

REVISTA BRASILEIRA DE ZOOLOGIA

Revista brasileira de Zoologia, S. Paulo 3(7): 423-431

31.V.1987

MICROSCOPIA ÓPTICA E ELETRÔNICA DO CORPÚSCULO DE STANNIUS DO CURIMBATÁ (**PROCHILODUS SCROFA** STEINDACHNER, 1881) (OSTEICHTHYES, CYPRINIFORMES, PROCHILODONTIDAE)

Elza Ferreira Goldman Pinheiro 1
Agar Costa Alexandrino 1
Silvio Ferri 2

ABSTRACT

The Stannius corpuscles of Prochilodus scrofa are studied microscopically (both optically and electronically) as well as macroscopically. Two CS, and sometimes 3 or 4, are found per animal. They are pink-coloured organs, rounded in shape and scattered laterally in the first anterior third of the kidney. Each CS is enveloped by a thick connective tissue capsule. The glandular parenchyma consists of only one cellular (PAS-/AF-) type, cylindrical in shape, with oval or rounded nucleus located eccentrically with visible nucleolus. The ultrastructural description is as follows: well developed Golgi complexes, rough endoplasmic reticulum and mitochondria in moderate quantities. Electron-dense granules numerous. CS highly vascularized.

INTRODUÇÃO

Os corpúsculos de Stannius (CS) são pequenas glândulas endócrinas arredondadas ou ovaladas associados ao mesonefro, presentes em peixes teleósteos (LEUNG & FENWICK, 1978) e holósteos (KRISHNAMURTHY, 1976). Embora esta glândula tenha sido descrita há quase 142 anos por Stannius (HEYL, 1970), sua função ainda não foi totalmente esclarecida; sobre sua estrutura persistem dúvidas inclusive em relação aos tipos celulares que a constituem, uma vez que a variabilidade entre as espécies tem se mostrado uma constante.

O número de CS por espécie é bastante variável, KRISHNAMURTHY & BERN (1969) referem-se à presença de no mínimo um (1) e no máximo dez (10), sendo que dois (2) CS tem sido o achado mais freqüente (MEZHININ, 1979).

1 Divisão de Pesca Interior, Instituto de Pesca, Coordenadoria da Pesquisa de Recursos Naturais, Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, São Paulo, SP.

2 Departamento de Histologia, Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

O CS é envolvido por cápsula de tecido conjuntivo, e é ricamente vascularizado. A cápsula envia septos para o interior da glândula definindo lóbulos completos ou incompletos (CARPENTER & HEYL, 1974).

KRISHNAMURTHY & BERN (1969) identificaram quatro (4) arranjos entre a parede do septo e a disposição das células e, com base nesses quatro modelos propuseram uma classificação onde enquadrariam espécies que apresentassem o mesmo tipo de organização, sugerindo que haveria especificidade para cada modelo. Porém, foram encontradas em uma mesma espécie variações correspondentes aos quatro modelos retro referidos (SUBHEDAR & PRASADA RAO, 1976).

Com relação a identificação dos tipos celulares presente no CS, os métodos correntemente empregados têm sido o Aldeído-fucsina (AF) e do Ácido Periódico - Schiff (PAS) diferenciando dois tipos de células (positiva e negativa). BOSE & ALIM (1981) descrevem um só tipo de célula em *Oxygaster bacaila*, espécie de água doce, sendo esta célula fortemente positiva ao PAS e AF.

Vários autores referem-se à presença dos dois tipos de células para uma mesma espécie (MADKARNI & GORBMAN, 1966; LOPEZ, 1969; SUBHEDAR & PRASADA RAO, 1976 e SRIVASTAV, 1982).

O Tipo 1 é predominante e ocorre quando um (1) só tipo celular está presente e parece ser característico das espécies marinhas (BONGA & GREVEN, 1975); enquanto que o Tipo 2 é descrito freqüentemente em espécies de água doce ou nas eurohalinas que passam uma parte do seu ciclo vital na água doce, o que sugere que o produto de secreção desta célula estaria relacionado com a regulação iônica (MEATS et alii, 1978; BONGA & VANDERMEIJ, 1980). A célula Tipo 1 estaria envolvida com a síntese de hormônio hipocalcêmico (OLIVEREAU & OLIVEREAU, 1978; BONGA & GREVEN, 1978).

Têm sido também descritos tipos intermediários considerados como diferentes estágios de atividade secretora de uma mesma célula; OGURI (1966) e CARPENTER & HEYL (1974) sugerem a presença de três tipos, sendo um normal e dois atípicos, um representando a fase imatura e outro a fase de degeneração.

Por outro lado, a microscopia eletrônica tem revelado dois tipos distintos de células parenquimatosas em salmonídeos (KRISHNAMURTHY & BERN, 1969; CARPENTER & HEYL, 1974 e MEATS et alii, 1978) e em *Gasterosteus aculeatus* (BONGA, GREVEN, VEENHUIS, 1977). Estes autores descrevem a célula Tipo 1 apresentando núcleo geralmente alongado no polo proximal; no citoplasma numerosos grânulos secretores esféricos concentrados no polo distal, um pequeno retículo endoplasmático e o Golgi pouco desenvolvido, e a célula Tipo 2 caracterizada por apresentar núcleo esferoidal localizado no polo distal, no citoplasma poucos grânulos secretores e estes de tamanhos menores que os presentes no Tipo 1, o retículo é moderado e ainda a presença de numerosas mitocôndrias. Portanto, a presença de grânulos igualmente eletrôn-densos e as organelas citoplasmáticas retro-referidas em ambas as células sugerem não serem os dois tipos mera diferença de atividade secretora e sim dois tipos de células distintas (KRISHNAMURTHY, 1976).

MATERIAL E MÉTODOS

Os corpúsculos de Stannius foram obtidos de exemplares adultos de *Prochilodus scrofa*, espécie potomodrômica.

Os animais foram anestesiados utilizando clorobutanol (0,06%), submetidos à laparotomia e evisceração que permitisse a exposição do mesonefro e a visualização dos corpúsculos de Stannius. Os mesmos foram analisados macroscopicamente quanto ao número, localização, forma e cor, a seguir removidos e fixados para estudo a nível de microscopia óptica comum e eletrônica.

No primeiro caso foram fixados em líquido de Bouin e submetidos a técnica histológica de rotina. Foram obtidos cortes de 7 μm , os quais foram corados pela Hematoxilina-eosina, Tricrômio de Mallory, Ácido Periódico - Schiff (PAS) e Aldeído-fucsina (BEHMER et alii, 1976).

Para a microscopia eletrônica, pequenos fragmentos de CS foram fixados durante 2 horas à temperatura de 4°C em aldeído glutárico a 3%, tamponado com fosfato 0,1 M a pH 7,2. A seguir as peças foram transferidas para uma solução de tetróxido de ósmio a 1% no mesmo tampão e mantidas a 4°C durante 2 horas. Após inclusão em araldite, as peças foram cortadas e coradas com acetato de urânio e citrato de chumbo. As fotomicrografias foram obtidas em microscópio eletrônico Philips modelo EM 301, com 60 kv.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

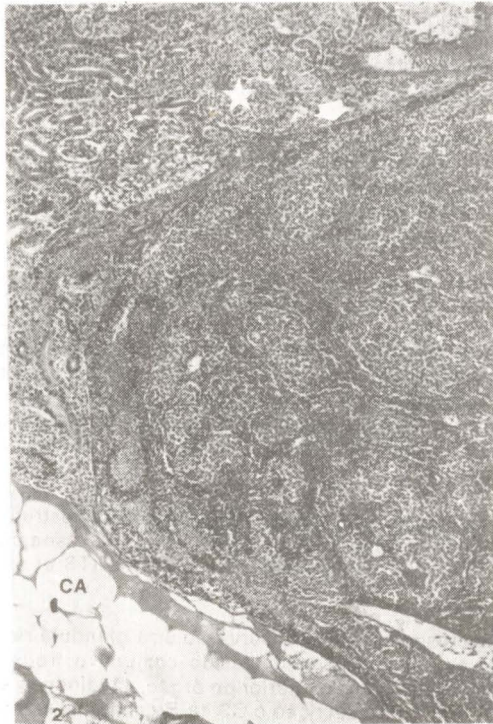
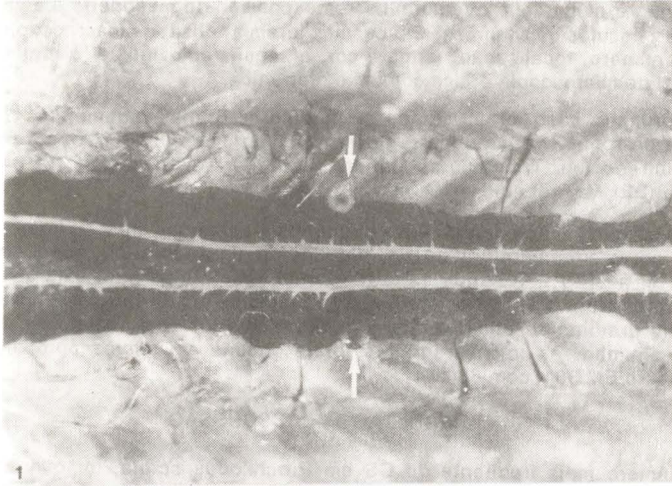
O número mais freqüente de CS em **Prochilodus scrofa**, foi o de dois por exemplar, o que está de acordo com a citação de MEZHININ (1979). Estes corpúsculos encontram-se localizados na região de transição da seção crânio-medial do mesonefro, apresentando ligeira assimetria (Fig. 1), idêntica posição é citada por MEZHININ (1979) nos percifódeos enquanto que nos ciprinifódeos (MEZHININ, 1979) e em **Hypotomus punctatus** (TEDESCO, 1984) a localização é caudal.

Ocorreram, porém, em alguns exemplares, casos de 3 ou 4 CS à semelhança do citado por BOSE & ALIM (1981) quanto ao número e, por SUBHEDAR & PRASADA RAO (1974) quanto à possibilidade de variação em número em uma mesma espécie. Estes CS apresentaram localização bastante variada e estavam imersos no parênquima renal em sua face dorsal e/ou ventral.

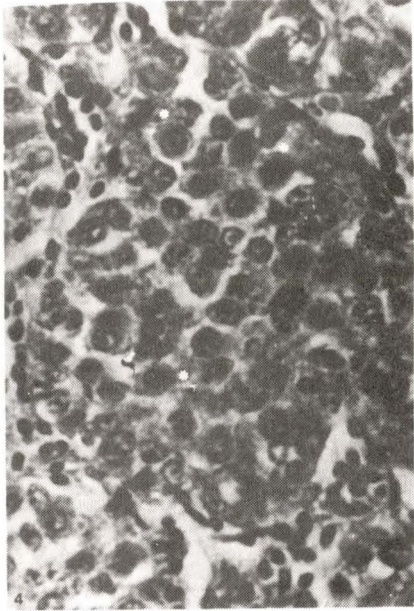
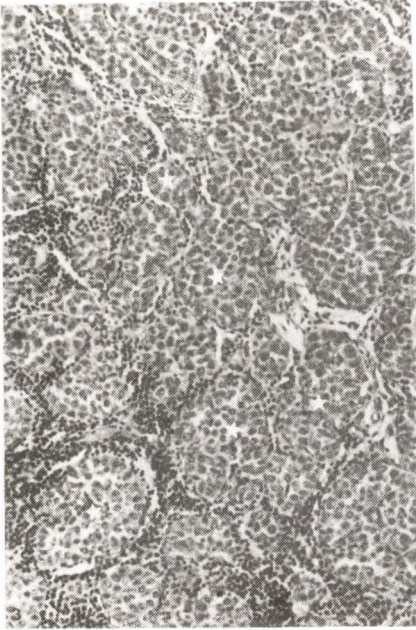
Têm sido freqüentes entre os pesquisadores dois tipos de discussão: a primeira procura estabelecer a relação entre o número de CS e a posição da espécie na escala evolutiva; GARRET (1942) afirma que quanto maior o número de CS mais primitiva é a espécie; tal afirmativa foi rebatida por BELSARE (1973), o qual, estudando **Notopterus notopterus**, espécie primitiva, encontrou apenas um (1) corpúsculo por exemplar; o segundo ponto controvertido é relacionado com a localização do CS no mesonefro e a posição taxonômica da espécie (BAUCHOT, 1953); porém, BOSE & ALIM (1981) descrevem variadas localizações do CS no mesonefro para **Oxygaster bacaila**.

Macroscopicamente, os CS de **Prochilodus scrofa** são estruturas esféricas medindo aproximadamente 2 mm de diâmetro e de coloração rósea pálida, diferindo da descrição de ovalados e esbranquiçados feitos por MEATS et alii (1978); BOSE & ALIM (1981).

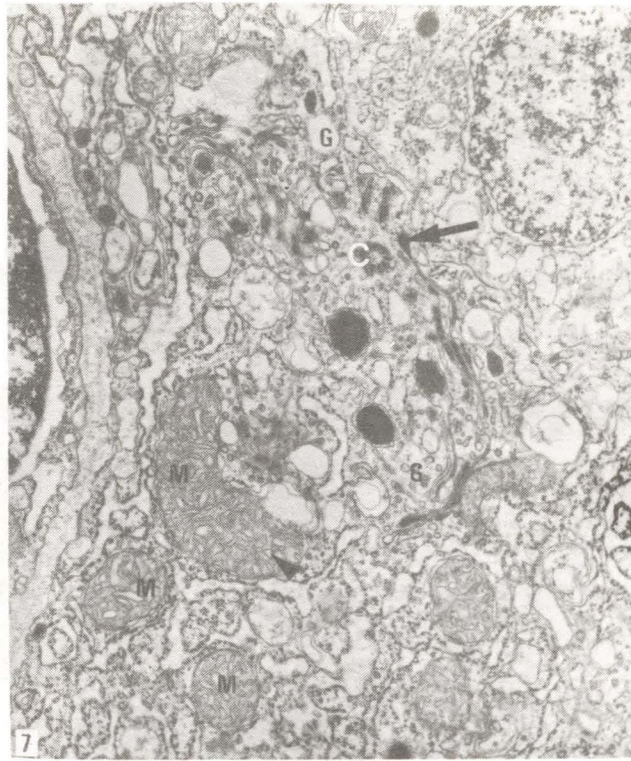
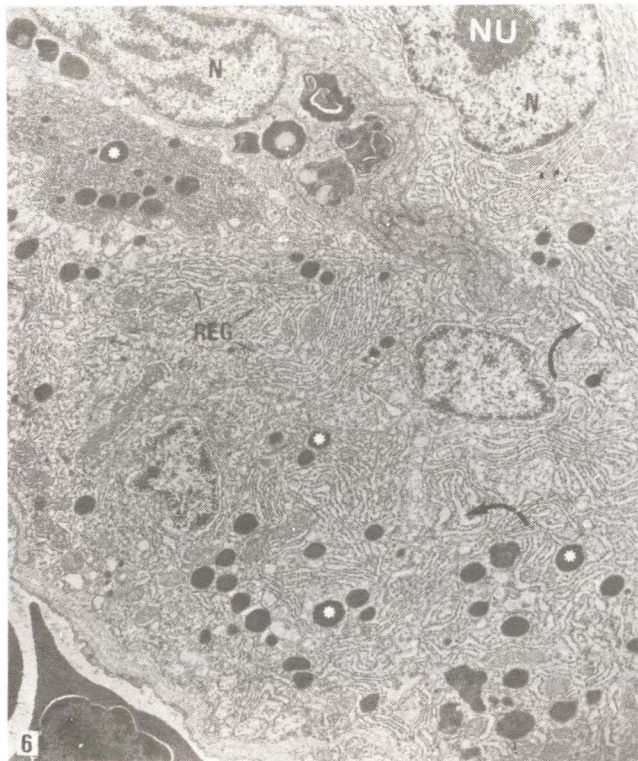
Ao nível da microscopia óptica observa-se uma glândula ricamente vascularizada, encapsulada por fina camada de tecido conjuntivo frouxo, rica em células adiposas, que envia septos para o interior do órgão, dividindo-o em lóbulos incompletos (Figs. 2 e 3). Por esta descrição o CS de **Prochilodus scrofa** enquadra-se no Tipo 2 da classificação de KRISHNAMÜRTHY & BERN (1969); embora SUBHEDAR & PRASADA RAO (1976) e AHMAD FIROZ (1978) discutem a possibilidade de que os modelos propostos por esses autores não sejam específicos podendo ocorrer variação em uma mesma espécie.



Prochilodus scrofa. Fig. 1: adulto, meşonefro, mostrando corpúsculo de Stannius. Fig. 2: Corpúsculo de Stannius - cápsula de tecido conjuntivo (seta); células adiposas (CA); tecido renal (*). H. E. 75X.



Prochilodus scrofa. Fig. 3: Corpúsculo de Stannius: lóbulos (*). H.E. 187X. Fig. 4: Corpúsculo de Stannius: células do Tipo 1. H.E. 750X. Fig. 5: Idem, H.E. 1825X.



Prochilodus scrofa. Fig. 6: Células com retículo endoplasmático granular (REG) bem desenvolvido, às vezes apresentando cisternas dilatadas (setas). Núcleos (N) arredondados ou aproximadamente elípticos com nucléolo (NU) bem visível. Grânulos elétrondenso (*) aparecem por todo o citoplasma. X7500. Fig. 7: Complexos de Golgi (G) bem desenvolvidos onde são observadas cisternas achatadas ligeiramente dilatadas na periferia (seta). Mitocôndrias (M) com cristas e túbulos (cabeça da seta). Centríolo (C) em corte transversal. X27000.

As células do CS do curimatá reagem negativamente ao AF, incluindo-se entre as exceções citadas por KRISHNAMURTHY & BERN (1969), onde todas as espécies estudadas, apenas *Citharichthys sordidus*, *Gillichthys mirabilis* e exemplares adultos de *Tilapia mossambica* reagem negativamente a esta técnica. Ainda, segundo os mesmos autores, como no CS das tilápias jovens, ocorre a presença de grânulos AF positivos, pode haver alguma variação relacionada com a idade.

Com relação ao PAS o resultado também foi negativo. Na literatura consultada o fato de ocorrer PAS -/AF -, apenas ocorreu no ciprinídeo *Carassius auratus* (KRISHNAMURTHY & BERN, 1969).

O parênquima do corpúsculo é constituído de pequenas células poliédricas ou alongadas com escassa quantidade de citoplasma ligeiramente acidófilo e granuloso (Figs. 4 e 5), o que concorda com a descrição de KRISHNAMURTHY (1976) para várias espécies de água doce onde apenas o núcleo é visível.

O núcleo está localizado em um dos polos da célula, apresentando forma ovalada ou arredondada. Figuras de mitose são observadas com relativa frequência. O nucléolo é distinto, excêntrico; às vezes ocorrendo dois em cada núcleo. A cromatina está distribuída em pequenos grupos, principalmente na periferia do núcleo.

À luz da microscopia óptica e eletrônica foi possível identificar apenas um (1) tipo celular, fato que confirma as descrições em várias espécies (FORD, 1959; OLIVEREAU, 1961; GILL & PUNETHA, 1977, 1978; BOSE & ALIM, 1981).

Trata-se de células poliédricas ou alongadas de contorno bastante regular, semelhante quanto à forma da célula Tipo 1 descrita em *Pleuronectes platesea*, *Gadus morhua* e *Carassius auratus* (BONGA & GREVEN, 1975). A organela que mais chama a atenção é o retículo endoplasmático granular que se apresenta principalmente sob a forma de cisternas achatadas dispostas paralelamente (Fig. 6). Muitas vezes, entretanto, essas cisternas mostram-se dilatadas (Fig. 7). O Complexo de Golgi também é bem desenvolvido, sendo frequentemente encontrado nas proximidades do núcleo (Fig. 7). É formado por cisternas achatadas ligeiramente dilatadas na periferia, e por vesículas (Fig. 7). Estas estruturas com frequência contêm material eletrôn-denso semelhante àquele encontrado no interior dos grânulos (Fig. 7). As mitocôndrias se apresentam em número moderado, contendo, na maioria das vezes, cristas perpendiculares ao maior eixo da organela, não raro, entretanto são encontrados túbulos e cristas (Fig. 7). Grânulos eletrôn-densos, envoltos por membrana, aparecem em número e tamanho variável espalhados por todo o citoplasma (Fig. 6); grânulos pequenos são frequentemente encontrados nas proximidades do complexo de Golgi (Fig. 7); os centríolos, com sua estrutura característica, aparecem junto ao complexo de Golgi (Fig. 7). Estas características identificam, segundo CARPENTER & HEYL (1974), células produtoras de secreções proteínicas.

O núcleo, arredondado ou alongado, algumas vezes apresenta contornos irregulares (Fig. 6). A cromatina aparece em pequena quantidade sob a forma de grumos que se condensam principalmente na face interna do envelope nuclear, respeitando porém, os poros nucleares (Fig. 6). O nucléolo é bem desenvolvido e também apresenta estrutura característica com a porção fibrilar interna e a granular periférica (Fig. 6).

REFERÊNCIAS

- Ahmad Firoz, M., 1978. **Studies on the kidney of some teleosts in relation to habitat and habitats.** PhD thesis, Ranchi University
- Behmer, O. A., E. M. C. Tolosa & A. C. Freitas Neto, 1976. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**, 240 pp. EDART/EDUSP, São Paulo
- Bauchot, D. K., 1953 Anatomie comparée des corpuscules de Stannius chez les teleostéens. **Archs Zool exp. gén.** **89**: 147-169.
- Belsare, D. K., 1973. Comparative anatomy and histology of the corpuscles of Stannius in teleosts. **Z. Mikrosk. - anat. Forsch.**, **Leizig** **87**: 445-456.
- Bonga, S. E. W. & J. A. A. Greven, 1975. A second cell type in Stannius bodies of two euryhaline teleost species. **Cell Tissue Res.**, **Berlin** **159**: 287-290
- S. E. W. & J. A. A. Greven, 1978. The relationship between cell activity, environmental calcium and plasma calcium in the teleost **Gasterosteus aculeatus**. Observation on stanniectomized fish. **Gen. comp. Endocrinol.**, **New York** **36**: 90-101.
- S. E. W., J. A. A. Greven & M. Veenhuis, 1977. Vascularization, innervation and ultrastructure of the endocrine cell types of Stannius corpuscles in the teleost **Gasterosteus aculeatus**. **J. Morphol.**, **Philadelphia** **153**(2): 225-244.
- S. E. W., J. C. A. Vandermeij & P. K. T. Pang, 1980. Evidence for two secretory cell types in the Stannius bodies of the teleosts **Fundulus heteroclitus** and **Gasterosteus aculeatus**. **Cell Tissue Res.**, **Berlin** **212**(2): 295-306
- Bose, K. C. & A. Alim, 1981. Histophysiology of the corpuscles of Stannius of a teleost fish, **Oxygaster bacaila** (ham). **Revta bras. Biol.**, **Rio de J.** **41**(2): 447-449
- Carpenter, S. J. & H. Z. Heyl, 1974. Fine structure of the corpuscles of Stannius of Atlantic salmon during the freshwater spawning journey. **Gen. comp. Endocrinol.**, **New York** **23**: 213-223
- Ford, P., 1959. Some observations on the corpuscles of Stannius, pp. 728-734, in Gorbman, A., ed., **Comparative endocrinology**. John Wiley & Sons, New York.
- Garret, F. D., 1942. The development and phylogeny of the corpuscles of Stannius in ganoid and teleostean fishes. **J. Morphol.**, **Philadelphia** **77**(1): 41-67
- Gill, T. S. & J. C. Punetha, 1977. Studies on a hill-stream fish, **Pseudoecheneis sulcatus** (McClelland). II. Histocytology of the corpuscles of Stannius. **Z. mikrosk. - anat. Forsch.**, **Leipzig** **92**: 312-316
- Gill, T. S. & J. C. Punetha, 1978. Corpuscles of Stannius in a hill-stream teleost, **Glyptothorax pectinopterus**. **Ibid.** **92**: 312-316.
- Heyl, H. L., 1970. Changes in the corpuscles of Stannius during the spawning journey of the Atlantic salmon (**Salmo salar**). **Gen. comp. Endocrinol.**, **New York** **14**: 43-52.
- Krishnamurthy, V. G., 1976. Cytophysiology of corpuscles of Stannius. **Int. Rev. Cytol.**, **New York** **46**: 177-249
- Krishnamurthy, V. G. & H. A. Bern, 1969. Correlative histologic study of the corpuscles of Stannius and the juxtglomerular cells of teleost fishes. **Gen. comp. Endocrinol.**, **New York** **13**: 313-335
- Leung, E. & J. C. Fenwick, 1978. Hypocalcemic action of the Stannius corpuscles in rats. **Can. J. Zool.**, **Ottawa** **56**: 2333-2335
- Lopez, E., 1969. Etude histophysiological des corpuscles de Stannius de **Salmo salar** L. au cours des diverses étapes de son cycle. **Gen. Comp. Endocrinol.**, **New York** **12**: 339-349.
- Meats, M., et al., 1978. Fine structure of the corpuscles of Stannius of the trout, **Salmo gairdneri**: Structural changes in response to increases environmental salinity and calcium ions. **Ibid.** **36**: 451-461.
- Mezhnin F. I., 1979. Stannius corpuscles in fish. **J. Ichthyol.**, **Colorado** **19**(2): 105-123

- Nadkarni, V. B. & A. Gorbman, 1966 Structure of the corpuscles of Stannius in normal and radiothyroidectomized chinook fingerlings and spawning Pacific salmon. **Acta. zool.**, Stockholm **57**: 61-66
- Oguri, M, 1966 Electron microscopic observations on the corpuscles of Stannius in goldfish **Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.** **32**: 903-908
- Olivereau, M, 1961 Corpuscles de Stannius et reproduction chez l'anguille mâle **C. r. hebd. Séanc. Acad. Sci., Paris** **253**: 541-543.
- , M & J Olivereau, 1978 Prolactin, hypercalcemia and corpuscles of Stannius in seawater eels **Cell Tissue Res.**, Berlin **186**: 81-96.
- Srivastav, A. K, 1982 Corpuscles of Stannius of freshwater mud eel, **Amphipnous uochia** **Bolm Zool. Univ. S Paulo** **7**: 149-153.
- Subhedar, N & P. D. Prasada Rao, 1974. Effects of some corticosteroids and metipirone on the corpuscles of Stannius and interrenal gland of the cat-fish, **Heteropneustes fossilis** (Bloch). **Gen. comp. Endocrinol**, New York **23**: 403-414
- Subhedar, N & P. D. Prasada Rao, 1976 On the cytoarchitecture of the corpuscles of Stannius of the catfish, **Heteropneustes fossilis** (Bloch) **Z. mikrosk -anat Forsch., Leipzig** **90**(4): 737-748
- Tedesco, Y. M. S., 1984 **Corpúsculo de Stannius de Hypostomus punctatus (Peters - Teleosteo - Loricarídeo): Histofisiologia**, 96 pp Tese de Mestrado, Instituto de Biociências, Universal