DEPARTAMENTO DE HISTOLOGIA E EMBRIOLOGIA Diretor: Prof. Dr. Antonio G. Ferri

ESTUDO MORFOLÓGICO DOS PIGMENTOS ENCONTRADOS NO FÍGADO, BAÇO E RIM DE PEIXES DE ÁGUA DOCE*

(MORPHOLOGIC STUDIES OF THE PIGMENTS FOUND IN LIVER. SPLEEN AND KIDNEY OF FRESH WATER FISH)

MIKICO TOKUMARU Instrutor HELOISA GODINHO **

Como parte de um programa de trabalhos destinados a elucidar problemas referentes aos peixes, são aqui apresentados os resultados das observações realizadas em tecidos dêsses animais, onde com freqüência abundam os pigmentos, substâncias estas cuja natureza ainda é objeto de discussão na literatura especializada.

Parece ter sido Audicé (1), em 1910, um dos primeiros a fazer referência a pigmentos no rim de teleósteos, sem contudo classificá-los. Verne (11), em seu tratado sôbre pigmentos dos animais, apesar de referir-se, também, aos encontrados em peixes, silencia quanto à presença de cromolipóides em órgãos internos, exceto nas células nervosas.

Posteriormente, algumas observações apareceram sôbre o assunto, sendo os pigmentos classificados genèricamente entre os cromolipóides (3, 14, 15), ou mais especificamente como ceróide (8), ou ainda sem possibilidade de identificação (16).

MAZZI (6) julga existirem pelo menos três tipos diversos de pigmentos nos órgãos internos de peixes e, finalmente, WOOD e YASUTAKE (12) pensam que o pigmento encontrado é ceroídico, aparecendo, entretanto, sómente em diferentes condições patológicas.

^{*} Trabalho realizado com o auxilio da Comissão Inter-estadual da Bacla Paraná-Uruguai.

^{**} Biologista do Departamento de Produção Animal, da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste trabalho foram utilizados 15 exemplares de peixes de ambos os sexos, das seguintes espécies: *Pimelodus maculatus* (mandi), *Prochilodus scrofa* (curimbatá) e *Cyprinus carpio* (carpa), gentilmente cedidos pela Divisão de Proteção e Produção de Peixes e Animais Silvestres, do Departamento de Produção Animal, da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

Os animais, transportados em latões especiais para o laboratório, foram sacrificados por comoção cerebral e necropsiados imediatamente por incisão longitudinal, na linha ventral. Após a retirada das vísceras, coletaram-se fragmentos de fígado, baço e rim, com cêrca de 2-3 mm de espessura, os quais foram fixados por 12 horas aproximadamente em formol a 10%, tamponado a pH 7, Bouin, Susa e a mistura aconselhada por TOKUMARU e col. (10).

Procedeu-se depois dos tratamentos adequados à inclusão em parafina, microtomia com 5 μ de espessura e coloração pela H.E.

RESULTADOS

A observação microscópica dos cortes histológicos corados pela hematoxilina-eosina revelou que sistematicamente no figado, baço e no tecido pancreático, que acompanha os vasos dêsses órgãos, bem como no rim e de modo ocasional em outros tecidos, encontram-se pigmentos de coloração amarelo-acastanhada, cuja tonalidade pode apresentar grande variação.

Os pigmentos apresentam-se como grânulos grosseiros de forma arredondada, mostrando refringência esverdeada a grandes aumentos e que aparentemente podem coalescer para formar glóbulos de aspecto homogênco, os quais se mostram, às vêzes, facetados e em geral, ao que parece, envolvidos por uma membrana.

Mostram-se formando conglomerados de vários tamanhos entre células do parênquima ou no seio do tecido conjuntivo, onde, não raramente, são envoltos por membrana ou por cápsula.

Nestas localizações, com mais frequência os pigmentos são observados no interior de células aparentemente já sem núcleo, ou são extra-celulares.

Concomitantemente são os mesmos encontrados dispersos no citoplasma das células parenquimatosas ou ainda, no interior de macrófagos.

Nestes últimos, qualquer que seja o tecido, as células se mostram arredondadas com os núcleos rechaçados para a periferia ou mascarados pela quantidade de grânulos pigmentários.

Deve-se mencionar ainda que muitas vêzes, encontram-se pigmentos livres e isolados, dispersos pelo tecido.

No fígado e parte disseminada do pâncreas, encontram-se estas substâncias formando acúmulos ou nódulos de tamanhos variados entre as células hepáticas ou pancreáticas, bem como no seio do tecido conjuntivo dos espaços de Kiernan, no perivascular e também no que acompanha os condutos biliares.

Não raras vêzes tem-se a impressão de que a massa de pigmentos é envôlta por membrana de aspecto endotelial, não sendo, entretanto, possível em microscopia óptica estabelecer-se com precisão a natureza da estrutura envolvente.

Concomitantemente ou não com o aspecto descrito, encontram-se grânulos pigmentários dispersos no citoplasma dos hepatócitos, às vêzes, de modo abundante, outras em pequena quantidade e também livres e esparsos por todo o tecido. Em alguns

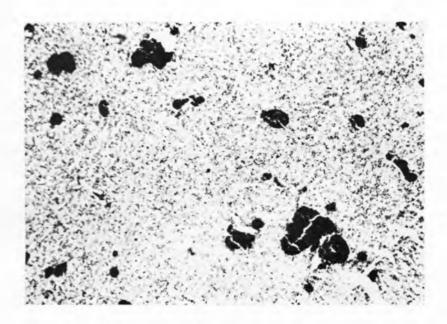


Fig. 1 — Figado de P. scrofa onde se observa grande quantidade de pigmentos, em geral formado conglomerados. H. E. — 120 X.

casos aparecem os mesmos no interior de macrófagos, que formam ninhos celulares no seio do conjuntivo perivascular ou peritubular. Tanto quanto foi possível verificar, as células de Küpffer em nenhum dos casos se apresentam com pigmentos.

No baço, os pigmentos aparecem livres ou em quantidade variável no interior de células reticulares, as quais se encontram isoladamente no seio do tecido, ou formando verdadeiros nódulos, de modo particular junto às paredes vasculares. Em alguns casos, também no tecido pancreático intra-esplênico são observados um ou outro macrófago com granulação pigmentária, entre as células dêste tecido.

Simultâneamente com êstes aspectos se encontram conglomerados de tamanhos diversos no tecido esplénico, os quais se mostram limitados apenas por células dêste tecido, sendo, entretanto, às vêzes, envoltos por membrana de aspecto endotelial ou mesmo por delicada cápsula conjuntiva.

No rim, os acúmulos de pigmentos em pequena ou grande quantidade aparecem no seio do tecido linfóide intertubular. Estas massas pigmentárias afastam as células linfóides, ficando pelas mesmas circundadas, havendo entretanto, algumas vêzes, como nos casos anteriores, membrana ou cápsula envolventes com aspectos já descritos.

Os pigmentos são, de modo mais raro, encontrados no tecido conjuntivo perivascular, periglomerular e umas poucas vêzes, também ao redor de túbulos.

Ainda neste órgão, se verifica juntamente com estas formações, pigmentos dispersos no tecido, ou no interior de macrófagos, no conjuntivo de cápsula renal, onde estas células são mais fàcilmente identificadas.

Por último, em certos casos, os grânulos pigmentários são encontrados no interior de células nos glomérulos ou dispersos no citoplasma de células tubulares.

DISCUSSÃO

O estudo dos pigmentos encontrados nos tecidos dos animais tem merecido a atenção de inúmeros pesquisadores, mas apesar das modernas técnicas histoquímicas ou mesmo da microscopia eletrônica, muitos são os problemas que persistem, demandando novas investigações, o que bem demonstra a complexidade do assunto Em peixes, não há ainda acôrdo entre os autores sôbre a natureza e origem dessas substâncias encontradas no fígado, baço e rim, em diferentes espécies, pensando alguns pesquisadores que as mesmas são verificáveis sômente em condições patológicas (8, 12).

Nossas observações revelaram sua presença nesses órgãos, em maior ou menor quantidade, de modo sistemático, em animais que aparentemente não portavam nenhuma afecção.

Quanto à natureza dêsses pigmentes, existem divergências entre os que se têm dedicado ao problema (1, 6, 8, 12, 16), o que certamente decorre, em parte, pela diversidade de espécies com que trabalharam, e em parte, pela variação de comportamento dos grânulos pigmentários, frente aos mesmos testes de solubilidade, descoramento ou reações histoquímicas, ainda que na mesma preparação histológica, como tivemos oportunidade de observar (9).

Estes fatos têm dificultado grandemente a interpretação dos resultados obtidos por diferentes pesquisadores, agregando-se, ainda, as divergências existentes quanto à nomenclatura entre os vários tratadistas (2, 4, 5, 7).

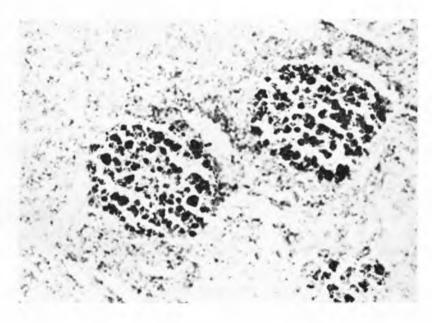


Fig. 2 — Baco de *P. scrofa* no qual se observam conglomerados de pigmentos circundados por membrana de aspecto endotellal. H.E. — 300 X.

Deve-se, finalmente, mencionar que os aspectos morfológicos observados no figado, baço e rim das espécies estudadas assemelham-se aos descritos na espécie humana nos chamados nódulos de Gandy-Gamna (13) sendo, portanto, ao que parece, excelente material para pesquisas, orientadas no sentido de esclarecer sua natureza e gênese.

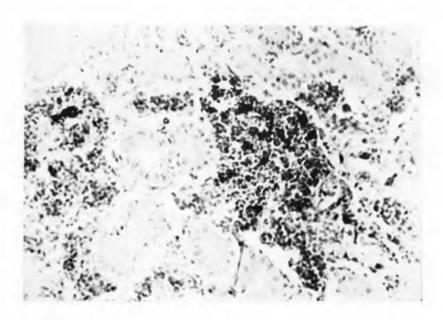


Fig. 3 — Rim de *P. scrofa* no qual se observam pigmentos no tecido linfóide e nas células tubulares. H.E. — 300 X.

SUMÁRIO

É descrito o aspecto microscópico dos pigmentos encontrados no figado, baço e rim de *Pimelodus maculatus, Prochilodus scrofa* e *Cyprinus carpio*, observado por métodos rotineiros de técnica histológica. Verificou-se que êsses pigmentos podem apresentar disposição a dos nódulos de Gandy-Gamna, descritos no homem, e sua presença é notada em tecidos aparentemente normais.

SUMMARY

In this paper, the authors study, the pigments found in the liver, spleen and kidney of the *Pimelodus maculatus*, *Prochilodus*

scrofa and Cyprinus carpio, describing the morphological aspects observed by histological techniques.

They conclude that pigments in the tissues studies form conglomerates similar to the Gandy-Gamna nodules described in humans.

However, in the fish tissues studied, the pigments are found as a normal condition.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AUDIGÉ, J. 1910 Contribution à l'étude des reins des Poissons Téléostéens. Arch. Zoo. Exp. et Gen., Paris, 5ème serie, 4:275-624.
- 2. BARKA, T. & ANDERSON, P. J. 1965 Histochemistry: Theory, practice and bibliography. New York, Hoeber Medical Division.
- 3. BIGNARDI, C. 1947 Cellule a cromolipoide nella cistifellea di *Esox lucius* e loro particolarita istochimiche. *Arch. It. di Anat. e Embr.*, Firenze, 52:258.
- 4. LILLIE, R. D. 1954 Histopathologic technic and practical histochemistry. New York, Blakiston.
- LISON, L. 1960 Histochimie et cytochimie animales, 3 éd. Paris, Gauthier — Villars.
- MAZZI, V. 1955 La cellule a pigmenti nel tessuto linfoide del rene medio di Cyprinus carpio L. Arch. Zool. (ital.) Napoli, 40:347-359.
- PEARSE, A. G. E. 1961 Histochemistry: theorical and applied. 2nd. ed. Gloucester, J. E. A. Churchill.
- 8. PICKFORD, G. E. 1953 A study of the hypophysectomized male killifish, Fundulus heteroclitus (Linn.) Bull. Bingham Oceanogr. Coll., New Haven, 14(2):5-41.
- TOKUMARU, M. & FERRI, A. G. Estudo histoquimico dos pigmentos encontrados no figado, baço e rim de peixes de água doce (a ser publicado).
- TOKUMARU, M.; GODINHO, H. & FERRI. A. G. 1968 Fixação de tecidos de peixes de água doce. Rev Fac, Med. Vet., São Paulo. 7(4):841-848.
- VERNE, J. 1926 Les pigments dans l'organisme animal. Paris, Gaston Doin.
- WOOD, E. M. & YASUTAKE, W. Y. 1956 Ceroid in fish. Amer. J. Pathol. New York, 32 (1-3):591-603.

- 13. ZAMPI, G. 1954 I rapporti fra emosiderina e cromolipoidi ferruginosi nello studio istochimico delle aree di Gamna spleniche e in sed extra-lienale. *Arch. De Vecchi.*, Firenze, 22(1):255-279.
- ZOCCHI, P. 1953 Contributo alla conoscenza istochimica del cromolipoide della cistifellea di Esox lucius, Monit. zool. ital.. Firenze, 61:80-83.
- ZOCCHI, P. 1954 Osservazioni preliminari su una sostanza lipidica Hotchkiss positiva nell'epitelio della cistifellea di Esox lucius, Monit. zool. ital., Firenze, 62:111-113.
- ZORZOLI, G. C. & SBERNINI, C. 1954 Ricerche istochimiche sul pigmento presente nei tubuli renali di Esox lucius. Monit. 2001. ital., Firenze, 63 (supple): 403-408.