

Descrição das réplicas vasculares de bolsas jugais da Hamster sírio dourado (*Mesocricetus Auratus*)**Description of the vascular replicas of Golden Syrian Hamster (*Mesocricetus Auratus*)**

DOI:10.34117/bjdv5n7-119

Recebimento dos originais: 14/06/2019

Aceitação para publicação: 09/07/2019

Jorge Luiz Peron de Souza Pinto

Acadêmico de Biologia da Universidade Federal de Pelotas

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Endereço: Avenida Duque de Caxias, 250 – Fragata, Pelotas – RS, Brasil

E- mail: jorgeluiz.tis@hotmail.com

Vinicius Faccin Bampi

Doutor em Medicina pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Instituição: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Endereço: Av. Ipiranga, 6681 - Partenon, Porto Alegre - RS, Brasil

E-mail: vfbampi@gmail.com

Maria Gabriela Tavares Rheingantz

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Endereço: Avenida Duque de Caxias, 250 – Fragata, Pelotas – RS, Brasil

E-mail: mgrheing@yahoo.com.br

Laura Beatriz Oliveira de Oliveira

Doutora em Biologia Celular e Molecular pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul

Instituição: Universidade Federal de Pelotas

Endereço: Avenida Duque de Caxias, 250 – Fragata, Pelotas – RS, Brasil

E-mail: centenooliveira60@gmail.com

RESUMO

As bolsas são divertículos bilaterais da mucosa da cavidade oral sob a forma de dedo. Este par de estruturas saculares, bilaterais e distensíveis, apresenta paredes finas e vascularizadas, que se apresentam como estruturas soltas sob o tecido cutâneo, ao longo do trecho dorsocaudal. A bolsa do hamster adulto consiste de duas regiões distintas, uma anterior e outra posterior. A região posterior é usada frequentemente para estudos microcirculatórios, por ser uma estrutura translúcida e por ser possível o acesso direto aos microvasos, considerando a possibilidade de eversão da bolsa e visualização direta. O Trabalho teve como objetivo analisar e descrever a angioarquitetura dos vasos da bolsa jugal de hamster sírio dourado. A técnica utilizada para este estudo foi corrosão vascular seguida de microscopia eletrônica de varredura. A análise descritiva das réplicas vasculares de corrosão demonstrou que as bolsas jugais compartilhavam

das mesmas características em sua microangioarquitetura, com ausência de alterações vasculares morfológicas indicativas de proliferação vascular.

Palavras chave: angioarquitetura, bolsa jugal, corrosão

ABSTRACT

The pouches are bilateral diverticula of the mucosa of the oral cavity in the form of a finger. This pair of sacral structures, bilateral and distensible, presents thin vascularized walls, which present as loose structures under the cutaneous tissue, along the dorsocaudal stretch. The adult hamster's pouch consists of two distinct regions, one anterior and one posterior. The posterior region is frequently used for microcirculatory studies, because it is a translucent structure and because direct access to the microvessels is possible, considering the possibility of eversion of the pouch and direct visualization. The objective of this study was to analyze and describe the angioarchitecture of the vessels of the golden syrian hamster jugal. The technique used for this study was vascular corrosion followed by scanning electron microscopy. The descriptive analysis of vascular replicates of corrosion showed that the jugal pockets shared the same characteristics in their microangioarchitecture, with no vascular alterations morphological indicative of vascular proliferation.

Keywords: angioarchitecture, jugal pouch, corrosion.

1 INTRODUÇÃO

Vários tecidos do hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*) da família Cricetidae são adequados para estudos da microcirculação. Em particular, a bolsa jugal, que é um fino saco retido por um longo, delgado e contínuo músculo retrator (WEST, 1958; SULLIVAN; PITTMAN, 1982).

As bolsas são divertículos bilaterais da mucosa da cavidade oral sob a forma de dedo (CHIASSEON, 1954; GILLETTE, 1957). Este par de estruturas saculares bilaterais distensíveis possui paredes finas e vascularizadas (HEAD; BILLINGHAM, 1985), que se apresentam como estruturas soltas sob o tecido cutâneo ao longo do trecho dorsocaudal (GHOSHAL; BAL, 1990).

Quando a bolsa está vazia e descontráida, apresenta mucosa com pregas. Estas pregas tendem a desaparecer quando as bolsas se expandem pelo armazenamento de alimentos ou outros conteúdos (GHOSHAL; BAL, 1990).

A bolsa do hamster adulto consiste de duas regiões distintas, uma anterior e outra posterior. (PRIDDY; BRODIE, 1948; DAVIS; FERRER; GORE, 1986). A região posterior é usada frequentemente para estudos microcirculatórios, por ser uma estrutura translúcida e por ser possível o acesso direto aos microvasos, considerando a possibilidade de eversão da bolsa e visualização direta (DULING, 1973; LOMBARD, 1982; SEGAL; DULING, 1986). O leito vascular na região posterior da bolsa tem sido considerado como vascularização similar à da

pele, enquanto o leito vascular que se relaciona com a região anterior é considerado como vascularização para nutrição de fibras musculares estriadas (DULING, 1973).

Os dois leitões fazem anastomose com os vasos do músculo retrator, que se insere na parede externa da bolsa, em torno da região média da mesma.

2 OBJETIVOS

O presente estudo teve como objetivo analisar e descrever a angioarquitetura dos vasos da bolsa jugal de hamster sírio dourado (*Mesocricetus auratus*).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do presente trabalho, foram utilizados quatro hamsters sírios dourados (*Mesocricetus auratus*), todos machos, com idade de cinco semanas ao início do estudo. Os animais apresentavam um peso médio de 70 gramas e foram obtidos do estoque da colônia mantida no Biotério da Universidade Federal de Pelotas.

As bolsas jugais utilizadas no presente estudo foram aquelas ditas controle em outros estudos realizados em nossos laboratórios, estando os animais com 90 dias de idade, portanto todos adultos jovens.

Todos os procedimentos experimentais realizados com os animais no presente estudo foram previamente aprovados pelo Comitê de Ética para o Uso de Animais (CEUA) da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

A técnica de perfusão dos vasos sanguíneos com resina, seguida de corrosão dos tecidos moles circundantes, foi escolhida para evidenciar o arranjo dos vasos sanguíneos da bolsa jugal de hamsters.

3.1 PERFUSÃO COM RESINA ACRÍLICA

Para a aplicação da técnica, quatro animais, após 90 dias do início do experimento, foram submetidos à anestesia, através de injeção intraperitoneal de cloridrato de quetamina (0,1 mg/g) (Dopamin[®], Laboratório Agribbrands, São Paulo, Brasil) e de xilazina (0,01 mg/g) (Anasedan[®] injetável, Laboratório Agribbrands, São Paulo, Brasil).

Uma vez anestesiados, foi realizada incisão para expor a cavidade torácica, com a imediata aplicação de heparina na cavidade ventricular esquerda (5000 UI na concentração de 0,001 ml/g de peso do animal). Posteriormente, a partir do átrio esquerdo, foi introduzida uma

sonda pediátrica número seis (Ibragamma-CBO Indústrias cirúrgicas e ópticas SA Campinas - São Paulo), que foi fixada por fio de sutura na origem da aorta ascendente.

Assim preparado, o sistema vascular foi perfundido com 50 mL de solução salina, seguida de 20 mL de paraformaldeído a 2% e novamente mais 20 mL de solução salina. O extravasamento das soluções perfundidas no átrio direito previamente incisado, assegurou o completo preenchimento dos vasos.

Posteriormente, foram injetados 10 mL da resina acrílica metilmetacrilato (Mercox® CL – 2RB, Ladd Research Industries, Burlington, VT), até que fosse observada o seu extravasamento.

3.2 CORROSÃO VASCULAR

Após o preenchimento vascular com resina, os animais foram mantidos imóveis em temperatura ambiente por duas horas, para a pré-polimerização da resina. Em seguida, a cabeça dos animais foi separada e submersa em água corrente a 40°C por uma hora, para dar continuidade ao processo de polimerização da resina.

Após este período, as bolsas jugais foram isoladas com os tecidos circunjacentes e armazenadas por 18 horas em um frasco com água destilada, para assegurar a polimerização final da resina. A água destilada do frasco de armazenamento das bolsas foi substituída por uma solução de NaOH a 4% (substância de corrosão dos tecidos moles) mantida a 45°C. A solução de NaOH foi trocada diariamente até que os moldes vasculares fossem totalmente visíveis e não apresentassem mais tecidos circunjacentes. O processo de corrosão das bolsas foi periodicamente avaliado através da visualização das peças em lupa estereoscópica, com o objetivo de estabelecer o ponto final do processo.

Este método foi uma adaptação do método descrito previamente por Lametschwandtner et al. (1984).

As peças completamente corroídas foram acondicionadas em uma estufa a 37°C, permanecendo nessa até o momento que fossem preparadas para análise em microscopia eletrônica de varredura.

3.3 ANÁLISE DAS RÉPLICAS VASCULARES POR MEV

Os moldes vasculares em resina foram fixados em bases de alumínio e levados ao aparelho metalizador (BAL-TEC modelo SCD 005), sendo cobertos inicialmente por duas camadas de carbono. Em seguida, os espécimes foram levados novamente a outro aparelho metalizador

(BAL-TEC CEA 035) por um período de 100 a 120 segundos, para receberem uma camada de aproximadamente de 30 nm de ouro puro.

Os espécimes foram então analisados no microscópio eletrônico de varredura Philips XL30 (Eindhoven, Holanda), com poder de resolução de 3,5nm, com uma tensão de aceleração dos elétrons (Acc.V) de 20kV, magnificações (Mag) de 20 a 8000 aumentos, uma distância de trabalho (WD) de pelo menos 9,8mm. O diâmetro do feixe de elétrons (*spot*) variou de 3 a 5, dependendo da magnitude usada para observar a imagem.

Os espécimes foram analisados seguindo um protocolo que previa a obtenção de uma imagem geral em 20 aumentos, que abrangia toda a réplica vascular. Essa foi segmentada com duas linhas imaginárias transversais ao longo eixo do espécime, dividindo-o em três campos. O campo mais próximo a comissura labial do animal foi denominado de rostral, o campo médio foi denominado de central e o campo mais posterior denominado de caudal (fundo da bolsa). Cada um dos campos foi então analisado e foram obtidas imagens com aumentos progressivos.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise descritiva das réplicas vasculares de corrosão demonstrou que as bolsas jugais compartilhavam das mesmas características em sua microangioarquitetura, associadas à ausência de alterações vasculares morfológicas indicativas de proliferação vascular.

Inicialmente, os vasos apresentaram diâmetros regulares ao longo de seu curso, assim como paredes lisas. As suas superfícies estavam livres de dilatações saculares e de constrições. Outros sinais de proliferação vascular, como *sproutings* ou pilares intusceptivos, não foram encontrados nessas amostras. As artérias, veias e os capilares foram facilmente diferenciados entre si devido a suas características morfológicas típicas, transcritas nos moldes de corrosão vascular, tais como a forma e a orientação das impressões nucleares das células endoteliais, a impressão de células musculares lisas da parede dos vasos e o padrão de ramificação.

O estudo das réplicas das bolsas jugais inteiras e de suas respectivas criosecções demonstrou a existência de duas camadas vasculares bem definidas: uma externa, denominada de adluminal; outra em contato com a luz do órgão, denominada de luminal.

Os vasos da camada adluminal apresentaram dois tipos de estrutura tridimensional: (1) uma rede vascular homogênea em seus dois terços anteriores, característica da irrigação de músculo estriado esquelético e (2) uma malha vascular enovelada em seu terço mais posterior (Figura 1).

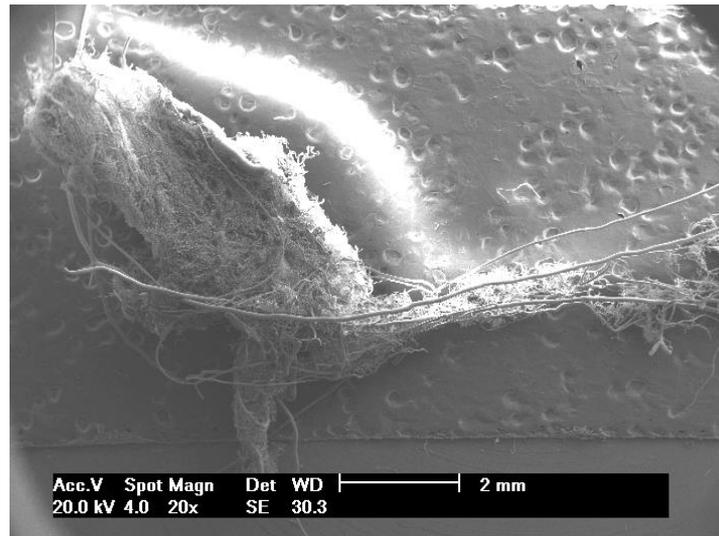


Figura 1. Face lateral de uma réplica vascular de uma bolsa jugal esquerda. Observar a forma cônica do órgão e as diferenças na angioarquitetura entre região anterior e posterior da camada adluminal da bolsa. MEV, Barra de escala: 2mm.

O padrão de angioarquitetura identificado na porção anterior desses moldes apresentava vasos homólogos arteriais e venosos de grande calibre, dispostos em paralelo, com um curso predominantemente retilíneo (Figura 2).

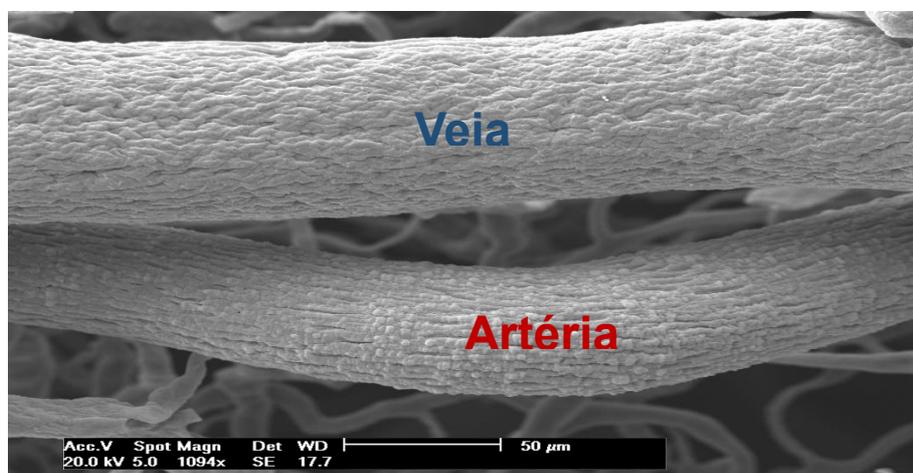


Figura 2. Vasos arteriais e venosos homólogos de grande calibre, dispostos em paralelo. Artéria em vermelho e veia em azul. MEV, Barra de escala: 50μm

Os capilares apresentavam um curso ligeiramente sinuoso, posicionando-se paralelamente entre si e percorrendo um trajeto longitudinal ao longo do maior eixo da bolsa. Esses vasos uniram-se para a formação de vênulas, as quais, por sua vez, se fundiram perpendicularmente a vasos venosos de maior calibre, dando origem às veias (Figura 3).

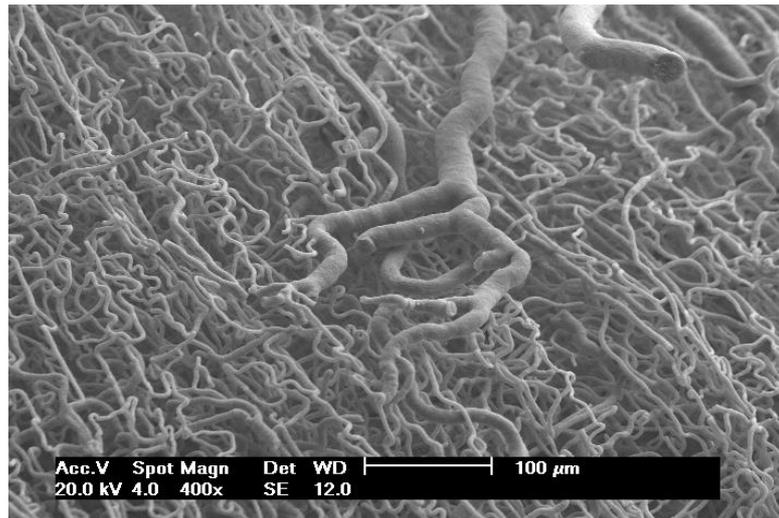


Figura 3. Capilares seguem um curso ligeiramente sinuoso, posicionando-se paralelamente entre si e percorrendo um trajeto longitudinal ao longo do maior eixo da bolsa. MEV, Barra de escala: 100 μ m.

O terço distal da camada superficial dessas réplicas de corrosão foi formado por arteríolas, vênulas e capilares enovelados, os quais circundavam a terminação em fundo cego do órgão. Esses vasos não apresentavam orientação definida, entretanto a hierarquia vascular mantinha-se preservada (Figura 4).

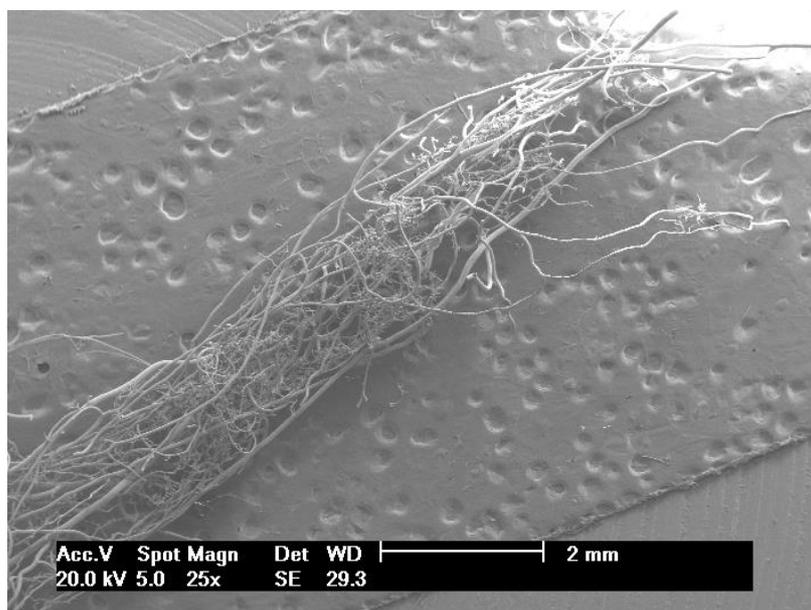


Figura 4. Região posterior da camada vascular adluminal de uma bolsa jugal esquerda. Observar que a porção posterior apresenta um arranjo vascular sem orientação definida porem apresentam hierarquia vascular. MEV; Barras de escala: 200 μ m

A camada luminal das bolsas esquerdas foi formada por um plexo capilar frouxo e homogêneo. Esses capilares formavam uma malha que recobria a superfície interna do órgão,

sendo conectados entre si por diversos pontos de anastomose. Os vasos dessa camada foram originados daqueles localizados na camada adluminal, os quais puderam ser observados posteriormente a essa rede capilar nas imagens das crioseções das bolsas.

5 CONCLUSÃO

As bolsas jugais apresentam uma hierarquia vascular normal, ou seja, uma rede arterial composta por vasos que se tornam menores à medida que se ramificam; os capilares sanguíneos apresentam-se delgados, constituindo uma rede complexa de túbulos finos que se anastomosam. As veias resultam da convergência dos vasos capilares em um sistema de canais que se tornam cada vez mais amplos. Seus vasos mantêm um diâmetro coerente com a fisiologia da bolsa.

REFERÊNCIAS

CHIASSON, R.B. The phylogenetic significance of rodent cheek pouches. **Journal of Mammalogy**, Lawrence, v. 35, p. 425-427, 1954.

DAVIS, M.J.; FERRER, P.N.; GORE, R.W. Vascular anatomy and hydrostatic pressure profile in the hamster cheek pouch. **The American journal of physiology**, Washington, v. 250, (2 Pt 2):H291-303, Feb. 1986.

DULING, B.R. The preparation and use of the hamster cheek pouch for studies of microcirculation. **Microvascular Research**, New York, v. 5, n. 3, p. 423-429, May 1973.

GHOSHAL, N. G.; BAL, H. S. Histomorphology of the hamster cheek pouch. **Laboratory animals**, London, v. 24, n. 3, p. 228-233, Jul. 1990.

GILLETTE, R. Normal growth and differentiation of hamster pouch epithelium. **The Anatomical records**, New York, v. 128, p. 555-556, 1957.

HEAD, J.R.; BILLINGHAM, R.E. Immunologically privileged sites in transplantation immunology and oncology. **Perspectives in biology and medicine**, Chicago, v. 29, n.1, p. 115-31, Autumn 1985.

Brazilian Journal of Development

LAMETSCHWANDTNER, A.; LAMETSCHWANDTNER, U.; WEIGER, T. Scanning electron microscopy of vascular corrosion casts-technique and applications. **Scanning Electron Microscopy**, Chicago, (Pt 2), p. 663-95, 1984.

LOMBARD, J.H.; BURKE, M.J.; CONTNEY, S.J.; WILLEMS, W.J.; STEKIEL, W.J. Effect of tetrodotoxin on membrane potentials and active tone in vascular smooth muscle. **The American journal of physiology**, Washington, v. 242, n. 6: H967-H972, Jun 1982.

PRIDDY, R.B.; BRODIE, A.F. Facial musculature, nerves and blood vessels of the hamster in relation to the cheek pouch. **Journal of morphology**, Philadelphia, v. 83, n. 2, p. 149-180, Sep. 1948.

SEGAL, S.S.; DULING, B.R. Flow control among microvessels coordinated by intercellular conduction. **Science**, Washington, v. 234, n. 4778, p. 868-870, Nov. 1986.

SULLIVAN, S.M.; PITTMAN, R.N. Hamster retractor muscle: A new preparation for intravital microscopy, **Microvascular research**, New York, v. 23, n. 3, p. 329-335, May 1982.

WEST, W.T. Histologic study of living striated muscle fibers in the cheek pouch of the golden hamster. **The American journal of anatomy**, Philadelphia, v. 103, n. 3, p. 349-373, Nov 1958.