

# HISTOLOGIA DO ESÔFAGO DE *Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824 (AMPHIBIA, ANURA, LEPTODACTYLIDAE)<sup>1</sup>

Maurício A. Santana<sup>2</sup>  
Eliane Menin<sup>3</sup>

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os trabalhos relacionados com o esôfago de Anura, podem ser citados os de NORRIS (9), com *Rana pipiens*; BANI (2), com *Rana esculenta* e *Bombina variegata*; ZAMITH (14), com *Leptodactylus pentadactylus*, *Leptodactylus ocellatus*, *Hyla nasica*, *Hyla faber* e *Bufo marinus ictericus*; ANDREW e HICKMAN (1), com *Bufo sp.* e *Rana sp.*; DUELLMAN e TRUEB (5), com *Bombina sp.*; CASTRO (3), com *Rana catesbeiana*; além de outros autores citados por REEDER (11) em sua revisão sobre a anátomo-histologia e a fisiologia do aparelho digestivo de Amphibia.

Este trabalho, desenvolvido com *Leptodactylus labyrinthicus*, teve por finalidades descrever a histologia geral do esôfago e a composição celular do epitélio esofágico, e compará-las com as de outros Anura.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 exemplares juvenis de 5,0 a 9,0cm de comprimento de corpo, de *Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824 ( Amphibia, Anura, Leptodactylidae ), com a denominação vulgar de “rã-pimenta”, provenientes do Ranário Experimental do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, em março de 1992 ( Quadro1).

---

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 10-09-1996.

<sup>2</sup> Mestrando em Zootecnia, DZO-UFV.

<sup>3</sup> Departamento de Biologia Animal-UFV. 36571-000 - Viçosa-MG.

QUADRO 1 - Exemplos de *Leptodactylus labyrinthicus* utilizados no estudo histológico do esôfago

Classe de Tamanho	NE	CC (cm)	PC (g)
5—7	9	6,2	38,7
7—9	11	7,7	48,0
Total	20		

NE = Número de exemplares.

CC = Comprimento do corpo.

PC = Peso do corpo - média geral.

No Laboratório de Morfofisiologia Animal do Departamento de Biologia Animal, UFV, os exemplares foram submetidos a jejum durante dois dias, permanecendo numa caixa de amianto de 100 litros, contendo 2,5 litros de água, para evitar o ressecamento da sua pele. Após o período de jejum, foi seguida a rotina empregada no referido laboratório para a condução dos estudos histológicos: (1) sacrifício dos animais por contenção fisiológica (descerebração e desmedulação); (2) identificação com etiqueta plástica fixada à região cefálica; (3) tomada do peso corporal, em gramas, com auxílio de balança de precisão; (4) tomada do comprimento total, em centímetros, com auxílio de paquímetro; (5) limpeza do tubo digestivo com solução fisiológica de Ringer para anfíbios, administrada por via oral; (6) injeção, por via oral, da solução fixadora de Bouin, para melhor preservação da mucosa do tubo digestivo; (7) isolamento do aparelho digestivo; e (8) imersão do material na solução fixadora de Bouin por 48 horas. Após esse período, as peças foram transferidas para solução alcoólica, a 70%, até posterior processamento.

O processamento histológico foi realizado no Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Biologia Geral, UFV, sendo utilizados os métodos de rotina para inclusão em parafina, conforme HUMASON (7). Os cortes, de 4,0 a 6,0  $\mu\text{m}$  de espessura, obtidos com auxílio de micrótomo de parafina (rotativo), foram corados pelos métodos: (1) Hematoxilina-Eosina (HE), para descrição histológica geral; e (2) Tricrômico de Mallory, para diferenciação de fibras colágenas e musculares.

As lâminas foram analisadas em aumento de 40 X, com auxílio de microscópio óptico binocular, e, para a ilustração e complementação das descrições, foram efetuadas fotomicrografias, com auxílio de microscópio óptico, com aumentos de 10 a 1600 X, com filmes T. Max 100 ISO, no Setor Fotográfico do Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, UFV.

### 3. RESULTADOS

O esôfago de *Leptodactylus labyrinthicus*, medindo entre 670 a 1060  $\mu\text{m}$  de espessura é organizado em mucosa, túnica muscular ( Figura 1) e adventícia.

A mucosa é revestida por epitélio pseudoestratificado prismático ciliado (Figura 2), com 60 a 80  $\mu\text{m}$  de espessura, e apresenta células mucosas em grande quantidade. Essas células, que variam de globosa a piriforme e medem 30 e 40  $\mu\text{m}$ , respectivamente, estão entremeadas às epiteliais, aparecendo em toda a extensão do órgão, inclusive na região de transição esofagogástrica; seu conteúdo é lançado na luz esofágica através de um poro apical. Na coloração pelo método HE, as células prismáticas ciliadas são longas, medindo entre 20 e 30  $\mu\text{m}$ , com o núcleo fusiforme e grande, de 10 a 20  $\mu\text{m}$ , disposto no seu terço basal na maior parte do esôfago; seu citoplasma é acidófilo e uniforme e os seus cílios são curtos e espessos, medindo em torno de 6  $\mu\text{m}$ . Externamente às células epiteliais ciliadas, encontra-se a camada germinativa do epitélio, medindo de 20 a 40  $\mu\text{m}$ , formada por células cúbicas, com núcleo que varia de arredondado a elíptico, disposto centralmente ou mais próximo ao pólo basal.

Nas preparações coradas pelo método do Tricrômico de Mallory, observa-se a lâmina própria, com 230 a 460  $\mu\text{m}$  de espessura, aglandular, de tecido conjuntivo denso, com estrutura mais uniforme próximo do epitélio. Nela são encontradas fibras nervosas e células adiposas em pequena quantidade; arteríolas e vênulas distribuem-se por toda essa lâmina e, na porção final do esôfago, são encontrados acúmulos de linfócitos. A muscular da mucosa está ausente em toda a extensão desse órgão.

A túnica muscular, formada por fibras musculares lisas, é dividida em duas porções: uma interna, circular, de 60 a 80  $\mu\text{m}$  de espessura, e outra, externa, longitudinal, de 50 a 60  $\mu\text{m}$  (Figura 1). A circular é, aproximadamente, 1,27 vez mais espessa que a longitudinal, ao longo do esôfago. São observadas fibras nervosas entre as fibras musculares.

Na região de transição esofagogástrica (Figuras 3 e 4), o epitélio passa, abruptamente, do tipo pseudoestratificado prismático ciliado com células mucosas para o tipo prismático simples. Na lâmina própria dessa região, que mede de 210 a 380  $\mu\text{m}$ , semelhante em estrutura à do esôfago, verifica-se o início da estruturação das glândulas gástricas tubulosas ramificadas, que se apresentam curtas, porém, já constituídas por dois tipos celulares: as células mucosas e as células zimogênicas. Desses tipos celulares, conforme visualizado nas preparações pelo método HE, o primeiro caracteriza-se por ter forma poliédrica, citoplasma ligeiramente acidófilo e núcleo basal, e o segundo por ter forma cúbica, citoplasma acidófilo e

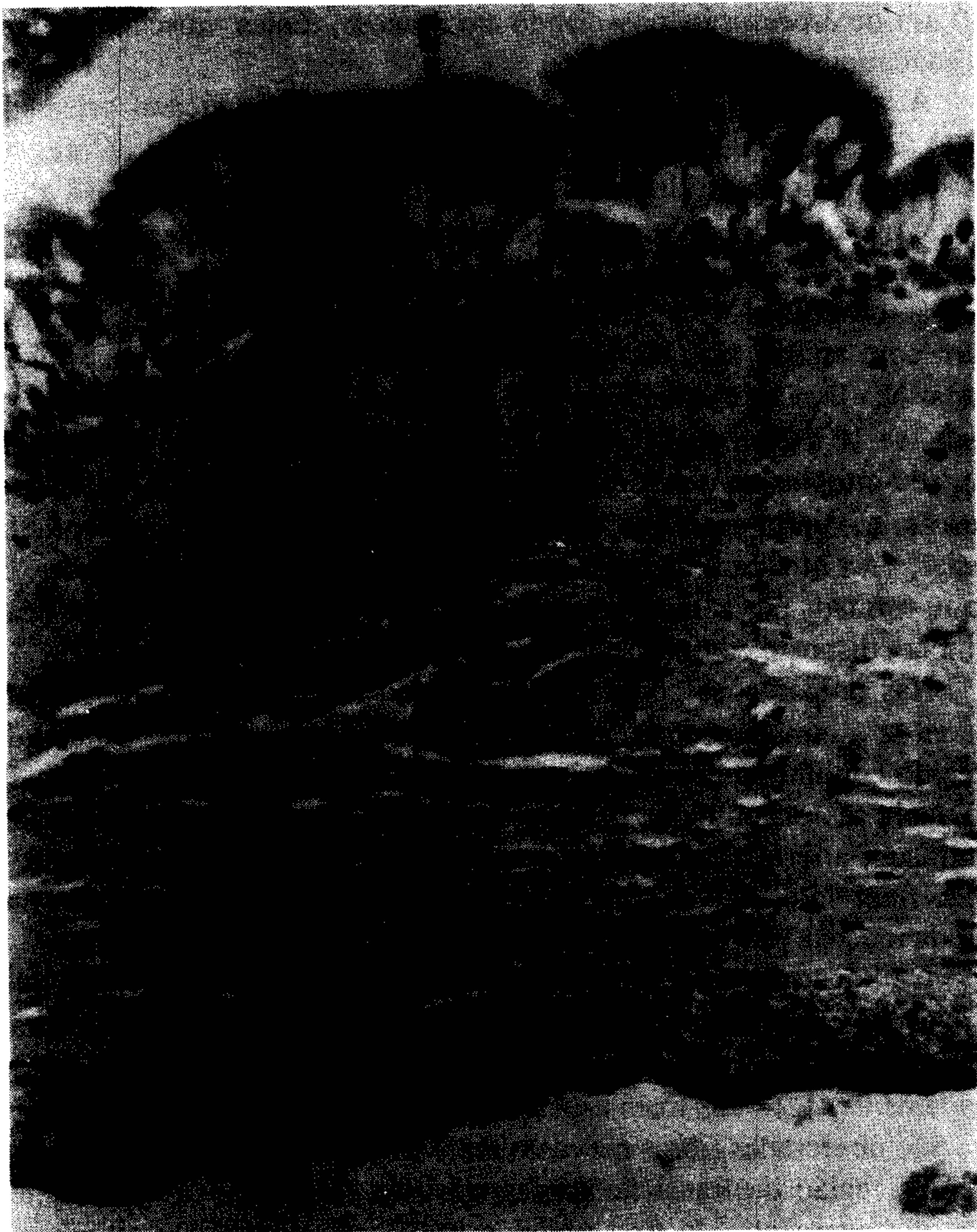


FIGURA 1 - Fotomicrografia do esôfago de *Leptodactylus labyrinthicus*. Bouin-HE; Aum.:  $\pm 1000 X$ .

C - cílios; CG - camada germinativa; CM - célula mucosa; EC - epitélio pseudoestratificado ciliado; LP - lâmina própria; TMC - túnica muscular circular; TML - túnica muscular longitudinal.



FIGURA 2 - Fotomicrografia do esôfago de *Leptodactylus labyrinthicus*. Bouin-HE; Aum.:  $\pm$  1300 X.  
CA- célula adiposa; CM - célula mucosa; CG - camada germinativa; EC - epitélio pseudoestratificado ciliado; LP - lâmina própria.



FIGURA 3 - Fotomicrografia da região esôfago-gástrica de *Leptodactylus labyrinthicus*. Bouin-HE; Aum.:  $\pm 1300 X$ .

C - cílios; CM - célula mucosa; CMC - célula mucosa do colo; CZ - célula zimogênica; EC - epitélio pseudoestratificado ciliado; EM - epitélio prismático simples; GG - glândula gástrica; LP - lâmina própria; MM - muscular da mucosa; NL - nódulo linfóide; S - submucosa; TMC - túnica muscular circular.



FIGURA 4 - Fotomicrografia da região esôfago-gástrica de *Leptodactylus labyrinthicus*. Bouin-HE; Aum.:  $\pm$  1500 X.

CM - célula mucosa; CZ - célula zimogênica; EM - epitélio prismático simples; LP - lâmina própria; MM - muscular da mucosa; S - submucosa.

núcleo de forma arredondada, centralmente disposto (Figuras 3 e 4). É verificada, ainda, nessa região, a formação da muscular da mucosa: nas preparações pelos métodos HE e Tricrômico de Mallory, ela se apresenta, inicialmente, composta apenas por uma camada de fibras musculares lisas, dispostas circularmente, com 40  $\mu\text{m}$  de espessura, e vai se tornando mais estruturada em direção ao estômago, acompanhada por outra camada de fibras musculares lisas, agora longitudinalmente dispostas, de espessura semelhante àquela. A submucosa, estruturada como consequência da presença da muscular da mucosa, é constituída por tecido conjuntivo denso, corado em azul nas preparações pelo método do Tricrômico de Mallory, semelhante ao que é observado na lâmina própria (Figura 3). Nela são verificadas fibras nervosas, além de arteríolas e vênulas, em grande número.

A túnica muscular encontrada nessa região, com as camadas circular e longitudinal medindo 80 e 50  $\mu\text{m}$ , respectivamente, é semelhante à do esôfago, tanto em estrutura quanto em presença de fibras nervosas. Nessa região também não foi detectada, a exemplo do esôfago, a camada adventícia.

#### 4. DISCUSSÃO

A descrição da parede do esôfago de *Leptodactylus labyrinthicus* coincide com a de NORRIS (9), para *Rana pipiens* (Ranidae), e a de ANDREW e HICKMAN (1), para *Bufo sp.* (Bufonidae) e *Rana sp.* (Ranidae).

NORRIS (9), descrevendo a histologia esofágica e gástrica de *Rana pipiens* (Ranidae), afirmou que o segmento esofágico é revestido pelo mesmo epitélio encontrado na faringe, ou seja, do tipo pseudoestratificado prismático ciliado com numerosas células mucosas. REEDER (11), em sua revisão bibliográfica sobre a anátomo-histologia do aparelho digestivo dos anfíbios, destacou que, nos diferentes grupos de Amphibia, o revestimento epitelial esofágico varia de uma a mais camadas de células cúbicas ou prismáticas, com ou sem a presença de cílios e, freqüentemente, com células mucosas interpostas a elas. ANDREW e HICKMAN (1) descreveram o epitélio esofágico como sendo pseudoestratificado, que varia de cúbico a prismático, com células mucosas em grande número. Também ZAMITH (14) afirmou que no segmento esofágico de *Leptodactylus pentadactylus* e *Leptodactylus ocellatus* (Leptodactylidae); *Hyla nasica* e *Hyla faber* (Hylidae) e *Bufo marinus ictericus* (Bufonidae) o epitélio é do tipo pseudoestratificado com numerosas células mucosas, que ele denominou "calicícolas". DUELLMAN e TRUEB (5) encontraram no esôfago de



*Bombina sp.* (Discoglossidae) epitélio constituído por células colunares ou cúbicas ciliares interpostas por células “caliciformes” secretoras de muco. CASTRO (3) verificou, por sua vez, no esôfago de *Rana catesbeiana* (Ranidae), que o epitélio é do tipo pseudoestratificado prismático ciliado com células mucosas. Este mesmo tipo de epitélio foi descrito por GALLEGO-HUIDOBRO *et alii* (6), que estudaram o esôfago de *Rana perezi* (Ranidae). Essas observações relacionadas ao epitélio esofágico coincidem com aquelas verificadas no epitélio mucossecretor do esôfago de *Leptodactylus labyrinthicus*. O muco produzido, além de auxiliar na progressão do alimento em direção ao estômago, também protege o segmento esofágico contra danos mecânicos provocados pelos alimentos, uma vez que os Anura deglutem itens alimentares inteiros, ou seja, sem preparação pré-digestiva.

ZAMITH (14) relatou que o epitélio é sustentado por uma camada germinativa ou “camada sustentadora”, formada por células cúbicas, com núcleo grande e ovóide, que se alongam em direção à superfície epitelial, com a função de substituir as células epiteliais ciliadas. Já GALLEGO-HUIDOBRO *et alii* (6) verificaram essas células “basais”, com forma variada e distribuídas por todo o epitélio. Em *Leptodactylus labyrinthicus* é verificada a camada germinativa, constituída por células cúbicas, com o núcleo de forma arredondada a elíptica.

Segundo ZAMITH (14), são encontradas no esôfago de anfíbios, em geral, três tipos de glândulas: pepsinogênicas, saculares e oxínticas. NORRIS (9), que verificou a presença de glândulas esofágicas em *Rana pipiens*, descreveu-as como sendo tubuloalveolares compostas, formadas por células zimogênicas e mucosas; ANDREW e HICKMAN (1) encontraram no esôfago de *Bufo sp* e *Rana sp.* glândulas do tipo alveolares simples, com células mucosas e serosas. BANI (2) registrou a presença, em *Rana esculenta* (Ranidae), de glândulas acinosas ramificadas, com células produtoras de pepsinogênio e células mucosas, e em *Bombina variegata* (Discoglossidae) glândulas esofágicas tubulosas, com células mucosas. CASTRO (3) verificou, em *Rana catesbeiana*, a presença de glândulas esofágicas tubuloalveolares compostas, e GALLEGO-HUIDOBRO *et alii* (6) observaram, em *Rana perezi*, glândulas tubulosas ramificadas, constituídas por dois tipos de células: uma, com o citoplasma claro, e a outra com o citoplasma fortemente basófilo, contendo grânulos, quando coradas pelo método HE. Entretanto, PERNKOPF e LEHNER (10) relataram a ausência de glândulas esofágicas em *Cystignathus sp.* (Leptodactylidae), *Bombinator sp.* (Myobatrachidae) e *Pipa sp.* (Pipidae), assim como DUELLMAN e TRUEB (5) não as encontraram em *Bombina sp.* Também em *Leptodactylus labyrinthicus*, essas glândulas estão ausentes. Segundo

vários autores, dentre eles, REEDER (11) e WEICHERT (13), as glândulas esofágicas secretam pepsinogênio, que, atuando no estômago, juntamente com aquele secretado pelas glândulas gástricas, propiciam, após o contato dessa substância com o meio ácido, o aumento de pepsina, que facilita a digestão péptica.

A túnica muscular observada em *Leptodactylus labyrinthicus* é formada por duas camadas, circular, interna, e longitudinal, externa, ambas de fibras musculares lisas. ANDREW e HICKMAN (1), estudando a histologia do esôfago de *Bufo sp.* e *Rana sp.*, e DUELMAN e TRUEB (5), a de *Bombina sp.*, verificaram que a túnica muscular é formada por uma camada espessa e regular, circular, de fibras musculares lisas e por outra longitudinal, do mesmo tipo celular, porém irregularmente constituída, ao longo do esôfago. CASTRO (3) encontrou, em *Rana catesbeiana*, este mesmo padrão para a túnica muscular. MENIN (8), pesquisando o segmento esofágico de peixes Teleostei, verificou a presença de fibras musculares esqueléticas na túnica muscular, e DELLMANN e BROWN (4) descreveram esse mesmo tipo celular para a túnica muscular do esôfago de cães e suínos. Conforme ANDREW e HICKMAN (1), a túnica muscular presente no esôfago dos peixes e dos anfíbios tem importância no trajeto do alimento para o estômago, pois é responsável pelas contrações peristálticas. A presença de fibras musculares esqueléticas na parede desse órgão propicia a deglutição voluntária do alimento, sendo, então, possível, ao animal que as possui, regurgitar o alimento. Em razão disto, é possível inferir que, nos peixes, essa capacidade é mais desenvolvida que nos anfíbios.

Segundo SANTANA e MENIN (12), a mucosa da região de transição esofagogástrica em *Leptodactylus labyrinthicus* apresenta, macroscopicamente, o mesmo padrão de pregas da mucosa do esôfago, uma vez que essas pregas são contínuas do esôfago ao estômago. ANDREW e HICKMAN (1) afirmaram que apesar de não bem definida, a transição entre o esôfago e o estômago pode ser verificada pela alteração do padrão da mucosa, com o término das pregas longitudinais, o que delimita o final do esôfago. NORRIS (9), que se baseou no estudo histológico de *Rana pipiens*, verificou que este último segmento digestivo é constituído por três regiões: o estômago anterior, a porção fúndica e a região pilórica. A região do estômago anterior é revestida por epitélio prismático simples com células mucosas; também nessa região aparece a muscular da mucosa e, ainda, são encontradas glândulas esofágicas e fúndicas, sendo as últimas, entretanto, encontradas em maior proporção na região fúndica do estômago. CASTRO (3) verificou, em *Rana catesbeiana*, que a região de

transição esofagogástrica é muito semelhante àquela descrita por NORRIS (9).

A estrutura da região de transição esofagogástrica, como descrita para *Leptodactylus labyrinthicus*, em parte confirma a descrita por NORRIS (9) para a mesma região do tubo digestivo de *Rana pipiens*.

## 5. RESUMO E CONCLUSÕES

Neste trabalho, realizado no Laboratório de Morfofisiologia Animal do Departamento de Biologia Animal, UFV, em Viçosa, MG, e com o apoio do Laboratório de Histologia e Embriologia do Departamento de Biologia Geral da mesma Instituição, foram estudados 20 exemplares juvenis de *Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae), distribuídos em duas classes de tamanho e peso, com médias de 6,2cm e 7,7cm de comprimento do corpo e médias de 38,7g e 48,0g de peso do corpo, respectivamente. Foi descrita a estrutura microscópica do esôfago, cuja parede é organizada em mucosa, túnica muscular e adventícia. Os resultados obtidos confirmam os dados da literatura sobre esôfago de Anura, no que se refere à composição da parede desse órgão, e reforçam a ocorrência de diferenças estruturais interespecíficas.

## 6. SUMMARY

(HISTOLOGY OF THE ESOPHAGUS OF *Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824 (AMPHIBIA, ANURA, LEPTODACTYLIDAE ))

This work was carried out at the Laboratory of Animal Morphophysiology of the Department of Animal Biology, supported by the Laboratory of Histology and Embryology of the Universidade Federal de Viçosa, MG, Brazil. Twenty juvenile specimens of *Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) were randomly placed into the following two groups: 1- body size and 2- body weight, with mean body size of 6.2 and 7.7 cm and mean body weight of 38.7 and 48.0 g, respectively. The microscopic structure of the esophageal wall, made up by mucosa, muscular tunica and adventítica, was described. The results confirm data on the esophagus of juvenile anurans with regard to the wall composition of this organ and reinforce the occurrence of interspecific structural differences.

## 7. AGRADECIMENTOS

Ao Convênio UFV-CNPq, pela concessão de Bolsa de Iniciação Científica, quando da realização deste trabalho. Ao Prof. Samuel Lopes Lima ( DBA-UFV ), pela doação do material biológico. Ao Prof. Clóvis Andrade Neves ( DBG-UFV ), pela orientação na preparação das lâminas histológicas. Ao Prof. Eldo Monteiro da Silva ( DBV-UFV ), pela ajuda na confecção das fotomicrografias. À bióloga Anésia Aparecida dos Santos e à técnica de laboratório Sr<sup>a</sup>. Cléia Venceslau Ataliba Domingos, do Laboratório de Histologia e Embriologia ( DBG-UFV ), pela ajuda na preparação das lâminas histológicas. Ao técnico de laboratório Sr. José Geraldo Alves e aos auxiliares de laboratório Sr. Antônio João Miranda e Sr. Sebastião Lana, todos do Laboratório de Morfofisiologia Animal (DBA-UFV), pelos serviços prestados.

## 8. LITERATURA CITADA

1. ANDREW, W. & HICKMAN, C.P. *Histology of the Vertebrates: a comparative text*. Saint Louis, The C. V. Mosby Company, 1974. 439 p.
2. BANI, G. Dati morfologici su esofago e stomaco di anfibi. *Archivio Ital. Anat. Embryol.*, 88: 61-73, 1983.
3. CASTRO, J. C. *Anátomo-histologia funcional do tubo digestivo de rã-touro (Rana catesbeiana Shaw, 180) Tempo de passagem do alimento pelo trato digestivo da rã e desenvolvimento de um método de determinação dos valores energéticos de alimentos utilizados em rações de rãs*. Viçosa, UFV, 1995. 210p. (Tese de Doutorado).
4. DELLMANN, H-D. & BROWN, E.M. *Histologia Veterinária*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1982. 397 p.
5. DUELLMAN, W.E. & TRUEB, L. *Biology of Amphibians*. New York, McGraw-Hill, 1986. 610 p.
6. GALLEGO-HUIDOBRO, J.; PASTOR, L.M. & CALVO, A. Histology of the esophagus of the adult frog *Rana perezi* ( Anura: Ranidae). *J. Morphol.* 212: 191-200, 1992.
7. HUMASON, G.L. *Animal tissue techniques*. 3 ed. San Francisco, W.H. Freeman and Company, 1972. 641 p.
8. MENIN, E. *Anátomo-histologia funcional comparativa do aparelho digestivo de seis Teleostei ( Pisces ) de água doce*. São Paulo, USP, 1988. 557 p. (Tese de Doutorado).
9. NORRIS, J.L. The normal histology of the esophageal and gastric mucosae of the frog *Rana pipiens*. *J. Exp. Zool.*, 141: 155-171. 1960.
10. PERNKOPF, E. & LEHNER, J. Vergleichende Beschreibung des Vorderdarms bei den einzelnen Klassen der Kranioten. In: BOLK, L.; GÖPPERT, E.; KALLIUS, E. und LUBOSCH, W. (eds). *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltiere*. Urban und Schwarzenberg, Berlin und Vienna, 1937. Vol. III, p. 349-476.
11. REEDER, W. G. The digestive system. In: MOORE, J. A. (ed). *Physiology of the Amphibia*. New York, Academic Press, 1964. p. 99-149.
12. SANTANA, M. A. & MENIN, E. Anatomia uncional do aparelho digestivo de *Leptodactylus labyrinthicus* Spix, 1824 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista Ceres*, 41: 138-167. 1994.

13. WEICHERT, C. K. *Anatomy of the Chordates*. New York, McGraw-Hill, 1958. 899 p.
14. ZAMITH, A. P. L. Contribuição para o conhecimento da estrutura da mucosa do esôfago dos vertebrados. *An. Esc. Sup. Agric. "Luiz de Queirós"*, 9: 359-434. 1952.