

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GASTROENTEROLOGIA

DISTRIBUIÇÃO DAS FIBRAS OXITALÂNICAS, ELAUNÍNICAS E ELÁSTICAS
NA MUCOSA DO BULBO DUODENAL HUMANO NORMAL

T112
VILSON FERNANDO DE OLIVEIRA

Orientador

Prof. Dr. João Pedro Escobar Marques Pereira

PORTO ALEGRE, 1993

À Heloísa, Luiz Fernando e
Leonardo pelo amor.

A meus pais
pela minha formação.

À Profa. Julice Pinto Aillon
pelo grande apoio e incentivo
na minha carreira docente.

Meus agradecimentos

Ao Prof. Dr. João Pedro Escobar Marques Pereira, pela orientação desta dissertação e pelo incentivo científico;

Ao Prof. Dr. Sérgio Gabriel Silva de Barros, pela coordenação do Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia;

Ao Prof. Ismael Maguilnik, pelas endoscopias digestivas realizadas nesta dissertação;

À Profa. Silvia Maria Lannes de Campos, pela orientação e auxílio nas preparações histológicas;

Ao Prof. Carlos Thadeu Cerski, pelas avaliações histopatológicas das biópsias;

Ao Prof. Luiz Emílio Leo, pela revisão linguística;

Ao Serviço de Endoscopia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre;

Ao Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre;

Aos Técnicos Rejane Campos e Tokio João Batista S. Matsumura pelos cortes histológicos realizados e pelo auxílio no processamento das biópsias;

Ao Sr. João Graciano Endres da Silva, pelo auxílio na realização das fotografias;

À acadêmica Luciane Cristine Mallmann pela colaboração nas revisões bibliográficas;

Aos demais colegas que indiretamente colaboraram para a realização deste estudo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi	
RESUMO.....	viii	
ABSTRAT.....	x	
1	INTRODUÇÃO.....	1
1.2	<i>Objetivo.....</i>	5
2	REVISÃO DA LITERATURA.....	7
2.1	<i>Considerações gerais sobre o sistema elástico.....</i>	7
2.2	<i>Considerações gerais sobre a morfologia duodenal...</i>	18
2.3	<i>A mucosa duodenal: generalidades.....</i>	21
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	26
3.1	<i>Técnica da hematoxilina-eosina</i>	28
3.2	<i>Técnica do orcinol-neofucsina</i>	29
3.3	<i>Técnica da resorcina-fucsina</i>	30
3.4	<i>Técnica de oxidação pela oxona.....</i>	31
4	RESULTADOS.....	32
4.1	<i>Microscopia óptica.....</i>	32
4.1.1	<i>Hematoxilina e eosina.....</i>	32
4.1.2	<i>Orcinol-neofucsina.....</i>	35
4.1.3	<i>Resorcina-fucsina sem oxidação prévia pela oxona...</i>	35
4.1.4	<i>Resorcina-fucsina com oxidação prévia pela oxona...</i>	35
5	DISCUSSÃO.....	44
6	CONCLUSÕES.....	52
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	54	

LISTA DE FIGURAS

- Fig. 1 - Fotomicrografias de cortes com 4 micrômetros de espessura da mucosa do bulbo duodenal humano normal. Coloração: hematoxilina-eosina..... 34
- Fig. 2 - Fotomicrografias de cortes com 8 micrômetros de espessura da mucosa do bulbo duodenal humano normal. Coloração: orcinol-neofucsina, seletiva para fibras elásticas..... 37
- Fig. 3 - Fotomicrografias de cortes com 8 micrômetros de espessura da mucosa do bulbo duodenal humano normal. Coloração: resorcina-fucsina sem oxidação prévia pela oxona, seletiva para fibras elaunínicas e elásticas..... 39
- Fig. 4 - Fotomicrografias de cortes com 8 micrômetros de espessura da mucosa do bulbo duodenal humano normal. Coloração: resorcina-fucsina com oxidação prévia pela oxona, seletiva para fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas..... 41
- Fig. 5 - Desenho esquemático da mucosa do bulbo duodenal humano normal representando a presença e dis-

tribuição das fibras oxitalânicas (vermelho)	
elaunínicas (azul) e elásticas (verde).....	43

RESUMO

Nosso estudo tem como objetivo verificar a presença e distribuição das fibras do sistema elástico na mucosa do bulbo duodenal humano normal. Para isso, foram realizadas biópsias endoscópicas do bulbo duodenal de nove homens adultos voluntários, as quais foram histologicamente processadas e coradas seletivamente para as fibras do sistema elástico, e observadas através de microscopia óptica.

As técnicas de coloração seletiva utilizadas para fibras do sistema elástico foram: orcinol-neofucsina, para fibras elásticas; resorcina-fucsina de Weigert sem oxidação prévia, para fibras elaunínicas e elásticas; e resorcina-fucsina de Weigert com oxidação prévia, para fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas.

Através destas técnicas, nosso estudo revelou a presença de: a) descontínuas e curtas fibras elásticas localizadas somente na muscular da mucosa, exibindo características que sugerem tratar-se de estruturas fibrosas da parede dos vasos sanguíneos presentes nesta camada; b) fibras elaunínicas dispostas em uma linha subepitelial ao nível das vilosidades, ao redor das glândulas de Lieberkühn e de

Brunner, e na muscular da mucosa; c) fibras oxitalânicas dispostas em uma linha subepitelial ao nível das vilosidades, ao redor das glândulas de Lieberkühn e de Brunner, e na muscular da mucosa.

Esta distribuição pode sugerir a participação das fibras oxitalânicas e elaunínicas nas importantes e necessárias funções de suporte mecânico e mobilidade da mucosa bulbar.

Estes resultados nos permitiram a realização de um desenho esquemático da distribuição das fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas na mucosa do bulbo duodenal humano normal.

ABSTRACT

Our objective by means of this study is checking up on the presence and distribution of the elastic system fibers in the normal human duodenal bulb mucosa. For this purpose, were performed endoscopic biopsies on duodenal bulb of nine voluntary adult men, being such biopsies histologically processed and selective coloring for the fibers of the elastic system, and observed through optical microscopy.

The techniques of selective coloration used for elastic system fibers were as follows: orcinol-new fuchsin, to elastic fibers; Weigert's resorcin-fuchsin without oxidation, to elaunin and elastic fibers; and Weigert's resorcin-fuchsin with previous oxidation, to oxytalan, elaunin and elastic fibers.

Through these techniques, our investigations revealed the presence of: a) short and discontinuous elastic fibers localized only on the muscularis mucosae, exhibiting characteristics which suggest to be fibrous structures from the walls of blood vessels present in this stratum; b) elaunin fibers disposed in a subepitelial line at the

level of the villosities, around Lieberkühn's and Brunner's glands, and in the muscularis mucosae; c) oxytalan fibers disposed in a subepitelial line at the level of the villosities, around Lieberkühn's and Brunner's glands, and in the muscularis mucosae.

This distribution may suggest the participation of the oxytalan and elaunin fibers in the important and necessary functions of mechanical support and mobility of the bulbar mucosa.

These results gave us the possibility of realizing a schematic drawing of the distribution of oxytalan, elaunin and elastic fibers on the normal human duodenal bulb mucosa.

1. INTRODUÇÃO

A célula, por muitos anos, permaneceu como único objeto de estudo pela ciência biológica. Sempre despertou encantamento e foi vista como unidade morfo-funcional, auto-suficiente, independente e constituída de membrana, citoplasma e núcleo (COTTA-PEREIRA, 1984).

Desde a primeira série primária ao último grau universitário, o principal tema de ensino e aprendizado na Biologia, incluindo a Biologia Humana, é a célula. Nas ciências biomédicas, a patologia enfatiza as alterações de forma e comportamento da célula, deixando para um segundo plano o meio extracelular (COTTA-PEREIRA, 1984).

A noção de que todos os seres vivos multicelulares são formados por reunião de células que, ao longo de sua evolução, se especializaram para determinadas funções e constituíram os diversos tecidos, tem reforçado a aparente insignificância do espaço extracelular (COTTA-PEREIRA, 1984).

Nos organismos multicelulares, desde os mais primitivos até os seres mais evoluídos, algumas células devem ficar unidas para realizar uma função, outras devem ficar

separadas, e ainda outras necessitam de amplo movimento. Isto significa que os organismos multicelulares necessitam de uma variedade de materiais extracelulares com diferentes propriedades para atenderem às necessidades de cada grupo de células no desempenho de suas funções. Dentre tais substâncias que preenchem o espaço intercelular, e que formam a chamada matriz extracelular, ou intercelular, destacam-se as macromoléculas: colágeno, elastina, proteoglicanas e glicoproteínas (COTTA-PEREIRA, 1984).

A matriz extracelular é descrita habitualmente como constituída por dois grupos de compostos: os fibrosos, que inclui dois sistemas, o colágeno e o elástico; e a matriz fundamental, antigamente chamada de amorfa, formada por proteoglicanas e glicoproteínas (COTTA-PEREIRA e IRUELA ARISPE, 1989).

O meio extracelular é entendido como um complexo morfo-funcional em que os componentes realizam funções integradas. Ele apresenta, nas várias regiões do corpo, a predominância de um ou outro componente, o que o leva a desempenhar funções mais específicas, como, por exemplo, de resistência mecânica, de elasticidade, ou de difusão de alimentos e catabólitos (COTTA-PEREIRA, 1989).

A matriz extracelular adquiriu grande importância apenas nas últimas duas décadas. A descoberta e a

identificação de muitas doenças causadas por erros do metabolismo das macromoléculas da matriz extracelular, notadamente do colágeno, levaram os cientistas a reconhecer a substância intercelular como local de vital importância em patologia (BHANGOO e colaboradores, 1976; FONSECA e colaboradores, 1985, 1986; LABAT e colaboradores, 1990).

As fibras do sistema elástico: oxitalânicas, elaunínicas e elásticas, por serem algumas das componentes da matriz extracelular, têm sido alvo de estudos em vários tecidos e órgãos; sua distribuição é em geral correlacionada ao desempenho de função específica para cada tipo de fibra (FULLMER e LILLIE, 1956; FULLMER, 1958; GAWLIK, 1965; COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1975, 1976, 1977; LIMA, 1981; TRINDADE e colaboradores, 1990).

A elastina, uma das macromoléculas da matriz extracelular, foi decisivamente provada como constituindo a porção amorfa central das fibras elásticas quando, em 1969, Ross e Bornstein separaram e caracterizaram quimicamente e ultra-estruturalmente os componentes da fibra elástica.

No início da década de 70, Cotta-Pereira e seus colaboradores retomaram os estudos de Gawlik (1965), surgindo daí descrições pioneiras que têm contribuído para a melhor compreensão da biologia normal e patológica da matriz

extracelular. Bittencourt-Sampaio e Cotta-Pereira (1971), com base nessas pesquisas, descreveram a presença e a distribuição arquitetural das fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas na derme humana. Essas fibras haviam sido reunidas por Gawlik em um único sistema a que chamou de *sistema elástico*.

Foram de importância fundamental para o entendimento da correlação morfo-funcional entre as fibras do sistema elástico, as descrições pioneiras que até hoje são seguidas em todo mundo sobre a ultra-estrutura das fibras oxitalânicas (RODRIGO e COTTA-PEREIRA, 1973; COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1976) e das fibras elaunínicas (COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1975).

O caráter multidisciplinar da pesquisa científica proporcionará, como é enfatizado por Cotta-Pereira (1984), subsídios cada vez maiores para a compreensão dos problemas relacionados ao estudo da elastina e das fibras do sistema elástico aplicado à patologia. Nesse sentido, são importantes os dados provenientes do comportamento das fibras do sistema elástico na mucosa do bulbo duodenal humana normal.

O contato no Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul com colegas que já desenvolviam suas pesquisas com matriz extracelular, nos estimulou a desenvolver este estudo em mucosa duodenal.

Pelos dados bibliográficos disponíveis até o momento, não há qualquer informação sobre trabalho relacionado às fibras do sistema elástico na mucosa do bulbo duodenal humana normal.

O bulbo duodenal é o primeiro segmento do intestino delgado a receber o quimo do estômago; no duodeno e no jejuno ocorre a maior parte da digestão e absorção dos alimentos. A motilidade intestinal consiste basicamente em movimentos de segmentação e ondas peristálticas (DAVEMPORT, 1971).

Segmentação e peristalse, ou combinações destes padrões, ocorrem ao longo de todo o órgão, de tal forma que este poderia ser considerado como formado por um número infinito de unidades contráteis (AIRES, 1991). Desta forma, a mucosa do bulbo duodenal sofre ações de distensão e contração mecânicas, sendo bastante exigida nas condições fisiológicas normais e pode ser sede, com frequência, de patologias que alterem sua integridade (SOLL, 1989).

1.2 *Objetivo*

Havendo a possibilidade de se coletar endoscopicamente "in vivo", fragmentos da mucosa bulbar humana, o presente trabalho foi realizado com o seguinte objetivo:

- identificar e estudar a distribuição das fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas na mucosa do bulbo duodenal humano normal.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 *Considerações gerais sobre o sistema elástico*

Fleming, em 1759, relatou, pela primeira vez, estruturas com características elásticas, sendo o responsável pelo reconhecimento da elasticidade do sistema vascular que foi comparada com a que se observa na borracha (HASS, 1939).

Os estudos realizados de Anatomia Comparada foram os mais importantes para o conhecimento pioneiro sobre a existência de estruturas fibrosas dotadas de propriedades elásticas no organismo. Hunter, em 1786, demonstrou, em pescoço e abdômen de quadrúpedes, a ocorrência de ligamentos elásticos que atuavam juntamente com os músculos, de modo a contribuírem para a manutenção dos órgãos em sua posição normal (POLICARD e COLLET, 1961).

Bichat, criador da Anatomia Geral, em 1801 publicou uma importante obra em que classificou os tecidos do organismo, entre os quais incluiu o "tecido fibroso". Ele assinalou que tal tecido "constituía-se basicamente de um tipo de fibra de natureza especial, dura, um pouco elástica,

insensível e quase desprovida de contratilidade, mas que se reunia a outras, formando uma rede de fibras cruzadas, como nas membranas, nas cápsulas ou bainhas fibrosas. Em qualquer dos casos, sempre apresentava cor esbranquiçada ou acinzentada e era de uma resistência bem marcante" (BICHAT, 1801). Nesta citação, Bichat referia-se a uma das variedades do tecido fibroso, aquela que era esbranquiçada e pouco elástica.

Em uma de suas descrições, Bichat comenta:

"Colocando em ebulição todas as partes do sistema fibroso, eu observei que os tendões amoleciam primeiro, a seguir as aponeuroses, depois, as membranas, as cápsulas e bainhas fibrosas e, finalmente, os ligamentos que na maceração levam mais tempo para ceder. Alguns já fizeram essa observação, à qual eu acrescento que todos os ligamentos não resistem da mesma maneira. Aqueles que se situam por entre as lâminas vertebrais são os mais difíceis, e não adquirem a cor amarelada e a semitransparência comuns a todo o sistema fibroso em ebulição; eles permanecem esbranquiçados e endurecidos, parecendo conter muito menos gelatina e ser inteiramente diferentes em sua natureza" (BICHAT, 1801).

Conforme Béclard, estes ligamentos pertenceriam a uma outra divisão do sistema fibroso confundida, durante muito tempo, com os outros órgãos do mesmo nome, mas que diferiam por uma série de propriedades, tratando-se do tecido fibroso amarelo ou elástico (BICHAT, 1830).

Em 1819, Cloquet distinguiu o tecido elástico do

então chamado tecido fibroso. O tecido elástico era considerado na época como constituído por uma substância homogênea (POLICARD e COLLET, 1961).

Cloquet, em 1825, fez observações sobre o tecido elástico, ao destacar a analogia entre o ligamento amarelo, a túnica média das artérias, o ligamento cervical e a membrana dos pulmões, reunindo-os num sistema que denominou de "sistema elástico" (CLOQUET, 1825). Lauth, em 1834, descobriu as fibras que constituem o tecido elástico (BOURGERY, 1854; LEFERT, 1897).

É atribuído a Tilamus, em 1840, o primeiro processo de purificação da elastina a partir dos tecidos elásticos (RICHARDS e GIES, 1902).

As fibras elásticas foram descritas, pioneiramente, do ponto de vista histológico, por Henle, em 1841 (DUVAL, 1900).

Müller, em 1847, observou o aparecimento de fibras elásticas na "substância fundamental ou intercelular" de cartilagem, que era primitivamente do tipo hialino (DUVAL, 1900).

Von Ebner, em 1870, é considerado o responsável pelas primeiras demonstrações de fibras elásticas através de técnicas de coloração (POLICARD e COLLET, 1961).

Em fins do século passado e início deste século, foram descobertas muitas técnicas que evidenciavam, histologicamente, as fibras elásticas, sendo muitas delas utilizadas até os nossos dias. Algumas delas são: orceína (UNNA, 1890), resorcina-fucsina (WEIGERT, 1898), hematoxilina férrica (VERHOEFF, 1908), aldeído-fucsina (GOMORI, 1950) e orcinol-neofucsina (FULLMER e LILLIE, 1956). Estas descobertas foram de grande importância sob o ponto de vista anatômico, já que permitiram localizar e observar a disposição das fibras elásticas nos diversos tecidos e órgãos. Os mecanismos de reação destes corantes até hoje não são conhecidos, razão pela qual as técnicas que os utilizam são consideradas empíricas e seus resultados, seletivos.

Fullmer, em 1958, utilizando a técnica do aldeído-fucsina com oxidação prévia pelo ácido peracético, estudou as alterações do colágeno decorrente do envelhecimento em mandíbulas e dentes humanos. No ligamento periodôntico, observou a presença de muitas fibras que se coravam em púrpura brilhante, interpostas entre algumas outras que não reagiam ao corante. As fibras que não se coravam pelo aldeído-fucsina eram, supostamente, fibras colágenas; as que se coravam em púrpura, não eram identificadas por corantes para fibras reticulares nem para fibras nervosas; também não eram reveladas pela hematoxilina férrica ou

orcinol-neofucsina, corantes para fibras elásticas (CARMICHAEL e FULLMER, 1966).

Estas fibras foram denominadas de *oxitalânicas* devido à sua resistência à solubilização em ácidos, em contraste com o colágeno (literalmente, *oxitalânica* significa: resistência a ácido) (FULLMER e LILLIE, 1958; GOLDFISHER e colaboradores, 1983). Fullmer e Lillie (1958) realizaram as descrições originais das fibras *oxitalânicas*, citando-as como presentes não só em membranas periodonticas de ratos, camundongos, cobaios e humanos, mas também em tendões, ligamentos, adventícias de vasos sanguíneos, bainhas conjuntivas em torno de anexos da pele, perineuro e epineuro. Sua distribuição parecia ser restrita a locais submetidos a forças mecânicas.

Vários autores têm descrito fibras *oxitalânicas*, sugerindo seu desempenho em funções de resistência e força mecânica: Hasegawa (1960), Bittencourt-Sampaio e Cotta-Pereira (1971), e Cotta-Pereira e colaboradores (1976) que as descrevem na pele; Rannie (1963), na membrana periodontica; Cotta-Pereira e colaboradores (1974) e Allodi (1983), no ligamento suspensor do cristalino; Rodrigo e colaboradores (1975), nos tendões e ligamentos; Trindade (1990), na mucosa gástrica; Wacui e colaboradores (1991), na dobra oblíqua da mucosa do cólon proximal do rato.

Gawlik (1965), ao estudar tendões humanos, observou a presença de fibras elásticas espessas que se coravam pela hematoxilina férrica (VERHOEFF, 1908) e orcinol-neofucsina (FULLMER e LILLIE, 1956). Quando os cortes eram previamente oxidados com ácido peracético e corados pela orceína (UNNA, 1890) ou pela resorcina-fucsina (WEIGERT, 1898) ou pela aldeído-fucsina (GOMORI, 1950), o autor pôde observar a presença das fibras oxitalânicas descritas por Fullmer e Lillie (1958). Em certas regiões, encontrou fibras que apresentavam uma estrutura intermediária entre as elásticas e as oxitalânicas. Estas fibras eram evidenciadas pela resorcina-fucsina, orceína e aldeído-fucsina, mesmo sem oxidação prévia. A elas Gawlik (1965) denominou fibras *elaunínicas*.

Gawlik (1965), estudando aortas de embriões humanos, constatou que na fase inicial do seu desenvolvimento, as lâminas elásticas apresentavam afinidades tintoriais semelhantes às fibras oxitalânicas, mas que depois se comportavam como fibras *elaunínicas* e, por fim, coravam-se pelas técnicas seletivas para fibras elásticas, o que sugeria que estas fibras ocorressem de maneira seqüencial durante a elastogênese normal. Segundo este autor, as fibras oxitalânicas e *elaunínicas* podem ser encontradas tanto como elementos elásticos independentes, em tecidos adultos, como fazendo parte na seqüência do desenvolvimento ontogenético

das fibras elásticas.

Estes três tipos de fibras: oxitalânicas, elaunínicas e elásticas foram reunidas por Gawlik (1965) num conjunto ao qual denominou *sistema elástico*.

Muitos órgãos apresentam, transitoriamente, distensibilidade em suas funções normais quando submetidos a forças internas e externas. Esta característica é associada à presença de componentes fibrosos com propriedades elásticas, que possuem capacidade de restaurar sua forma original. Isto é típico do que ocorre no pulmão, aorta, pele, tendões e ligamentos, todos ricos em fibras elásticas, que se estiram facilmente e voltam às suas dimensões originais, uma vez cessada a força distensora, sem nenhum gasto de energia (FAWCETT, 1986).

As fibras do sistema elástico são consideradas providas de resistência às freqüentes tensões mecânicas, a que o epitélio é submetido nos órgãos intestinais ocoss (WACUI e colaboradores, 1991; TRINDADE, 1990). Isto sugeriu que a própria riqueza de fibras elásticas com alto conteúdo de elastina tem finalidade de absorver os choques de distensão e compressão, enquanto as fibras elaunínicas e oxitalânicas estão associadas com resistência mecânica. Esta idéia tem sido sustentada pela observação das fibras elaunínicas e oxitalânicas localizadas em áreas de tensão mecânica fre-

güente, tais como na derme, tecido periodôntico, ligamentos, adventícia de vasos sanguíneos, epineuro, tendões, cartilagem fibrosa, mucosa gástrica humana normal e dobra oblíqua da mucosa do cólon proximal do rato (FULLMER e LILLIE, 1958; GAWLIK, 1965; COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1976; TRINDADE, 1990; WACUI e colaboradores, 1991).

Wolpers, em 1944, realizou um dos primeiros estudos sobre a estrutura das fibras elásticas ao microscópio eletrônico, observando uma subestrutura "fibrilar" relacionada com um material amorfo.

Com os estudos de Greenlee e colaboradores (1966), a fibra elástica foi descrita como sendo constituída por dois componentes distintos. Ross e Bornstein (1969) denominaram estes componentes de "microfibrila da fibra elástica" e de "material amorfo". Estes autores demonstraram efetivamente que a fibra elástica é constituída de duas porções: uma central composta de elastina, chamada amorfa, e outra de aspecto microfibrilar, formada de glicoproteínas, de composição completamente diferente do componente central amorfo. Utilizando técnicas de extrações enzimáticas, esses pesquisadores separaram quimicamente os dois componentes da fibra elástica, caracterizando-os pela microscopia eletrônica e através da análise de seus aminoácidos. Demonstraram, também, que as microfibrilas eram digeríveis por enzimas, tais como tripsina, quimiotripsina e pepsina, em contraste

com a elastina, só digerível pela elastase.

Fahrenbach e colaboradores (1966), e Greenlee e colaboradores (1966), observaram que as primeiras fibras elásticas a se formarem no ligamento cervical bovino, durante o desenvolvimento fetal, consistiam de feixes de microfibrilas sem componente amorfo.

No desenvolvimento de uma fibra elástica, o componente microfibrilar é o primeiro que aparece, vindo depois a ser depositada a elastina, provavelmente devido a uma interação iônica entre a elastina e a superfície microfibrilar, como consequência de suas cargas opostas (ROSS e BORNSTEIN, 1969; INQUÉ e LEBLOND, 1986).

À medida que a idade fetal avança, o componente amorfo aparece gradativamente na porção central da fibra. Quando esta alcança a maturidade, cerca de 90% de seu diâmetro é constituído de material amorfo (FAHRENBACH e colaboradores, 1966; GREENLEE e colaboradores, 1966).

A elastase atua provocando a digestão em grandes áreas do componente amorfo da pele humana de crianças e de adultos jovens; por outro lado, pequenas áreas são digeridas na pele de pessoas mais velhas. O material amorfo torna-se mais resistente à ação da elastase com o passar da idade. O mecanismo de ação da elastase sobre a elastina não tem sido completamente esclarecido (TSUJI, 1987). Robert e

Robert (1980) têm sugerido a existência de sítios de fixação específicos da elastase sobre a superfície da fibra elástica e mostra que a elastase ataca preferencialmente a fibra na qual ela está absorvida.

As microfibrilas têm diâmetro de 10 a 12 nm e estrutura tubular. O componente microfibrilar das fibras elásticas é rico em glicoproteínas, com alto conteúdo de aminoácidos polares e cistina, não contendo hidroxiprolina, hidroxilisina e desmosina, o que difere da elastina (ROSS e BORNSTEIN, 1969).

Sakai e colaboradores (1986), usando de anticorpos monoclonais e microscopia eletrônica, demonstraram que uma nova glicoproteína de 350.000 Daltons, a qual é chamada por eles de fibrilina, é o maior componente estrutural glicoproteico das microfibrilas. As microfibrilas são estruturas compostas por várias glicoproteínas. Não há uniformidade no número e proporção das diferentes glicoproteínas presentes nas estruturas microfibrilares (SAKAI e colaboradores, 1986; LABAT e colaboradores, 1990).

A fibrilina está presente nas microfibrilas associadas ou não com o componente amorfo. A fibrilina é comum nos microfilamentos da membrana basal da junção dermoepiderme, nos microfilamentos do tecido elástico da aorta e cartilagem do ouvido, e nos microfilamentos dos tecidos com

pouca elastina, como a córnea, tendão, zônula ciliar. A imunofluorescência localizou a glicoproteína no tecido conectivo alveolar, glomérulo renal e bainha dos músculos. Estes dados têm demonstrado a presença de fibrilina em tudo morfológicamente similar às microfibrilas de 10 nm, o que tem sugerido ser o único sistema de microfibrilas existentes no espaço do tecido conectivo (CARRINGTON e colaboradores, 1984; FANNING e CLEARY, 1985; SAKAI e colaboradores, 1986).

Esta seqüência de fibras do sistema elástico pode representar o processo normal de elastogênese ou resultar de uma parada no desenvolvimento da fibra elástica em qualquer etapa, por fatores ainda não determinados (COTTA-PEREIRA e IRUELA ARISPE, 1989). À medida que se realiza o desenvolvimento embrionário, as fibras oxitalânicas e elaunínicas estabelecem sua composição definitiva de fibras com características de resistência mecânica, e as fibras elásticas adquirem sua elasticidade (COTTA-PEREIRA, 1984; ALBERT, 1972).

Schwartz e Fleischmayer (1986), estudando por imunocitoquímica as fibras do sistema elastodérmico, concluíram que as fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas fazem parte de uma seqüência no processo de elastogênese.

Em vários órgãos, as fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas se comportam de maneira integrada, dando origem a um sistema elástico de fibras (COTTA-PEREIRA e IRUELA ARISPE, 1989). Isto foi estudado na pele (COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1976, 1978), na corda tendínea do músculo papilar do complexo mitral de corações humanos (PORTO, 1983), na mucosa traqueal e brônquica (BOCK e STOCKINGER, 1984), nos nervos periféricos (FERREIRA e colaboradores, 1987), na gengiva (CHAVRIER e colaboradores, 1988) e esôfago humano (CARVALHO, 1987).

Os invertebrados não são portadores de elastina, enquanto os vertebrados apresentam elastina, exceto os ciclóstomos. Vários autores têm estudado o sistema elástico do ponto de vista filogenético, como Sage e Gray (1977, 1979, 1980), Porto e colaboradores (1980), Sage (1982) e Lannes de Campos (1987) e Schinko e colaboradores (1992).

2.2 *Considerações gerais sobre a morfologia duodenal*

O duodeno é o primeiro segmento do intestino delgado, iniciando logo após o término do estômago, ao nível do lado direito da primeira vértebra lombar. Estende-se do esfíncter pilórico à flexura duodeno-jejunal, numa extensão total de aproximadamente 25 cm. Apresenta-se em forma de C, rodeando a área que é ocupada pela cabeça do pâncreas. Este segmento do intestino delgado é claramente

diferenciado do restante por sua posição profunda, marcada fixação e sua conexão com ductos secretores do fígado e pâncreas. Seu lúmen é maior que aquele do jejuno, o qual o segue (LOCKART e colaboradores, 1983; ANSON e McVAY, 1984; SLEISENGER e FORDTRAN, 1989).

O duodeno é um órgão retroperitoneal secundário com exceção do bulbo, seu segmento inicial, que é intraperitoneal e apresenta uma extensão de 2,5 cm (LOCKART e colaboradores, 1983).

O bulbo duodenal, a única porção do duodeno revestida completamente pelo peritônio, é o segmento inicial dilatado deste órgão. Ele se estende do piloro ao cruzamento da artéria gastroduodenal que transita posteriormente a primeira porção do duodeno (ANSON e McVAY, 1984 e SKANDALAKIS e colaboradores, 1989).

A porção bulbar do duodeno apresenta uma mucosa e submucosa apoiadas sobre uma camada muscular circular interna e uma camada muscular longitudinal externa, sendo esta última revestida externamente pelo peritônio (NETTER, 1975; TESTUT e JACOB, 1977).

O quimo que provém do estômago, chega nos primeiros segmentos do duodeno, ocorrendo então a ação das secreções biliares e pancreáticas. Estas áreas estão sob a ação de movimentos de distensão e contração, o que exige muito de

suas paredes (DAVEMPORT, 1971).

A observação a olho nu da mucosa duodenal humana evidencia uma série de pregas circulares ou espirais de forma semilunar, chamadas plicas circulares, válvulas coniventes ou válvulas de Kerckring, que são projeções da mucosa e da submucosa. Elas têm início a poucos centímetros do piloro e alcançam até 1 cm de altura e 5 cm de comprimento, realizando um grande aumento da superfície da mucosa (MADARA e TRIER, 1987).

No duodeno mais proximal, as pregas e mesmo as vilosidades na superfície da mucosa são freqüentemente distorcidas pelos nódulos linfáticos, tanto quanto pelos ramos das glândulas acinares, glândulas de Brunner, que contêm células do tipo mucoso. Apesar de localizadas na submucosa, regularmente penetram na mucosa, e esvaziam seu conteúdo de secreção rica em bicarbonato e glicoproteína no lúmen duodenal (WEISS, 1983).

Os ductos das glândulas de Brunner são curtos e atravessam a muscular da mucosa para terminarem na base das criptas ou glândulas de Lieberkühn da mucosa (CORMACK, 1987).

Com uma lente de aumento, aparecem com clareza as vilosidades duodenais. Estas estruturas são projeções da membrana mucosa, epitélio e lâmina própria, que se projetam

na luz do duodeno. Seu comprimento na mucosa bulbar varia de 0,33 mm a 0,49 mm em indivíduos com menos de 40 anos, e de 0,38 mm a 0,52 mm nos acima de 40 anos, apresentando-se de forma foliada (GIACOSA, 1989).

Entre os pontos de inserção das vilosidades na mucosa observam-se orifícios onde desembocam glândulas tubulosas simples, as glândulas intestinais ou de Lieberkühn, que apresentam epitélio em continuidade com o das vilosidades (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1990).

2.3 *A mucosa duodenal: generalidades*

A mucosa duodenal pode ser dividida em três camadas distintas. A mais profunda é a muscular da mucosa que é uma contínua camada de músculo liso com espessura formada por 3 a 10 fibrocélulas musculares lisas que separam a mucosa da submucosa. O papel deste músculo não está claro, entretanto sua contratilidade potencial levanta a possibilidade de que ele influenciaria a função intestinal pela contribuição do movimento da vilosidade. Desta forma ele modularia a camada adjacente de epitélio absorptivo. A contração da muscular da mucosa pode facilitar o enchimento das criptas causado pela compressão luminal (MADARA e TRIER, 1987).

A camada média da mucosa duodenal, limitada acima pelo epitélio e abaixo pela muscular da mucosa, é um espaço

contínuo de tecido conectivo frouxo chamado lâmina própria ou córion. Ela forma o tecido conectivo do centro da vilosidade e ao redor do epitélio da cripta. As criptas ou glândulas de Lieberkühn são depressões entre as vilosidades onde desembocam as glândulas de Brunner (CORMACK, 1987).

No homem, com mucosa normal, o mais abundante tipo celular na lâmina própria são células mononucleares de grande importância imunológica: células plasmáticas, linfócitos e macrófagos (GIACOSA, 1989).

As glândulas de Brunner, normalmente na submucosa, invadem a mucosa, localizando-se acima da sua muscular principalmente ao nível bulbar (WEISS, 1983). Um estudo realizado com 82 indivíduos normais submetidos a biópsia endoscópica da mucosa bulbar, encontrou os seguintes percentuais de glândulas acima da muscular da mucosa: 43,9% em indivíduos abaixo de 40 anos e 46,1% nos acima de 40 anos (GIACOSA, 1989).

A lâmina própria promove um importante suporte no qual o epitélio intestinal está apoiado. Nela encontramos elementos do tecido conectivo extracelular que incluem o colágeno e fibras do sistema elástico (MADARA e TRIER, 1987).

A terceira camada da mucosa duodenal é aquela em contato direto com o conteúdo do lúmen e é constituída por

um epitélio prismático simples com cutícula estriada e células caliciformes que revestem as vilosidades e as criptas (WEISS, 1983).

As células epiteliais encontram-se aderidas por uma estrutura chamada complexo unitivo. Através da microscopia óptica vem-se observando, principalmente em epitélios prismáticos, a presença de um espessamento da membrana celular localizado na região apical da célula que é denominado rede terminal. Em cortes transversais das células epiteliais, logo abaixo de sua superfície, observa-se a rede terminal como uma estrutura contínua, rodeando o perímetro poligonal das células (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1990).

A microscopia eletrônica revelou que a rede terminal é uma estrutura complexa, formada por três componentes, que reunidos recebem o nome de complexo unitivo.

Seguindo do ápice da célula epitelial para sua base, encontramos em primeiro lugar a zônula de oclusão, que se caracteriza pela íntima justaposição periódica das membranas celulares de duas células vizinhas, com a fusão dos folhetos externos das membranas.

A zônula de oclusão é importante pois forma uma barreira, efeito selador, que impede a passagem de substâncias por entre as células epiteliais, não permitindo a passagem extracelular de material da superfície do epitélio pa-

ra os tecidos subjacentes (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1990).

Segue-se a zônula de adesão, identificada pela separação das membranas celulares e um pequeno acúmulo de material elétron-denso na superfície interna dessas membranas. Filamentos intermediários da trama terminal inserem-se no material elétron-denso existente na face interna da membrana.

A trama terminal recebe a inserção dos microfilamentos contráteis dos microvilos. Devido à zônula de aderência, a trama terminal se mantém distendida e tensa, sendo utilizada pelos microfilamentos como apoio para a contração dos microvilos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1990).

O terceiro componente do complexo unitivo são os desmossomos. São estruturas complexas em forma de disco constituído pela justaposição de duas regiões elétron-densas. Estas regiões são encontradas em porções contíguas da face citoplasmática da membrana celular de duas células vizinhas, nas quais se inserem feixes de tonofilamentos.

Principalmente nos epitélios prismáticos os filamentos intermediários tendem a se acumular no pólo superior da célula, logo abaixo da superfície celular, formando a chamada trama terminal (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1990).

Os desmossomos têm forma alongada e são descontínuos. A zônula de oclusão está em uma faixa contínua que circunscreve completamente a célula epitelial. Da mesma forma a zônula de adesão, quase sempre contínua, mas, em determinados casos, poderá apresentar-se com interrupções no seu trajeto (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1990).

O complexo unitivo, além de explicar a adesão que existe entre as células epiteliais, realiza o suporte morfológico para esclarecer o fato de certos epitélios impedirem o livre trânsito de fluidos e partículas através de sua espessura.

A vilosidade é uma projeção em dedo de luva da lâmina própria para o interior do lúmen, revestida pelo epitélio absorptivo. O epitélio é separado da lâmina própria por uma membrana basal contínua, composta por duas partes: lâmina basal que está acima da resolução do microscópio óptico, aplicada diretamente na superfície basal do epitélio; e a camada profunda de fibras reticulares e de substância espessa de tecido conectivo, composta de glicoproteínas, que adere a lâmina própria à lâmina basal (MADARA e TRIER, 1987).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Para o presente trabalho, foram selecionados 9 indivíduos do sexo masculino, na faixa etária de 19 a 29 anos, sendo todos submetidos a exame clínico que se mostrou dentro dos limites da normalidade. Nenhum dos indivíduos apresentava quaisquer sintomas relativos ao sistema digestivo. Não eram fumantes e não fizeram uso de álcool ou quaisquer medicações nas quatro semanas que antecederam o exame endoscópico.

Os indivíduos se dispuseram a participar do estudo como voluntários, após serem esclarecidos sobre a endoscopia e as biópsias a serem realizadas. Cada um deles manifestou por escrito seu consentimento, sendo obedecidos os preceitos éticos recomendados pelas Assembléias Médicas Mundiais de Helsinqui, 1964; Tóquio, 1975 e de Veneza, 1983.

Os voluntários, após serem submetidos a avaliação endoscópica do esôfago, estômago e primeira porção do duodeno, não apresentando alterações macroscópicas dos segmentos examinados e com exame histopatológico da mucosa do bulbo duodenal dentro da normalidade, foram incluídos no estudo.

O preparo para o exame endoscópico constou de um jejum de no mínimo doze horas antes do procedimento. Pouco antes do exame, administraram-se 150 mg de dimeticona em veículo líquido por via oral, seguidos de 5 mg de midazolan endovenoso. Anestesia da orofaringe foi praticada com dois jatos de nebulização de lidocaína a 10%. O paciente permaneceu durante o procedimento em decúbito lateral esquerdo.

As endoscopias foram realizadas no Serviço de Endoscopia Digestiva do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, com a utilização do panendoscópio marca Olympus do tipo GIF-Q, sendo colhido fragmento da mucosa do bulbo duodenal com pinça de biópsia fórceps marca Olympus do tipo FB-19K.

O fragmento colhido foi retirado da pinça de biópsia com pinça de Addison ponta fina. Com o auxílio de lupa, foi identificada a face cruenta do fragmento e esta colocada sobre papel de filtro, e imediatamente imersa em mistura fixadora de Bouin (ácido pícrico saturado 75ml, formol 40% 25ml e ácido acético glacial 5ml) por 12 horas.

Os estudos histopatológicos foram realizados pelo Serviço de Anatomia Patológica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Após a fixação, as peças biopsiadas foram desidratadas em concentrações crescentes de etanol,

clarificadas em xilol e incluídas em parafina. Durante a inclusão, os fragmentos foram orientados de modo a fornecer secções transversais e longitudinais da mucosa duodenal.

Os blocos assim obtidos foram submetidos a microtomia, com micrótomo American Optical Corporation modelo SPENCER 820, nas espessuras de 4 e 8 micrômetros. Os cortes de 4 micrômetros foram corados pela hematoxilina-eosina.

Os cortes de 8 micrômetros foram corados pelas técnicas seletivas para a evidenciação de fibras do sistema elástico: orcinol-neofucsina e resorcina-fucsina de Weigert, precedida ou não de oxidação pela oxona.

3.1 *Técnica da hematoxilina-eosina* (JUNQUEIRA e JUNQUEIRA, 1983)

Os cortes de 4 micrômetros foram desparafinados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de etanol, lavados em água destilada e corados pela hematoxilina de Delafield por 3 minutos. A seguir, foram lavados em água corrente por 5 minutos e corados pela eosina por 1 minuto. Após uma rápida lavagem em água, as preparações foram desidratadas em soluções de concentrações crescentes de etanol, clarificadas em xilol e montadas com bálsamo-do-canadá.

A coloração pela hematoxilina e eosina permitiu a

identificação das estruturas histológicas da mucosa do bulbo duodenal humano normal.

A interpretação dos resultados desta técnica se faz da seguinte maneira: os núcleos das células aparecem em azul escuro; o citoplasma e a substância intercelular, em róseo.

3.2 *Técnica do orcinol-neofucsina* (FULLMER e LILLIE, 1956)

Os cortes de 8 micrômetros foram desparafinados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de etanol, lavados em água destilada e corados pelo orcinol-neofucsina durante 15 minutos a 37 C.

A *preparação do reagente orcinol-neofucsina* foi realizada da seguinte maneira: 2 gramas de neofucsina e 4 gramas de orcinol foram juntamente dissolvidas em 200 ml de água destilada, levando-se à ebulição durante 5 minutos; adicionaram-se, após, 25 ml de solução de cloreto férrico a 30%, fazendo novamente ferver por mais 5 minutos. Após resfriamento, a solução é filtrada, sendo o material retido no filtro dissolvido em 100 ml de etanol a 95%. Logo após, procedeu-se à diferenciação em 3 mudas de álcool a 70%, durante 15 minutos cada uma. Os cortes foram então mergulhados numa solução de "fast green" a 1%, durante 10 segundos, para a coloração de fundo. Depois de rápida lavagem em água, e

desidratação em concentrações crescentes de etanol, seguiu-se a clarificação em xilol e montagem com bálsamo-do-canadá.

Os resultados desta técnica são interpretados da seguinte maneira: as fibras elásticas coram-se em violeta, e as outras estruturas tomam coloração esverdeada.

3.3 *Técnica da resorcina-fucsina (WEIGERT, 1898)*

Os cortes de 8 micrômetros foram desparafinados em xilol, hidratados em concentrações decrescentes de etanol, lavados em água destilada, oxidados, ou não, com monopersulfato de potássio (oxona) a 10% (FULLMER e cols., 1974) durante 45 minutos. Após lavagem em água por 5 minutos, e passados no etanol a 90%, foram corados por 60 minutos em solução corante.

A *preparação do reagente resorcina-fucsina* foi realizada da seguinte maneira: 2 gramas de fucsina básica e 4 gramas de resorcina foram juntamente dissolvidas em 200 ml de água em ebulição. Adicionaram-se 25 ml de solução de cloreto de ferro a 30% e levando-se à ebulição entre 2 e 5 minutos. Filtrou-se e dissolveu-se, sem lavar, o precipitado retido no filtro, em 200 ml de etanol a 90%, aquecido. Após resfriamento, adicionaram-se 4 ml de ácido clorídrico concentrado. Os cortes foram então lavados em álcool 90%, levados à água e mergulhados em solução de

"Orange G" a 0,5%, durante 15 segundos para coloração de fundo. A seguir, foram desidratados em concentrações crescentes de etanol, clarificados em xilol e montados com bálsamo-do-canadá.

Os resultados desta técnica são interpretados da seguinte maneira: não utilizando a oxidação prévia, as fibras elásticas e elaunínicas aparecem em azul escuro. Quando utilizada a oxidação, as fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas aparecem em azul escuro. As outras estruturas coram-se em alaranjado.

3.4 *Técnica de oxidação pela oxona* (FULLMER e colaboradores, 1974)

A oxidação prévia dos cortes, com o objetivo de identificação das fibras oxitalânicas, foi realizada, tratando os cortes com solução de oxona 10% (monopersulfato de potássio) durante 45 minutos. Após realizou-se a coloração pela técnica da resorcina-fucsina de Weigert anteriormente descrita.

4. RESULTADOS

4.1 *Microscopia óptica*

4.1.1 *Hematoxilina e eosina*

Com esta técnica de coloração, observamos um corte do fragmento biopsiado no qual foi possível identificar várias características histológicas da região.

A região superficial está constituída por um epitélio prismático simples de revestimento que repousa sobre uma faixa de tecido conjuntivo frouxo subjacente. Visualizamos projeções na superfície da mucosa que são denominadas de vilosidades e têm forma foliada. Junto à face cruenta do fragmento, observamos a muscular da mucosa e, sob esta, glândulas de Brunner, que são essencialmente da submucosa, mas podem invadir a mucosa (Fig. 1A).

Com maior aumento, observamos as glândulas de Lieberkühn seccionadas transversalmente, e as glândulas de Brunner abaixo da muscular da mucosa que podem ser visualizadas na extremidade inferior do corte (Fig. 1B). Com o mesmo aumento, identificamos glândulas de Lieberkühn seccionadas transversalmente (Fig. 1B).

Fig. 1 - Fotomicrografias de cortes com 4 micrômetros de espessura da mucosa do bulbo duodenal humano normal. Coloração: Hematoxilina-Eosina.

Fig. 1A - Representa um dos cortes obtidos nas peças de biópsias endoscópicas, onde se evidenciam: vilosidades com lâmina própria (setas curtas), epitélio de revestimento (cabeças de setas cheias); glândula de Lieberkühn em corte transversal (seta longa); grupo de glândulas de Brunner (asterisco); e feixes da muscular da mucosa (cabeça de seta vazia). Aumento: 40 X.

Fig. 1B - Detalhe da região das glândulas de Lieberkühn onde se observa uma glândula seccionada transversalmente (seta longa), um grupo de glândulas de Brunner (asterisco). Identifica-se a presença de feixes da muscular da mucosa (cabeça de seta) e a lâmina própria (setas curtas). Aumento 100 X.

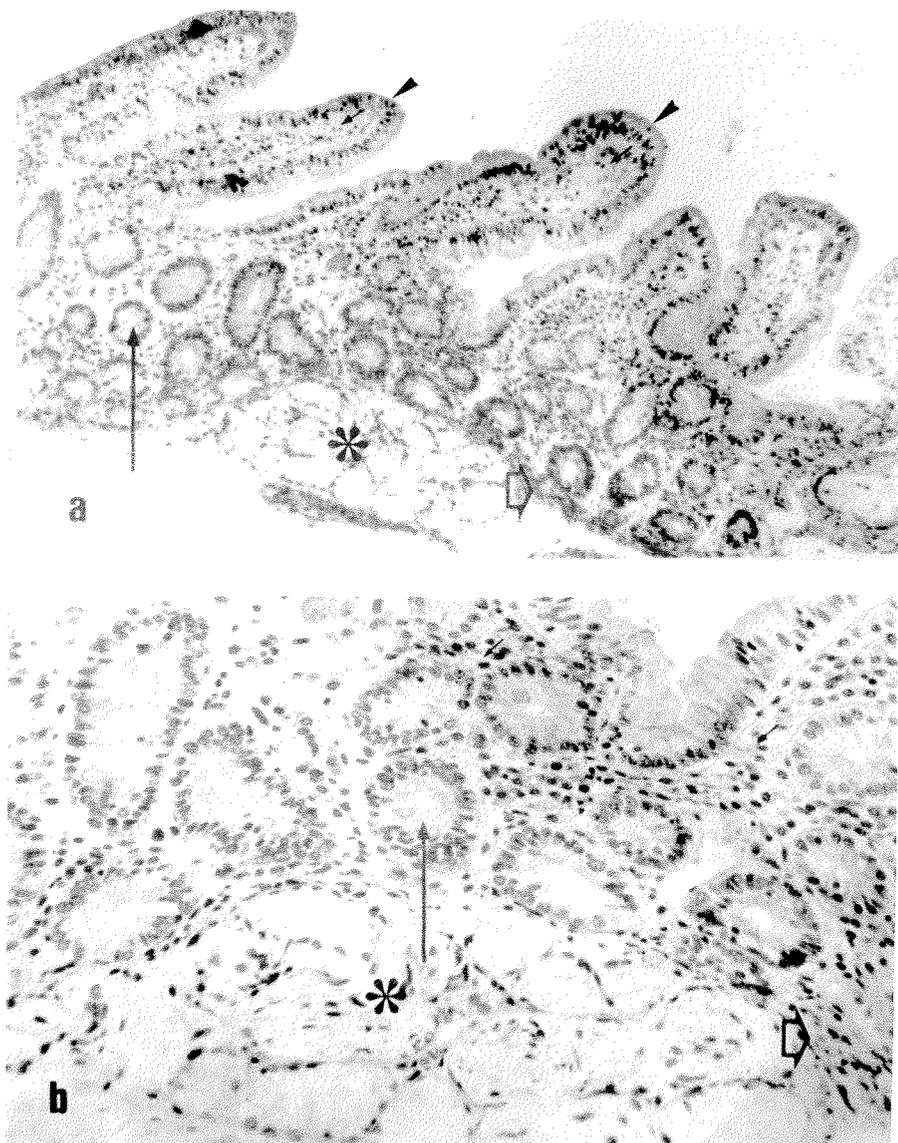


FIGURA 1

4.1.2 *Orcinol-neofucsina*

Observou-se em toda a lâmina própria a ausência de estruturas fibrosas coradas pelo método orcinol-neofucsina em todos os 9 casos estudados (Fig. 2A).

Escassas e fragmentadas estruturas fibrosas são coradas na muscular da mucosa em todos os 9 casos estudados (Fig. 2B).

4.1.3 *Resorcina-fucsina sem oxidação prévia*

Com esta técnica identificamos a presença de estruturas fibrosas coradas na muscular da mucosa, ao redor das glândulas de Brunner, em torno das glândulas de Lieberkühn e uma delgada linha subepitelial (Figs. 3A, 3B, 3C).

4.1.4 *Resorcina-fucsina com oxidação prévia pela oxona*

Através desta técnica identificamos um reforço da coloração ao nível da muscular da mucosa, ao redor das glândulas de Brunner, em torno das glândulas de Lieberkühn e na linha subepitelial (Figs. 4A, 4B).

Fig. 2 - Fotomicrografias de cortes com 8 micrômetros de espessura da mucosa do bulbo duodenal humano normal. Coloração: orcinol-neofucsina, seletiva para fibras elásticas.

Fig. 2A - Representa um corte da mucosa na qual se evidencia a ausência de coloração para fibra elástica. Aumento: 100 X.

Fig. 2B - Representa um corte da mucosa onde se observa a muscular da mucosa com a presença de escassas e fragmentadas estruturas fibrosas coradas (setas). Aumento: 100 X.

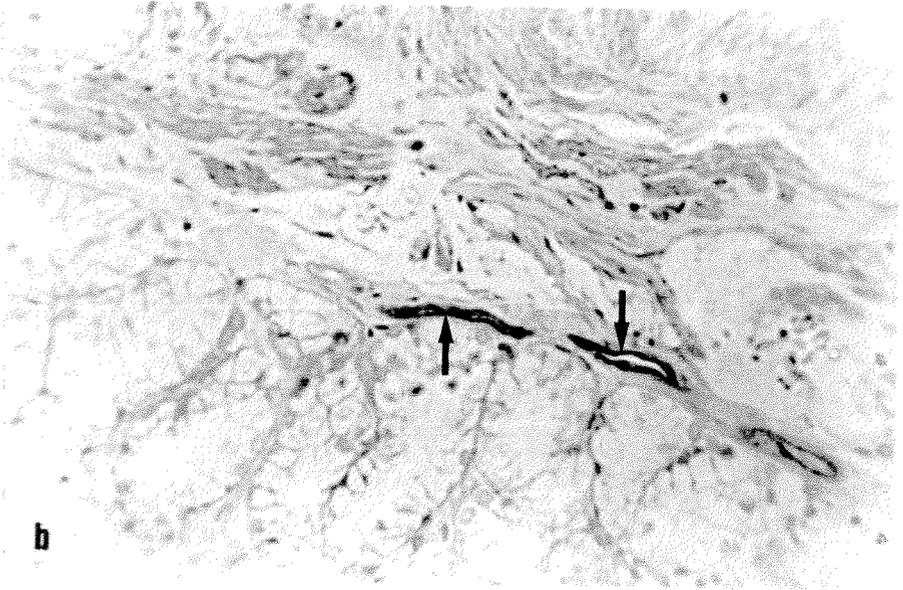


FIGURA 2

Fig. 3 - Fotomicrografias de cortes com 8 micrômetros de espessura da mucosa duodenal humana normal. Coloração: Resorcina-fucsina sem oxidação prévia pela oxona, seletiva para fibras elauinicas e elásticas.

Fig. 3A - Representa um corte onde se verifica a nítida coloração de uma estrutura linear subepitelial (seta). Aumento: 100 X.

Fig. 3B - Representa um corte onde se observa a nítida coloração de uma estrutura linear em torno das glândulas de Lieberkühn (seta). Aumento: 100 X.

Fig. 3C - Representa um corte onde se identifica a nítida coloração de estrutura linear em torno das glândulas de Brunner (seta). Na muscular da mucosa observa-se a presença de estruturas lineares coradas (cabeça de seta branca). Aumento: 100 X.

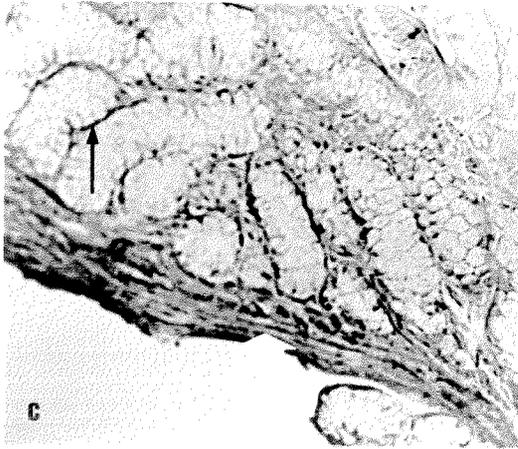
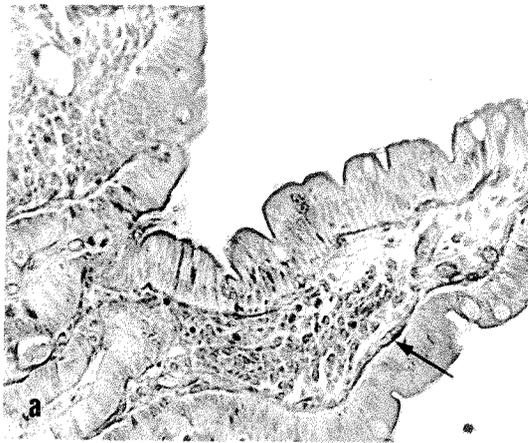


FIGURA 3

Fig. 4 - Fotomicrografia de cortes com 8 micrômetros de espessura da mucosa do bulbo duodenal humano normal. Coloração: resorcina-fucsina com oxidação prévia pela oxona, seletiva para fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas.

Fig. 4A - Representa um corte onde se observa uma vilosidade com nítido reforço de coloração de uma estrutura linear subepitelial (seta). Aumento: 100 X.

Fig. 4B - Representa um corte onde se verifica um nítido reforço de coloração em torno das glândulas de Lieberkühn (seta curta), ao redor das glândulas de Brunner (seta longa) e na muscular da mucosa (cabeça de seta branca). Aumento: 100 X.



FIGURA 4

Fig. 5 - Desenho esquemático da mucosa do bulbo duodenal humano normal, representando a distribuição das fibras oxitalânicas (vermelho), elaunínicas (azul) e elásticas (verde).

FIBRAS
OXITALÂNICAS

FIBRAS
ELAUNÍNICAS

FIBRAS
ELÁSTICAS

EPITÉLIO

LÂMINA
PRÓPRIA

MUSCULAR DA
MUCOSA

VILOSIDADE

GLÂNDULA DE
LIEBERKÜHN

GLÂNDULAS DE
BRUNNER

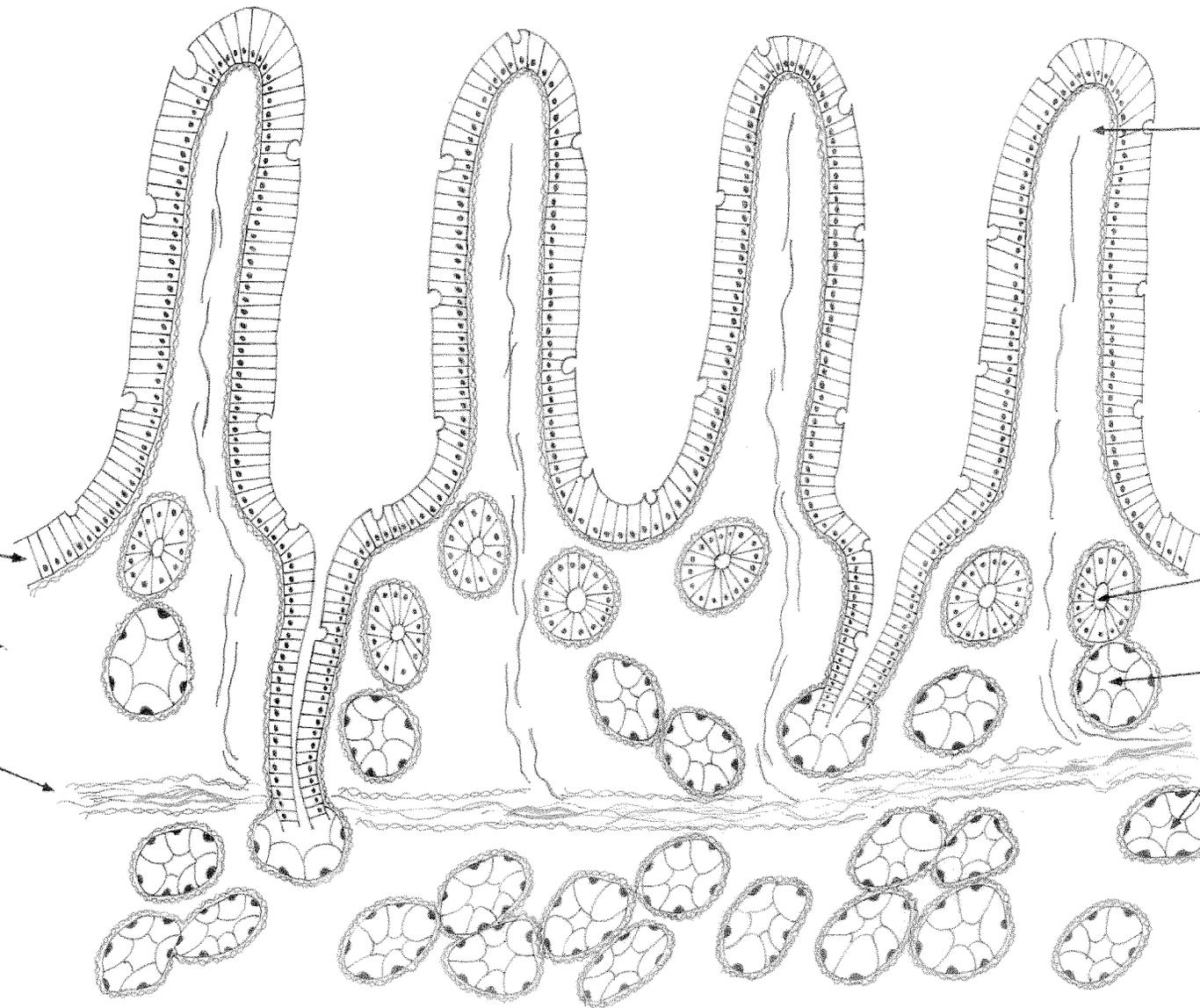


FIGURA 5

5. DISCUSSÃO

O complexo extracelular de macromoléculas é formado pelo colágeno, fibras elásticas, proteoglicanas e glicoproteínas estruturais. As duas primeiras fazem parte do componente fibroso do tecido conectivo, enquanto as duas últimas são o arcabouço do interstício e a interface entre a célula e a matriz extracelular. A matriz extracelular influencia o comportamento celular, no período de seu desenvolvimento e na vida adulta, sendo fonte de força, elasticidade e coesão dos tecidos (HAY, 1981; SANDBERG e colaboradores, 1981; LABAT e colaboradores, 1990).

As fibras elásticas são compostas por uma área central amorfa constituída pela elastina, e uma região externa de feixes de microfibrilas que se orientam paralelamente ao longo do eixo da fibra (ROSS e BORNSTEIN, 1969).

Em relação à mucosa duodenal humana, não encontramos nenhum estudo científico, em microscopia óptica ou eletrônica, envolvendo a presença e distribuição morfológica das fibras do sistema elástico, exceto a referência de Madara e Trier (1987) que relata apenas a presença de fibras elásticas na lâmina própria da mucosa intestinal.

O aspecto histológico da mucosa do bulbo duodenal humano, encontrado nos 9 fragmentos das biópsias, foi o mesmo descrito por Madara e Trier (1987), Giacosa (1989), Junqueira e Carneiro (1990).

A técnica do orcinol-neofucsina (FULLMER e LILLIE, 1956) foi utilizada para identificar fibras elásticas, por ser a mais adequada para demonstração de fibras elásticas, não corando o colágeno e nem as fibras elaunínicas e as oxitalânicas.

No estudo realizado através desta técnica de coloração, não se evidenciou a presença de fibra elástica na lâmina própria da mucosa do bulbo duodenal humano normal, em nenhum dos 9 casos avaliados.

Na muscular da mucosa, observou-se, em todos os casos estudados, a coloração de esparsas e curtas estruturas fibrosas que sugerem, pela sua disposição, tratar-se de fibras próprias da parede de vasos sanguíneos. Entretanto, foram evidenciadas estruturas fibrosas de afinidades tintoriais compatíveis aos de suas precursoras, oxitalânicas e elaunínicas. Estas fibras já foram, em outras áreas, objeto de estudos realizados por Fullmer e Lillie (1958), Gawlik (1965), Cotta-Pereira e colaboradores (1976, 1977).

Em 1979, Sampson, ao estudar as afinidades tintoriais das fibras oxitalânicas, concluiu que estas apresenta-

vam reações tintoriais semelhantes, quando expostas aos mesmos corantes aos quais reagem as fibras elásticas, desde que se faça a oxidação prévia dos cortes, segundo recomendação de Fullmer e colaboradores (1974).

Puchtler e colaboradores (1961) sugerem que a resorcina-fucsina pode ser considerada como um corante destinado a revelar mucossubstâncias (glicosaminoglicanas) anteriormente chamadas de mucopolissacarídeos. A fibra oxitalânica reage com a resorcina-fucsina com oxidação prévia, tornando-se corada provavelmente pelos radicais livres das glicosaminoglicanas a ela associadas, e liberados quando da oxidação.

Alexander e colaboradores (1981), estudando vários oxidantes para demonstrar fibras oxitalânicas, concluíram que a oxona (monopersulfato de potássio) era o melhor oxidante. O estudo demonstrou que o uso da oxona aumentava o diâmetro do feixe de microfibrilas oxitalânicas. Isto decorreria, possivelmente, pela mudança dos espaços existentes entre as microfibrilas, deixando os grupamentos reativos mais expostos e, desta forma, possibilitando a coloração para microscopia óptica.

A fibra elástica no seu desenvolvimento pode estacionar ou diminuir repentinamente, permanecendo no estágio inicial, intermediário ou final da sua evolução.

Isto ocorre desde a vida intra-uterina até os primeiros dias de vida (FULLMER e colaboradores, 1974; ALEXANDER e GARNER, 1977, 1983).

As fibras elásticas apresentam propriedades elásticas devido ao seu componente central amorfo chamado elastina (ROSS e BORNSTEIN, 1969; ROSS, 1973; GOTTE, 1977).

Nos cortes das biópsias do bulbo duodenal humano normal, corados pela resorcina-fucsina de Weigert (1898) sem oxidação prévia, evidenciou-se reação positiva na muscular da mucosa, em torno das glândulas de Brunner, ao redor das glândulas de Lieberkühn, e numa linha subepitelial. Estas mesmas áreas apresentaram reforço da coloração quando realizada reação com a resorcina-fucsina de Weigert (1898) com oxidação prévia, utilizando-se a oxona. Isto demonstra a existência de fibras elásticas e oxitalânicas nas mesmas áreas da mucosa bulbar.

As fibras oxitalânicas são constituídas apenas de feixes de microfibrilas, sem componente amorfo central, tendo, por isso, muito menor tendência ao alongamento quando sofrem ação de forças mecânicas (COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1976, 1977). Isto se confirma pela existência de fibras oxitalânicas em locais de grande resistência mecânica, como no ligamento periodôntico (FULLMER e LILLIE, 1958), na gengiva humana saudável (CHAVRIER e colaboradores, 1988), na

junção dermo-epidérmica (COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1976), na zônula ciliar (COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1977), na cartilagem (COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1984), na mucosa gástrica humana normal (TRINDADE, 1990) e na dobra oblíqua da mucosa do colon proximal do rato (WAKUI e colaboradores, 1991).

Os estudos mais recentes sugerem que uma glicoproteína de 350.000 Daltons, chamada fibrilina por Sakai e colaboradores (1986), está presente nas microfibrilas das fibras que contenham ou não material amorfo central.

As fibras elaunínicas que possuem pouco material amorfo de permeio, são formadas por feixes de microfibrilas, situando-se entre as fibras oxitalânicas que não possuem nenhum material amorfo, e as fibras elásticas que apresentam grande quantidade de material amorfo.

As fibras elaunínicas, são, por isso, menos elásticas, desempenhando, provavelmente, funções de resistência mecânica e de elasticidade reduzida.

As fibras oxitalânicas e elaunínicas têm sido evidenciadas em áreas que são submetidas a forças mecânicas, como em tendões, ligamentos, cartilagem, adventícia de vasos, junção dermo-epidérmica, ligamento anular do ouvido médio, ligamento suspensor do cristalino, mucosa gástrica normal e dobra oblíqua da mucosa do colon proximal do rato

(FULLMER e LILLIE, 1958; GAWLIK, 1965; COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1974; RODRIGO e colaboradores, 1975; COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1976, 1978, 1984; COTTA-PEREIRA, 1989; TRINDADE, 1990; WACUI e colaboradores, 1991).

No trabalho realizado encontramos fibras oxitalânicas e elaunínicas na muscular da mucosa, ao redor das glândulas de Brunner e de Lieberkühn e uma nítida linha subepitelial, todos locais de tensão mecânica, realizando, provavelmente, nestas áreas, ações de resistência mecânica.

Uma glicoproteína faria parte da composição das fibras do sistema elástico e estaria presente no seu componente microfibrilar como demonstra Sear e colaboradores (1978, 1981a, 1981b), Takagi e colaboradores (1985), Sakai e colaboradores (1986), Gibson e Cleary (1987).

A fibra oxitalânica é a primeira a surgir no processo de elastogênese e apresenta-se como feixes de material fibrilar (ROSS, 1973). No prosseguimento do desenvolvimento, forma-se entre as microfibrilas um material amorfo, a elastina (GAWLIK, 1965; COTTA-PEREIRA e colaboradores, 1975, 1976). Constitui-se então uma fibra elaunínica e posteriormente com a grande quantidade de elastina central circundada por poucas microfibrilas forma-se a fibra elástica madura (FAHRENBACH e colaboradores, 1966).

Em 1966, Greenlee e colaboradores, chegaram a con-

clusão, estudando as fibras elásticas no ligamento cervical bovino, que as primeiras fibras elásticas a se formarem consistiam de feixes de microfibrilas sem componente amorfo. Quando a idade fetal avança, o componente amorfo gradativamente inicia sua formação na porção central da fibra. Na maturidade da fibra, ao redor de 90% do seu diâmetro constitui-se de material amorfo. Quando na maturidade, as fibras elásticas podem perder seu componente microfibrilar, constituindo-se apenas de material amorfo (ROSS, 1973).

Na mucosa gástrica normal, Trindade (1990), não identificou fibras elaunínicas na região subepitelial, apenas fibras oxitalânicas. O nosso trabalho, porém, identificou fibras elaunínicas nessa mesma região na mucosa bulbar. Estas observações levam a possíveis inferências sobre as implicações funcionais da presença de fibras elaunínicas na região subepitelial da mucosa bulbar, que teria mais mobilidade ao nível de suas vilosidades para permitir um maior contato do quimo com a superfície bulbar.

Nossa investigação foi conduzida com colorações seletivas mas não específicas para fibras elásticas e suas precursoras e avaliadas através de microscopia óptica. Pretendemos aprofundar a investigação com a utilização da microscopia eletrônica e de anticorpos monoclonais.

Estes métodos de estudo com microscopia óptica,

utilizando o orcinol-neofucsina, resorcina-fucsina sem e com oxidação prévia pela oxona, são mundialmente consagrados para a identificação de fibras elásticas e suas precursoras (FULLMER e LILLIE, 1956; WEIGERT, 1898; FULLMER e colaboradores, 1974; COTTA-PEREIRA, 1976; COTTA-PEREIRA colaboradores, 1984; PROCTOR e HOROBIN, 1988; SUZUKI e colaboradores, 1988; WACUI e colaboradores, 1991).

Nossos achados permitiram a elaboração de um desenho esquemático da mucosa do bulbo duodenal humano normal com a distribuição das fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas.

6. CONCLUSÕES

Após as considerações apresentadas em nossa discussão, a análise dos resultados permitem as seguintes conclusões:

- a) que as fibras elásticas estão ausentes na lâmina própria da mucosa bulbar humana normal;
- b) que há raras, esparsas e curtas fibras elásticas na muscular da mucosa, que, por suas características, sugerem pertencer à parede de vasos sanguíneos;
- c) que há evidências da presença de fibras oxitalânicas e elaunínicas na lâmina própria da mucosa bulbar humana normal;
- d) que as fibras oxitalânicas estão presentes na muscular da mucosa e numa nítida linha subepitelial ao longo das vilosidades que se continua ao redor das glândulas de Lieberkühn e de Brunner;
- e) que as fibras elaunínicas estão presentes na muscular da mucosa e numa nítida linha subepitelial ao longo das vilosidades que se continua ao redor das glândulas de

Lieberkühn e de Brunner;

- f) que as fibras oxitalânicas e elaunínicas estão distribuídas nos mesmos locais da mucosa bulbar, havendo uma nítida sobreposição ou integração das mesmas;
- g) que estas conclusões permitem propor um padrão histológico normal de distribuição das fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas na mucosa do bulbo duodenal humano normal, representados no desenho esquemático da figura 5.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 AIRES, M. de MELLO (1991). *Fisiologia*. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, s. ed., p. 597-8.
- 2 ALBERT, E. N. (1972). Developing elastic tissue. *Am. J. Pathol.*, **69**: 89-95.
- 3 ALEXANDER, R. A.; CLAYTON, D. C.; HOWES, R. C. e GARNER, A. (1981). Effect to oxidation upon demonstrative of corneal oxytalan fibres: a light and electron microscopical study. *Med. Sciences*, **38**: 91-101.
- 4 ALEXANDER, R. A. e GARNER, A. (1977). Oxytalan fibre formation in the cornea: a light and electron microscopical study. *Histopathology*, **1**: 189-99.
- 5 ALEXANDER, R. A. e GARNER, A. (1983). Elastic and precursor fibers in the normal human eye. *Experimental Eye Research*, **36**: 305-15.
- 6 ALLODI, S. (1983). Estudo histoquímico e ultraestrutural da relação corpo ciliar-cristalino de *Gallus gallus dom.* L. durante o desenvolvimento embrionário e no animal adulto. (Tese de Mestrado, ICB, UFRJ).
- 7 ANSON e McVAY (1984). *SURGICAL ANATOMY*. 6 ed. Rio de Janeiro, W. B. Saunders Company, p. 609-16.
- 8 BHANGOO, K. S.; QUINLIVAN, J. K. e CONNELLY, J. R. (1976). Elastic fibers in scar tissue. *Plast. & Reconstr. Surg.*, **57**: 308-13.
- 9 BICHAT, X. (1801). *Anatomie générale appliquée à la physiologie et à la médecine*. Paris, J.S. Chaudé

Lib. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.

- 10 BICHAT, X. (1830). **Anatomie générale appliqueé à la physiologie et à la médecine.** In: BLANDIN, F. (ed.) PARIS, J. S. Chauclé. t. 3, p. 204-82. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 11 BITTENCOURT-SAMPAIO, S. e COTTA-PEREIRA, G. (1971). Distribuição das fibras elásticas, elaunínicas e oxitalânicas na derme superior em pele humana. **An. Bras. Dermatol.**, 46: 333.
- 12 BOCK, P. e STOCKINGER, L. (1984). Light and electron microscopic identification of elastic, elaunin and oxytalan fibers in human tracheal and bronquial mucosa. **Anat. Embryol.**, 170: 145-53.
- 13 BOUGERY, J. M. (1854). Anatomie générale. In: **Traité complet de l'anatomie humaine.** (Delaunay, C.A. ed.) Paris, Librairie Anatomique. t. 8, p. 137-244. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 14 CARMICHAEL, G. C. e FULLMER, H. M. (1966). The fine structure of the oxytalan fiber. **J. CELL. Biol.**, 28: 33-6.
- 15 CARRINGTON, S. D.; ALEXANDER, R. A. e GRIERSON, I. (1984). Elastic and related fibers in the normal cornea and limbus of the domestic cat. **J. Anat.**, 139 (2): 319-32.
- 16 CARVALHO, C. A. FERRAZ de (1987). The elastic fibre system in the human lower oesophagus. **Acta anat.**, 129:15-21.
- 17 CHAVRIER, C.; HARTMAN, D. J.; COUBLE, M. L. e HERBAGE, D. (1988). Distribution and organization of the elastic system fibers in healthy human gingiva-ultrastructural and immunohistochemical study. **Histochemistry**, 89: 47-52.
- 18 CLOQUET, J. (1825) Des organes de la circulation et de

- la respiration. In: _____ . **Manuel d'anatomie descriptive du corp humaine**. Paris, Bechet Jeune Lib., p. 376. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 19 CORMACK, D. H. **Ham's Histology**. (1987). 9. ed. Philadelphia, J. B. Lippincott, p. 501-9.
- 20 COTTA-PEREIRA, G.; VILLELA, B. T. X. e BITTRNCOURT-SAMPAIO, S. (1974). Elementos do sistema elástico no ligamento suspensor do cristalino. **Res. X Cong. Bras. Anat.**, São Paulo, p. 39.
- 21 COTTA-PEREIRA, G.; RODRIGO, F. G. e BITTENCOURT-SAMPAIO, S. (1975). Ultrastructural study of elaunin fibers in the secretory coil of human eccrine sweat glands. **Br. J. Dermatol.**, 93: 623-9.
22. _____ . (1976). Oxitalan, elaunin and elastic fibers in the human skin. **J. Invest. Dermat.**, 66: 143-8.
23. _____ . (1977). The elastic system fibers. In: SANDBERG, L. B.; GRAY, W. R. and FRANZBLAU, C. **Advances in Experimental Medicine and Biology**. New York, Plenum Press. v. 79, p. 19-30.
- 24 _____ . (1978). Comparative study between the elastic system fibers in human thin and thick skin. **Biol. Cell.**, 31: 297-302.
- 25 COTTA-PEREIRA. GERSON. (1984). **Contribuição ao estudo das fibras do sistema elástico**. (Tese para Titular de Histologia e Embriologia, Rio de Janeiro, UFRJ).
- 26 COTTA-PEREIRA, G.; DEL-CARO, L. e MONTES, G. S. (1984). Distribution of elastic system fibers in hyaline and fibrous cartilages of the rat. **Acta Anat.**, 119: 80-5.
- 27 COTTA-PEREIRA, G. e IRUELA ARISPE, M. L. (1989). Extracellular matrix: functional significance of oxytalan, elaunin and elastic fibers. **Cells and tissues: Three dimensionak appoch by modern**

techniques in microscopy. New York, Alan R. Liss Inc., p. 101-7.

- 28 COTTA-PEREIRA, GERSON. (1989). **Estudo ultra-estrutural da matriz extracelular em corda tendínea do coração de rato albino.** (MEMÓRIA apresentada à Academia Nacional de Medicina para concorrer à Cadeira num. 96 da Seção de Ciências Aplicadas à Medicina e Farmácia, Rio de Janeiro).
- 29 DAVEMPORT, H. W. Duodenal secretion (1971). In: . **Physiology of the digestive tract.** 3. ed. Chicago, Year Book Medical Publishers, p.139-41.
- 30 DUVAL, M. (1900). **Précis d'histologie.** 11 ed., Paris Masson et Cie, p. 331-424. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 31 FANNING, J. C. e CLEARY, E. G. (1985). Identification of glycoproteins associated with elastin-associated microfibrils. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 33:** 287-94.
- 32 FAHREMBACH, W.H.; SANDBERG, L.B. e CLEARY, E.G.(1966). Ultrastructural studies on early elastogenesis. **Anat. Rec., 115:** 563-75.
- 33 FAWCETT, D. W. **Bloom and Fawcett** (1986). A textbook of histology. 11. ed. Philadelphia, Igaku-Shoin Saunders, p. 604-18.
- 34 FERREIRA JR., J. M. C.; CALDINI, E. G. e MONTES. G. S. (1987). Distribution of elastic system fibers in the peripheral nerves of mammals. **Act Anat., 130:** 168-73.
- 35 FONSECA, A.P.M.; BONA, S. H.; COSTA FILHO, A. e LOPES FILHO, L. L. (1985). Estudo das fibras do sistema elástico na esclerodermia localizada. **Ciência e Cultura, 37(10):** 1661-65.
- 36 ----- (1986). Fibras do sistema elástico na atrofodermia idiopática de Pasini e Pierini. **Ciência e Cultura, 37 (10):** 1705-8.

- 37 FULLMER, HAROLD M. (1958). Differential staining of connective tissue fibers in areas of stress. *Science*, 127: 1240.
- 38 FULLMER, H. M. e LILLIE, R. D. (1956). A selective stain for elastin tissue (orcinol new fuchsin). *Stain Technol.*, 31: 27.
- 39 _____ (1958). The oxytalan fibers: A previously undescribed connective tissue fiber. *J. Histochem. Cytochem.*, 6: 425-30
- 40 FULLMER, H. M.; SHEETZ, J. H. e NARKATES, A. J. (1974). Oxytalan connective tissue fibers: a review. *J. Oral Pathol.*, 3: 291-316.
- 41 GAWLIK, Z. (1965). Morphological and morphochemical properties of the motor organ of man. *Folia Histochem. Cytochem.*, 3: 233-51.
- 42 GIBSON, M. e CLEARY, E. G. (1987). The immunohistochemical localisation of microfibril-associated glycoprotein (MAGP) in elastic e non-elastic tissues. *Immunol. Cell Biol.*, 65: 345-56.
- 43 GIACOSA, A. (1989). Morphometry of normal duodenal mucosa. *Scand J. Gastroenterol. Suppl.*, 167:10-2
- 44 GOLDFISCHER, S.; COLTOFF-SCHILLER, B.; SCHWARTZ, E. e BLUMENFELD, O. O. (1983). Ultrastructure and staining properties of aortic microfibrils (oxytalan). *J. Histochem. Cytochem.*, 31: 382:90.
- 45 GOMORI, G. (1950). Aldehyde-Fuchsin: a new stain for elastic tissue. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 20: 665-6.
- 46 GOTTE, L. (1977). Recent observations on the structure and composition of elastin. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 79: 105.
- 47 GREENLEE JR., T. K.; ROSS, R. e HARTMANN, J. L. (1966).

The fine structure of elastic fibers. *J. Cell. Biol.*, 30: 59-71.

- 48 HASEGAWA, J. (1960). "Oxytalan" fibers of the dermal-epidermal function. *Arch. Dermatol.*, 82: 250-2.
- 49 HASS, G. M. (1939). Elastic tissue. *Arch. Pathol.* 27: 334. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 50 HAY, E. D. (1981). *Cell biology of extracallular matrix*. New York, Plenum Pless, p. 1-4.
- 51 INOUÉ, S. e LEBLOND, C. P. (1986). The microfibrils of connective tissue: I. ultrastruture. *The American Journal of Anatomy*, 176: 121-52.
- 52 JUNQUEIRA, L. C. U. e JUNQUEIRA, L. M. M. S. (1983). *Técnicas básicas de citologia e histologia*. São Paulo, Editora Santos.
- 53 JUNQUEIRA, L. C. e CARNEIRO, J. (1990). *Histologia básica*. 7 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 47-50 e 229-35.
- 54 LABAT, R. J.; VARGA, M. B. e ROBERT, L. (1990). Minireview: extracellular matrix. *Elsevier Science Publishers B. V. (Biomedical Division)*, 268: 386-93.
- 55 LANNES DE CAMPOS, S. M. (1987). *Contribuição ao estudo filogenético das fibras do sistema elástico: evidenciação de fibras oxitalânicas no coração da Styela plicata*. (Tese de Mestrado, UFRJ).
- 56 LEFERT, P. (1897). *Aide-mémoire d'histologie*, p. 64, J.B. Baillièrre et Fils, Paris. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 57 LIMA, L. P. (1981). *Contribuição ao estudo da histologia fundamental do colédoco supraduodenal humano*. (Tese de Mestrado. Curso de Pós-Graduação em Gastroenterologia, UFRGS).

- 58 LOCKART, R. D.; HAMILTON, G. F. e FYFE, F. W. (1983). **Anatomia do corpo humano**. Tradução de Orlando J. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 493-95.
- 59 MADARA, J. L. e TRIER, J. S. (1987). Functional Morphology of the Mucosa of the Small Intestine In: JOHNSON, Leonard R. **Physiology of the gastrointestinal tract**. 2. ed. New York, Raven Press. v. 2. p. 1209-49.
- 60 NETTER, Frank, H. (1975). Anatomy of the stomach and duodenum. In: OPPENHEIMER, M. D. **The CIBA collection of medical illustrations**. 4. ed. New York, R. R. Donnelley. v. 3, parte I, p. 49-50.
- 61 POLICARD, A. e COLLET, A. (1961). **Physiologie du tissu conjonctif normal e pathologique**. Paris, Masson et. Cie., p. 110-26. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 62 PORTO, L. C. (1983). **Estudo sobre a distribuição das fibras do sistema elástico na corda tendilínea e sua inserção no músculo papilar do complexo mitral de corações humanos**. (Tese de Mestrado, UFRJ).
- 63 PORTO, L. C.; RODRIGUES, M. I. e COTTA-PEREIRA, G. (1980). Estudo de fibras do sistema elástico em aorta de alguns vertebrados e invertebrados. II **Congresso de Biologia Celular**, Rio de Janeiro, p. 146. Resumo.
- 64 PROCTOR, G. B. e HOROBIN, R. W. (1988). Chemical structures and staining mechanisms of Weigert's resorcina-fuchsin and related elastic fiber stains. **Stain Technology**, 63: 101-10.
- 65 PUCHTLER, H.; SWEAT, F.; BATES, R. e BROWN, J. H. (1961). On the mechanism of resorcin-fuchsin staining. **J. Histochem. Cytochem.**, 9: 553-9.
- 66 RANNIE, I. (1963). Observations on the oxytalan fibers of the periodontal membranes. **Trans. Eur. Orthodont. Soc.**, 39: 127-36.

- 67 RICHARDS, A. N. e GIES, W. J.(1902). Chemical studies of elastin, mucoid, and other proteins in elastic tissue with some notes on ligament escleractives. **An. J. Physiol.**, 7: 93. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 68 ROBERT, L. e ROBERT, A. M. (1980). Elastin, elastase and arteriosclerosis. In: _____. **Biology and pathology of elastic tissues**. Basiléia, S. Karger. v. 8, p. 130-73.
- 69 RODRIGO, F. G. e COTTA-PEREIRA, G. (1973). Ultrastructural observations on uninvolved skin in dermatitis herpetiformis. "Elastic" versus "reticular" fibrils. **Br. J. Dermatol.**, 89:543.
- 70 RODRIGO, F. G.; COTTA-PEREIRA, G. e DAVID-FERREIRA, J. F.(1975). The fine structure of the elastic tendons in the human arrector pili muscle. **Br. J. Dermatol** 93: 631-7.
- 71 ROSS, R. (1973). The elastic fibers: a review. **J. Histochem. Cytochem.**, 21: 199-208.
- 72 ROSS, R. e BORNSTEIN, P. (1969). The elastic fiber. I. The separation and partial characterization of its macromolecular components. **J. Cell. Biol.**, 40: 366-81.
- 73 SAGE, H. e GRAY, W. R. (1977). Evolution of elastic structure. **Adv. Exp. Med. Biol.**, 79: 291-312.
- 74 _____. (1979). Studies on the evolution of elastin. I. Phylogenetic distribution. **Comp. Biochem. Physiol.**, 64B: 313-27.
- 75 _____. (1980). Studies on the evolution of elastin. II. Histology. **Comp. Biochem. Physiol.**, 66B: 13-22.
- 76 SAGE, HELENE.(1982). Structure-function relationships in the evolution of elastin. **The Journal of Investigative Dermatology**, 79: 146-53.

- 77 SAKAI, L. Y.; KEENE, D. R. e ENGVALL, E. (1986). Fibrillin, a new 350-kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. *The Journal of Cell Biology*, **103**: 2499-509.
- 78 SAMPSON, W. J. (1979). A comparative light microscopic evaluation of oxytalan fiber staining with a variety of dye substances. *Stain Technol.*, **54**: 181-91.
- 79 SANDBERG, L. G.; SOSKEL, N. T. e LESLIE, J. G. (1981). Elastin structure biosynthesis and relation to disease states. *N. England J. Med.*, **304**: 566-79.
- 80 SCHINKO, I.; POTTER, I. C.; WELSCH, U. e DEBBAGE, P. (1992). Structure and development of the notochord "elastica externa" and nearby components of the elastic fibre system of agnathans. *Acta Zoologica*, **73**: 57-66.
- 81 SCHWARTZ, E. e FLEISCHMAYER, R. (1986). Association of elastin with oxytalan fibers of the dermis and with extracellular microfibrils of cultured skin fibroblasts. *J. Histochem. Cytochem.*, **21**: 199-208.
- 82 SEAR, C. H. J.; GRANT, M. E. e JACKSON, D. S. (1981a). The nature of the microfibrillar glycoproteins of elastic fibers. *Biochem. J.*, **194**: 587-98.
- 83 SEAR, C. H. J.; JONES, C. J. P.; KNIGHT, K. R. e GRANT, M. E. (1981b). Elastogenesis and microfibrillar glycoprotein synthesis by bovine ligamentum nuchae in cells culture. *Connect. Tiss. Res.*, **8**: 167.
- 84 SEAR, C. H. J.; KEWLEY, M. A.; JONES, C. J. P.; GRANT, M. E. e JACKSON, D. S. (1978). The identification of glycoproteins associated with elastic tissue microfibrils. *Biochem. J.*, **170**: 715-18.
- 85 SKANDALAKIS, J. E.; SKANDALAKIS, L. J.; COLBORN, G. L.; PEMBERTON, L. B. e GRAY, S. W. (1989). The duodenum: surgical anatomy. *The American Surgeon*, **55**: 291-98.

- 86 SLEISENGER, M. H. e FORDTRAN, J. S. (1989). **Gastrointestinal Disease**. 4 ed., Philadelphia, W. B. Saunders, p. 665-66.
- 87 SOLL, ANDREW H. (1989). Duodenal ulcer and drug therapy In: SLEISENGER, H. e FORDTRAN, J. S. **Gastrointestinal Disease**. 4 ed. Philadelphia, W. B. Saunders, p. 814-40.
- 88 SUZUKI, K.; CARVALHO, C. A. F. e KONIG JR., B. (1988). Elastic fiber system in the vocal ligament of the wister rat. **Z. mikrosk. anat. Forsch**, 102: 134-42.
- 89 TAKAGI, M.; YAGASAKI, H.; BABA, T. e BABA, H. (1985). Ultrastructural visualization of carbohydrates in oxytalan fibers in monkey ligaments. **The Journal of Histochemistry and Cytochemistry**, 33: 1007-14.
- 90 TESTUT, L. e JACOB, O. (1977). **Tratado de Anatomia Topográfica com aplicaciones médico-cirúrgicas**. 8 ed. Barcelona, Salvat Editores, p. 150-65.
- 91 TRINDADE, M. R. M. (1990). **Fibras do sistema elástico na lâmina própria da mucosa gástrica humana normal: evidência histoquímica e ultraestrutural de fibras oxitalânicas e elaunínicas**. (Tese de Mestrado. Curso de Pós-graduação em Gastroenterologia, UFRGS).
- 92 TRINDADE, M.R.M.; PEREIRA, J.P.E.M. e CAMPOS, S. M.L. (1990). **Distribuição das fibras do sistema elástico na lâmina própria da mucosa gástrica humana normal**. Trabalho apresentado no I Simpósio Brasileiro sobre matriz extracelular, Parque Nacional de Itatiaia, Rio de Janeiro.
- 93 TSUJI, TAKUO. (1987). Different effects of elastase on dermal elastic fibers with age: ultrastructural studies with the conventional and tannic stain. **Gerontology**, 33: 64-71.
- 94 UNNA, P. G. (1890). **Über die Taenzersche Färbung des elastischen Gewebe**. **Monatsschr. prakt. Dermatol.**, 11: 367. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.

- 95 VERHOEFF, F. N. (1908). Some new staining methods of wide applicability including a rapid differential stain for elastic tissue. *J. Amer. Med. Ass.*, 50: 876-7. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 96 WAKUI, S.; KAWAGUCHI, N.; FURUSATO, M.; ASARI, M.; KANO, Y. e USHIGOME, S. (1991). Subepitelial elastic system fibers of obliquo mucosal folds in the rat proximal colon. *Acta Anat.*, 141: 119-26.
- 97 WEIGERT, K. (1898). Uber eine Methode zur Farbung elastischer Fasern. *Zentralbl. Allg. Pathol. Anat.*, 9: 289-92. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.
- 98 WEISS, LEON (1983). *Histology - Cell and tissue biology*. 5. ed. New York, McMillan Press, Elservier Science Publishing Company, p. 674-92.
- 99 WOLPERS, C. (1944). Zur elektronmikroskopischen Darstellung elastischer Gewebselemente. *Klin. Wschr.*, 23:169. Apud COTTA-PEREIRA, 1984.