

HISTOLOGIA, HISTOQUÍMICA E MORFOMETRIA DA EPIDERMIS E DUCTOS SUDORÍPAROS DO TEGUMENTO DE EQUÍNOS.

HISTOLOGY, HISTOCHEMISTRY AND MORPHOMETRY OF THE EPIDERMIS AND DUCTS SUDORIFEROUS OF THE TEGUMENT OF HORSES.

N. A. ANDRIÃO¹, M. L. ARAÚJO², A. F. IBRAHIM³, J. W. CATTELAN⁴, C. CRUZ⁵

RESUMO

Com o objetivo de fornecer dados para futuras pesquisas sobre aclimação de equinos criados em clima tropical, um estudo sobre os aspectos histológicos e morfométricos do tegumento de equinos foi realizado. Foram retiradas amostras do tegumento de 12 equinos (seis machos e seis fêmeas), em três regiões corporais distintas (cervical, torácica e glútea). As amostras foram submetidas ao processamento histológico de rotina. O tegumento dos animais apresentou constituição histológica semelhante, nas três regiões analisadas. Nas reações histoquímicas, nas fêmeas foi encontrada maior quantidade de glicosaminoglicanas neutras quando comparada com os machos. Foram realizadas as contagens de ductos sudoríparos, calculadas as áreas dos ductos e medida a espessura da epiderme. Não houve diferença significativa entre o número e a área de ductos sudoríparos entre os parâmetros sexo e regiões do corpo; no entanto, a espessura da epiderme apresentou-se mais espessa em machos do que em fêmeas, nas regiões torácica e glútea.

PALAVRAS-CHAVE: Equinos. Morfometria. Histoquímica. Epiderme. Ductos sudoríparos.

SUMMARY

Aiming to provide data for future research on acclimation of horses raised in tropical climate, we carried out this work on the histological and morphometric aspects of the tegument of horses. Skin samples were taken from 12 horses (six males and six females) in three different body regions (cervical, thoracic and gluteal). The samples went through routine histological processing. The skin of the animals showed similar histological constitution in all three regions. Histochemical reactions in females showed higher amount of neutral glycosaminoglycans when compared to males. Sudoriferous duct counts areas were calculated and the epidermis thickness was measured. There was no significant difference between the number and area of sudoriferous ducts between the parameters sex and regions of the body; however, skin was found thicker in males than in females, in thoracic and gluteal regions.

KEY-WORDS: Horses. Morphometry. Histochemistry. Skin. Duct sudoriferous

¹ Médica Veterinária Mestranda do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária –FCAV-Unesp-Jaboticabal-SP. Rua: Chile, 1649. Jardim Canadá. CEP:14020-610- Ribeirão Preto-SP. End.Eletrônico: nicoleandriao@yahoo.com.br

² Professor Assistente Doutor do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal.- FCAV-Unesp-Jaboticabal-SP.

³ Bióloga Mestranda em Aqüicultura -FCAV-Unesp-Jaboticabal-SP.

⁴ Professor Adjunto do Departamento de Clínica e Cirurgia Veterinária. FCAV-Unesp-Jaboticabal-SP.

⁵ Biólogo Doutor. FCAV-Unesp-Jaboticabal-SP.

INTRODUÇÃO

Os equínos são bastante sensíveis às mudanças bruscas de temperatura e às precipitações pluviométricas exageradas, não se estabelecendo bem em regiões onde predominem os ventos sul (GIANNONI, 1971). O tegumento comum constitui a cobertura natural do corpo. Formado pela pele, com seus estratos e alguns anexos, como pêlos, glândulas sudoríparas e sebáceas, entre outros, constitui uma barreira entre o meio ambiente e o meio interno do organismo animal, protegendo-o contra agentes físicos, químicos e microbianos (LAVIELLE et al. 1985, BOUWSTRA et al.1998). Os pigmentos de melanina, presentes na epiderme, oferecem proteção contra a radiação ultravioleta, sendo indicadores de adaptação às altas temperaturas climáticas (AMAKIRI, 1979).

A espessura da pele do equino varia de 1 a 5 mm, nas diferentes regiões do corpo; as glândulas sudoríparas são de cor amarelada ou marrom, aparecendo em quase toda a superfície corpórea, sendo mais numerosas e maiores nas narinas, região do flanco, glândulas mamárias e prepúcio (SISSON, 1981).

As glândulas sudoríparas são muito desenvolvidas nos equínos e no homem, com papel importante no mecanismo de resfriamento do corpo. A sudorese resulta do bom funcionamento das glândulas sudoríparas, localizadas na pele, cuja secreção é eliminada por grande número de pequenos ductos, contribuindo assim, para regular a temperatura corporal e participar do bom funcionamento cutâneo.

Embora estudos tenham sido realizados, como: quantificar o deslocamento da pele da parte proximal dos membros no cavalo, durante a marcha (VAN WEEREN et al., 1990); investigar a histologia da pele da glândula mamária de égua (LUDEWIG et al. 1997); anatomia microscópica da pele do equino com referência especial à derme (WAKURI et al. 1995); anatomia microscópica da pele de equínos (TALUKDAR et al. 1972); e estudar a histologia da junção derme-epiderme da pele do cavalo (TALUKDAR et al. 1973), não foram encontrados trabalhos abordando as diferenças morfológicas, aspectos morfométricos e histoquímicos do tegumento de equinos. Assim os objetivos do presente trabalho foram: avaliar os aspectos histológicos e histoquímicos da epiderme e dos ductos sudoríparos e realizar a morfometria dos ductos sudoríparos e da epiderme de três regiões corporais (cervical, torácica e glútea) do tegumento desta espécie animal.

MATERIAL E MÉTODOS

Para realização desta pesquisa foram utilizados 12 equínos sem raça definida, adultos, sendo 6 machos e 6 fêmeas, provenientes do Hospital Veterinário da FCAV da UNESP, Campus de Jaboticabal. As biópsias de tegumento foram realizadas na região cervical (27 cm cranial à crista da escápula); região torácica (8ª costela – a 30 cm ventralmente às apófises espinhosas das vértebras torácicas) e região glútea

(15 cm lateral à coluna vertebral), após anestesia local por infiltração (Xilocaína 2%), com o auxílio de uma trefina com 1 cm de diâmetro na área de corte (ARAUJO, 1990).

Os fragmentos do tegumento foram fixados em solução de Bouin, por 48 horas. A seguir, o material foi transferido para o álcool 70 %, até a retirada do excesso de fixador. Após a retirada do fixador, os fragmentos de biópsia foram desidratados em série crescentes de etanol (70– 100%), diafanizados em xilol, embebidos e emblocados em parafina plástica (Histosec®Merck). Após a inclusão foram realizados a microtomia em micrótomo automático (Leica – RM 2155), obtendo-se cortes de 5 µm em seqüência semi-seriada (1corte/100µm desprezados). Após a microtomia os cortes foram corados em Hematoxilina-eosina.

As reações histoquímicas foram realizadas para a detecção de mucosubstâncias ácidas (AB pH 0,5; AB pH 2,5) e para detecção de glicosaminoglicanas neutras (PAS) e conjugadas (PAS+AB pH 2,5).

O processamento histoquímico e o histológico das amostras foram realizados no setor de Técnicas Morfológicas do Laboratório de Anatomia da FCAV/UNESP.

Utilizando-se um Sistema de Análises de Imagens (*Image Pro-Plus*® Media, Cybernetcs, USA), foram realizadas as medidas morfométricas da espessura da epiderme (camada celular), em micrômetros (µm), quantificados os ductos sudoríparos e calculado a área destes ductos em µm². Os dados obtidos nas análises morfométricas foram submetidos à verificação de distribuição normal e à análise de variância (ANOVA) e suas médias foram testadas pelo teste de Tukey 5 %.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O tegumento do equino apresentou constituição histológica semelhante, nas três regiões analisadas. A epiderme apresentou - se composta por um epitélio estratificado pavimentoso queratinizado, formado por três estratos (Figura 1B), As células da camada mais externa apresentaram núcleos achatados e estas em processo de queratinização e descamação. O segundo estrato apresentou-se constituído por duas camadas de células(espinhosa e granulosa) com núcleos arredondados em várias alturas. O estrato basal exibiu células com núcleos arredondados com coloração mais intensa. A epiderme continha algumas invaginações revestindo o folículo piloso e as glândulas sebáceas, como concluiu Watson et al (1990), em seus estudos com suínos. Na epiderme não houve reação com PAS (Figura 3A), AB 0,5 (Figura 2C), AB 2,5 (Figura 2B) e PAS + AB (Figura 3D). A derme apresentou-se constituída por tecido conjuntivo frouxo composto por fibras elásticas e colágenas, fibroblastos e fibrócitos. Nesta região, observou-se a presença de folículos pilosos e das glândulas sebáceas, envoltas pelo tecido epitelial de revestimento proveniente da invaginação da epiderme, além dos ductos sudoríparos (Figura 1A). Os ductos sudoríparos, localizados na região mais profunda da derme e em grupos, apresentaram um epitélio cúbico simples formado pelo arranjo das

células epiteliais semelhantes às células das glândulas sebáceas, porém seus núcleos ocuparam a região mais basal da célula (Figura 1C), semelhante a ROMUALDO (2003). Tais ductos reagiram fortemente ao PAS nas fêmeas (Figura 3B) e medianamente nos machos (Figura 3C), não apresentaram reação ao AB 0,5 (Figura 2A), ao AB 2,5 (Figura 2B) e ao PAS + AB (Figura 3E). Não se observou tecido adiposo na derme do equino, diferentemente de Romualdo (2003), que observou tecido adiposo na derme de suínos. O tegumento do equino apresentou características histológicas semelhantes às estruturas observadas em outros mamíferos, porém possuindo uma epiderme mais delgada e ausência de tecido adiposo, o que possivelmente, contribua na perda, sob forma direta, de grande quantidade de água e eletrólitos para o ambiente através da pele, proporcionando a diminuição da temperatura corporal. Isso demonstra que o mecanismo de termorregulação do equino parece estar intimamente ligado às características histológicas do tegumento, abrindo perspectivas para futuras pesquisas sobre aclimação desta espécie em clima tropical.

Quanto às análises morfométricas, os valores médios da área dos ductos sudoríparos, o número desses ductos e a espessura da epiderme, estão apresentados nas tabelas 2 e 3.

Quanto à área dos ductos sudoríparos não houve diferença significativa entre os parâmetros sexo (macho e fêmea) e região (cervical, torácica, glútea). Romualdo (2003), estudando a epiderme de suínos, encontrou diferenças significativas no perímetro dos ductos sudoríparos entre dois diferentes tipos de cruzamentos. Na quantificação dos ductos sudoríparos, não houve diferença significativa entre os parâmetros sexo e região, diferentemente do observado por Romualdo (2003), em que foi encontrada diferença significativa de número de ductos entre dois diferentes tipos de cruzamentos.

Após a análise estatística foi encontrada diferença significativa na espessura da epiderme entre equinos machos e fêmeas e entre as regiões cervical, torácica e glútea. Romualdo (2003) estudando a epiderme de suínos de dois diferentes tipos de cruzamentos também encontrou diferenças significativas de espessura entre essas.

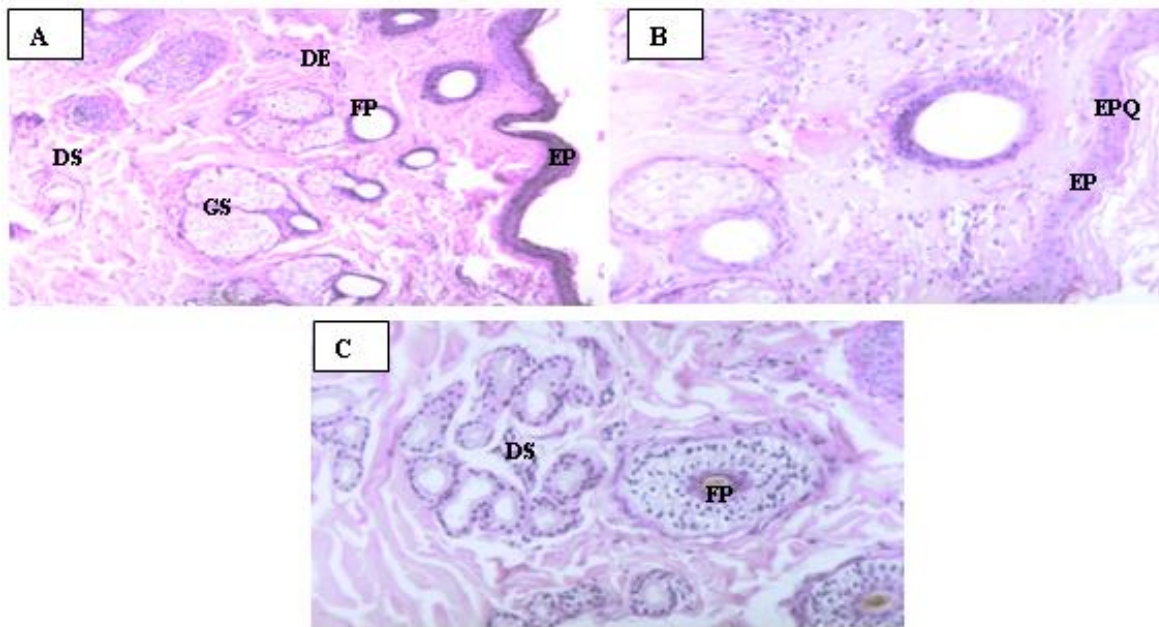


Figura 1- Fotomicrografia do tegumento de equino evidenciando: **A.** Epiderme (**EP**), com suas invaginações, a derme (**DE**) constituída de tecido conjuntivo frouxo, com folículos pilosos (**FP**), glândulas sebáceas (**GS**) e ductos sudoríparos (**DS**). Coloração H.E. 100x. **B.** Epitélio pavimentoso queratinizado da epiderme (**EP**), formado por três estratos. Coloração H.E. 200x. **C.** Ductos sudoríparos (**DS**), localizados na derme e em grupos, apresentando um epitélio cúbico simples. Folículos pilosos (**FP**). Coloração H.E. 200x.

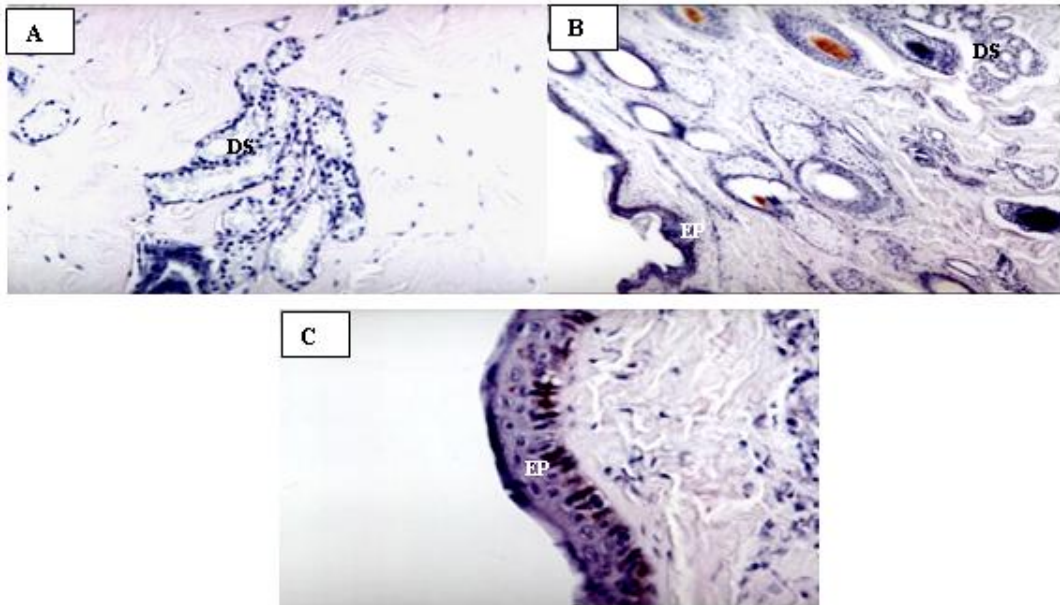


Figura 2- Fotomicrografia do tegumento de equino evidenciando: **A.** Reação negativa ao AB pH 0,5 nos ductos sudoríparos (**DS**) da pele de equino. 200x. **B.** Reação negativa ao AB pH 2,5 na epiderme (**EP**) e nos ductos sudoríparos da pele de equino. 200x. **C.** Reação negativa ao AB pH 0,5 da epiderme (**EP**) da pele de equinos. 200X.

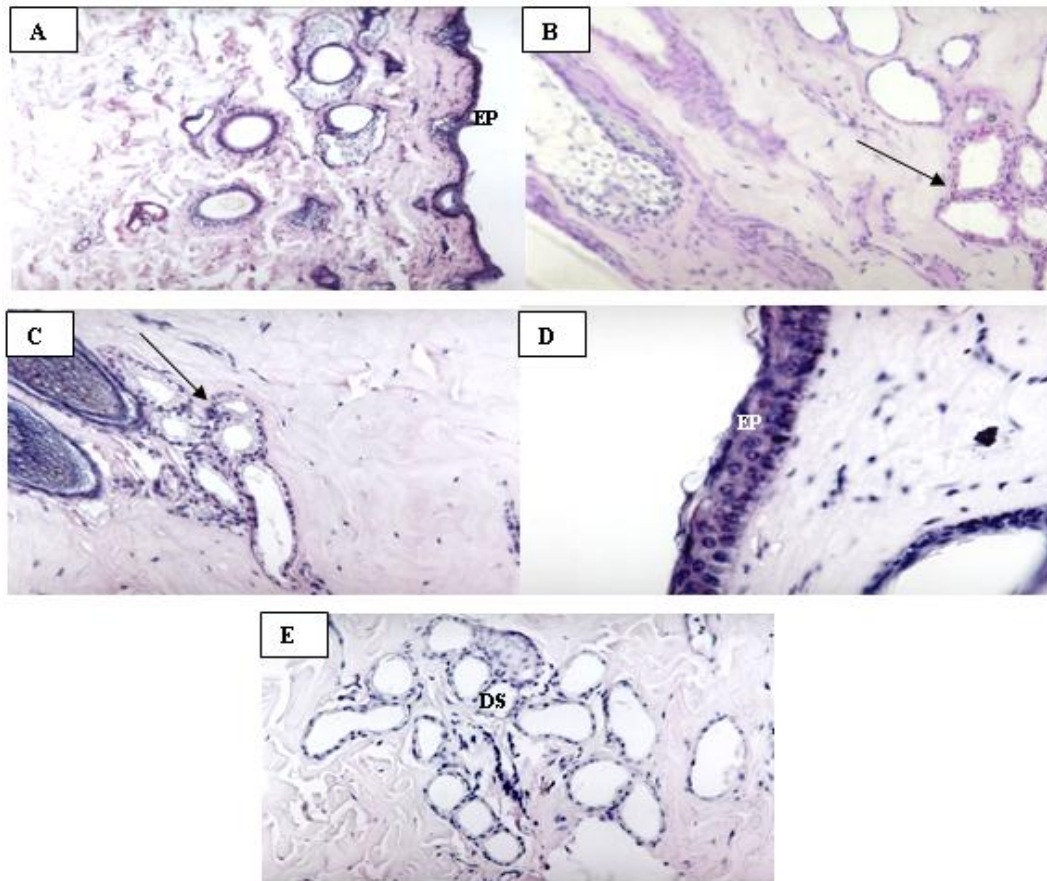


Figura 3- Fotomicrografia do tegumento de equino evidenciando: **A.** Reação negativa ao PAS na epiderme (**EP**) da pele de equino. 100x. **B.** Reação positiva ao PAS nos ductos sudoríparos (**seta**) da pele de equino fêmea. 200x. **C.** Reação positiva ao PAS nos ductos sudoríparos (**seta**) da pele de equino macho. 200x. **D.** Reação negativa ao PAS + AB na epiderme da pele de equino. 200x. **E.** Reação negativa ao PAS + AB nos ductos sudoríparos da pele de equino. 200x.

Tabela 1 - Resultado das reações de histoquímica aplicada aos ductos sudoríparos e a epiderme do tegumento de equínos. . Jaboticabal, FCAV-UNESP, 2005.

Reação de Histoquímica	Ductos sudoríparos		Epiderme	
	Macho	Fêmea	Macho	Fêmea
AB 0,5	-	-	-	-
AB 2,5	-	-	-	-
PAS	++	+++	-	-
PAS+AB	-	-	-	-

(+++) Fortemente corado; (++) Corado; (+) Fracamente corado; (-) Negativo.

Tabela 2 - Média \pm desvio-padrão do número de ductos sudoríparos, por campo (2.281.700 μm^2) e da área dos ductos sudoríparos em μm^2 , de equínos adultos sem raça definida de acordo com o sexo e a região corpórea. Jaboticabal, FCAV-UNESP, 2005.

Número de ductos sudoríparos				
Região Corpórea				
Sexo	Glútea	Cervical	Torácica	Média
Fêmea	22,10 \pm 4,93	29,64 \pm 6,54	22,73 \pm 7,29	24,82 \pm 3,41
Macho	23,13 \pm 7,46	23,12 \pm 4,36	19,08 \pm 4,11	21,78 \pm 1,91
Média	22,62 \pm 0,73	26,38 \pm 4,61	20,91 \pm 2,58	23,30 \pm 2,15

Área dos ductos sudoríparos				
Região Corpórea				
Sexo	Glútea	Cervical	Torácica	Média
Fêmea	415,56 \pm 34,51	367,49 \pm 29,65	382,22 \pm 62,46	388,42 \pm 20,11
Macho	392,39 \pm 43,13	372,82 \pm 39,15	377,84 \pm 38,20	381,02 \pm 10,29
Média	403,97 \pm 16,38	370,16 \pm 3,77	380,03 \pm 3,10	384,72 \pm 5,24

Tabela 3 - Média \pm desvio-padrão da espessura da epiderme em μm , de equínos adultos sem raça definida de acordo com o sexo e a região corpórea. Jaboticabal, FCAV-UNESP, 2005.

Espessura da epiderme			
Região Corpórea			
Sexo	Glútea	Cervical	Torácica
Fêmea	23,83 \pm 3,13a	52,57 \pm 17,03b	32,04 \pm 0,35a
Macho	60,15 \pm 20,45c	28,96 \pm 0,92d	32,37 \pm 1,89d

Médias não seguidas de mesma letra diferem pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade

CONCLUSÕES

O tegumento do equino apresentou características histológicas semelhantes às estruturas observadas em outros mamíferos, porém possuindo uma epiderme mais delgada e ausência de tecido adiposo, o que possivelmente, contribua na perda sob forma direta, de grande quantidade de água e eletrólitos para o ambiente, proporcionando a diminuição da temperatura corporal, confirmando que o mecanismo de termorregulação do equino está intimamente ligado às características histológicas do tegumento.

De um modo geral, histoquimicamente, o tegumento do equino não apresentou glicosaminoglicanas conjugadas e muco substâncias ácidas, indicando a ausência de secreção ácida pelas glândulas sudoríparas e ausência de conjugação entre proteínas ácidas e neutras na constituição do tecido. Foi constatada apenas a presença de glicosaminoglicanas neutras em suas estruturas. Nas fêmeas foi encontrada maior quantidade de glicosaminoglicanas neutras quando comparada com os machos.

Os achados morfométricos obtidos nesta pesquisa podem servir como valores de referência e subsidiar novas investigações sobre o tegumento de equinos, abrindo perspectivas para pesquisas adicionais sobre aclimação desta espécie em clima tropical.

AGRADECIMENTOS

À Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo) pelo apoio financeiro.

Proc. nº:04/13979-6

À Profa. Dra. Marcia R.F. Machado, pela disponibilidade do setor de técnicas morfológicas.

REFERÊNCIAS

AMAKIRI, S. F. Melanin and dopa-positive cells in the skin of tropical cattle. *Acta Anatômica*. v.103, p. 434-444, 1979.

ARAÚJO, M. L. **Contribuição ao estudo morfológico do tegumento de bovinos das raças Holandês Preto e Branco e Jersey**, 109 f. Tese (Doutorado em morfologia) – Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 1990.

BOUWSTRA, J. A., GOORIS, G. S., DUBBELAAR, F. E. R., WEERHEIM, A. M., Role of ceramid in molecular organization of stratum corneum lipids. *J. Lipid Research*, v.39, n.1, p. 186-196, 1998.

GIANNONI, M. A. **Equinocultura, manejo e alimentação**. Jaboticabal, 1971. p. 1-120.

LAVIELLE, R. E., GODOY, A. M. F., SANCHEZ, J. T. Comparison of the numbers of mast cells, eosinophils and melanocytes in the skin of indo-Brazilian and F1(Zebu x Holstein). *Vet. Medicin*. v.16, p.143-149. 1985.

LUDEWIG, T. Histological investigations on the skin of the mammary gland of mares. *Dtsch Tierarztl Wochensh*. v. 104, n.11, p. 471-474, 1997.

ROMUALDO, L. M. **Contribuição ao estudo morfológico do tegumento de suínos: epiderme e ductos sudoríparos**. Jaboticabal. p.1-50, 2003.

SISSON, S. **Anatomia dos animais domésticos - tegumento comum**. In GETTY, R. (Ed.), 5ª. ed., Rio de Janeiro, Interamericana, v.1, p. 1134, 1981.

TALUKDAR, A. H. A histological study of the dermo-epidermal junction in the skin of horse. *Res. Vet. Sci*. v. 15, n. 3, p. 328-32, 1973.

TALUKDAR, A. H., CALHOUN, M. L., STINSON A. W. Microscopic anatomy of the skin of the horse. *Am. J. Vet. Res*. v. 33, n. 12, p. 2365-90, 1972.

VAN WEEREN, P. R., van den BOGERT, A. J., BARNEVELD, A. Quantification of skin displacement in the proximal parts of the limbs of the walking horse. *Equine. Vet. J. (Suppl)*, n. 9, p. 110-8, 1990.

WAKURI, H., MUTOH, K., LIU, B. Microscopic anatomy of the equine skin with special reference to the dermis. *Okajimas. Folia. Anat. Jpn*. v. 72 n. 2-3, p. 177- 83 1995.

WATSON, S. A. J., MOORE, P. M. Postnatal development of the hair cycle in domestic pig. *Journal of Anatomy, Cambridge*, v.170, p.1-9, 1990.