

MORFOLOGIA DO EPITÉLIO INTESTINAL DE RATOS ADULTOS UTILIZANDO-SE COMO MEIO DE INCLUSÃO O PARAPLAST E O GLICOMETACRILATO

Tarcila Volski*

Eneri Vieira de Souza Leite e Mello**

Maria Raquel Marçal Natali**

VOLSKI, T.; MELLO, E. V. S. L.; MARÇAL-NATALI, M. R. Morfologia do Epitélio Intestinal de Ratos Adultos Utilizando-se como meio de inclusão o Paraplast e o Glicometacrilato. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 3(2): 111-115, 1999.

RESUMO: Através da adequação ao processamento histológico rotineiro buscamos aperfeiçoar a descrição morfológica por meio de melhor visualização das células presentes no epitélio intestinal. Para isso utilizamos segmentos iniciais e finais do intestino delgado de ratos adultos. As células absorptivas, caliciformes, células de Paneth e células indiferenciadas apresentaram melhor nitidez na forma e na distribuição dos elementos intracelulares graças às nuances de colorações distintas obtidos pela inclusão do material em glicometacrilato e cortes de 2 μm feitos com navalha de aço. As células enteroendócrinas, puderam ter seus grânulos evidenciados após inclusão em paraplast, cortes de 4 μm em navalha de aço, sendo corados pela prata amoniacal. A aplicação destas técnicas, ao nosso ver, contribuem com melhorias do material didático para aulas práticas sobre o epitélio intestinal.

PALAVRAS-CHAVE: epitélio intestinal; morfologia; técnica histológica.

INTESTINAL EPITHELIUM MORPHOLOGY OF ADULTS RATS USING AS INCLUSION MEDIA PARAPLAST AND GLYCOMETACRYLATE

VOLSKI, T.; MELLO, E. V. S. L.; MARÇAL-NATALI, M. R. Intestinal epithelium morphology of adults rats using as inclusion media paraplast and glycometacrylate. *Arq. Ciênc. Saúde Unipar*, 3(2): 111-115, 1999.

ABSTRACT: Through the adequation of routine histological procedures, we tried to improved morphological descriptions by means of better visualization of the cells on the intestinal epithelium. With this goal we used initial and final segments of the small intestine of adult rats. Absortive, caliciform, Paneth's and undifferentiated cells showed better accuracy on their shape and distribution of intracellular elements due to distinct staining intensities obtained by inclusion of the material in glycometacrylate and 2 μm sections done with steel blade. Enteroendocrine cells had their granules evidenced after inclusion in paraplast, 4 μm sections with steel blade and staining amoniac silver. The use of these technique, in our point of view, contributes with improvements to the didatic material for practice classes about the intestinal epithelium.

KEY WORDS: histological technique; intestinal epithelium; morphology.

Introdução

O epitélio de revestimento intestinal é descrito classicamente na literatura como composto por vários tipos celulares com características ultraestruturais e funcionais diversas (ROSS *et al.*, 1993; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

MADARA & TRIER (1987) e STEVENS

& LOWE (1995), ressaltaram, para uma melhor compreensão, a necessidade de dividir o epitélio de revestimento intestinal como: epitélio de revestimento presente nas vilosidades e epitélio de revestimento das criptas. O primeiro, composto por células absorptivas ou enterócitos, células caliciformes (*goblet*), células caliciformes (*cup*), células

* Técnica de laboratório - Especialista em Ciências Morfofisiológicas. Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá - PR.

** Professora Assistente do Departamento de Ciências Morfofisiológicas da Universidade Estadual de Maringá - PR.

Endereço para Correspondência: Av. Colombo, 5790, Bloco H-79. Maringá, PR. 87020-900. E-mail: mnrnatali@uol.com.br

enteroendócrinas, células caveoladas e células M, e o segundo, composto por células indiferenciadas, células caliciformes (*goblet*), células enteroendócrinas, células caveoladas e células de Paneth.

A definição dos elementos que compõem este epitélio pode ser analisada de forma satisfatória ao microscópio de luz através de técnicas histológicas de rotina. No entanto, para uma análise mais minuciosa, faz-se necessária uma adequação das técnicas já existentes, uma vez que devido às características ultraestruturais, alguns dos tipos celulares presentes no epitélio do intestino delgado necessitam de coloração específica.

O objetivo deste trabalho é a identificação de vários tipos celulares presentes no epitélio intestinal de ratos adultos, através da adequação ao processamento histológico rotineiro, utilizando como meio de inclusão o paraplast e o glicometacrilato, possibilitando melhoria do material didático para aulas práticas sobre o epitélio intestinal.

Material e Métodos

Foram utilizados segmentos das regiões iniciais e finais do intestino delgado de ratos machos (*Rattus norvegicus* Wistar), adultos, pesando em média 250 gramas, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá.

Os animais foram mantidos em jejum durante as 24 horas que antecederam o sacrifício, quando então foram anestesiados por inalação de éter etílico, procedendo-se a retirada do material destinado à elaboração dos preparados histológicos. Parte dos segmentos foram fixados em formol tamponado por 12 horas e parte dos segmentos fixados em formol neutro por 24 horas. Em seguida, todo o material foi conservado em álcool 70 °GL.

Após 24 horas, os segmentos fixados em formol tamponado foram incluídos em glicometacrilato (TECHNOVIT 7.100*), realizados cortes de 2 micrômetros com navalha de aço e corados pelos métodos de P.A.S (Ácido Periódico de Schiff) (BEÇAK & PAULETE, 1976) e pelo método da Hematoxilina-Eosina. Os segmentos fixados em formol neutro foram incluídos em paraplast, e realizados cortes de 4 micrômetros, sendo corados pelo método de Masson (BEÇAK & PAULETE, 1976).

O material incluído em paraplast foi desidratado em série ascendente de álcool 70 °GL até o álcool absoluto, diafanizados através de três

banhos de xilol por 10 minutos cada e montados sob lâmina e lamínula com resina sintética Permount.

O material infiltrado por glicometacrilato foi processado segundo método descrito (TECHNOVIT 7.100).

Resultados

Com a metodologia empregada, conseguimos melhores resultados na visualização morfológica de alguns tipos celulares presentes no epitélio de revestimento do intestino delgado.

Através da inclusão pelo glicometacrilato, observamos, de forma nítida, nas células absorptivas ou enterócitos, a borda em escova, localizada em sua superfície apical. Os núcleos alongados localizavam-se na metade basal das células de maneira uniforme, sendo que no citoplasma supra-nuclear, distinguimos quatro regiões de coloração distinta: borda em escova, área estreitada, clara, correspondente provavelmente a trama terminal, região basófila que sugere a grande concentração de retículo endoplasmático rugoso e liso e uma região de aparência mais clara, indicativo da presença do Complexo de Golgi. No citoplasma infra-nuclear, destaca-se uma leve acidofilia o que sugere a presença de mitocôndrias (Figura 1 e 2).

As células caliciformes foram encontradas intercaladas às células absorptivas tanto na região dos vilos como na região das criptas (Figura 1, 2 e 3). A forma de cálice característica, bem como o núcleo completamente deslocado para a região basal da célula foram bem evidenciados, sendo que o citoplasma supra-nuclear apresentou duas regiões distintas: região basófila, que indica a presença das organelas responsáveis pela produção de muco (retículo endoplasmático rugoso e Complexo de Golgi) e uma região superior, alargada, de aparência esvaziada na qual encontramos os grânulos contendo glicoproteínas (Figura 2). Estes grânulos são P.A.S. positivos, podendo ser distinguidos com facilidade por esta técnica (Figura 3).

As células de Paneth foram encontradas predominantemente na porção basal das glândulas intestinais e ocasionalmente na metade inferior das paredes laterais das vilosidades. Apresentando forma piramidal evidente e núcleo deslocado para a base, o citoplasma supra nuclear apresentou-se totalmente preenchido por grânulos acidófilos de diversos tamanhos (Figura 4 e 6).

* Manual do Fabricante- TECHNOVIT 7.100

Através da inclusão pelo paraplást e coloração pela prata amoniaca, foram visualizadas as células enteroendócrinas, de distribuição reduzida e localizadas principalmente no terço inferior das criptas, mas também observadas nas vilosidades. Algumas células eram pequenas, apresentavam formato triangular, e núcleo esférico levemente deslocado para a base das células. Envolvendo este núcleo, destacavam-se pequenos grânulos densos corados em marrom pelos sais de prata (Figura 5). Foram visualizadas outras células onde os grânulos encontravam-se em sua grande maioria na região basal. Quando coradas pela Hematoxilina-Eosina, as células enteroendócrinas apresentavam região citoplasmática clara, no local que estaria ocupado pelos grânulos (Figura 6).

As células indiferenciadas de localização restrita às glândulas intestinais, apresentavam o núcleo basal e citoplasma levemente basófilo. Algumas destas células foram vistas com figuras mitóticas (Figura 4 e 6).

Discussão e Conclusão

Quando se compara o epitélio de revestimento das vilosidades e o epitélio de revestimento das criptas, verifica-se diferenças na quantidade e ocorrência das células que compõem o epitélio do intestino delgado. Apesar de não serem quantificados neste trabalho, foi possível observar com clareza que no epitélio dos vilos, os tipos celulares mais freqüentes eram as células absorptivas e células caliciformes, enquanto no terço inferior das vilosidades e na porção basal das glândulas intestinais predominavam as células caliciformes, células de Paneth, células enteroendócrinas e células indiferenciadas. Estas observações são concordes com MADARA & TRIER (1987) e STEVENS & LOWE (1995), entretanto estes autores citam ainda a presença das células caveoladas e células M as quais não foram identificadas com as técnicas aqui utilizadas.

A caracterização morfológica da célula absorptiva ou enterócito, a qual tem função entre outras de absorção de nutrientes resultantes dos processos digestivos, como uma célula cilíndrica, núcleo alongado, borda em escova bem definida, enquadra-se na descrição de vários autores (WEISS & GREEP, 1981; ROSS *et al.*, 1993; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995).

Através de técnica histológica utilizando como meio de inclusão o glicometacrilato, cortes de 2 μ m

e coloração pela Hematoxilina-Eosina, foi possível distinguir 4 regiões de colorações distintas, as quais de acordo com MADARA & TRIER (1987), partindo da superfície apical, corresponderiam a borda em escova (região intensamente corada), região correspondente a trama terminal (região mais clara logo abaixo da borda em escova), região de concentração de retículo endoplasmático rugoso e liso (acentuadamente basófila) e região logo acima do núcleo, clara, indicando a presença do Complexo de Golgi. A região acidófila no citoplasma infranuclear sugere a presença de mitocôndrias.

MADARA & TRIER (1987) descrevem a existência de dois tipos de células caliciformes, a célula caliciforme (*goblet*), freqüentes e descritas comumente na literatura, responsáveis pela produção de muco e as células caliciformes (*cup*), comuns no epitélio de coelhos e cobaias, e raras no epitélio do rato, estas não possuem função definida e apresentam alguma semelhança com as células absorptivas. HAM (1977) refere-se à célula caliciforme *cup*, mencionando a presença de grânulos densos mucosos localizados na base da célula e raramente encontradas nas vilosidades.

A célula caliciforme, por nós observada apresentava forma semelhante a um cálice, com o núcleo deslocado para a base, abaixo e perifericamente aos grânulos de secreção, destacava-se uma região basófila indicando a presença do Complexo de Golgi, além de região supra-nuclear com grânulos contendo muco. Esta caracterização é compatível à descrição de vários autores como WEISS & GREEP (1981) e ROSS *et al.*, (1993).

As características morfológicas reveladas com nitidez no material obtido com a coloração através da Hematoxilina-Eosina, aliada à reação com P.A.S. indicando a presença do muco que se cora em vermelho violáceo, permite-nos classificar estas células caliciformes como do tipo *goblet*.

As células de Paneth foram localizadas na base das glândulas intestinais e ocasionalmente na metade inferior das paredes laterais das criptas. Apresentaram forma piramidal evidente, núcleo deslocado para a base e o citoplasma supra e perinuclear preenchido por grânulos eosinófilos de tamanho variado, descrição e localização semelhante ao descrito por ROSS *et al.* (1993). Segundo ERLANDSEN *et al.* (1974), a eosinofilia dos grânulos é devido a presença de lisozima, proteína altamente catiônica e bacteriolítica.

A preservação dos grânulos, bem como da

morfologia desta célula requer a fixação em formol tamponado, pois as misturas fixadoras contendo ácido acético impediriam a coloração destes grânulos.

As células enteroendócrinas visualizadas neste trabalho são compatíveis à descrição de FERREIRA & LEBLOND (1971) e STEVENS & LOWE (1995). Para evidenciarmos estas células foi necessário adaptarmos a técnica de Masson (BEÇAK & PAULETE, 1976), específica para células produtoras de hormônios, que utilizam as propriedades redutoras dos grânulos citoplasmáticos, aumento no tempo de impregnação, uma vez que o material foi infiltrado pelo paraplast. Quando infiltradas pelo glicometacrilato, estas células apresentaram artefatos de precipitação, mascarando a visualização dos grânulos.

Com a coloração pela Hematoxilina-Eosina identificamos a célula enteroendócrina como uma célula pequena, apresentando núcleo com a cromatina densa e citoplasma claro, descrição também encontrada em ROSS *et al.*, (1993).

As células indiferenciadas também denominadas de células cilíndricas basais ou “células fonte”, apresentaram-se com o citoplasma basófilo e núcleo deslocado para a base, eventualmente com figuras mitóticas. Estavam localizadas na base dos vilos e intercaladas a outras células presentes no epitélio das glândulas intestinais. Estas características e localização são também descritas por HAM (1977) e LEESON & LEESON (1977).

Não foi possível distinguir, no epitélio de revestimento, as células M. Segundo MADARA & TRIER (1987) e ROSS *et al.*, (1993) as mesmas só poderiam ser evidenciadas através de análise em microscopia eletrônica de transmissão.

As células caveoladas (*tuft*), também conhecidas como células em escova, multivesiculares ou fibrovesiculares descritas por Nabeyama & Leblond *apud* HAM (1977) e MADARA & TRIER (1987), não foram identificadas. Segundo estes autores é de ocorrência rara e de significado funcional desconhecido.

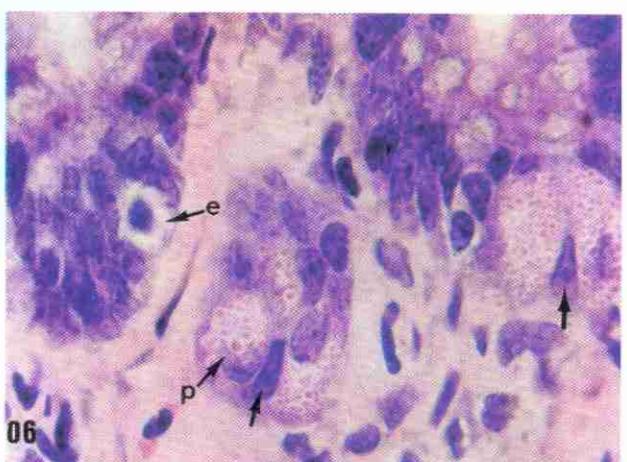
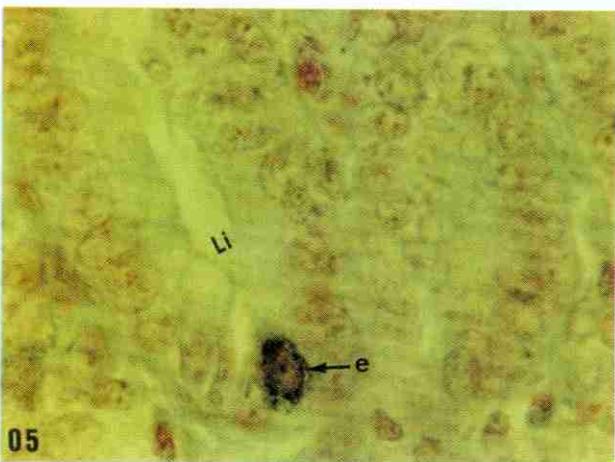
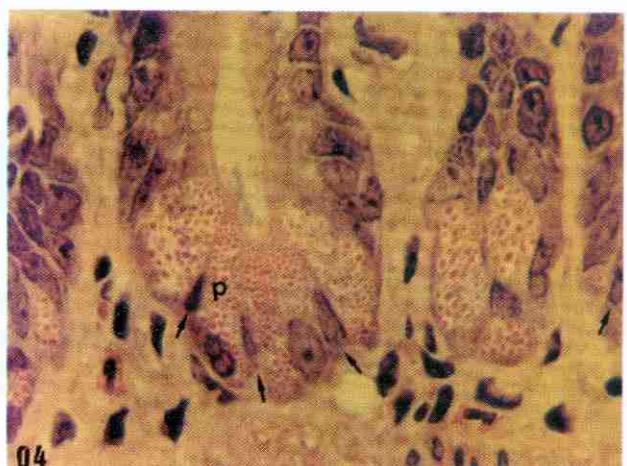
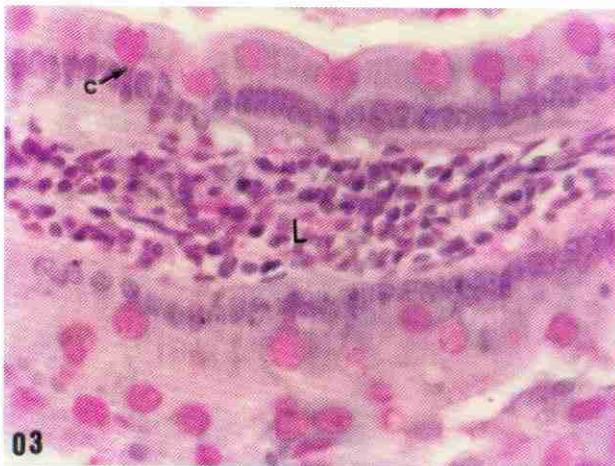
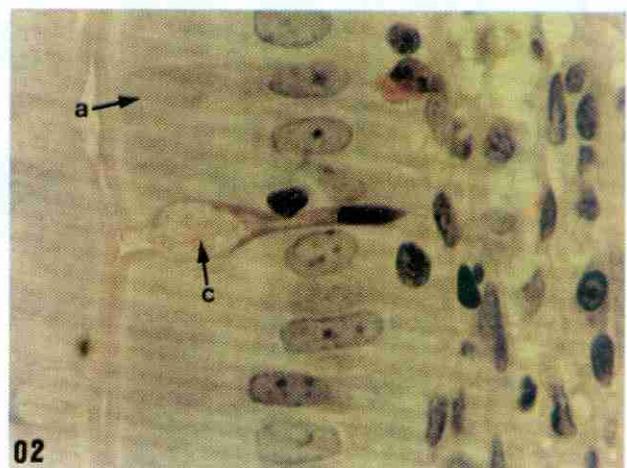
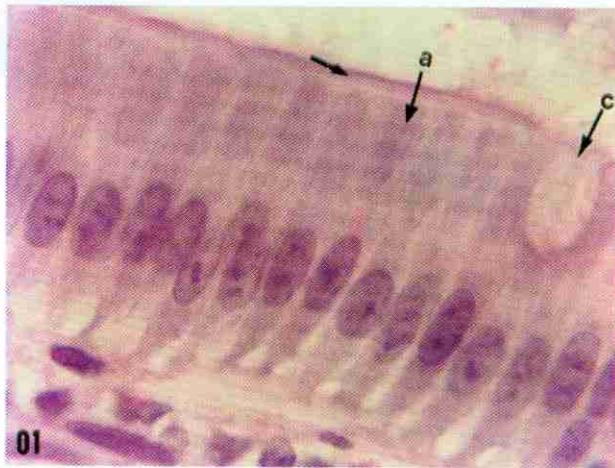
Desta forma, consideramos pertinentes as adequações propostas neste trabalho, uma vez que possibilitam a melhoria do material didático para o estudo prático da morfologia do epitélio intestinal.

Referências Bibliográficas

- BEÇAK, W.; PAULETE, J. *Técnicas de Citologia e Histologia*. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976. 305p.
- ERLANDSEN, S. L.; PARSONS, J. A.; TAYLOR, T. D. Ultrastructural immunocytochemical localization of lysozyme in the Paneth cells of man. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 22: 401, 1974.
- FERREIRA, M. N.; LEBLOND, C. P. Argentaffin and other endocrine cell of the small intestine in the adult mouse. II. *Renewal. American Journal of Anatomy*, 131, 1971.
- HAM, A. D. *Histologia*. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1977. 907p.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433p.
- LEESON, C. R.; LEESON, T. S. *Histologia*. Rio de Janeiro: Interamericana, 1977. 378p.
- MADARA, J. L.; TRIER, J. S. Functional morphology of the mucosa of the small intestine. In: Johnson L. R. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 2.ed. New York: Raven Press, 1987. p1209-1249.
- ROSS, M. H.; REITH, E. J.; LYNN, J. R. *Histologia*. 2.ed. São Paulo: Panamericana, 1993. 779p.
- STEVENS, A.; LOWE, J. S. *Histologia*. São Paulo: Manole, 1995. 378p.
- WEISS, L.; GREEP, R. O. *Histologia*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1981. 1016p.

Recebido em: 21/11/98

Aceito em: 19/03/99



LEGENDA

- FIGURA 1** - Corte transversal de 2 μ m do epitélio do segmento inicial do ID de rato, (a) célula absorptiva, (seta) borda em escova e (c) célula caliciforme. H.E. Filtro azul. 1500 X
- FIGURA 2** - Corte transversal de 2 μ m do epitélio do segmento inicial do ID de rato, (c) célula caliciforme, (a) célula absorptiva. H.E. Filtro azul. 1500 X.
- FIGURA 3** - Corte transversal de 2 μ m do segmento final do ID de rato, (c) célula caliciforme e (L) lâmina própria. P.A.S. Filtro azul. 802 X.
- FIGURA 4** - Corte transversal de 2 μ m do segmento final do ID de rato, (p) célula de Paneth, (setas) células indiferenciadas. H.E. 1500 X
- FIGURA 5** - Corte transversal de 4 μ m do segmento inicial do ID de rato, (Li) Glândula intestinal, (e) célula enteroendócrina. MASSON . Filtro verde. 1500 X.
- FIGURA 6** - Corte transversal de 2 μ m do segmento inicial do ID de rato, (e) célula enteroendócrina, (p) célula de Paneth e (seta) célula indiferenciada. H.E. Filtro azul. 1500X.