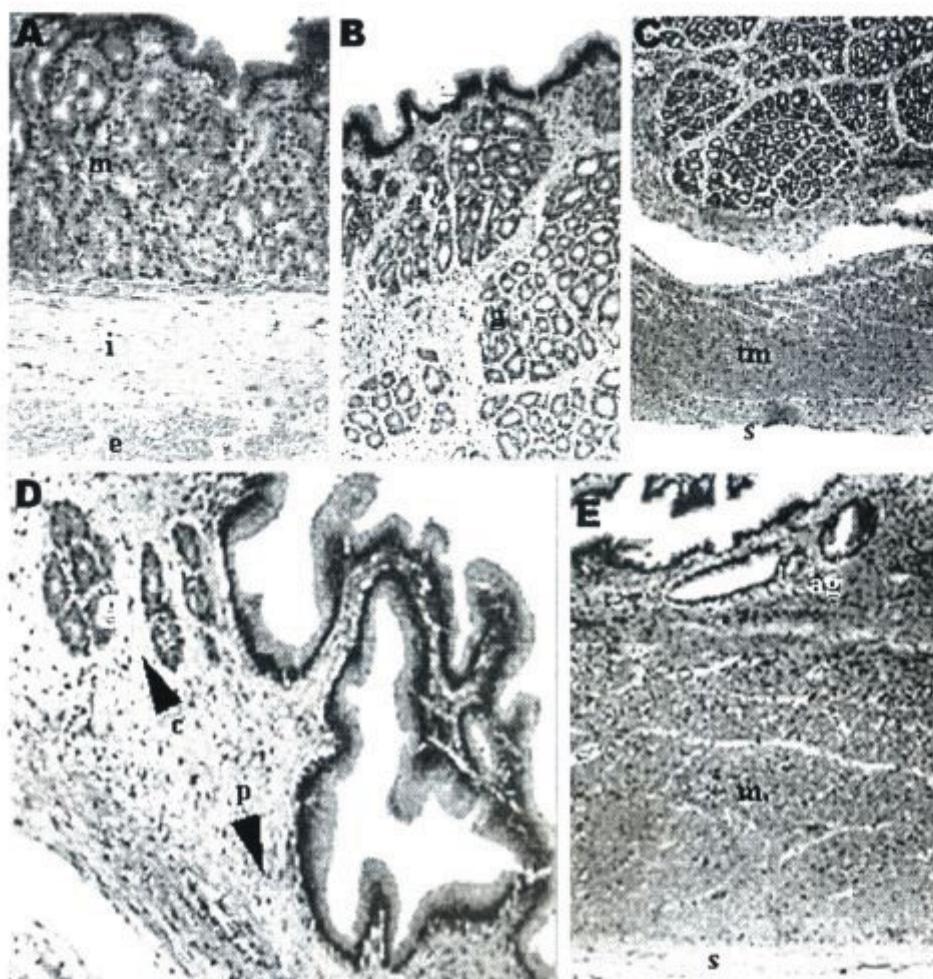


FIGURA 2: Estômago de *Leporinus reinhardtii*. A. Região cardíaca. Mucosa (m), camadas muscular circular interna (i) e longitudinal externa (e). 200X. B. Mucosa da região cecal de *Leporinus reinhardtii*. Epitélio simples prismático (e), lámina própria com glândulas (g). 200X. C. Túnica muscular (tm) e túnica serosa (s) da parede da região cecal do estômago. 100X. D. Transição entre as regiões cecal (c) e pilórica (p) do estômago. Glândulas na lámina própria da região cecal (g). 200X. E. Região pilórica do estômago. Mucosa aglandular (ag), muscular (m) e serosa (s). 100X.

Células mucosas do estômago: As células mucosas do estômago desta espécie mostraram-se PAS positivas e AB negativas (Figura 4C, D)

Identificação e quantificação de células endócrinas argirófilas: Foram identificadas células endócrinas na mucosa

de todas as regiões do estômago de *Leporinus reinhardti* (Figura 5B).

O estudo quantitativo, embora revelando diferentes números médios de células argirófilas por mm² de mucosa nas regiões do estômago de *Leporinus reinhardti* (Tabela 1), não mostrou variação estatística significativa entre o número médio de células argirófilas dos segmentos estudados. Constatou-se, também, através do Teste de Tukey, com significância de 5%, que os espécimes utilizados são homogêneos, em relação aos número de células argirófilas.

Salminus brasiliensis

Organização Histológica: O estômago de *Salminus brasiliensis* apresenta três regiões morfológicas, cada qual exibindo uma organização histológica distinta.

Região Cárdica: Túnica mucosa com epitélio prismático simples, e em sua lâmina própria, glândulas tubulares simples, que desembocam nas pequenas criptas da mucosa. Ausência de muscular da mucosa (Figura 3A); túnica muscular bem desenvolvida, podendo ser dividida em duas camadas, sendo a mais interna de fibras musculares dispostas circularmente e a mais externa com músculos dispostos longitudinalmente (Figura 3B); túnica serosa de tecido conjuntivo e mesotélio.

Região Cecal (Figura 3C): Túnica mucosa com epitélio simples prismático e glândulas tubulares simples na lâmina própria. Criptas mais profundas do que as da região cárdica. Ausência de muscular da mucosa (Figura 3C); túnica muscular desenvolvida, podendo ser dividida freqüentemente em duas camadas, a mais externa longitudinal e a mais interna circular; a túnica serosa é composta de tecido conjuntivo e mesotélio.

Região Pilórica (Figura 3D): Túnica mucosa contendo as criptas mais profundas do estômago de *S. brasiliensis*, epitélio

simples prismático com lâmina própria aglandular; túnica muscular desenvolvida, apresentando uma camada interna circular e outra externa longitudinal; túnica serosa de conjuntivo, revestido por mesotélio.

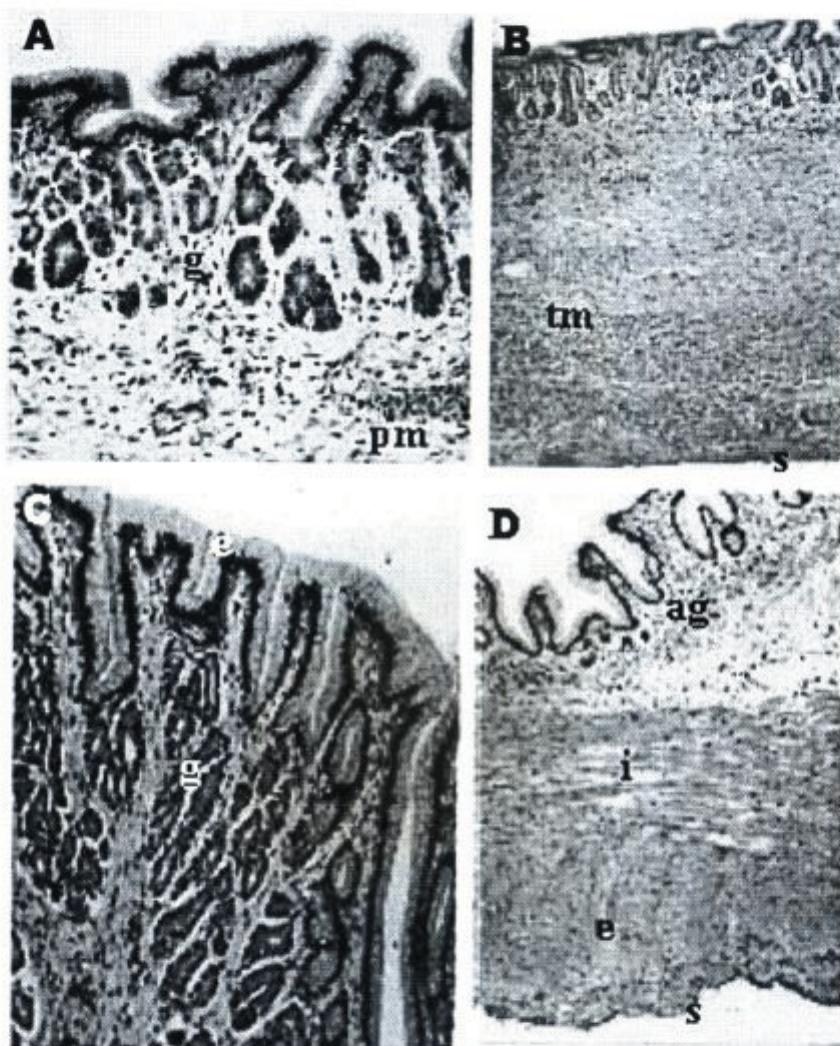


FIGURA 3: Estômago de *Salminus brasiliensis*. H-E. **A.** Região cárдica do estômago. Túnica mucosa com glândulas (g) em sua lâmina própria, plexo submucoso (pm). 200X. HE. **B.** Panorâmica da parede da região cárдica. Túnica muscular (tm) e túnica serosa (s). 100X. HE. **C.** Túnica mucosa da região cecal do estômago. Epitélio simples prismático (e) e glândulas (g). 200X. **D.** Região pilórica do estômago. Túnica mucosa aglandular (ag), muscular longitudinal interna (i), muscular circular externa (e), e túnica serosa (s). 100X.

Células mucosas do estômago: As células mucosas do estômago desta espécie mostraram-se PAS positivas e AB negativas (Figura 4E, F)

Identificação e quantificação de células endócrinas argirófilas: Foram identificadas células endócrinas na mucosa de todas as regiões do estômago de *Salminus brasiliensis* (Figura 5C).

O estudo quantitativo, embora revelando diferentes números médios de células argirófilas por mm^2 de mucosa nas regiões do estômago de *Salminus brasiliensis* (Tabela 1), não mostrou variação significativa entre o número médio de células argirófilas dos segmentos estudados. Constatou-se, também, através do Teste de Tukey, com significância de 5%, que os espécimes utilizados são homogêneos, em relação ao número de células argirófilas obtido.

TABELA 1 – Número médio \pm desvio padrão de células argirófilas por mm^2 da mucosa das regiões do estômago de *Prochilodus marginatus*, *Leporinus reinhardti* e *Salminus brasiliensis*.

Espécie	Estômago – regiões		
	Cárdica	Cecal	Pilórica
<i>P. marginatus</i>	0,001 \pm 1,25	0,0005 \pm 0,97	0,0001 \pm 0,32
<i>L. reinhardti</i>	0,009 \pm 0,5	0,0006 \pm 0,74	0,0001 \pm 0,91
<i>S. brasiliensis</i>	0,007 \pm 0,74	0,001 \pm 1,1	0,0002 \pm 0,86

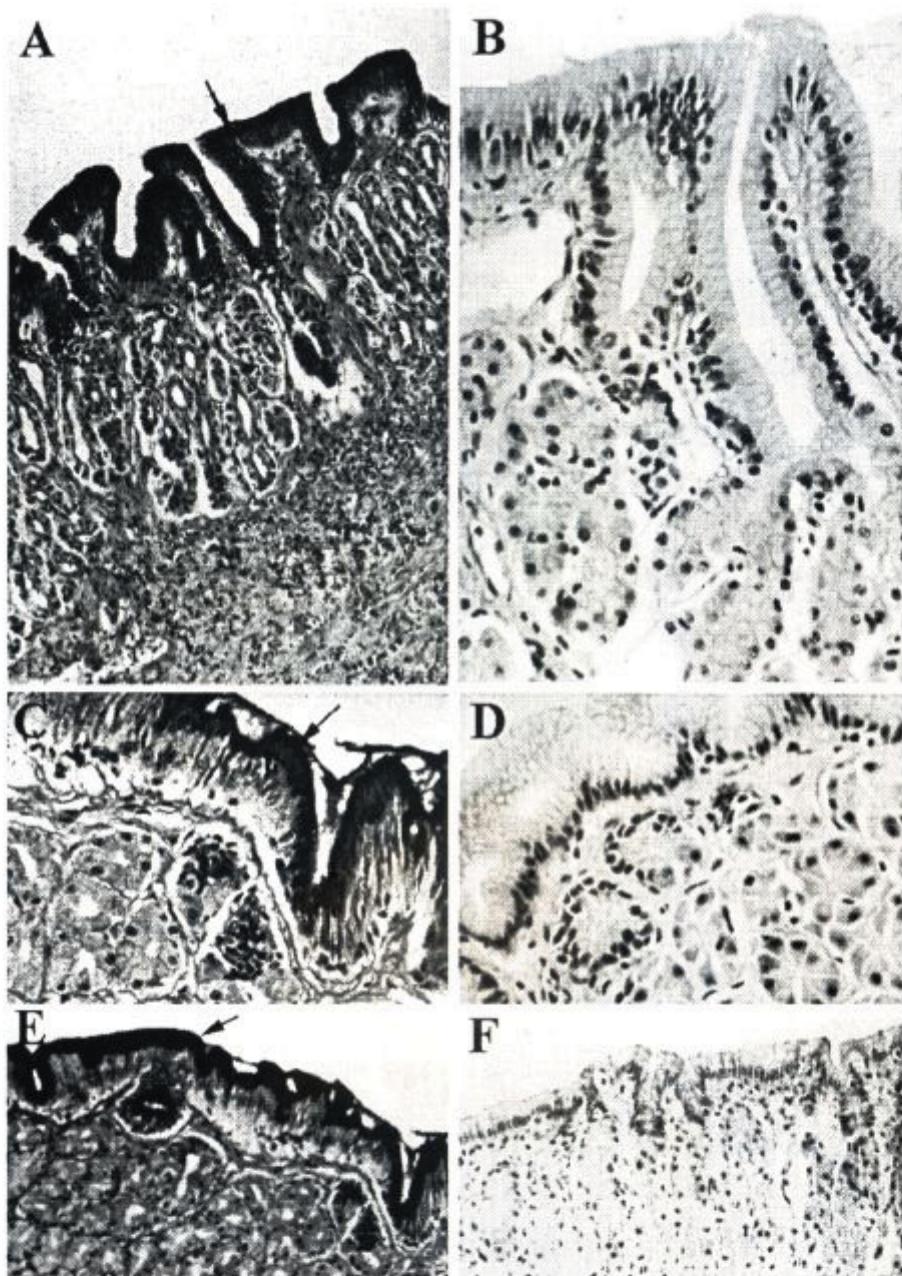


FIGURA 4: Identificação de glicoproteínas neutras (PAS) e ácidas (Alcian Blue) no estômago de peixes. **A.** Região cecal do estômago de *Prochilodus marginatus*. PAS. 200X. **B.** Região cecal do estômago de *Prochilodus marginatus*. AB. 400X. **C.** Região cecal do estômago de *Leporinus reinhardti*. PAS. 400X. **D.** Região cecal do estômago de *Leporinus reinhardti*. AB. 400X. **E.** Região cecal do estômago de *Salminus brasiliensis*. PAS. 200X. **F.** Região cecal do estômago de *Salminus brasiliensis*. AB. 200X.
Seta = células mucosas coradas em escuro
PAS = Ácido Periódico de Schiff

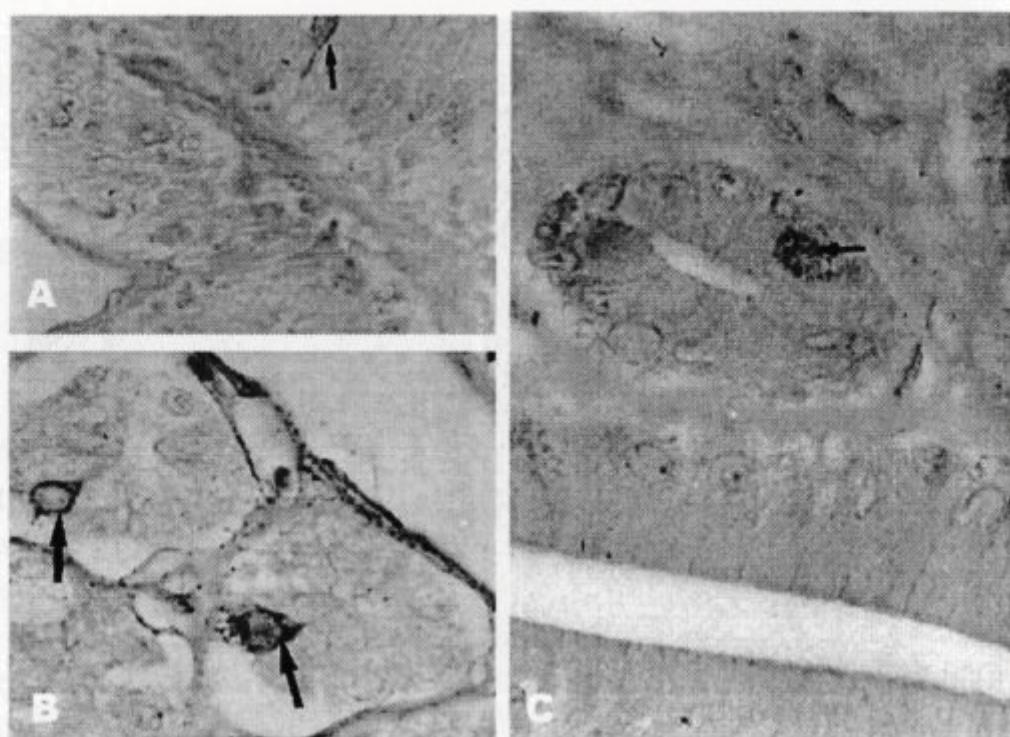


FIGURA 5: Células argirófilas no estômago de peixes. **A.** Célula argirófila (**seta**) em meio a células epiteliais da região cecal do estômago de *Prochilodus marginatus*. 1000X. **B.** Células argirófilas (**setas**) entre células epiteliais da região cárдica do estômago de *Leporinus reinhardti*. 1000X. **C.** Célula argirófila (**seta**) entre células epiteliais da região cárдica do estômago de *Salminus brasiliensis*. 1000X. Grimelius.

Discussão

Em razão do padrão da mucosa nas regiões do estômago das espécies estudadas, pode-se atribuir possível função de armazenar alimento, pela distensibilidade das regiões cárдica e cecal. Observações similares foram feitas em espécies onívoras, tais como *Brycon lundii* (Menin e Mimura, 1993b), *Brycon nattereri* (Santos, 1999), *Piaractus mesopotamicus* (Logato, 1995) e de diferentes hábitos alimentares (Gomide, 1996; Zavala-Camin, 1996; Rojas, 1997; Welch, 1997). Já as pregas da região pilórica, juntamente com a espessura da camada muscular circular, possivelmente auxiliam no controle da saída e separação do

material digerido para o intestino médio; forma similar foi observada nas espécies onívoras citadas acima.

O epitélio de revestimento do estômago (simples prismático com células mucosas) das espécies estudadas, tem sido observado na maioria dos Teleostei (Fänge e Grove, 1979; Romer e Parsons, 1985; Menin, 1988; Moraes e Barbola, 1995; Santos, 1999).

Nos peixes, anfíbios, répteis e aves, as células produtoras de ácido clorídrico também secretam pepsinogênio, daí a denominação de células oxintopépticas (Helander, 1981), que estão localizadas nas glândulas gástricas. Nas espécies estudadas, independente do hábito alimentar, foram identificadas glândulas tubulares simples, como também foi observado por outros autores (Chaves e Vazzoler, 1984; Menin, 1988; Murray et al., 1994; Logato, 1995). Nestas mesmas glândulas foram observadas células argirófilas, que estão possivelmente relacionadas com a fisiologia da digestão das espécies estudadas.

Não foi observada a muscular da mucosa gástrica nas espécies estudadas, mas existem fibras musculares entre as glândulas gástricas, assim como observado por Santos (1999). No entanto, Menin (1988) observou a muscular da mucosa no estômago de diversas espécies de peixes de diferentes hábitos alimentares.

As células endócrinas do aparelho digestório e seus mensageiros químicos constituem um complexo sistema, que desempenha funções relacionadas com o controle e regulação dos processos da digestão (peristalse, fluxo sanguíneo, ciclo celular do epitélio da parede), homeostase e metabolismos de carboidratos (Grube, 1986).

Barrington (1969) revisou a fisiologia digestiva de peixes e relatou que os aspectos da atividade motora e secretora do aparelho digestório têm sido pouco estudados, diferentemente do observado para mamíferos. Tais aspectos da fisiologia digestiva,

independente do grupo taxonômico, são influenciados por um complicado sistema de controle nervoso e endócrino.

McIntosh (1995) relatou que no sistema de controle endócrino do aparelho digestório vários mensageiros químicos estão envolvidos. Entretanto, o conhecimento sobre esses mensageiros baseia-se em estudos desenvolvidos principalmente em mamíferos, havendo muito poucos relatos em animais de outra classe de vertebrados.

Células endócrinas estão presentes no tubo digestivo e glândulas anexas de Pisces, com exceção do esôfago, sendo observadas entremeadas às células epiteliais, na base da mucosa, entre as glândulas e, ainda, entre as células nervosas do plexo mioentérico (Gabe e Martoja, 1971; Johnson et al., 1976; Rombout, 1977; Stefan e Falkmer, 1980; Rombout e Taverne-Thiele, 1982; El-Salhy, 1984; Hermite et al., 1985; Kralj-Klobucar, 1987; Elbal et al., 1988; Coetzee et al., 1991; Hernandez et al., 1994a, b, c; Reinecke et al., 1997; Chiba, 1998; Lopez et al., 1999; Yang et al., 1999).

Estudos indicando a presença de células endócrinas no aparelho digestório em espécies de peixes brasileiras são escassos na literatura. Seixas Filho (1998), estudando três espécies de Teleostei com hábitos alimentares diferentes, *Brycon orbignyanus* (piracanjuba), *Leporinus friderici* (piau) e *Pseudoplatystoma coruscans* (surubim) identificou raras células argirófilas nos segmentos referentes aos intestinos médio e posterior dessas espécies. Santos (1999), por sua vez, identificou células argirófilas nas regiões cárdica, cecal e pilórica do estômago de *Brycon nattereri* (matrinxã).

A análise quantitativa das células argirófilas nas espécies estudadas não apresentou variação entre as espécies, independente de seus hábitos alimentares. Fonseca et al. (2002) encontraram cerca de 81 células argirófilas/mm² no estômago do gambá *D. albiventris*. Ito et al. (1988) identificaram células

endócrinas no aparelho digestório de embriões de camundongos e porcos, encontrando de 80 a 160 células/mm² do estômago.

Não podendo estabelecer comparação quantitativa com outras espécies de peixes brasileiros, verificamos que em relação a alguns mamíferos as espécies estudadas apresentaram 39.000, 38.000 e 57.000 vezes menos células argirófilas por mm² do estômago, quando comparadas, respectivamente, ao gambá e aos embriões de camundongo e de porco (Fonseca et al., 2002; Ito, 1988). Assim, verifica-se que as células endócrinas, identificadas nas espécies de Teleostei de água doce estudadas, independente do hábito alimentar, sendo muito escassas em relação às observadas nestes mamíferos, provavelmente indiquem menor influência na regulação de determinados processos fisiológicos do estômago.

A presença de células endócrinas no estômago das espécies em estudo, embora em pequeno número, além do conhecimento da biologia, importância e funções desempenhadas por estas no aparelho digestório, permite a conclusão da existência de um controle endócrino na fisiologia da digestão das espécies estudadas. Contudo, tornam-se necessários mais estudos, envolvendo a distinção imunocitoquímica destas células, para iniciar a elucidação funcional dos processos que ocorrem durante a digestão em espécies brasileiras de Teleostei. Tais estudos deverão ser direcionados no sentido de embasar pesquisas ulteriores, principalmente nas áreas da filogenia, fisiologia e morfologia.

Referências Bibliográficas

- Abad, M. E.; Agulleiro, B.; Rombout, J. H. W. M. 1986. An immunocytochemical and ultrastructural study of the endocrine pancreas of *Sparus auratus* L. (Teleostei). **General and Comparative Endocrinology**, **64** (1): 1-12.
- Angelescu, V.; Gneri, F. S. 1949. Adaptaciones del aparato digestivo al régimen alimenticio in algunos peces del río Uruguay e del río de la

Plata. **Revista Del Instituto Nacional de Investigación de las Ciencias Naturales Anexo al Museo Argentino de Ciencias Naturales**, 1 (6): 161-272.

Barrington, E. J. W. 1969. The alimentary canal and digestion. In: Hoar, W. S. & Randall, D. J. (eds). **Fish Physiology – excretion, ionic regulation and metabolism**. v.1. Academic Press. New York, USA, p. 391-432.

Chaves, P. T. C.; Vazzoler, G. 1984. Aspectos biológicos dos peixes amazônicos. III. Anatomia microscópica do esôfago, estômago e cecos pilóricos de *Semaprochilodus insignis* (Characiformes: Prochilodontidae). **Acta Amazonica**, 14 (3-4): 343-353.

Chiba, A. 1998. Ontogeny of serotonin-immunoreactive cells in the gut epithelium of the cloudy dogfish, *Scyliorhinus torazame*, with reference to coexistence of serotonin and neuropeptide Y. **General and Comparative Endocrinology**, 111 (3): 290-298.

Coetzee, H. L.; Nel, M. M.; Swanepoel, J. H. 1991. Light, electron microscopical and immunocytochemical investigation of the stomach wall of the tigerfish *Hydrocynus forskahlii*. **Journal of Morphology**, 208: 311-321.

Elbal, M. T.; Lozano, M. T.; Agulleiro, B. 1988. The endocrine cells in the gut of *Mugil saliens* Risso, 1810 (Teleostei): an immunocytochemical and ultrastructural study. **General and Comparative Endocrinology**, 70 (2): 231-246.

El-Salhy, M. 1984. Immunocytochemical investigation of the gastro-entero-pancreatic (GEP) neurohormonal peptides in the pancreas and gastrointestinal tract of the dogfish *Squalus acanthias*. **Histochemistry**, 80 (2) : 193-205.

Fänge, R.; Grove, D. 1979. Digestion. In: Hoar, W. S.; Randall, D. J. & Brett, J. R. (eds). **Fish physiology – bioenergetics and growth**. Vol. 8, Academic Press, New York, USA, p. 161- 259.

Fonseca, C. C.; Nogueira, J. C.; Barbosa, A. J. A. 2002. Immunocytochemical and quantitative study of glucagon-immunoreactive cells in the ileum and colon of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). **Cells Tissue Organs**, 170 (1): 29-33.

- Gabe, M.; Martoja, M. 1971. Données histologique sur les cellules endocrines, gastriques et pancréatique de *Mugil auratus* (Téléostéen, Mugiliforme). **Archives D'Anatomie Microscopique Morphologie Expérimentale**, **60** (3): 219-234.
- Gargiulo, A. M.; Ceccarelli, P.; Dall'Aglio, C.; Pedini, V. 1997. Ultrastructural study on the stomach of *Tilapia* spp (Teleostei). **Anatomy Histology and Embryology**, **26** (4): 331-336.
- Gomide, A. T. M. 1996. **Anatomia funcional e morfometria comparativas do tubo digestivo de trairão (*Hoplias cf. lacerdae* Ribeiro, 1908) (Characiformes, Erythrinidae), em diferentes classes de tamanho.** Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 76 pp.
- Grimelius, L. 1968. A silver nitrate stain for α_2 cells in human pancreatic islets. **Acta Societatis Medicorum Upsaliensis**, **73** (5-6): 243-270.
- Groff, K. E.; Youson, J. H. 1997. An immunohistochemical study of the endocrine cells within the pancreas, intestine and stomach of the gar (*Lepisosteus osseus*). **General and Comparative Endocrinology**, **106** (1): 1-16.
- Grube, D. 1986. The endocrine cells of the digestive system: amines, peptides, and modes of action. **Anatomy and Embryology**, **175** (2): 151-162.
- Helander, H. 1981. The cells of the gastric mucosa. **International Review of Cytology**, **70**: 217-288.
- Hermite, A. L.; Ferrand, R.; Dubois, M. P.; Andersen, A. C. 1985. Detection of endocrine cells by immunofluorescence method in the gastroenteropancreatic system of the adult Eel, glass-Eel, and leptocephalic larva (*Anguilla anguilla*). **General and Comparative Endocrinology**, **58** (3): 347-359.
- Hernandez, M. P. G.; Lozano, M. T.; Agulleiro, B. 1994a. Ontogeny of the endocrine cells of the intestine and rectum of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) – an ultrastructural study. **Anatomy and Embryology**, **190** (6): 529-539.
- Hernandez, M. P. G.; Lozano, M. T.; Agulleiro, B. 1994b. Ontogeny of the endocrine cells of the stomach of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) –

an ultrastructural study. **Anatomy and Embryology**, **190** (5): 507-514.

Hernandez, M. P. G.; Lozano, M. T.; Agulleiro, B. 1994c. Ontogeny of the endocrine pancreas in sea bass (*Dicentrarchus labrax*) – an ultrastructural study. 1. The primordial cord and the primitive, single and primordial islets. **Cell Tissue Research**, **276** (2): 309-322.

Hoar, W. S.; Hickman, C. P. 1967. **A laboratory companion for general and comparative physiology**. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, USA, 262 pp.

Ito, H.; Hashimoto, Y.; Kitagawa, H.; Kon, Y.; Kudo, N. 1988. Ontogeny of gastroenteropancreatic (GEP) endocrine cells in mouse and porcine embryos. **Nippon Juigaku Zasshi**, **50** (1): 99-110.

Johnson, D. E.; Torrence, J. L.; Elde, R. P.; Bauer, G. E.; Noe, B. D.; Fletcher, J. 1976. Immunohistochemical localization os somatostatin, insulin and glucagon in the principal islets of anglerfish (*Lophius americanus*) and the channer catfish (*Ictalurus punctata*). **American Journal of Anatomy**, **147**: 119-124.

Junqueira, L. C.; Junqueira, L. M. N. S. 1983. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Santos, 123pp.

Kralj-Klobucar, N. 1987. Comparative analysis of gastrin-immunoreactive and argyrophil cells in bony fish larvae. **Folia Histochemica Cytobiologica**, **25** (2): 133-136.

Logato, P. V. R. 1995. **Anátomo-histologia funcional do aparelho digestivo do pacu, *Piaractus mesopotamicus* Holmberg, 1887 (Characiformes, Cgaracudaem Myelinae)**. Tese de doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 118 pp.

Lopez, J.; Cuesta, N.; Cuttitta, F.; Martinez, A. 1999. Adrenomedullin in nonmammalian vertebrate pancreas: An immunocytochemical study. **General and Comparative Endocrinology**, **115** (3): 309-322.

McIntosh, C. H. S. 1995. Control of gastric acid and the endocrine pancreas by gastrointestinal regulatory peptides. **American Zoologist**, **35**: 455-465.

McManus, J. F. A.; Mowry, R. W. 1960. **Staining methods histologic and histochemical**. P. B. Hoeber. New York, USA, 423 pp.

- Menin, E. 1988. **Anátomo-histologia funcional comparativa do aparelho digestivo de seis Teleostei (Pisces) de água doce.** Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Brasil, 557 pp.
- Menin, E.; Mimura, O. M. 1992. Anatomia funcional da cavidade bucofaringeana de *Prochilodus marggravii* Wallbaum, 1792 e *Prochilodus affinis* Reinhardt, 1874 (Characiformes, Prochilodontidae). **Revista Ceres**, **39** (226): 507-528.
- Menin, E.; Mimura, O. M. 1993a. Anatomia do estômago de duas espécies de peixes Teleostei de água doce, *Prochilodus marggravii* Wallbaum, 1792 e *Prochilodus affinis* Reinhardt, 1874 (Characiformes, Prochilodontidae), de hábito alimentar iliófago. **Revista Ceres**, **40** (229): 253-271.
- Menin, E.; Mimura, O. M. 1993b. Anatomia do estômago de três espécies de peixes Teleostei de água doce de hábito alimentar iliófago. **Revista Ceres**, **40** (228): 203-222.
- Moraes, M. F. P.; Barbola, I. F. 1995. Hábito alimentar e morfologia do tubo digestivo de *Hoplias malabaricus* (Osteichthyes, Erythrinidae), da lagoa Dourada, Ponta Grossa, Paraná, Brasil. **Acta Biologica Paranaense**, **24** (1,2,3,4): 1-23.
- Murray, H. M.; Wright, G. M.; Goff, G. P. 1994. A comparative histological and histochemical study of the stomach from three species of pleuronectid, the Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus*, the yellowtail flounder, *Pleuronectes ferruginea*, and winter flounder, *Pleuronectes americanus*. **Canadian Journal of Zoology**, **72**: 1199-1210.
- Nikolsky, G. V. 1963. **The ecology os fishes.** Academic Press, London., England, 325 pp.
- Prejs, A. 1981. **Metodos para el estudio de los alimentos y las relaciones troficas de los peces.** Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela, 129 pp.
- Reinecke, M.; Muller, C.; Segner, H. 1997. An immunohistochemical analysis of the ontogeny, distribution and coexistence of 12 regulatory peptides and serotonin in endocrine cells and nerve fibers of the digestive tract of the turbot, *Scophthalmus maximus* (Teleostei). **Anatomy and Embryology**, **195** (1): 87-101.
- Ribeiro, I. J. 2001. **Análises Estatísticas no SAEG.** Editora UFV, Viçosa, Brasil, 301 pp.

- Rojas, J. R. M. 1997. Hábitos alimentarios del pargo mancha *Lutjanus guttatus* (Pisces: Lutjanidae) en el Golfo de Nicoya, Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, **44** (1)/ **45** (1): 471-476.
- Rombout, J. H. 1977. Enteroendocrine cells in the digestive tract of *Barbus conchonius* (Teleostei, Cyprinidae). **Cell Tissue Research**, **185** (4): 435-450.
- Rombout, J. H.; Taverne-Thiele, J. J. 1982. An immunocytochemical and electron-microscopical study of endocrine cells in the gut and pancreas of a stomachless teleost fish, *Barbus conchonius* (Cyprinidae). **Cell Tissue Research**, **227** (3): 577-593.
- Romer, A. S.; Parsons, T. S. 1985. Sistema Digestivo. In: **Anatomia comparada dos vertebrados**. Atheneu Editora, São Paulo, Brasil, pp. 302-320.
- Santos, C. A. N. 1999. **Anátomo-histologia funcional do aparelho digestivo de *Brycon nattereri* Güther, 1864 (Teleoptei, Characiformes, Characidae, Bryconinae)**. Dissertação Mestrado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 119 pp.
- Seixas Filho, J. T. 1998. **Anatomia funcional e sistemas enzimático e endócrino de Teleostei (Pisces) de água doce com hábitos alimentares diferentes**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Viçosa, Brasil, 175 pp.
- Stefan, Y.; Falkmer, S. 1980. Identification of four endocrine cell types in the pancreas of *Cottus scorpius* (Teleostei) by immunofluorescence and electron microscopy. **General and Comparative Endocrinology**, **42** (2): 171-178.
- Welch, D. W. 1997. Anatomical specialization in the gut of pacific salmon (*Oncorhynchus*): evidence for oceanic limits or salmon production. **Canadian Journal of Zoology**, **75**: 936-942.
- Yang, H.; Morrison, C. M.; Colon, J. M.; Laybolt, K.; Wright, J. R. 1999. Immunocytochemical characterization of the pancreatic islet cells of the nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). **General and Comparative Endocrinology**, **114** (1): 47-56.
- Zavala-Camin, L. A. 1996. **Introdução aos estudos sobre alimentação natural em peixes**. EDUEM, Maringá, Brasil, 129 pp.