

**O SISTEMA NEUROSECRETOR CAUDAL E A URÓFISE
(UROPHYSIS MEDULLAE SPINALIS) DE
PEIXES TROPICAIS**

OLGA MARTINS MIMURA

Departamento de Fisiologia Geral e Instituto
de Biologia Marinha da Universidade de São
Paulo.

1. INTRODUÇÃO
2. MATERIAL, PROCEDÊNCIA E MÉTODOS DE ESTUDO.
3. O SISTEMA NEUROSECRETOR CAUDAL E A URÓFISE
DE PEIXES DA REGIÃO NEOTRÓPICA
 - a. *Pseudoplatystoma corruscans*
 - b. *Paulicea lutkeni*
 - c. *Rhamdia sebae*
 - d. *Pimelodus clarias*
4. PARTE EXPERIMENTAL — A URÓFISE E O
METABOLISMO DOS HIDRATOS DE CARBONO
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS
6. CONCLUSÕES
7. BIBLIOGRAFIA

RESUMO — Este estudo refere-se à anatomia e histologia do sistema neurosecretor caudal de quatro espécies de peixes de água doce da região neotrópica (*Pseudoplatystoma corruscans*, *Paulicea lutkeni*, *Rhamdia sebae* e *Pimelodus clarias*).

As células neurosecretoras de Dahlgren-Speidel acham-se localizadas na região correspondente às sete últimas vértebras da medula espinhal terminal.

Estas células distribuem-se latero-ventralmente ao canal do epêndima; são normalmente monopolares, sendo muito raras

as bipolares. Variam de tamanho num mesmo espécime. Assim, as células maiores são geralmente ovaladas ou piriformes com núcleo, via de regra apical, de aspecto reniforme ou lobulado.

As menores são esféricas com núcleo esférico e central. O número de nucléolos varia de 1 a 5.

O citoplasma das células neurosecretoras caudais é basófilo, assemelhando-se ao das células neurosecretoras dos núcleos pré-ópticos do sistema hipotálamo-neurohipofisário dos peixes.

Os grânulos secretores são do tipo I, Gomori negativos; distribuem-se na periferia do corpo celular ou ao redor do núcleo, e, às vezes, aparecem ao longo dos axônios.

Na urófise a secreção aparece sob forma de grânulos ou de corpúsculos semelhantes aos de Herring do sistema hipotálamo-neurohipofisário.

A urófise divide-se em duas zonas: medula e cortex. A primeira é provida de diversas fibras "neurosecretoras", e na zona cortical estas fibras são ramificadas e providas de vários grânulos neurosecretores.

Fez-se a tentativa de estudar a função da urófise, realizando-se diversas experiências para determinar a influência do órgão no metabolismo dos carboidratos. Peixes urofisectomizados (*Rhamdia sebae*) mostram um aumento contínuo de glicose no sangue.

As Tabelas 5, 6, 7 e 8 e Fig. 20-23 mostram estes resultados.

Os peixes urofisectomizados foram injetados com 0,1 ml de extrato (0,2 mg/ml) de urófise da mesma espécie e 1, 2, 3, 6, 12, 24, 36, 48 e 168 horas após a injeção a glicemia caiu a 32,7% em relação ao nível normal que é de 125 mg%.

Estes resultados indicam a possibilidade de a urófise de *Rhamdia sebae* conter um princípio hipoglicemiante.

CAUDAL NEUROSECRETORY SYSTEM AND UROPHYSIS (UROPHYSIS MEDULLAE SPINALIS) OF TROPICAL FISHES

ABSTRACT — The caudal neurosecretory system of four species (urophysis) of tropical fishes (*Pseudoplatystoma corruscans*, *Paulicea lutkeni*, *Rhamdia sebae*, *Pimelodus clarias*) has been investigated.

The Dahlgren-Speidel cells are situated along the terminal region of the spinal cord of the fishes, around the ependymal canal, limited to the region of the last seven vertebrae. They are usually monopolar, and scarcely bi-polar cells.

The large cells are oval or pyriform, provided with one reniform or lobulated nucleus, in the apex. The nuclei of the small cells are spherical and central. The number of nucleoli varies from 1 to 5 in both of cells. The cytoplasm is basophil, and similar with that of the neurosecretory cells of the pre-optical nuclei of the hypothalamo-neurohypophysial system of fishes.

The secretory granules in both types of cells belong to the negative Gomori I type. They are spread at the periphery of the cellular body or concentrated around the nucleus and sometimes they appear along the axon fibers. Urophysis or neurohemal organ is provided with granules and small corpuscles similar to well known Herring corpuscles of the hypothalamo neurohypophysial system. The shape of the urophysis is very typical. At the ventral side, the terminal region of the spinal cord is dilated and urophysis appears as an appendix.

The urophysis is divided into two zones: medulla and cortex. The first is provided with several "neurosecretory" fibers, and in the cortical zone these fibers are branched and supplied with several neurosecretory granules.

An attempt has been made to study the function of the urophysis. Several experiments were performed to determine the influence of the organ in the metabolism of carbohydrates. Urophyssectomized fishes (*Rhamdia sebae*) shown a continuous increasing of the glucose content in the blood. Tables 5, 6, 7 and 8 and Figs. 20 to 23 confirms these results. The urophys-

ectomized fishes have been injected with 0,1 ml of extract (0.2 mg/ml) of urophysis of the same fish and 1, 2, 3, 6, 12, 24, 36, 48 and 168 hours after the glucemia was dropped to 32,7% in relation to the normal level that is 125 mg%.

The results indicated that the urophysis of *Rhamdia sebae* may have some hypoglycemic principle.

1.

INTRODUÇÃO

O problema de neurosecreção, embora constitua ainda uma questão aberta na endocrinologia comparada, passou a ser hoje um dos temas de maior interesse, a atrair inúmeros pesquisadores, no campo da morfologia como no da fisiologia.

O conceito de neurosecreção formulado em 1928 por E. Scharer, ao estudar o hipotálamo de peixes (*Phoxinus laevis*) foi de início apenas uma curiosidade morfológica de difícil interpretação e quase impossível de se associar com qualquer outro fenômeno fisiológico.

Do ponto de vista citológico, um dos aspectos mais interessantes da neurosecreção é a coexistência, em uma mesma célula, de características neuronais e secretoras; fisiologicamente o fenômeno neurosecretor se acha associado à elaboração de hormônios reguladores de fenômenos metabólicos em Vertebrados, em Artrópodes e em vários Anelídeos, pelo menos pelo que hoje se conhece da extensa bibliografia já disponível.

Do ponto de vista endócrino comparativo, poder-se-á admitir que a neurosecreção seja um mediador entre o sistema nervoso e o sistema endócrino, promovendo ambos a integração neuroendócrina, tão importante para o organismo.

As células neurosecretoras foram conhecidas mesmo antes de o conceito de neurosecreção ter sido enunciado. As primeiras descrições foram feitas em Invertebrados (Bellonci, 1882; Nansen, 1886 e Metalnikoff, 1900). Em 1914 Dahlgren (p. 862) descreveu, pela primeira vez, em Vertebrados, células neurosecretoras da medula espinhal de peixes. A natureza glandular destas células foi admitida por Speidel (1919: 1) ao estudá-las em numerosos peixes.

Nestes animais, como se sabe (Favaro, 1925: 30), o sistema neurosecretor não se restringe ao hipotálamo em conexão com a neu-

rohipófise, mas também à região caudal da medula espinhal onde existe uma outra neurohipófise, a chamada hipófise caudal ou urófise. O estudo desta outra hipófise constitui justamente o ponto principal de investigação do presente trabalho, como adiante se verá.

Retornando às células neurosecretoras, julgo dever lembrar que em homenagem aos dois últimos autores citados, os neurônios secretores do sistema neurosecretor caudal foram denominados — células de Dahlgren-Speidel.

Após a evidenciação real do fenômeno por E. Scharrer (1928), somente em 1949 (p. 610) o estudo da neurosecreção tomou novo impulso, quando Bargmann introduziu um método de coloração para a detecção do material neurosecretor no sistema hipotálamo-neurohipofisário. Posteriormente, Gomori (1950: 665) modificou este método, sendo o mesmo aplicado a seguir a todos os sistemas neurosecretores de Vertebrados e de Invertebrados.

Paralelamente ao conceito de neurosecreção, desenvolveu-se o de sistema neurosecretor, que é um sistema constituído por um conjunto de células neurosecretoras situadas sempre em um órgão nervoso. O conjunto de fibras que transporta o produto secretor a um órgão armazenador de secreção situado quase sempre próximo a uma glândula endócrina é uma de suas características. Este órgão armazenador, por sua natureza nervosa e por ser extremamente rico em capilares sanguíneos, denomina-se órgão neuro-hemal.

Normalmente, o órgão neuro-hemal encontra-se associado a uma glândula endócrina como no caso do sistema hipotálamo-neurohipofisário. Nos Invertebrados poder-se-á citar o sistema *protocerebro-corpora cardíaca* associado aos *corpora allata* nos insetos, e o sistema neurosecretor — órgão X — glândula do seio, associado ao órgão Y, nos crustáceos.

É oportuno lembrar o conceito de neurosecreção de Bern e Hagadorn (1965: 364): “O sistema neurosecretor encontrado nos metazoários consiste de um grupo de células e um trato de axônios que conduzem a secreção e que terminam em íntima associação com um sistema vascular, formando um órgão neuro-hemal para armazenamento e liberação do produto secretado”.

Como disse, ainda não se acha bem esclarecida a anatomia e principalmente a fisiologia desses elementos neurosecretores.

No grupo, que no Departamento de Fisiologia da Universidade de São Paulo se dedica à endocrinologia comparada, coube-me, por sugestão do Prof. Dr. Paulo Sawaya, estudar a hipófise caudal, também denominada urófise, que existe na maioria dos peixes. Interessei-me por este trabalho cujo objetivo principal vem a ser o conhecimento desse órgão em peixes típicos da região neotrópica, tanto no que se refere à estrutura como, e principalmente, tentar contribuir de algum modo para a elucidação de suas funções.

Os autores mais antigos como Arsaky (1813), Weber (1827: 316); Rauber (1876: 7) e Ziehen (1903) limitaram-se a descrever uma intumescência caudal que notaram na medula espinhal dos peixes. Só mais tarde Rauber (1877: 620) admitiu ser esse órgão de natureza conjuntiva e teria como finalidade amortecer, à guisa de almofada, as batidas da nadadeira caudal transmitidas à medula.

Saint Rémy (1888: 57) tomava-o como parte da medula espinhal, sendo formado por tecido conjuntivo extremamente rico em vasos sanguíneos, com o qual se continuaria a pia mater.

Somente em 1914, Dahlgren, ao observar a medula espinhal de representantes de Elasmobrânquios da família Rajidae, encontrou, juntamente com os neurônios motores, certas células nervosas com características peculiares, principalmente quanto à forma. Observou que no interior destas células se formavam vacúolos onde se aglomeravam grânulos homogêneos, logo absorvidos pelo sangue.

Pouco depois, Speidel (1919-1922) descreveu estas células de maneira satisfatória, em Elasmobrânquios, Ganóides e Teleósteos. É interessante a descrição de Speidel sobre os neurônios especiais:

“If they are nerve-cells they would be among the largest nerve-cells known... The evidence gathered from the study of histogenesis... indicate that the cell might be regarded as a transformed nerve-cell... the granules represent some specific secretion that being produced by the cells the whole process seems to indicate that these large cells are gland cells of internal secretion”.

A natureza endócrina das células especiais da medula espinhal foi admitida pela primeira vez por Verne (1914: 157), depois por Speidel (l.c.) e, a seguir, por Favaro (1925: 30). É do último autor a seguinte afirmação:

“L'ipofise caudale dei teleostei sia una glandula nervosa a secrezione interna”.

A esta conclusão Favaro (l.c.) chegou, após examinar vários teleósteos com os quais realizou estudos histológicos da urófise e da neurohipófise. O mesmo autor (l.c.) chamou a atenção ainda para a grande semelhança entre o sistema neurosecretor caudal e a hipófise posterior, sendo o primeiro a utilizar o termo "hipófise caudal" para designar a intumescência caudal indicada pelos pesquisadores.

De 1927 em diante, parece que o sistema neurosecretor caudal foi esquecido até 1955, quando Enami redescobriu o órgão caudal e passou a estudá-lo intensamente. Este autor desconhecia os trabalhos dos autores precedentes. Estudando *Anguilla japonica*, encontrou elementos neurosecretores na porção terminal da medula espinhal, confirmando deste modo os trabalhos anteriores.

A partir de 1955, Enami estudou o sistema neurosecretor caudal em um grande número de peixes marinhos e dulciaquícolas. Chamou novamente a atenção para a semelhança entre as células de Dahlgren-Speidel (neurônios secretores da medula espinhal) e as células secretoras dos núcleos hipotalâmicos: paraventricular e supra-óptico. Pouco depois, Enami e col. (1956: 197) admitiram ser o material secretado transportado pelas terminações nervosas cujos axônios penetram na urófise — o órgão armazenador da secreção.

Deve-se ainda ao mesmo autor a introdução do termo "sistema neurosecretor caudal".

A ocorrência de alterações no sistema neurosecretor caudal de *Misgurnus anguillicaudatus* em conseqüência de modificações osmóticas do ambiente, induziu Enami (1956: 764) a iniciar na realidade, o estudo da fisiologia desse sistema. Nesse mesmo ano, Enami, Miyashita e Imai (p. 290) indicaram a existência de um "hormônio regulador da quantidade de sódio no organismo" e Enami (1958a: 50) assinalou que extratos de urófise de enguia atuavam sobre a manutenção do equilíbrio de *Carassius sp.* Em *Anguilla japonica* Enami e Imai (1958: 164) investigaram a ultraestrutura do sistema neurosecretor caudal e no mesmo ano Enami encontrou grande quantidade de zinco no extrato do sistema neurosecretor caudal do mesmo peixe.

Contemporâneas aos estudos de Enami e colaboradores são as pesquisas de Sano e Kawamoto (1959: 56); Sano (1958: 481); Sano e Hartmann (1958: 538); Sano e Knoop (1959: 464); Sano, Hamana e Kawamoto (1962: 881); no campo da estrutura e da ultraestrutura do sistema neurosecretor caudal.

O desenvolvimento da urófise durante o processo embrionário foi estudado por Sano (1958: 481) e por Fridberg (1962a: 62).

Vem a seguir os trabalhos de Holmgren (1958: 454, 1959: 1, 1961: 83) e os de Bern e seus colaboradores, que a partir de 1959 se preocuparam primordialmente com o esclarecimento da fisiologia desse sistema em uma série de animais.

Bem mais tarde, Bern (1967: 455) faz ligeiras referências ao sistema neurosecretor caudal ao tratar dos hormônios das glândulas endócrinas dos peixes.

Bern e Hagadorn (1959: 725) descreveram o sistema em Elasmobrânquios; Bern e Takasugi (1962: 98) e Yagi e Bern (1963; 491), estudaram-no em vários Teleósteos.

O estudo eletrofisiológico e fisiológico do sistema neurosecretor caudal foi efetuado também por Bern e col. (1962: 98; 1965: 217). A indicação de um papel osmoregulador na urófise foi admitida por estes últimos autores.

Peyrot e Mantellino (1962: 923) preocuparam-se primordialmente com a parte bioquímica dos componentes citológicos das células de Dahlgren-Speidel. Estudaram a atividade enzimática das células neurosecretoras caudais em *Tinca tinca*, evidenciando a presença de fosfatase alcalina e glicose-6-fosfatase, demonstrando assim a alta atividade dos elementos neurosecretores.

Romeu e Pascar (1962: 422) descreveram os elementos neurosecretores em *Clupea melanostomata*.

Roy (1962: 449) estudou a histologia e alguns aspectos da função do sistema neurosecretor caudal em alguns peixes da Índia e, por sua vez, Fridberg, Nishioka, Bern e Fleming (1966: 311) verificaram haver regeneração dos elementos neurosecretores caudais, após a extirpação da urófise em *Tilapia mossambica*. Ainda no mesmo ano, Kawamoto (1962: 1) investigou as relações do sistema neurosecretor caudal e os gases da bexiga natatória.

A estrutura deste sistema foi também analisada por Fridberg (1963a: 265) em *Leuciscus rutilus* e *Phoxinus phoxinus*. Uma observação feita neste trabalho é a de que os grânulos de secreção seriam elaborados pelo complexo de Golgi.

Em 1963b (p. 13) ainda Fridberg estabeleceu as principais relações entre o referido sistema em Elasmobrânquios e Teleósteos, assim como as existentes entre as células neurosecretoras caudais e

as do núcleo pré-óptico. Indicações eletrofisiológicas do papel osmoregulador da urófise foram dadas pelas pesquisas realizadas em *Tilapia mossambica* por Yagi e Bern (1963: 491).

A seguir, Sawyer e Bern em 1963 (p. 555) examinaram o sistema neurosecretor caudal de *Tilapia mossambica* e verificaram a presença de atividade neurohipofisária neste sistema.

Kobayashi, Uemura, Oota e Ishii (1963: 714) demonstraram a existência de atividade colinérgica nas células de Dahlgren. Ishibashi (1962: 415) observou atividade elétrica dos elementos neurosecretores em *Anguilla japonica*.

Em 1965 (p. 96), Fridberg, Bern e Nishioka examinaram peixes do gênero *Albulla*, que habitam profundidades diferentes e verificaram a existência de diferenças entre os animais de um e outro "habitat".

Em 1965 (p. 217), Bern, Yagi e Nishioka examinaram a estrutura e função do sistema neurosecretor caudal de Teleósteos e verificaram a existência de uma função osmoreguladora.

Fridberg, Iwasaki, Yagi, Bern, Wilson e Nishioka (1966: 137) observaram o comportamento das células neurosecretoras caudais ao serem estimuladas eletricamente. Apareceram dois potenciais de acordo com a área estimulada da medula espinhal.

Mais tarde, Inoue e Sato (1966: 464) estudaram a captação de leucina e uridina radioativas pelas células do sistema neurosecretor caudal em *Misgurnus anguillicaudatus*.

Mais recentemente, Hirano, Kanya, Saishu e Utida (1967: 182) observaram os efeitos produzidos pela hipofisectomia e pela urofisectomia sobre o transporte de água e sódio em brânquias de *Anguilla japonica*.

Lacanilao (1969: 1326) demonstrou o efeito hidrosmótico da "urophysis" de *Gillichthys mirabilis*, sobre a bexiga de sapo.

Nesta rápida e sumária revisão bibliográfica, nota-se que do início ao fim do século passado (1813-1877) o sistema neurosecretor caudal foi apenas assinalado nos peixes.

A partir de 1914, após a descrição de Dahlgren dos elementos celulares que tomaram seu nome e que hoje se consideram células neurosecretoras, iniciou-se a fase dos estudos anatômicos, com acentuação dos aspectos histológicos. Tratou-se então principalmente da distribuição da urófise nos diversos peixes pertencentes a diferentes

espécies, tanto de água doce como marinhos, e das características morfológicas dos neurônios neurosecretores etc.

De 1927 a 1955 há um intervalo em que não se cogitou deste sistema.

A partir de 1955 aparecem os trabalhos da escola de Enami, que no início trataram da descrição dos elementos celulares de que o sistema se compõe. Acentua-se o estudo da localização dos mesmos nas últimas porções da medula espinhal, e a terminação dos axônios na urófise propriamente dita, além de se procurar estabelecer as relações do sistema com o hipotálamo-hipofisário. Somente em 1958 é que se publicam os primeiros trabalhos sobre a ultraestrutura, e, conjuntamente, tem início a fase fisiológica experimental.

Daí para cá, intensificaram-se as pesquisas sob o ponto de vista fisiológico, mas em várias direções, o que ainda não possibilitou obter conclusão decisiva sobre o papel exercido pelo sistema neurosecretor caudal.

Até hoje os diferentes aspectos da morfologia e da fisiologia do sistema neurosecretor caudal já foram objeto de resenhas bibliográficas que resumem os principais dados da extensa bibliografia. São de citar-se a de Arvy publicada em 1966 e a de Fridberg e Bern (1968: 175). No recentíssimo tratado sobre a fisiologia dos peixes (Hoar e Randall, 1969), Bern (p. 309) apresenta um substancioso capítulo sobre a urófise e o sistema neurosecretor caudal. Além de uma revisão crítica da literatura moderna, Bern abriu várias perspectivas para pesquisa, como um dos mais categorizados especialistas neste campo de estudos. Com a sua incontestável autoridade afirma (p. 415):

“O que é mais necessário no momento para entendimento do sistema neurosecretor caudal é o interesse de maior número de fisiólogos comparativos”.

Mais recentemente ainda, Bentley sobre Zoofisiologia e Ecologia (1971) aborda o problema da urófise (p. 79 e 244) e conclui (p. 80) que a natureza química do material da urófise será de considerável interesse.

Não obstante estes estudos, até a presente data não se definiu com precisão o papel exercido por este sistema. Esta é pelo menos a conclusão de Bern, Yagi e Nishioka (1965: 238), de Yagi e Bern (1965: 526), que também vem citada por Highnam & Hill (1969: 7).

O que se obteve, até hoje, quanto à função da urófise, vem a ser a possibilidade de este órgão interferir no equilíbrio iônico participando também da osmoregulação.

É o que já afirmou Enami (1956: 759) ao observar que injeção intraperitoneal de solução salina 2,0% em animais urofisectomizados promovia diminuição na quantidade de secreção detectável. Ainda Enami e col. (1956: 290) admitiram a possibilidade de ocorrência de um hormônio regulador de sódio no sistema neurosecretor caudal.

Finalmente Maetz, Bourguet e Lahlou (1963: 159) trabalhando com *Carassius auratus* assinalaram a ocorrência de efeitos sobre a absorção de sódio ao nível das brânquias e sua excreção ao nível dos rins, sob a dependência da urófise.

Em que pesem estas conclusões, no entender de Bentley (1971: 245) a evidência de que a urófise produza uma secreção que influencie a osmoregulação é duvidosa.

Sem dúvida, se houver uma interferência da urófise na osmoregulação deverá achar-se intimamente ligada ao metabolismo dos carboidratos. A este respeito, pelo menos na bibliografia consultada, tanto antiga como moderna, não se encontram referência alguma. Assim, ainda por sugestão do Prof. Dr. Paulo Sawaya, resolvi abordar também este tema, i.é., verificar se a urófise interfere no metabolismo dos carboidratos.

No presente trabalho, portanto procurar-se-á:

1. Descrever o sistema neurosecretor caudal de alguns peixes de água doce, típicos da região neotropical;
2. Estudar a distribuição das células neurosecretoras desse sistema;
3. Abordar a fisiologia, principalmente verificar a possível interferência da urófise no metabolismo de carboidratos.

2.

MATERIAL, PROCEDÊNCIA E MÉTODOS DE ESTUDO

1. Terminologia

Ao descrever o material, sua procedência e os métodos utilizados neste estudo, julguei de conveniência tratar, embora sumariamente, da terminologia do sistema neurosecretor caudal.

Considera-se sistema neurosecretor o conjunto de neurônios secretores, os prolongamentos transportadores de neurosecreção e o órgão neuro-hemal responsável pelo armazenamento e liberação de secreção na circulação.

O sistema neurosecretor caudal compreende:

- a) o conjunto de células secretoras, chamadas células de Dahlgren-Speidel, situado na região terminal da medula espinhal e os prolongamentos axonais (fibras "neurosecretoras") transportadores de secreção;
- b) o órgão neuro-hemal acumulador de secreção e seu liberador para os fluídos corpóreos.

O órgão neuro-hemal neste sistema tem recebido várias denominações. Assim, Favaro (1925: 30) denominou-o "hypophysis caudalis" e Enami e Imai (1956: 197) sugeriram: "neurohypophysis caudalis" e "urohypophysis". Sano (1958: 481) usou a designação "neurophysis spinalis". Holmgren (1959: 1) adotou o nome "urophysis spinalis" admitindo "que este nome salienta a posição do órgão relativo ao corpo, sem considerar sua variação de posição em relação à medula espinhal". Fridberg (1962a: 6) sugere que o nome mais adequado para este órgão seria "urophysis medullae spinalis", significando crescimento da medula espinhal na região caudal.

No decorrer do presente trabalho adotarei o termo "urófise", pois creio não ser necessária a introdução de urófise espinhal, uma vez que, ao que tudo indica, parece não haver na região medular e caudal dos peixes qualquer outra glândula endócrina. Por urófise indico o órgão neuro-hemal do sistema neurosecretor caudal.

2. Características das populações

Os animais utilizados neste trabalho são peixes Siluriformes, sub-ordem Siluroidei, família Pimelodidae e sub-famílias Sorubiminae e Pimelodinae, pertencentes às espécies:

Pseudoplatystoma corruscans Eigenmann & Eigenmann 1888 vulgarmente denominado "Pintado" ou "Surubim pintado".

Paulicea lutkeni Steindachner 1875 — "Jaú"

Rhamdia sebae Eigenmann & Eigenmann 1888 — "Bagre" ou "jundiá"

Pimelodus clarias Lacépède 1803 — "Mandi-amarelo".

A classificação destes animais foi inicialmente determinada com base nos trabalhos de Eigenmann (1912) e Fowler (1948-51);

a determinação das espécies foi feita pelo Dr. Naércio A. Menezes do Departamento de Zoologia da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo, a quem muito agradeço. As características acham-se citadas nas Tabelas 1 e 2.

TABELA 1

NÚMERO DE SPÉCIMENS, SEXO, PESO MÉDIO EM KG

ESPÉCIMENS

Número de animais

	Sexo feminino	Sexo masculino	Total	Peso médio em kg
<i>Pseudoplatystoma corruscans</i>	2	2	4	8,00
<i>Paulicea lutkeni</i>	2	2	4	4,00
<i>Rhamdia sebae</i>	72	18	100	0,20
<i>Pimelodus clarias</i>	21	9	30	0,35

TABELA 2

PEIXES ESTUDADOS — DIMENSÕES LINEARES EM CM.

Dimensões (cm)	<i>Pseudo- platysto- ma corrus- cans</i>	<i>Paulicea lutkeni</i>	<i>Rhamdia sebae</i>	<i>Pimelo- dus clarias</i>
Comp. "standar"	98,0	50,0	31,0	33,0
Comp. da cabeça	27,0	16,0	8,7	9,2
Diâmetro do olho	1,2	1,0	0,7	0,9
Maior largura	22,0	16,0	5,5	5,9
Comp. do focinho	10,0	5,5	3,3	3,5
Comp. post-orbital da cabeça	19,0	9,3	4,5	5,1
Comp. do pedún- culo caudal	11,0	9,0	5,5	5,8
Comp. ponta do fo- cinho - origem da nadadeira dorsal	30,0	26,0	12,0	12,0
Comp. ponta do fo- cinho - origem da nadadeira anal	55,0	33,0	16,0	17,0
Comp. ponta focinho-ânus	58,0	35,0	18,0	19,0
Maior raio da nada- deira dorsal	6,0	4,5	3,5	3,5
Maior raio da nada- deira anal	6,0	3,2	3,2	3,5
Maior raio da nada- deira pélvica	6,0	4,5	3,2	3,5
Maior raio da nada- deira caudal	7,0	5,0	3,5	4,0
Menor profundidade caudal	9,0	7,0	5,5	5,5

3. *Informações ecológicas*

Os animais provieram dos rios Paraíba, Grande, Piracicaba e Mogi-Guaçu, todos no Estado de São Paulo.

Os "Jaús" foram pescados na Cachoeira de Ferrador, município de Fronteira, Estado de Minas Gerais; dois dos "Pintados" o foram no rio Tietê e mantidos em grandes tanques em Piracicaba, Estado de São Paulo.

Coletaram-se os "Bagres" no rio Paraíba, no município de Pindamonhangaba, Estado de São Paulo.

Os "Mandis" provieram do rio Mogi-Guaçu, município de Piracununga, na Estação Experimental de Piscicultura da Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo.

As regiões de captura dos animais variam grandemente. Os "Bagres" são animais que habitam águas lodosas, sendo mais fácil pescá-los durante a época das chuvas, geralmente coincidente com a primavera e o verão. Durante o dia, os animais escondem-se em locais escuros, sob as rochas ou pedaços de madeira apodrecida. Geralmente estes animais migram rio-acima durante a época da reprodução que se realiza no período da primavera ao verão.

"Bagre" é o nome geralmente usado para todos os peixes siluriformes. Não obstante, Santos (1954: 99) indica ser esse nome inicialmente aplicado apenas a alguns peixes marinhos.

Os "Mandis" vivem quase sempre em pequenos cardumes habitando tocas de pedra em lugares preferencialmente profundos; durante o dia permanecem aí e somente ao anoitecer saem da toca à procura de alimentos.

Quando mantidos em aquários no laboratório, nota-se que os animais conservam os hábitos normais de vida. Durante o dia permanecem aglomerados nos cantos pouco iluminados do aquário, praticamente imóveis, apresentando ligeiro movimento da cauda. Quando se lhes oferece alimento movimentam-se rápida e desordenadamente. Ao anoitecer, nota-se grande movimento no aquário; os animais nadam de um lado para outro e durante a noite freqüentemente vêm à superfície.

Os "Jaús" e os "Pintados" são habitantes dos grandes rios onde, segundo Magalhães (1931: 127), "a subsistência lhes é farta".

Durante o dia, estes peixes permanecem em repouso em suas tocas nos locais mais profundos dos rios; dificilmente se consegue

pescá-los durante o dia, pois sendo dotados de força extraordinária, entocam e permanecem no local durante longos períodos. À noite saem dos abrigos naturais para se alimentarem. Quando, porém, as chuvas de primavera e verão provocam enxurradas, os animais saem de seus abrigos mesmo durante o dia. O “Jaú” como os outros peixes estudados migram rio-acima, para a desova durante a época das enchentes.

Os “Pintados”, como os demais peixes de couro, habitam tocas de pedra durante o dia; à tardinha abandonam esses lugares à procura de alimentos, de preferência nas margens dos rios onde capturam principalmente crustáceos, pequenos peixes e vermes.

O “Pintado” também migra rio-acima para a desova que se realiza de dezembro a fevereiro. Normalmente o “Pintado” é um peixe de profundidade, raramente nadando até à superfície; uma exceção é feita na época da reprodução, na qual os animais se dirigem para regiões de águas rasas.

4. *Manutenção de animais em laboratório*

Os animais utilizados para o estudo fisiológico foram os “Bages”. Esta escolha foi feita baseada na facilidade de manuseio de animais, da facilidade de captura e da abundância de espécimens. Todos os animais foram pescados com anzol. Uma vez trazidos ao Departamento, em grandes latões de metal, eram imediatamente dispostos em um aquário de 60 cm de comprimento, 40 cm de altura e 40 cm de largura, com cerca de 90 l de água. Estas condições foram julgadas suficientes para propiciar aos animais ambiente semelhante ao do “habitat” natural. A água era arejada continuamente e a temperatura mantida entre 20 e 22°C; quando a temperatura externa baixava a menos de 18°C, um aquecedor elétrico era colocado na sala e a temperatura restabelecida.

Trocava-se a água três vezes por semana e os aquários desinfetados e esterilizados com permanganato de potássio a 3% para evitar a contaminação por fungos ou protozoários. Aos animais eram fornecidos anelídeos terrestres (minhocas) diariamente; a cada animal um ou dois vermes.

Embora desde o início os animais se comportassem normalmente, agrupados num dos cantos do aquário durante o dia, e à

noite movimentando-se continuamente, julguei necessário aguardar pelo menos três dias para iniciar o trabalho experimental. Não encontrei na extensa bibliografia disponível, qualquer referência ao prazo necessário para a aclimação dos peixes no novo ambiente, e, por isso, tive de tomar a iniciativa, indicando três dias de permanência nos aquários, o tempo suficiente para a necessária aclimação. A constância dos resultados obtidos informa que esse prazo foi suficiente.

Três dias após a captura dividiam-se os animais em seis lotes (A, B, C, D, E, F) de cinco animais cada um. Cada lote era colocado em um aquário de 40 cm de comprimento, 40 cm de altura e 30 cm de largura, nos quais se mantinham as mesmas condições do aquário reserva (temperatura, arejamento, alimentação e limpeza).

Cada animal dos lotes era marcado com uma pequena placa de papel alumínio presa ao opérculo por um fio de nailon.

O lote A compreendia os animais testemunhos; o lote B os operados-testemunhos ("sham operated"), o lote C os operados, sendo o lote D constituído por animais operados submetidos à ação de extrato de urófise, 24 h após a operação. No lote E estavam os animais urofisectomizados, submetidos à injeção de extrato duas semanas (336 horas) após a operação. O lote F constituía-se de animais urofisectomizados submetidos à injeção de extrato 3 semanas (504 horas) após a urofisectomia.

A urofisectomia era precedida da imobilização pelo abaixamento da temperatura. O procedimento para esta imobilização era o seguinte: o animal a ser operado era colocado em cristalizador de 25 cm de diâmetro com água até a metade. Em seguida levado ao congelador onde o animal permanecia até ficar completamente imóvel. Quando deixava de reagir aos estímulos mecânicos, julgava estar em condições de ser operado. Após cerca de 40 a 50 minutos, dependendo do peso e do tamanho fazia-se a operação que durava cerca de 7 a 10 minutos, tempo suficiente para a urofisectomia.

A técnica operatória foi a seguinte: o animal a ser operado era colocado lateralmente sobre uma placa de celotex de 40 cm por 20 cm. Duas faixas de elástico de 2 cm de largura por 7 cm de comprimento serviam para fixar o animal. Uma destas faixas prendia o animal logo abaixo das nadadeiras peitorais, a outra fixava-o na altura da nadadeira anal.

Para proporcionar um fluxo constante de água ao animal durante a operação, um tubo de borracha foi adaptado a um frasco de Mariotte de 500 ml de capacidade, com água arejada, e ligado à boca do animal.

Para a ablação da urófise, após a assepsia do local com álcool, fazia-se uma incisão de pele de cerca de 1 cm de comprimento, logo abaixo da linha lateral e na altura da última vértebra caudal. Em seguida excisavam-se os músculos, após o que, com auxílio de um pequeno alicate, cortava-se o corpo vertebral da última vértebra caudal, procurando evitar lesão da artéria caudal.

Após a abertura do canal vertebral, com auxílio de pinça fina, retirava-se delicadamente a medula e a urófise. Após nova assepsia dava-se um ponto com fio de náilon unindo as bordas do tegumento e colocava-se mertiolato e uma pequena quantidade de pomada de penicilina como antisséptico. Após a operação, os animais eram recolocados no aquário recuperando-se em poucos minutos.

Com os animais operados-testemunhos, o mesmo processo operatório era realizado, não se efetuando a urofisectomia. Como apenas o trauma operatório, também, poderia ocasionar variações da glicemia, necessário se tornou a utilização do segundo do lote (lote B). Isto se fez necessário para estabelecer uma correlação entre os animais operados (lote C), os operados-testemunhos (lote B) e os testemunhos (lote A).

Antes e após a operação, retirava-se 1/2 ml de sangue de todos os animais dos lotes e procedia-se à dosagem da glicose. O sangue era extraído diretamente do coração.

5. *Técnicas histológicas e histoquímicas*

Para o estudo histológico e histoquímico do sistema neurosecretor caudal dos peixes, adotaram-se indicações de Langeron (1949), Pearse (1961) e Gabe (1968).

Em geral foram utilizados os métodos originais, não sendo necessário fazer grandes alterações ou modificações.

A fixação para as observações histológicas usuais foi feita com os líquidos de Zenker (1894), Bouin (1897), Helly (1903), Susa (1916) e Halmi (1951).

Para o estudo da neurosecreção foram utilizados os líquidos fixadores de Bouin-Hellande (1918) e de Halmi (1951). Para o estudo dos polissacarídeos empregou-se o fixador de Gendre (1934) a 5.º C. Para a conservação dos lipídeos foram utilizados os fixadores: formol cálcio de Baker (1944) e o de McManus (1946).

Como a neurosecreção e as estruturas nervosas são facilmente alteráveis, a fixação era feita o mais rapidamente possível.

A dissecação do sistema neurosecretor caudal era realizada da seguinte maneira:

- a) cortava-se a cauda na altura das vértebras caudais;
- b) retirava-se a pele e a musculatura;
- c) abria-se o canal neural e expunha-se a medula e a urófilse;
- d) retiravam-se ambas as estruturas, sendo imediatamente colocadas no fixador.

Para o estudo da distribuição do número e das características das células neurosecretoras e dos demais elementos do sistema os esquemas I, II, III e IV foram seguidos.

Os métodos de coloração utilizados no presente trabalho foram os seguintes:

HEMATOXILINA-EOSINA (hematoxilina férrica de Weigert, a de Groat e a de Delafield e a solução aquosa de eosina). Para as células nervosas, método de Mann e Dominici (1894-1905);

Coloração Tricrômica de Masson (1912): para evidenciar neu-evidenciar neurosecreção: coloração pela hematoxilina crômica-floxina de Gomori (1950); pela fucsina paraldeído de Gabe (1953) e pela técnica de Ivic (1959), e para estudo dos polissacarídeos foram utilizados: o método de reação pelo ácido periódico-reativo de Schiff (PAS) segundo McManus (1946) e Hotchkiss (1948).

REAÇÃO PELO CARMIM DE BEST (1906), para identificação geral de glicogênio;

REAÇÃO DE MILLON (modificada segundo Bensley e Gersh, 1933) e a **REAÇÃO DE NIHIDRINA** (Serra, 1946) para a identificação de proteínas;

REAÇÃO PELO SUDAN BLACK E PELO SUDAN IV (Chiffelle e Putt, 1951), para identificação geral de lipídeos.

6. *Dosagem de glicose no plasma sanguíneo*

As dosagens foram feitas em cada um dos animais de acordo com o seguinte esquema: dos animais do lote A faziam-se as dosagens em todas as horas em que se faziam as dos animais dos lotes B, C, D, E, e F, uma vez que este lote era constituído pelos animais testemunhos.

Os animais do lote B tinham a sua glicemia determinada uma, duas, três, seis, doze, vinte e quatro, trinta e seis, quarenta e oito, cento e sessenta e oito, trezentas e trinta e seis, e, quinhentas e quatro horas após a operação.

Nos animais do lote C a determinação da glicemia seguia o mesmo processo dos animais do lote B.

A glicemia foi determinada nos animais do lote D uma, duas, três, seis, doze, vinte e quatro, vinte e cinco, vinte e seis, vinte e sete, trinta, trinta e seis, quarenta e oito, sessenta, setenta e duas, e, cento e noventa e duas horas após a operação.

No lote E a glicemia era determinada nos 5 animais, uma, duas, três, seis, doze, vinte e quatro, trinta e seis, quarenta e oito, cento e sessenta e oito, trezentas e trinta e seis, trezentas e trinta e sete, trezentas e trinta e oito, trezentas e trinta e nove, trezentas e quarenta e duas, trezentas e quarenta e oito, trezentas e sessenta, trezentas e setenta e duas, trezentas e oitenta e quatro e quinhentas e quatro horas após a urofisectomia.

Os animais do lote F tinham a sua glicemia determinada uma, duas, três, quatro, seis, doze, vinte e quatro, trinta e seis, quarenta e oito, cento e sessenta e oito, trezentas e trinta e seis, quinhentas e quatro, quinhentas e cinco, quinhentas e seis, quinhentas e sete, quinhentas e dez, quinhentas e desesseis, quinhentas e vinte e oito, quinhentas e quarenta, quinhentas e cinqüenta e duas e seiscentas e setenta e duas horas após a operação.

Para verificar a ação do extrato de urófise em animais operados, injetou-se nos animais dos lotes D, E, F extrato de urófise respectivamente vinte e quatro, trezentas e trinta e seis e quinhentas e quatro horas após a urofisectomia, fazendo-se as respectivas dosagens glicêmicas durante uma semana.

O extrato foi feito em homogeneizador, usando-se uma urófise de 2 mg de peso em solução fisiológica 0,6%. A concentração desse

extrato era de 0,2 mg por ml. Foi feita apenas uma injeção de extrato em cada animal do lote, administrando-se 0,1 ml de extrato na cavidade abdominal. Cada animal recebia 0,02 mg de extrato. Devido à falta de recursos, principalmente de material e condições de experimentação, não me foi possível empregar também como testemunhos, peixes que recebessem somente solução fisiológica sem o extrato. Todavia o fato de os peixes operados-testemunhos não terem apresentado alteração na glicemia, até certo ponto, poderia levar a admitir ser inalterada a glicemia mesmo sem injeção salina.

O método utilizado para a dosagem da glicose foi de Hultman (1959: 108).

As dosagens foram efetuadas utilizando-se um "Kit-Merckotest (R) 3306-Blutzucker (O-Toluidinmethode)".

Este método baseia-se no fato de o reagente cromogênico de orto-toluidina reagir em presença de um estabilizador ou do sangue dando origem a um composto de coloração azul esverdeada (base de Schiff).

O método de Hultmann baseia-se na reação de ligação ("coupling reaction") entre os compostos amino-fenólicos em soluções ácidas e as aldoses e cetoses. Dentre as aminas aromáticas utilizadas, a que demonstrou ser mais conveniente, por dar reações mais rápidas, foi a orto-toluidina. Para esta amina, o tempo ótimo de fervura é 8 minutos, dando uma coloração azul esverdeada com um máximo de absorção de 625m μ e é específico para as aldoses.

Este método também pode ser usado para a determinação da galactose, embora a sensibilidade para este composto já seja bem menor.

Para a glicose a sensibilidade é bem grande podendo ser usadas amostras de plasma de 0,02 ml.

Os reativos utilizados neste método são os seguintes:

a. *Reativo cromogênico de Orto-toluidina*

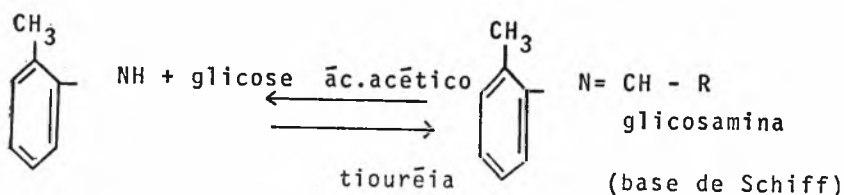
ácido acético glacial	p.a.	940 ml
Orto-toluidina	p.a.	60 ml
Tiouréia		1 g

A solução deve ser conservada em frasco âmbar e numa temperatura entre 15 e 25°C.

A função do ácido acético é “quebrar” a molécula de glicose propiciando a sua combinação com a orto-toluidina.

A tiouréia funciona como estabilizador de solução e como catalisador de reação entre a glicose e a orto-toluidina.

A reação que se processa entre a glicose e a orto-toluidina pode ser expressa da seguinte maneira:



Como se vê, a reação se estabelece nos dois sentidos havendo um equilíbrio; devido a este fato, as leituras no espectrofotômetro devem ser realizadas em um máximo de tempo de 10 minutos, pois a base de Schiff é extremamente instável, decompondo-se facilmente com o tempo.

b. Agente desproteinizante

Solução de ácido tricloroacético p.a. 3%

c. Solução padrão de glicose

Ácido benzóico	p.a.	1 g
glicose	p.a.	1 g
água destilada		1000 ml

A função do ácido benzóico na solução é a de estabilizante da glicose, pois esta é uma substância fortemente redutora.

Há uma certa vantagem em se utilizar o plasma ou o soro em lugar do sangue total, uma vez que os glóbulos absorvem a glicose na temperatura ambiente, e são atacados pelas enzimas glicolíticas.

O método de Hultmann, em princípio consiste no seguinte:

- a 0,02 ml de plasma, soro ou sangue adicionar 0,5 ml de ácido tricloroacético (desproteinização);
- centrifugação a 3.000 rpm durante 5 minutos;
- retirada de uma alíquota do 0,4 ml do sobrenadante;
- adição de 2 ml de reativo cromogênico;

- e. colocação no BM fervente durante 8 minutos.
 f. colocação em banho frio até atingir a temperatura ambiente.

As leituras realizadas em espectrofotômetro Zeiss modelo PM Q II -18476 em um comprimento de onda de 630m μ e filtro 670.

Os cálculos para a dosagem da glicose são os seguintes:

$$\frac{A}{P} \times 100 = \text{mg de glicose/100 ml de plasma, soro ou sangue}$$

A = absorbância da amostra, P = absorbância do padrão.

Para cada medida de cada peixe em cada hora eram realizadas 5 dosagens simultâneas. Uma vez calculados os 5 valores através da fórmula acima, calculava-se a média aritmética das 5 dosagens e obtinha-se um valor médio da glicemia.

De posse dos resultados de glicemia de todos os animais do lote respectivo calculou-se desvio padrão

$$\sigma = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

3.

O SISTEMA NEUROSECRETOR CAUDAL DE PEIXES DA REGIÃO NEOTRÓPICA

Como indicado à pg. 13 foram estudadas quatro espécies de peixes típicos da região neotrópica. São todos peixes de couro, que habitam as águas doces. O número de espécimens (138) obtidos permitiu o estudo da morfologia do sistema neurosecretor caudal de cada espécie, o qual será a seguir descrito.

a — *Pseudoplatystoma corruscans*, Eigenmann & Eigenmann, 1888 (“Pintado” - Fig. 1)

A medula espinhal do *Pseudoplatystoma* é ligeiramente achatada dorso-ventralmente e ovalada em secção transversal.

Canal do epêndima excêntrico, um tanto deslocado para a região ventral, e a substância cinzenta tem a forma grosseira de um H,

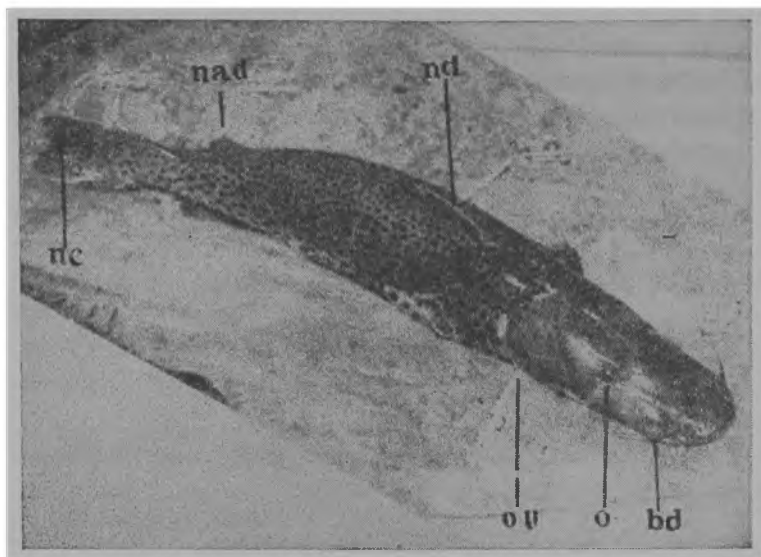


Fig 1 — *Pseudoplatystoma corruscans* — Aspecto geral bd — barbilhão dorsal; nad — nadadeira adiposa; nc — nadadeira caudal; nd — nadadeira dorsal; o — olho; op — opérculo. Foto Exacta 2.8. Paulo Sawaya. Comprimento standard = 102 cm; peso = 25 Kg.

com os braços dorsais um pouco separados e os ventrais bastante afastados um do outro. (Fig. 2)

Nos cornos ventrais encontram-se as células neurosecretoras (Fig. 3).

No “Pintado”, como nos demais peixes, a medula espinhal acha-se envolvida por uma única meninge, a chamada meninge primitiva que inclui a pia e a dura-mater, que se mostra quase indiferenciada — (Sterzi, 1901: 1101; e Kappers, 1936: 556). Entre a meninge e a coluna vertebral intercala-se uma camada espessa de tecido adiposo.

Deve-se notar que aqui se considera como meninge a camada de tecido colágeno que recobre imediatamente a medula, não se podendo diferenciar a endo e a ectomeninge (van Gelderen, 1924: 541).

Apesar da urófise do *Pseudoplatystoma* apresentar numerosas lobulações, a meninge não penetra no interior do órgão. O tecido colágeno meníngeo permanece entre as lobulações (Fig. 4).

A meninge pode ser dividida em duas partes, estando a mais superficial recoberta por melanóforos e a mais profunda provida de numerosos capilares, que penetram na medula. Neste animal, como nos demais peixes, não ocorre a aracnóide.

Em *Pseudoplatystoma* a meninge adere muito firmemente ao perióstio, envolvendo a medula espinhal em toda a sua extensão até à região imediatamente anterior à urófise. Nesta somente, as regiões dorsal e laterais são revestidas pela meninge (Fig. 4).

A região mais ventral da urófise é recoberta por tênue camada de tecido conjuntivo, formando uma espécie de cápsula protetora. A região do "filum terminale" que é a porção medular imediata posterior à urófise, ainda é envolvida pela meninge (Fig. 4).

Em algumas preparações coradas com fucsina paraldeído encontra-se no interior das camadas da meninge, próximo a capilares, certa quantidade de grânulos de secreção o que significa não ser armazenada na urófise uma fração da neurosecreção, que é eliminada diretamente para a corrente sanguínea. Nestas regiões ventrais da medula como nos tecidos da urófise, os capilares são envolvidos por um fino retículo de fibras conjuntivas. Este fato é inédito, pois Fridberg (1962a: 25) descreve este aspecto, mas em regiões dorsais da urófise e não na medula espinhal propriamente dita.

CÉLULAS NEUROSECRETORAS — As células de Dahlgren-Speidel dispõem-se em duas faixas laterais e ventrais ao canal do epêndima, ao longo da medula espinhal. Os prolongamentos rostrais dificilmente se distinguem, mas os caudais irradiam-se latero-ventralmente para a periferia da medula (Fig. 2).

As células de Dahlgren-Speidel distribuem-se em toda a extensão da medula compreendida pelas seis últimas vértebras caudais (da 41a. à 46a. vértebra), aparecendo também na região do "filum terminale".

Com relação ao número e à distribuição das células neurosecretoras, a medula pode ser dividida em três regiões:

- I — abrangendo a porção medular compreendida entre a sexta e a terceira últimas vértebras caudais (41a. à 43a., Fig. 5).
- II — Incluindo a região da medula compreendida entre a terceira e a segunda últimas vértebras caudais (44a. à 45a., Fig. 5).
- III — Restrita à última vértebra caudal e conseqüentemente coincidindo com a região urofisária (46a. vértebra).

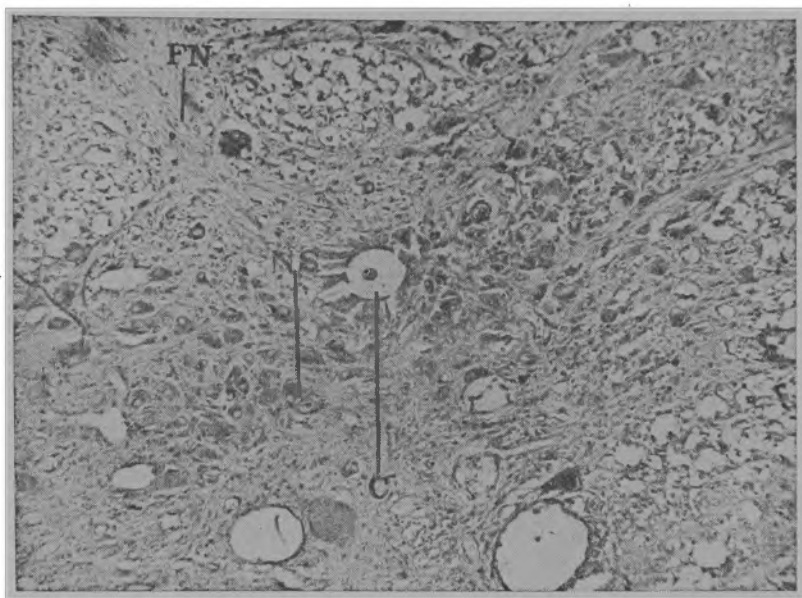


Fig. 2 — *Pseudoplatystoma corruscans* — Secção transversal da medula espinhal. Região II mostrando: C = canal do epêndima; FN = fibras neurosecretoras; NS = neurônios secretores; Bouin-Hollander-fuchsin; paraldeído; 128 X.

A região I caracteriza-se pela presença de pequeno número de células neurosecretoras, situadas esparsamente circundando latero-ventralmente o canal do epêndima. A quantidade de grânulos secretores é grande. A secreção dispõe-se especialmente no interior do corpo celular, mas, às vezes, é possível distinguir acúmulo de grânulos no início dos axônios que ficam próximos a capilares.

Na região II as células aparecem em maior número, ainda com a mesma localização da região I; os seus prolongamentos reúnem-se aos das células localizadas em níveis superiores, formando grossos cordões neurosecretores, que caminham ao lado dos feixes motores. Aqui são encontrados também grânulos secretores no interior do corpo celular.

A região III é a região situada dorsalmente à urófise, onde aparecem as células neurosecretoras em maior quantidade. É a região desprovida de fibras nervosas.

A grande maioria das células neurosecretoras caudais no “Pintado” são monopolares; no entanto, em algumas preparações podem-se identificar algumas bipolares.

As fibras “neurosecretoras” (axônios das células de Dahlgren-Speidel) dirigem-se para a cauda e na região urofisária penetram entre os tecidos da urófise.

Quanto às fibras motoras e sensitivas, o processo modifica-se sobremaneira. As raízes motoras abandonam a medula espinhal imediatamente antes da urófise. Deste modo, na região urofisária ocorrem apenas fibras “neurosecretoras” e algumas ependimárias.

Na urófise, a estrutura nervosa medular sofre uma transformação total; as células neurosecretoras se tornam mais freqüentes, ocupando agora uma posição mais dorsal, sempre ladeando o canal ependimário. Logo abaixo do epêndima os prolongamentos “neurosecretores” ainda formam cordões ventrais durante um certo percurso, após o qual mudam bruscamente de direção dirigindo-se quase para-

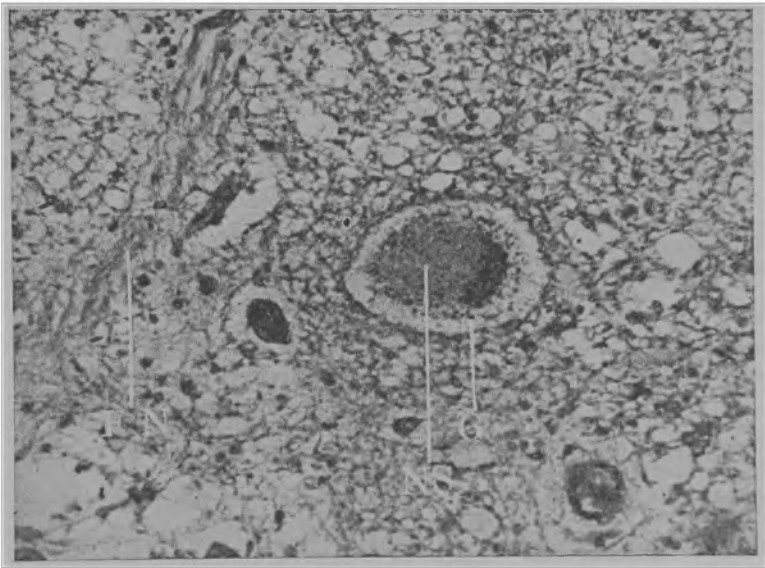


Fig. 3 — *Pseudoplatystoma corruscans* — Secção transversal da medula espinhal. Região I mostrando: FN = fibra “neurosecretora”; G = granulos; NS = neuronio secretor Bouin-fucsina paraldeído; 200 X.

lelamente para o interior da urófise, subdividindo-se e dando um pequeno feixe para cada lóbulo urofisário.

O citoplasma das células de Dahlgren-Speidel apresenta-se fortemente basófilo corando-se pela hematoxilina e pela floxina. No animal em questão observou-se que as células de animais capturados durante o mês de novembro apresentavam uma basofilia mais acentuada do que a dos animais pescados durante o mês de abril. As granações neurosecretoras são encontradas comumente nas regiões mais periféricas do citoplasma e ao redor do núcleo (Fig. 3 G).

As células neurosecretoras caudais não diferem das demais células neurosecretoras, isto é, são de forma pouco variada, indo da esférica à ovoidal. As menores, situadas em grande escala nas regiões II e III, são esféricas. As maiores, preferencialmente na região I, são monopolares e bipolares, com prolongamentos rostrais curtos e caudais longos.

Na região urofisária, as células menores distribuem-se especialmente nas regiões dorsais, ao passo que as maiores aparecem de preferência mais internamente, invadindo, muitas vezes, a região central da urófise.

As Tabelas 3 e 4 indicam as dimensões dos tipos de células nas quatro espécies estudadas.

TABELA 3

DIMENSÕES DAS CÉLULAS NEUROSECRETORAS MAIORES
NAS QUATRO ESPÉCIES ESTUDADAS

Células maiores (micrômetros)	<i>Pseudo- platysto- ma corrus- cans</i>	<i>Paulicea lutkeni</i>	<i>Rhamdia sebae</i>	<i>Pimelodus clarias</i>
Diâmetro antero- posterior	150	120	60	65
Diâmetro transversal	93	90	40	42
Espessura	90	83	35	30

TABELA 4

DIMENSÕES DAS CÉLULAS MENORES NAS QUATRO ESPÉCIES ESTUDADAS

Células menores (micrômetros)	<i>Pseudo- platysto- ma corrus- cans</i>	<i>Paulicea lutkeni</i>	<i>Rhamdia sebae</i>	<i>Pimelodus clarias</i>
Diâmetro antero- posterior	47	40	30	40
Diâmetro transversal	37	30	20	28
Espessura	30	30	18	25

Como se pode observar há uma certa relação entre o porte do animal e o tamanho das células neurosecretoras, o que se pode comprovar comparando os dados das tabelas 2, 3 e 4. As células apresentam dimensões lineares iguais em animais de mesmas dimensões.

O núcleo pode ser esférico ou ovalado. Em algumas células há ondulações da membrana nuclear. É reniforme nas células em que se acha num dos polos. Os nucléolos são grandes, em número bastante variável de 1 a 5 podendo, porém, haver células com apenas 1 nucléo central.

As células de menor porte possuem núcleo menor e mais simples e de estrutura menos complexa. Nas células de maior porte os núcleos são polimorfos, muitas vezes lobulados e localizados quase sempre num dos polos da célula. Nas células de menor porte apresentam-se esféricos, não lobulados, sem ondulações da carioteca, e geralmente centrais.

Em toda a extensão da medula, onde se encontram as células neurosecretoras, observa-se grande quantidade de capilares sanguíneos, especialmente nas regiões ventrais da medula próximos aos prolongamentos neurosecretores.

A secreção no "Pintado" situa-se preferencialmente na periferia das células, em forma de grânulos elementares de 7 micrômetros ou de corpúsculos maiores, resultantes da coalescência dos grânulos ele-

mentares. Esta secreção possui uma reação acidófila, corando-se pela floxina, pela hematoxilina de Weigert e pela fucsina paraldeído.

Em *Pseudoplatystoma* os corpos celulares das células neurosecretores caudais nunca se acham totalmente cheios de neurosecreção. No entanto, parece haver um estímulo para a secreção durante os meses de novembro e dezembro, pois neste período se encontra maior quantidade de secreção nas preparações.

A secreção acumulada durante certo tempo no interior do corpo celular é transportada diretamente pelos axônios. Normalmente a secreção nos axônios não aparece sob forma de grânulos elementares, mas na forma de grânulos maiores de até 10 micrômetros. Estes se coram em negro pela hematoxilina de Groat.

Uma modificação se nota na forma e no tamanho dos grânulos dentro da urófise. Os grânulos tornam-se menores e aparecem em número maior.

URÓFISE — Em *Pseudoplatystoma* a urófise aparece como uma dilatação única, ventral, trilobulada, situada numa loja da última vértebra caudal, medindo 6 mm de comprimento máximo, 1,1 mm de largura no lóbulo maior e 0,5 mm no lóbulo menor e 2 mm de espessura (Fig. 4).

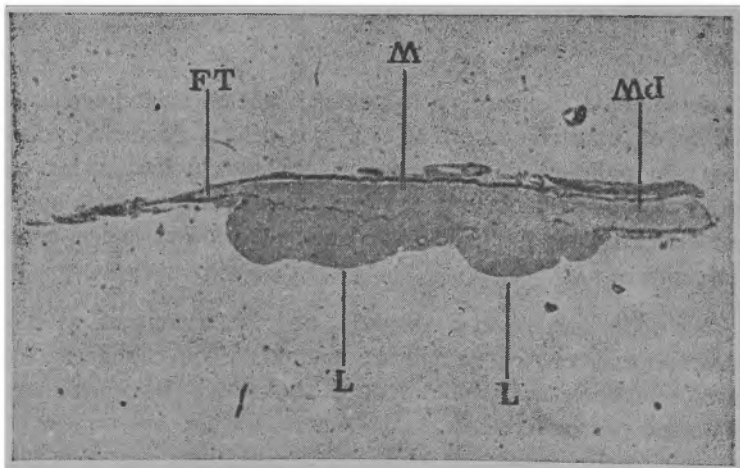


Fig. 4 — *Pseudoplatystoma corruscans* — Secção longitudinal mediana da urófise. Legenda: L = lóbulos; M = meninge; Md = medula espinhal. Bouin-fucsina paraldeído; 10 X.; FT = "Filum terminale".

Apresenta, quando dissecada, imediatamente após a morte do animal, uma coloração branco-leitosa, às vezes com ligeira tonalidade azulada.

Ao examinar cortes sagitais medianos da urófilse, verifica-se não haver separação alguma entre a medula e os tecidos urofisários. Porém, nos cortes sagitais paralelos observa-se que o lóbulo mais anterior se acha separado da medula por uma parte da meninge.

O arranjo anatómico das terminações “neurosecretoras” dentro da urófilse sugere estar relacionado com a “descarga” na circulação de substâncias ativas, elaboradas pelos neurônios secretores de Dahlgren-Speidel e conduzidos ao longo dos axônios.

No interior da urófilse encontra-se grande quantidade de capilares, junto aos quais, muitas vezes, se acumulam grânulos de secreção.

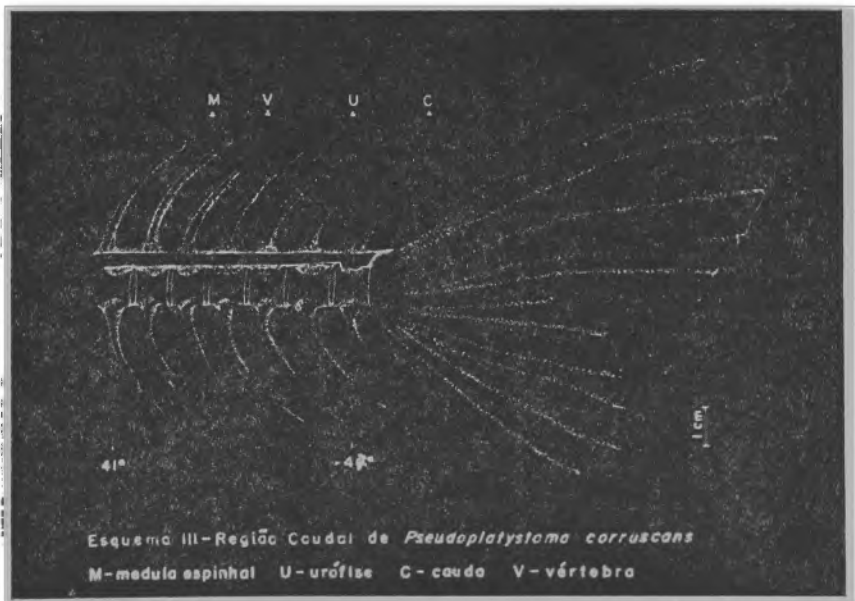


Fig. 5 — *Pseudoplatystoma corruscans* — Região caudal da medula. Esquema.

Como todos os órgãos neurohemais, a urófilse apresenta variações no tamanho, de acordo com a espécie considerada.

Em albuns animais, os feixes “neurosecretores” saem da medula formando um trato espino-urofisário; em *Pseudoplatystoma* este aspecto não aparece, pois as fibras “neurosecretoras” ao saírem da medula, imediatamente penetram na urófise.

A urófise de *Pseudoplatystoma* apresenta-se anatomicamente dividida em duas zonas: uma medular e uma cortical.

A zona medular caracteriza-se pela grande quantidade de fibras “neurosecretoras” ramificadas primariamente. Nesta zona ocorrem corpúsculos de secreção de 30 micrômetros de raio, arredondados, muito semelhantes aos corpúsculos de Herring.

O cortex urofisário é constituído por um retículo de fibras “neurosecretoras” e colágenas. Nesta região há grande quantidade de capilares envolvidos por terminações “neurosecretoras”. Esta zona é rica em material neurosecretor, estando o órgão praticamente repleto de secreção durante os meses de novembro e dezembro.

Na porção mais periférica do cortex encontram-se os corpúsculos de secreção comuns na região medular.

A Fig. 6 indica as relações entre a medula espinhal e as zonas medular e cortical da urófise de *Pseudoplatystoma*. Geralmente não são observadas células de Dahlgren-Speidel na zona cortical; no entanto, são muito comuns na zona medular, misturadas com as fibras “neurosecretoras”.

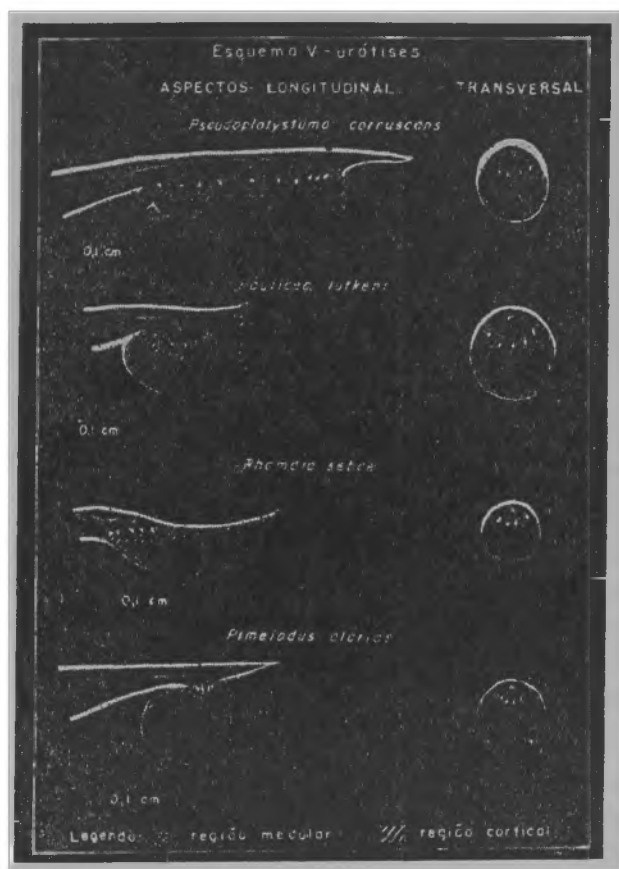


Fig. 6 — Esquemas da urófise — *Pseudoplatystoma corruscans*; *Paulicea lutkeni*; *Rhamdia sebae*; *Pimelodus clarias*.

Um elemento presente na medula urofisária são as fibras ependimárias que descem juntamente com as fibras “neurosecretoras”.

A zona cortical é bastante rica em tecido meningeal; é comum observar-se trabéculas de fibras colágenas.

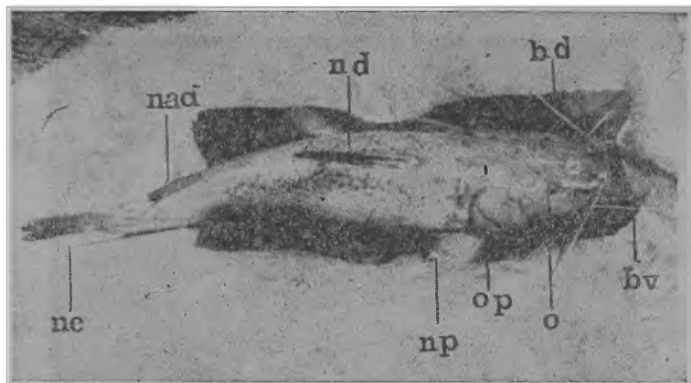
b. *Paulicea lutkeni* Steindachner, 1875 (Fig. 7)

Fig. 7 — *Paulicea lutkeni* — Aspecto geral: **bd** = barbilhão dorsal; **bv** = barbilhão ventral; **nad** = nadadeira adiposa; **nd** = nadadeira dorsal; **np** = nadadeira peitoral; **o** = olho; **op** = operculo. Comprimento standard = 52 cm; peso = 6,3 Kg.

A medula espinhal no “Jaú” é achatada dorso-ventralmente apresentando forma ovalada. O canal do epêndima é ligeiramente ex-cêntrico, deslocado para a direita e para a região ventral, sendo envolvido por uma camada de células endimárias alongadas, fusiformes, de núcleo geralmente apical. A substância cinzenta apresenta grosseiramente a forma de uma estrela de cinco pontas.

Ao longo dos cornos ventrais da medula aparecem numerosos vasos sanguíneos, acompanhados de material secretor e de grande número de fibras “neurosecretoras” formando retículo. Aparecem também vasos sanguíneos de grosso calibre, acompanhados de material secretor ao seu redor e de grande quantidade de fibras “neurosecretoras”.

Nos cornos ventrais encontram-se pequenas células de 15 micrômetros, de diâmetro maior, com núcleo arredondado com prolongamentos, às vezes bem visíveis: os neurônios motores. À medida que as células de Dahlgren-Speidel se tornam mais numerosas tais neurônios escasseiam.

Nas regiões dorsais notam-se aglomerados de fibras “neurosecretoras” e nervosas, envolvendo alguns grânulos de secreção.

Dorsalmente, aparece um longo cordão “neurosecretor” que, ao se afastar do epêndima, se subdivide e se espalha até atingir a superfície externa da medula.

Este cordão parece formado pelos processos dos neurônios sensoriais e pelos processos “neurosecretores”.

A medula espinhal do “Jaú” é envolvida pela meninge primitiva, sendo a porção superficial desta recoberta por melanóforos, e a camada mais profunda provida de capilares sanguíneos. A aracnóide é ausente.

A meninge envolve a medula espinhal em toda a extensão; todavia, na região urofisária esta camada envolvente aparece recobrindo somente a porção dorsal e lateral da urófise; a região ventral não possui meninge, mas apenas uma cápsula protetora.

Neste animal não se observou um “filum terminale” em continuação à medula espinhal.

CÉLULAS NEUROSECRETORAS — as células neurosecretoras caudais existem nas regiões central e lateral da medula espinhal. Apresentam formas variadas, mas sempre próximas à forma comum de células neurosecretoras: ovaladas ou ligeiramente esféricas (Fig. 9 NS).

Aparecem na região medular correspondente às sete últimas vértebras caudais (da 28a. à 34a. vértebras - Fig. 8).

Nas regiões medulares mais anteriores, estas células apresentam maior porte, diminuindo de tamanho à medida que se tornam mais abundantes; não obstante, podem se encontrar grandes células na região dorsal à urófise e pequenas ao longo de toda a extensão neurosecretora medular (Fig. 9 NS).

A tabela 3 indica as dimensões destas células.

Também no caso de *Paulicea* é possível, com base na distribuição das células neurosecretoras, dividir a medula espinhal em três regiões. A saber:

Região I: abrange as quatro penúltimas vértebras caudais da 28a. a 31a.

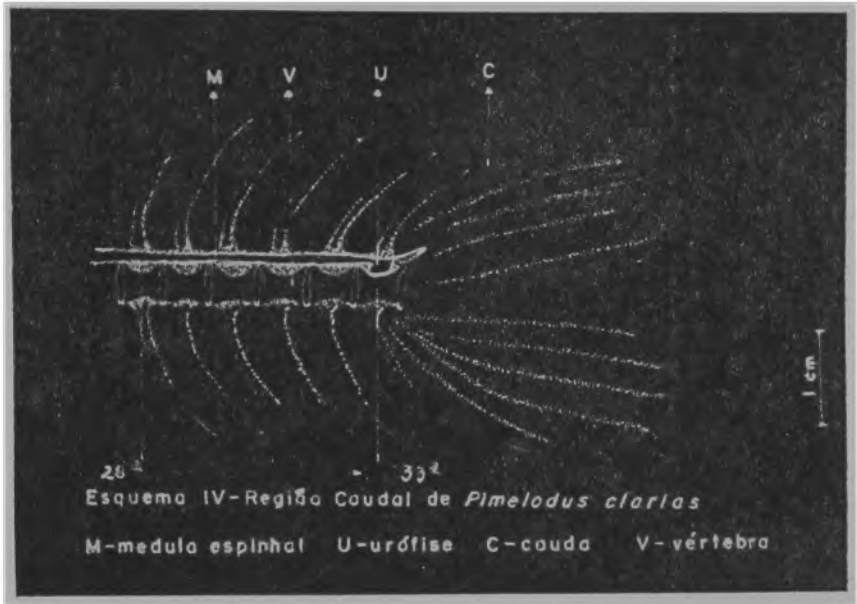


Fig. 8 — *Paulicea lutkeni* — Região caudal da medula. Esquema.

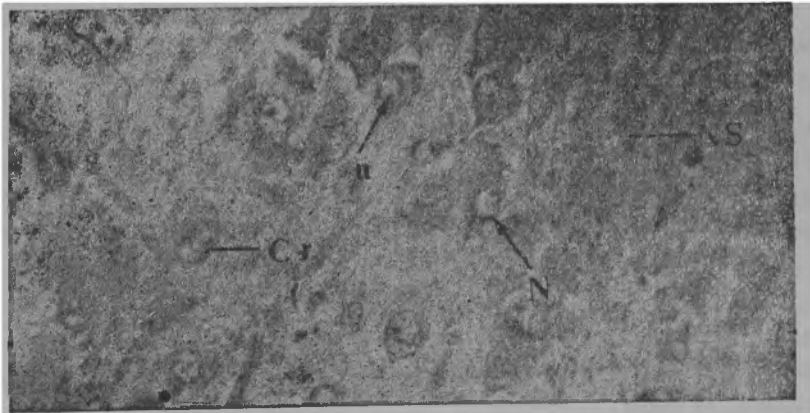


Fig. 9 — *Paulicea lutkeni* — Secção transversal da medula espinhal mostrando: Cromatina — Cr; o núcleo — N; nucléolos — n; neurônios secretores — NS; Bouin-fucsina paraldeído; 240 X.

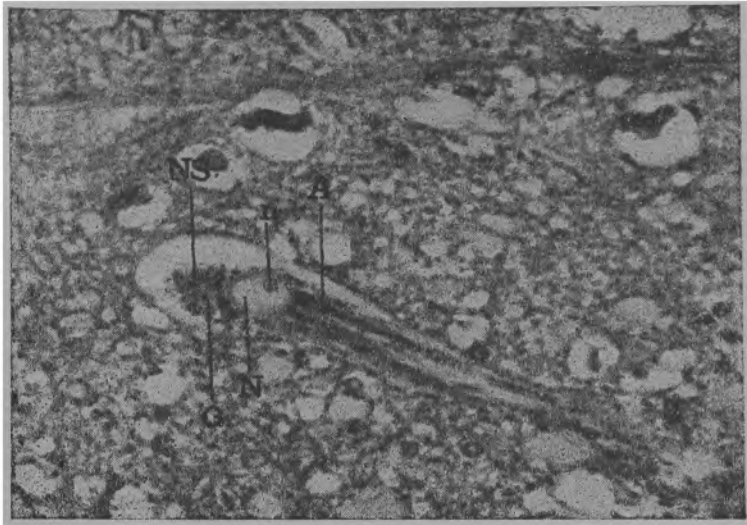


Fig. 10 — *Paulicea lutkeni* — Secção transversal da medula espinhal. Região I — A = axonio; G = granulo; N = nucleo; NS = neurónio secretor; n = nucléolo. Bouin-hematoxilina-eosina; 320 X.

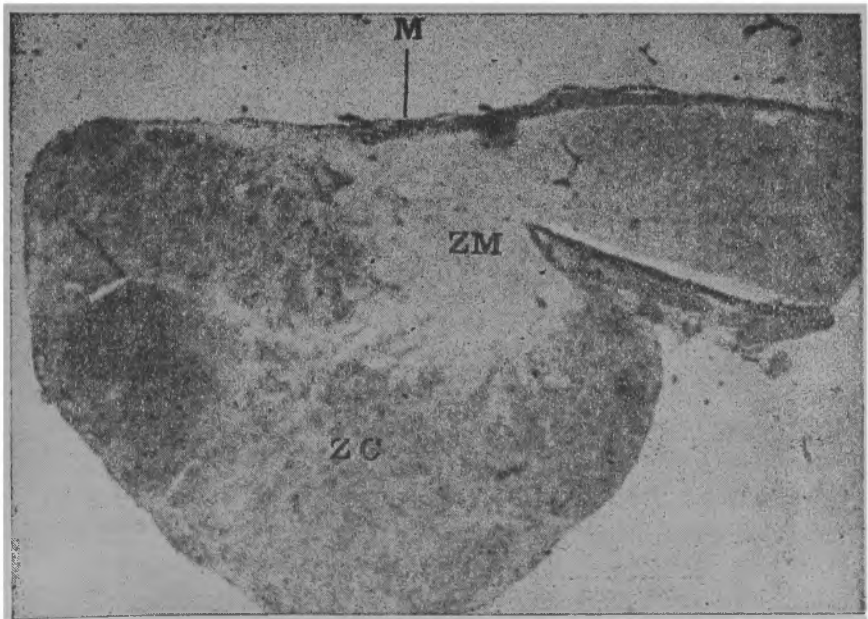


Fig. 11 — *Paulicea lutkeni* — Secção longitudinal sagital da urófise. M = meninge; ZC = zona cortical; ZM = zona medular. Bouin-fucsina paraldeido; 80 X.

Região II: inclui as penúltimas vértebras caudais, a 32a. e 33a.

Região III: restringe-se à última vértebra caudal, a 34a.

A região I contém pequeno número de células de Dahlgren-Speidel, esparsamente distribuídas lateralmente ao canal do epêndima. São de grande porte e apresentam grande quantidade de grânulos secretores (Fig. 10 NS).

Na região II há maior número destas células, sempre distribuídas circundando lateralmente o canal do epêndima. São providas de quantidade menor de grânulos secretores.

A região III compreende a parte final da medula espinhal e a região urofisária. Na medula ocorre uma pequena concentração de células de Dahlgren-Speidel, predominando as de maior porte.

A grande maioria das células “neurosecretoras” caudais é monopolar (Fig. 10 NS); as bipolares são muito raras, apenas algumas se distribuem nas diferentes regiões da medula espinhal.

Os cordões das fibras “neurosecretoras” dirigem-se caudalmente e na região urofisária tomam uma direção quase perpendicular à inicial e se insinuam nos tecidos da urófise.

As fibras nervosas acompanham paralelamente as fibras “neurosecretoras”. Imediatamente antes da urófise, as fibras nervosas abandonam a medula para formar as últimas raízes dos nervos raquidianos.

As células de menor tamanho tendem, via de regra, para a forma arredondada, enquanto que as maiores são geralmente piriformes ou ovaladas (Fig. 9 NS).

O citoplasma das células neurosecretoras caudais do “Jaú”, como as do “Pintado”, caracterizam-se por forte basofilia. Também em *Paulicea* observou-se que as granulações secretoras aparecem em maior profusão durante os meses de novembro e dezembro. Notou-se ainda que os grânulos secretores se concentram de preferência nas regiões periféricas das células e ao redor do núcleo (Fig. 10 G).

O núcleo dos neurônios secretores caudais de *Paulicea* aparece normalmente sob forma ovalada, reniforme ou esférica (Fig. 9 e 10 N). A forma esférica nuclear predomina entre as células menores, ocupando posição central, preenchendo quase todo o citoplasma (Fig. 9).

Os núcleos reniformes, ovalados ou lobulados, de localização apical são característicos das células maiores das regiões I e II da medula.

Cada núcleo apresenta de 1 a 3 nucléolos, geralmente grandes; é fato, aliás, que caracteriza os pericários neurosecretores (Fig. 10 ñ).

A quantidade de neurosecreção parece variar de acordo com a época do ano em que o animal foi capturado. Assim, em animais capturados no mês de novembro (antes da migração rio-acima), a quantidade de secreção é relativamente maior do que a encontrada nos animais capturados no mês de abril. Primeiramente, a migração e a reprodução seriam estímulos para a secreção. É o mesmo aspecto já mencionado em *Pseudoplatystoma corruscans*.

Os grânulos secretores medem 7 micrômetros, dispondo-se aglomerados no citoplasma celular, tendo posição irregular, mas, em geral, dispondo-se na periferia ou ao redor do núcleo. Em algumas células nota-se acúmulo desse material num dos polos celulares, não havendo preferência quanto ao polo, podendo permanecer junto ao rostral ou ao caudal.

É relativamente freqüente aparecerem grânulos ao longo da parte inicial das fibras “neurosecretoras” (Fig. 10 G).

A secreção permanece acumulada na urófise, onde muitas vezes os grânulos coalescem formando corpúsculos de 30 micrômetros, muito semelhantes aos de Herring do sistema hipotálamo-neurohipofisário (Fig. 13 CH).

Nas regiões ventrais da medula, nota-se acúmulo de material secretor junto a capilares sanguíneos.

Como se sabe, os grânulos de neurosecreção podem ser classificados em dois tipos, de acordo com o aspecto obtido pelo método de Gomori:

Tipo I — corados em azul pela hematoxilina crômica e em púrpura pela fucsina paraldeído.

Tipo II — corados em vermelho pela hematoxilina crômica e em azul pela fucsina paraldeído.

Todos os grânulos de secreção encontrados em *Paulicea* são do tipo I, pois, embora não se corem pela hematoxilina crômica, tingem-se em púrpura pela fucsina paraldeído.

URÓFISE — No “Jaú” a urófise é um alargamento ventral da medula espinhal situado numa loja da última vértebra caudal. Nos quatro espécimens media em média 3 mm de largura máxima, 4 mm de comprimento máximo e 3 mm de espessura (Fig. 11).

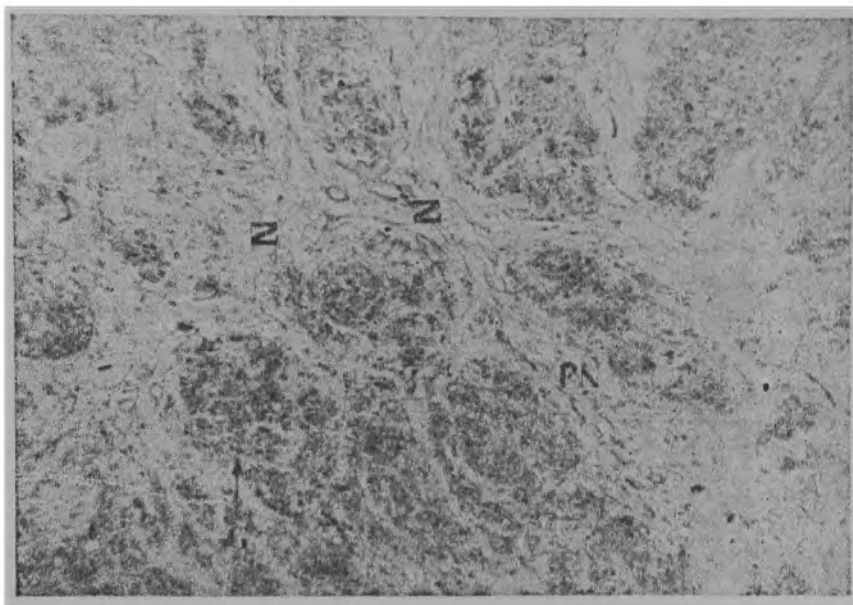


Fig. 12 — Paulicea lutkeni — Secção longitudinal mediana da urófise. **FN** = fibras “neurosecretoras”; **G** = granulos; **Z** = “Zwischenstreifen”. Bouin-fucsina paraldeido; 320 X.

Ao microscópio não se observa separação entre a medula espinhal e a urófise, mas, uma diferenciação estrutural entre ambas as estruturas.

A urófise propriamente dita compreende três zonas bem diferenciadas. Uma, a medular, uma outra constituída pelos “Zwischenstreifen” e uma terceira, a de acúmulo de material secretor.

A medular é formada por um conjunto de fibras “neurosecretoras” provenientes das células de Dahlgren-Speidel.

Algumas células neurosecretoras chegam a invadir esta região.

Imediatamente a esta zona segue-se a dos “Zwischenstreifen”. Estas estruturas constituem aglomerados de fibras “neurosecretoras”, rodeando ou não capilares sanguíneos. No interior destas estruturas aparecem grânulos de secreção nas terminações das fibras. Os capilares envolvidos por estas fibras recebem o nome de “Inseln”.

A terceira zona corresponde à zona cortical da urófise dos demais peixes aqui estudados. Aqui encontramos fibras “neurosecre-

toras” em profusão, intensamente ramificadas; os grânulos de secreção se dispõem ao longo dos capilares ou das fibras “neurosecretoras”.

c. *Rhamdia sebae* Eigenmann & Eigenmann, 1888

A medula espinhal em corte transversal mostra grosseiro aspecto de pirâmide quadrangular.

O canal espendimário é central e de forma ovalada; a substância cinzenta também forma uma pirâmide quadrangular. Os cornos dorsais da medula são bem evidentes, ao passo que os ventrais são discretos, não alcançando a superfície periférica medular. Algumas fibras “neurosecretoras” afastam-se da substância cinzenta ventral formando dois cordões laterais.

A substância branca é bem desenvolvida especialmente nas regiões ventral e laterais. Toda a medula acha-se envolvida pela meninge, semelhantemente à dos demais peixes.

Em algumas preparações nota-se o característico “filum terminale”.

CÉLULAS NEUROSECRETORAS — As células de Dahlgren-Speidel em *Rhamdia* distribuem-se ao longo da medula correspondente às vértebras de 33a 38a (Fig. 16).

Na sua maioria são monopolares, mas algumas se apresentam bipolares.

Os prolongamentos caudais reúnem-se formando feixes paralelos ao epêndima que percorrem toda a medula dirigindo-se à cauda onde, ao entrarem na região urofisária, se ramificam insinuando-se entre os tecidos da urófise (Fig. 14).

As fibras nervosas, como no caso do “Pintado” e do “Jaú”, acompanham as fibras “neurosecretoras” até a região imediatamente anterior à urófise; neste ponto abandonam a medula formando as últimas raízes dos nervos raquidianos. Na urófise encontramos somente fibras “neurosecretoras” e espendimárias.

Quanto à distribuição das células neurosecretoras, a medula espinhal de *Rhamdia* pode ser dividida em três regiões:

- I — da 26.a à 28a. vértebra.
- II — entre as vértebras 29.a e 30.a.
- III — restrita à última vértebra caudal (31.a vértebra).

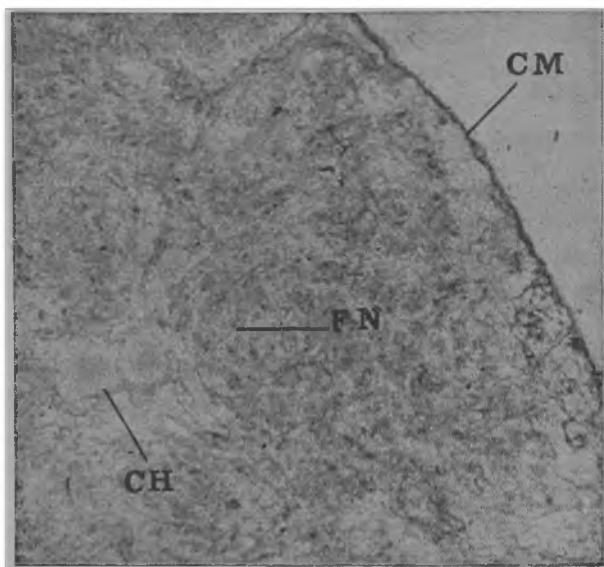


Fig. 13 — *Paulicea lutkeni* — Secção longitudinal mediana da urófise. CH = corpúsculos semelhantes aos de Herring; CM = cápsula meningeal; FN = fibras neurosecretoras; Bouin-fucsina paraldeído; 320 xs.

Na região I há pequena quantidade de células neurosecretoras apresentando a mesma disposição e distribuição presente nos demais animais estudados.

A região II caracteriza-se pela presença de grande número de células de Dahlgren-Speidel e a III apresenta grande número de células e de fibras neurosecretoras.

Os núcleos das células de Dahlgren-Speidel são esféricos ou ovalados; reniformes nas células maiores. Nestas, localizam-se num dos polos da célula; nas células menores é esférico, ocupando posição central. Em todas há um só nucléolo. (Fig. 15)

Os grânulos de secreção pertencem ao tipo I com afinidade pela fucsina paraldeído.

O ciclo secretor neste animal é do tipo rítmico, havendo períodos de repouso alternados com períodos de atividade secretora, o que pode ser comprovado pelo exame de preparações efetuadas periodicamente em várias épocas do ano.

No interior do corpo celular a secreção apresenta afinidade pela hematoxilina de Groat, pela de Delafield e pela fucsina paral-

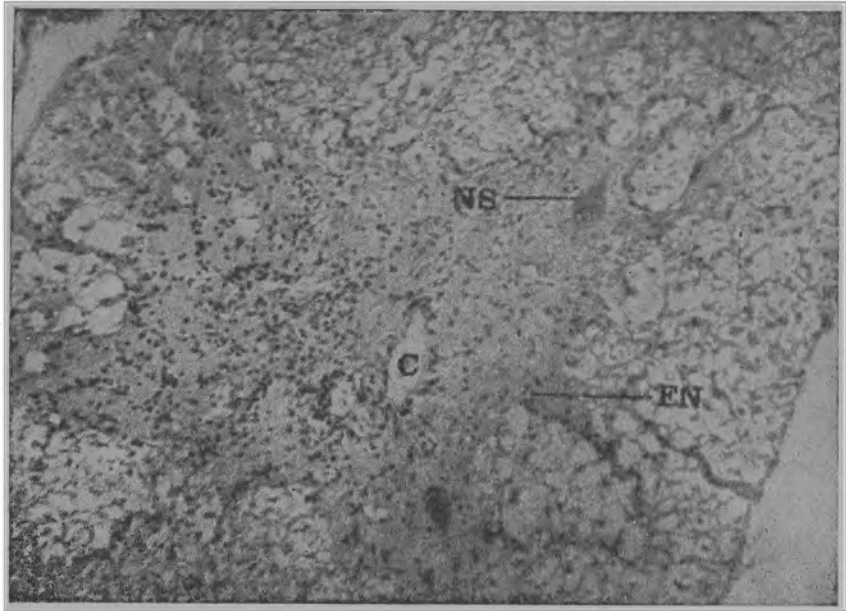


Fig. 14 — *Rhamdia sebae* — Secção transversal da medula. Região I. C = canal do endodermis; FN = fibras “neurosecretoras”; NS = neuronio secretor. Bouin-fucsina paraldeído; 100 X.

deído, corando-se respectivamente em negro, castanho escuro e em púrpura.

Ao longo dos axônios nota-se ainda certa afinidade pela hematoxilina de Groat e pela de Delafield, não ocorrendo o mesmo com a fucsina paraldeído.

No interior da urófise, a secreção também se cora em negro pela hematoxilina de Groat e em púrpura pela fucsina paraldeído. Os demais tecidos da urófise tingem-se pela fucsina paraldeído. Os melhores resultados foram obtidos utilizando-se os líquidos fixadores de Bouin e Bouin-Hollande. Como nos demais animais estudados, os grânulos de secreção não se coram pela hematoxilina crômica.

Nas preparações de “Bagre” nunca foi possível identificar grânulos de secreção nos processos rostrais das células “neurosecretoras”.

Morfologicamente, a secreção apresenta-se sob dois aspectos principais: grânulos e corpúsculos. Os grânulos de aproximadamente 7 micrômetros são encontrados no interior do corpo celular, ao longo dos axônios e no interior da região cortical da urófise.



Fig. 15 — *Rhamdia sebæ* — Secção longitudinal mediana da medula espinal. Região I. FN = fibra "neurosecretora"; N = núcleo; NS = neurónio secretor; n = núcleo. Bouin-fucsina paraldeído; 320 X.

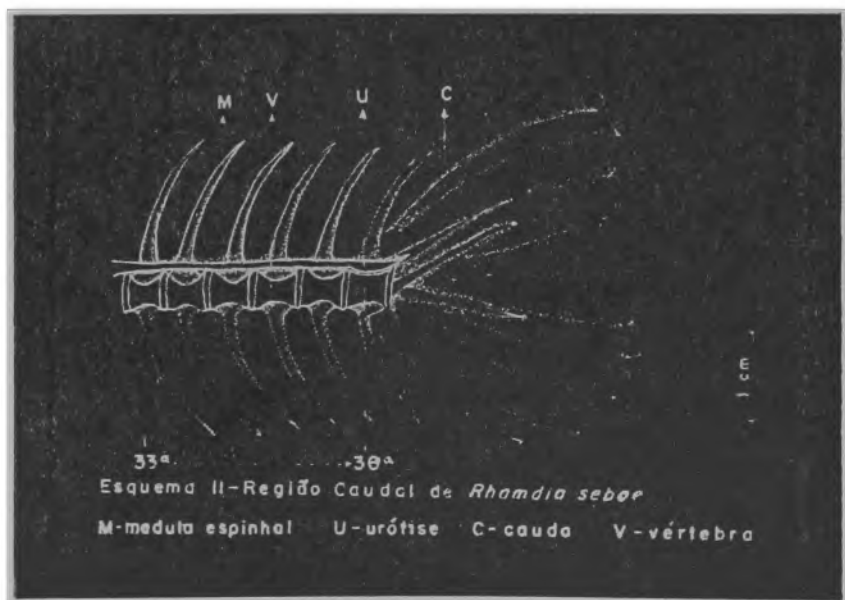


Fig. 16 — *Rhamdia sebæ* — Região caudal da medula. Esquema.

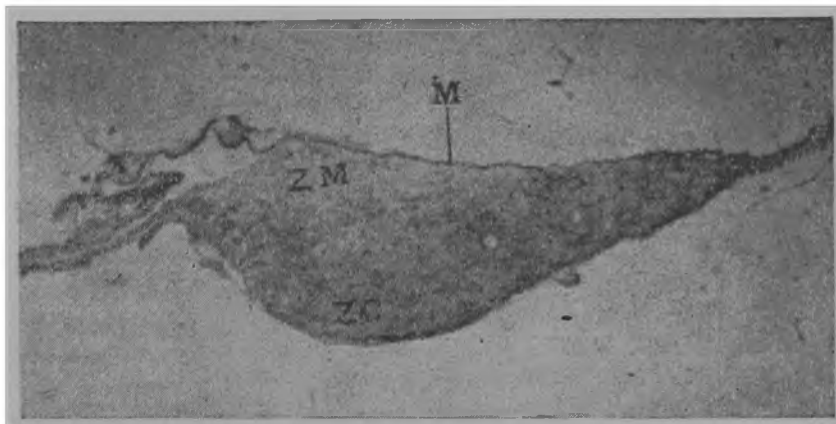


Fig. 17 — *Rhamdia sebae* — Secção longitudinal mediana da urófise. M = meninge; ZC = zona cortical; ZM = zona medular. Bouin-fucsina paraldeído; 32 xs.

Quando dissecada a fresco, apresenta uma coloração branco-leitosa; fica protegida no interior da vértebra por meio de uma camada de tecido adiposo.

Como acontece com o “Pintado” e com o “Jaú”, a urófise do “Bagre” não é revestida ventralmente pela meninge, a qual recobre somente a região dorsal e na região ventral reduz-se a uma camada de tecido colágeno (Fig. 17 M).

Observada ao microscópio verifica-se que a urófise se apresenta como uma continuação da medula espinhal; a separação entre ambas é muito discreta (Fig. 17 ZC e ZM). Dorsalmente notam-se os tecidos da medula espinhal caracterizados pela presença de numerosas células de Dahlgren-Speidel e de fibras “neurosecretoras”.

A urófise propriamente dita pode ser dividida em duas zonas pouco diferenciadas (Fig. 17).

A zona medular urofisária pequena, localizada na região anterior, caracteriza-se pela presença de fibras “neurosecretoras” provenientes da medula espinhal.

A região cortical ocupa praticamente toda a urófise; as fibras “neurosecretoras” provenientes da região medular se ramificam intensamente ocupando toda a área urofisária. Entre as terminações destas fibras há grande quantidade de grânulos secretores acumulados. No interior do cortex urofisário nota-se “invasão” de fibras co-

lâgenas da cápsula meníngea. Ainda no interior do cortex urofisário são evidentes as fibras reticulares, que normalmente acompanham os capilares. Estas fibras nunca são encontradas na região medular.

A Fig. 6 mostra as relações entre a medula espinhal e as zonas da urófise de *Paulicea*.

O “filum terminale” caracteriza-se pela ausência de células neurosecretores.

d. *Pimelodus clarias* Lacépède, 1803. “Mandi”

Em corte transversal a medula espinhal aparece de forma ovalada, achatada dorso-ventralmente. O canal do epêndima é achatado, excêntrico, ligeiramente ventral.

A substância cinzenta apresenta a forma de uma pirâmide truncada de base ventral. Nas regiões laterais e basais deste triângulo dispõem-se as células neurosecretores caudais. A substância branca ocupa toda a região medular, além da substância cinzenta. Da base desta substância saem lateralmente dois cordões formados pelas fibras “neurosecretores”. Estes cordões encaminham-se para a região caudal e ao entrar na urófise ramificam-se em vários feixes secundários.

A medula espinhal é envolvida pela meninge primitiva, como nos demais peixes aqui estudados. Externamente esta é recoberta por uma camada de melanóforos (Fig. 19).

No Mandi a medula espinhal após a urófise se continua através de um pequeno “filum terminale”.

CÉLULAS NEUROSECRETORAS — As células neurosecretores caudais neste animal possuem a comum distribuição neste sistema, isto é, localizam-se lateralmente ao canal do epêndima. Aparecem elas na medula correspondente as vértebras 28, 29, 30, 31, 32 e 33 (Fig. 18).

Na sua grande maioria estas células neurosecretores são monopolares e algumas bipolares.

Os prolongamentos caudais reúnem-se formando os cordões laterais ao canal do epêndima que convergem para a urófise.

As fibras nervosas caminham lateralmente aos cordões “neurosecretores”; estas fibras abandonam a medula para formar as raízes dorsais e ventrais dos nervos raquidianos.

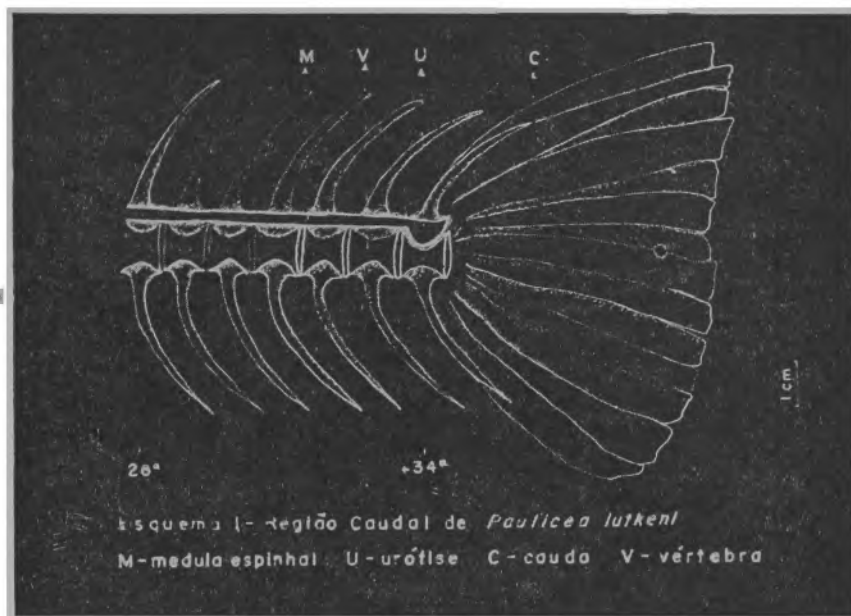


Fig. 18 — *Pimelodus clarias* — Região caudal da medula. Esquema.

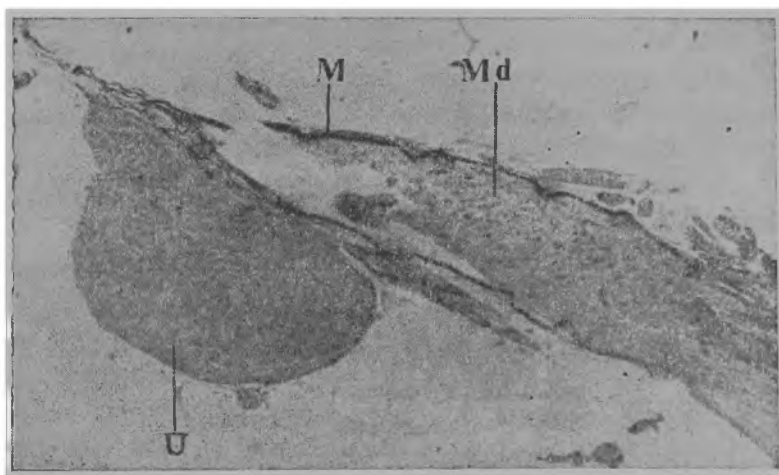


Fig. 19 — *Pimelodus clarias* — Secção longitudinal mediana da urófise. M = meninge; Me = medula espinhal; u = urófise. Bouin-hematoxilina-eosina; 40 xs.

Não são encontradas na urófise; aí só são encontradas fibras “neurosecretoras” e fibras ependimárias.

De acordo com a distribuição das células de Dahlgren-Speidel, a medula espinhal neurosecretora é dividida em:

Região I — das vértebras 28a. à 30a.

Região II — corresponde à vértebra 31a., i.é., a antepenúltima.

Região III — compreendendo as duas últimas vértebras caudais (32a. e 33a.).

A região I — caracteriza-se pela presença de pequeno número de células neurosecretoras situadas preferencialmente laterais ao canal do epêndima. Estas células são geralmente de grande porte, apresentando núcleo ovalado e numerosos grânulos de secreção no seu interior.

A região II é caracterizada pela existência de grandes neurônios secretoras; ainda encontramos aqui os cordões de fibras “neurosecretoras” e de fibras nervosas.

A região III apresenta-se com grande densidade de células neurosecretoras que agora tendem a uma localização mais dorsal.

Neste animal nota-se que há verdadeira separação entre os tecidos medulares e os de urófise; a comunicação entre ambos se realiza através das fibras “neurosecretoras”.

Não há trato espino-urofisário.

As células neurosecretoras caudais no “Mandi” apresentam as características já descritas para os demais peixes aqui estudados. A forma esférica predomina entre as células menores.

As dimensões das células de Dahlgren-Speidel acham-se na Tabela n.º 3.

O citoplasma é basófilo e a basofilia varia de acordo com o grau de atividade da célula.

O núcleo das células de Dahlgren-Speidel do “Mandi” é normalmente esférico nas células pequenas e reniforme ou lobulado nas células maiores.

Geralmente o núcleo apresenta um único nucléolo bem visível nas preparações coradas com fucsina paraldeído e com hematoxilina-eosina. É comum observar-se a presença de cromatina no interior do núcleo.

URÓFISE (Fig. 19) — A urófise de *Pimelodus clarias* aparece como um órgão ventral, alargado de aspecto esférico, superfície regular, medindo: 0,8 mm de comprimento, 0,6 mm de largura e 0,8 mm de espessura.

Quando dissecada logo após a morte do animal, apresenta cor branco-leitosa, com ligeira tonalidade azulada, característica, como se sabe, de órgãos neurosecretores. Alojada no interior da última vértebra caudal (vértebra 33) fica protegida do periósteo por uma camada espessa de tecido adiposo.

Como nas demais espécies estudadas no presente trabalho, a urófise de *Pimelodus* não aparece revestida ventralmente pela meninge. Esta reveste a região dorsal da medula e invade os tecidos urofisários (Fig. 19 M).

A região medular praticamente inexistente é formada por pequeno número de fibras “neurosecretoras” que se dirigem para o cortex urofisário (Fig. 19).

O cortex, extremamente desenvolvido, encontra-se preenchido pelas ramificações das fibras “neurosecretoras” e por grande número de capilares sangüíneos.

Observando-se esta região nota-se grande acúmulo de grânulos de secreção, distribuídos ao longo das fibras “neurosecretoras”.

É de se notar também a ocorrência de um retículo ao longo dos capilares sangüíneos.

Os grânulos de secreção em *Pimelodus*, aparecem homogênea-mente distribuídos em toda a superfície das células de Dahlgren-Speidel, medindo em média 3 micrômetros, são Gomori negativos e todos pertencem ao tipo I.

No caso deste animal não foi possível determinar o ciclo secretor, em vista dos dados terem sido coletados apenas em uma época do ano em que os animais foram capturados. O que se nota é que na época da captura (início de migração rio-acima) os pericários neurosecretores e a urófise se encontram repletos de grânulos de neurosecreção, indicando intensa atividade secretora.

Ao longo dos axônios a quantidade de neurosecreção é ínfima, quase inexistente; no entanto, a ligeira cor púrpura adquirida pela coloração com fucsina paraldeído, mostra transporte de secreção ao longo dos axônios.

No interior da urófise não foram encontradas massas de secreção coradas pela fucsina paraldeído, semelhante aos corpúsculos de Herring.

No cortex urofisário os grânulos são de tamanho médio (4 a 5 micrômetros) e se acham distribuídos por toda a região, não se observando a comum distribuição ao longo das fibras “neurosecretoras” e dos capilares.

Como era de se esperar, pequenas são as diferenças de estruturas do sistema neurosecretor caudal dos quatro *Pimelodídeos* aqui estudados.

A forma da medula espinhal, em secção transversal, apenas em *Rhamdia* se apresenta como uma pirâmide quadrangular de base ventral.

Fato de interesse vem a ser a presença de meninge recoberta superficialmente por melanóforos, e na camada mais profunda ser rica em capilares sangüíneos.

A urófise propriamente dita nunca é envolvida pela meninge e na região ventral urofisária, a membrana se restringe a uma simples camada de tecido colágeno.

Na camada profunda da meninge existe em *Pseudoplatystoma* uma rede de capilares envolvidos por finas fibras reticulares e grânulos de secreção. Em nenhum dos demais animais foi encontrada esta disposição vascular.

O *filum terminale* é uma característica de *Pseudoplatystoma*, *Pimelodus* e *Rhamdia*, não sendo observado em *Paulicea*. Somente em *Pseudoplatystoma* se podem observar células neurosecretoras no interior do “filum terminale”.

As células neurosecretoras de Dahlgren-Speidel situam-se lateral e ventralmente ao canal do epêndima. Em *Paulicea* e em *Pseudoplatystoma* algumas células aparecem dorsalmente, mas, muito próximas à região do epêndima.

A distribuição destas células varia segundo a espécie considerada; assim em *Pseudoplatystoma*, *Rhamdia* e *Pimelodus* elas aparecem na região medular correspondente às 6 últimas vértebras; já em *Paulicea* as células de Dahlgren-Speidel se distribuem ao longo da medula espinhal correspondente às 7 últimas vértebras.

A região medular I caracteriza-se pela presença de grandes neurônios secretores em pequeno número; a região II apresenta grande número de células neurosecretoras de tamanho variado.

A região III caracteriza-se pela presença de numerosas células de Dahlgren-Speidel; a quantidade relativa destas células e a sua localização nesta região varia de espécie para espécie. Assim, em *Pseudoplatystoma* e em *Pimelodus* estas células estão grandemente concentradas na região dorsal, ocupando praticamente toda a medula espinhal associada à urófise. Já em *Paulicea* as células aparecem em menor concentração e se acham localizadas também no interior da região medular urofisária. Em *Rhamdia* esta região é bastante pobre em células neurosecretoras.

As células neurosecretoras apresentam o mesmo aspecto, a mesma forma e aproximadamente as mesmas características em todos os animais. Deste modo, via de regra, as células de Dahlgren-Speidel são monopolares, encontrando-se raramente células bipolares.

A forma característica é a ovalada em células maiores e a esférica nas menores.

O tamanho dos neurônios secretores caudais varia proporcionalmente ao tamanho do animal considerado.

Uma constante em todos os peixes é a basofilia exibida pelo citoplasma das células de Dahlgren-Speidel.

As características do núcleo são as mesmas nas células em todos os animais. Nas células maiores o núcleo é reniforme ou lobulado, ocupando posição excêntrica. Nas menores é esférico e ocupa posição central.

Outro aspecto que aparece no sistema neurosecretor caudal dos Siluriformes é a presença de capilares sanguíneos em toda a extensão neurosecretora da medula espinhal. Este fato é sobremaneira evidente em *Paulicea*, onde se observa a presença de dois grandes vasos sanguíneos ventrais acompanhando as fibras "neurosecretoras".

A neurosecreção aparece em todos os animais sob forma de grânulos elementares, cujas dimensões variam pouco com a espécie considerada; via de regra, os grânulos medem em média 2 a 3 micrômetros.

A sua localização também apresenta pouca variação nos diferentes animais considerados; os grânulos localizam-se, na maioria das vezes, na periferia do citoplasma e também ao redor do núcleo.

A quantidade de neurosecreção no interior dos pericários neurosecretores caudais varia também de espécie para espécie e com o período em que se faz a observação. Em *Pseudoplatystoma* os pericários nunca se acham totalmente cheios de neurosecreção; em *Paulicea* encontram-se repletos de neurosecreção nos animais capturados durante a época das chuvas; já na estiagem os pericários apresentam pequena quantidade de secreção; o mesmo aspecto é visto em *Rhamdia*.

Em *Pimelodus* a quantidade de grânulos de secreção é bem grande. Como os animais foram capturados apenas em dezembro, não se pode afirmar se os pericários se encontram ou não preenchidos por secreção durante outros períodos do ano.

Em *Pimelodus* não foram encontrados corpúsculos de secreção de grandes dimensões, semelhantes aos de Herring do sistema hipotálamo-neurohipofisário. Nos demais animais estes corpúsculos foram sempre registrados.

Uma característica comum a todos os animais é a acidofilia dos grânulos secretores.

Todos os grânulos secretores deste sistema são Gomori negativos do tipo I, não se corando pela hematoxilina crômica e apenas fracamente pela fucsina paraldeído.

A urófise nas 4 espécies estudadas constitui-se sempre em uma dilatação ventral da medula espinhal podendo enquadrar-se no tipo II segundo a classificação de Favaro (1926: 164).

A forma da urófise varia de acordo com o animal considerado. Em *Pseudoplatystoma* apresenta-se alongada e lobulada; em *Paulicea* e *Pimelodus* é de forma arredondada ou quase esférica e em *Rhamdia* mostra-se alongada contínua.

Pode ser dividida em duas zonas: uma medular e uma cortical; a medular mais interna (no caso de *Paulicea* e em *Rhamdia*). São diferentes as dimensões da urófise nas 4 espécies: maiores em *Pseudoplatystoma* e em *Paulicea*, menores em *Rhamdia* e mínima em *Pimelodus*.

A zona cortical é a mais externa (*Paulicea* e *Pimelodus*) e a mais ventral (*Rhamdia* e *Pseudoplatystoma*). Apresenta-se muito desenvolvida em todos os animais possuindo um máximo de complexidade em *Pimelodus*.

Em *Paulicea* aparecem as "Zwischenstreifen" descritas por Sano e Hartmann (1958: p. 538); nos demais animais estas estruturas não foram encontradas.

A rede capilar é densa em todas as urófises examinadas e as fibras colágenas provenientes da cápsula meningeal penetram no órgão.

No cortex urofisário sempre há grande acúmulo de grânulos secretores e certa quantidade de corpúsculos de secreção.

4.

PARTE EXPERIMENTAL

A URÓFISE E O METABOLISMO DOS CARBOHIDRATOS

Como se viu no capítulo da introdução, as investigações sobre a fisiologia do sistema neurosecretor referem-se quase exclusivamente à influência deste sistema sobre o equilíbrio iônico e a osmoregulação. Na já extensa bibliografia existente não se encontra indicação sobre uma possível influência deste sistema sobre a glicemia. Para elucidar este ponto, escolheu-se o bagre da espécie *Rhamdia sebae*. Justificou a escolha o fato de se poder dispor em maior quantidade de animais, sua fácil captura e manutenção no laboratório.

É uma espécie que possui o sistema neurosecretor bem desenvolvido e sendo peixe de couro, oferece mais facilidade para a urofisectomia. Além disso, como se sabe, os Siluriformes são animais que podem permanecer maior tempo fora d'água, sobrevivendo com um mínimo de oxigênio. Sendo resistentes, oferecem por isso, vantagens para este estudo.

Na Tabela 5, encontram-se os resultados das dosagens do teor de glicose plasmática nos lotes A, B, C já indicados a saber: os testemunhos, os operados-testemunhos e os urofisectomizados.

TABELA 5

Glicemia em *Rhamdia sebae*

Coleta de amostras Horas	GLICEMIA PLASMÁTICA (mg%)		
	Lote A	Lote B	Lote C
Zero	122,0 ± 1,11	123,0 ± 1,11	124,2 ± 0,87
1	121,0 ± 1,11	120,6 ± 0,28	117,0 ± 2,29
2	123,4 ± 1,14	122,0 ± 1,16	120,0 ± 1,12
3	123,0 ± 1,14	122,6 ± 1,16	150,0 ± 1,14
6	122,6 ± 1,51	123,2 ± 0,83	135,0 ± 1,11
12	124,5 ± 2,29	123,2 ± 0,83	123,6 ± 1,14
24	122,4 ± 1,14	122,2 ± 0,83	137,8 ± 1,54
36	122,8 ± 1,09	123,6 ± 1,34	128,6 ± 0,28
48	122,0 ± 1,11	123,6 ± 1,34	131,0 ± 0,84
168	122,4 ± 0,28	124,2 ± 1,30	136,8 ± 1,30
336	125,6 ± 1,51	124,6 ± 1,34	145,8 ± 1,30
504	123,4 ± 1,14	123,0 ± 0,86	174,6 ± 1,51

Varição de glicemia em animais testemunhos (lote A), operados-testemunhos ("Sham operated") (lote B) e urofisectomizados (lote C).

Na tabela 6 indica-se o lote D de animais urofisectomizados e que receberam o extrato de urófise a partir de 24 hs.

TABELA 6

Variação da glicemia em *Rhamdia sebae* urofisectomizados (Lote D) sob ação de extrato de urófise a partir de 24 hs.

GLICEMIA PLASMÁTICA (mg %)		
Coleta de amostras Horas	Lote A (testemunhos)	Lote D
Zero	122,0 ± 1,11	128,8 ± 0,83
1	121,0 ± 1,11	118,0 ± 1,41
2	123,4 ± 1,14	120,2 ± 1,48
3	123,0 ± 1,14	148,2 ± 2,04
6	122,6 ± 1,51	137,0 ± 2,00
12 injeção do	124,5 ± 2,29	126,0 ± 1,09
24 extrato	122,4 ± 1,14	131,0 ± 1,11
25 1	122,8 ± 1,09	136,8 ± 1,34
26 2	123,0 ± 1,03	133,8 ± 1,79
27 3	124,5 ± 1,16	129,8 ± 1,07
30 6	124,8 ± 1,30	129,2 ± 1,16
36 12	123,2 ± 1,20	127,2 ± 0,83
48 24	122,5 ± 0,55	127,0 ± 1,11
60 36	124,8 ± 0,26	125,8 ± 0,83
72 48	122,4 ± 1,11	128,4 ± 1,14
192 168	122,4 ± 0,28	133,8 ± 1,81

Na tabela 7 contam-se os “bagres” do lote E (urofisectomizados) sob a ação do extrato de hipófise a partir de 336 hs.

TABELA 7

Variação de glicemia em *Rhamdia sebae* urofisectomizados (Lote E) sob ação de extrato de urófise a partir de 336 horas (2 semanas).

GLICEMIA PLASMÁTICA (mg %)			
Coleta de amostras Horas		Lote A (testemunhos)	Lote E
Zero		122,0 ± 1,11	122,8 ± 0,26
1		121,0 ± 1,11	119,8 ± 0,83
2		123,4 ± 1,14	121,6 ± 0,28
3		123,0 ± 1,14	148,4 ± 1,14
6		122,6 ± 1,51	134,0 ± 1,11
12		124,5 ± 2,29	128,2 ± 1,46
24		122,4 ± 1,14	136,2 ± 1,30
36		122,8 ± 1,09	140,4 ± 1,45
48		122,0 ± 1,11	140,4 ± 1,45
168	injeção do	122,4 ± 0,28	143,6 ± 1,14
336	extrato	125,4 ± 1,51	145,8 ± 0,26
337	1	121,8 ± 0,26	144,6 ± 1,14
338	2	122,6 ± 0,28	141,8 ± 0,26
339	3	126,6 ± 0,28	139,8 ± 1,30
342	6	123,0 ± 1,30	136,6 ± 1,02
348	12	122,6 ± 1,47	133,8 ± 1,65
360	24	122,6 ± 0,28	125,6 ± 1,51
372	36	121,6 ± 0,26	127,8 ± 0,79
384	48	122,6 ± 1,14	131,0 ± 1,11
504	168	123,4 ± 1,14	135,6 ± 0,28

Finalmente, na Tabela n.º 8 foram relacionados os “bagres” do lote F, i.é., de animais urofisectomizados sob a ação do extrato a partir de 504 hs.

TABELA 8

Glicemia em *Rhamdia sebae*

GLICEMIA PLASMÁTICA (mg %)			
Coleta de amostras (Horas)		Lote A (testemunhos)	Lote F
Zero		122,0 ± 1,11	122,8 ± 0,83
1		121,0 ± 1,11	177,8 ± 0,74
2		123,4 ± 1,14	121,8 ± 1,30
3		123,0 ± 1,14	150,2 ± 1,49
6		122,6 ± 1,51	139,8 ± 1,09
12		124,5 ± 2,29	133,2 ± 1,30
24		122,4 ± 1,14	137,0 ± 1,09
36		122,8 ± 1,09	136,0 ± 1,09
48		122,0 ± 1,11	138,0 ± 1,09
168		122,4 ± 0,28	137,4 ± 0,80
336	injeção do	125,6 ± 1,51	145,8 ± 0,94
504	extrato	123,4 ± 1,14	173,4 ± 1,14
505	1	125,6 ± 1,51	170,6 ± 0,28
506	2	123,4 ± 1,14	167,8 ± 1,49
507	3	124,5 ± 1,16	151,4 ± 2,18
510	6	124,8 ± 1,30	145,2 ± 1,39
516	12	123,2 ± 1,20	135,8 ± 0,83
528	24	122,2 ± 1,20	125,0 ± 1,41
540	36	124,8 ± 0,26	125,6 ± 1,14
552	48	123,2 ± 0,12	134,3 ± 1,16
672	168	125,2 ± 1,39	141,0 ± 1,41

Variação de glicemia em *Rhamdia sebae* urofisectomizados (lote F) sob ação de extrato de urófise a partir de 504 horas (3 semanas).

5.

DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Como já foi acentuado, nem todos os produtos neurosecretores se coram pelo método de Gomori; de acordo com a afinidade pelos corantes deste método, os grânulos neurosecretores são denominados Gomori positivos ou Gomori negativos.

Gabe (1966: 16) mostrou que a afinidade pela hematoxilina crômica de Gomori não é específica para os produtos neurosecretores, corando certas inclusões citoplasmáticas neuroniais sem qualquer significado secretor.

Para se estabelecer se determinado grupo de neurônios apresenta propriedades secretoras é necessário que possua uma série de características tais como: a. presença de ciclo secretor; b. tamanho e forma dos pericários neurosecretores; c. características nucleares; d. presença de produto secretor no corpo celular; e. existência de produto secretor ao longo dos axônios e no órgão neuro-hemal.

O tamanho e a forma dos pericários neurosecretores varia dentro de limites largos nos diferentes grupos de animais. Gabe (1966: 678) descreve neurônios monopolares, bipolares e multipolares. Em *Pseudoplatystoma*, *Paulicea*, *Rhamdia* e *Pimelodus* predominam os neurônios monopolares sendo mais raros os bipolares. Não se encontram nestes animais neurônios multipolares.

Via de regra, os neurônios secretores são de pequeno tamanho; fazem exceção os do núcleo pré-óptico dos Teleósteos e as células de Dahlgren-Speidel de alguns Elasmobrânquios, que podem atingir até 300 micrômetros de diâmetro maior (Speidel, 1922).

Como se pode notar pela Tabela 3, as dimensões das células neurosecretoras caudais de *Pseudoplatystoma* e de *Paulicea* são bastante grandes, respectivamente de 150 e 120 micrômetros.

Segundo Gabe (1.c.) o tamanho celular por si só não constitui um critério para a identificação dos neurônios secretores, uma vez que os neurônios secretores apresentam dimensões semelhantes às dos demais neurônios. Isto ocorre com as células de Dahlgren-Speidel de menor porte dos Siluriformes aqui estudados, que apresentam

dimensões semelhantes às dos demais neurônios, respectivamente 45, 37, 25 e 29 micrômetros no maior diâmetro.

Ainda segundo Gabe (7.c.) a forma do corpo celular neurosecretor também por si só não fornece indicação segura de fenômeno neurosecretor, pois na maioria dos sistemas neurosecretores as células apresentam-se multipolares como os demais neurônios. No entanto, no sistema neurosecretor caudal esta característica parece ter maior importância de vez que não aparecem células neurosecretoras multipolares na região da medula espinhal.

Quanto aos aspectos típicos nucleares das células neurosecretoras, a variação é grande. Todavia, no núcleo celular notam-se certas indicações de importância para a diferenciação com os demais neurônios.

Uma delas é a forma com que o núcleo se apresenta lobulado, reniforme e com incisuras. Nos animais objeto do presente estudo encontram-se lobulações pouco pronunciadas conferindo ao núcleo aspecto reniforme.

Os nucléolos fornecem um critério valioso para a identificação de fenômenos neurosecretores; a presença de nucléolos grandes e de fácil visualização ao microscópio são características encontradas nos neurônios secretores. Este aspecto é encontrado nas células de Dahlgren-Speidel dos peixes aqui considerados.

É no citoplasma que, segundo Gabe (1.c.), existem as mais importantes estruturas para distinção das células neurosecretoras, variando em cada grupo de animais, de espécie para espécie e num mesmo animal dependendo do ciclo secretor.

Nas células neurosecretoras estão presentes todas as organelas citoplasmáticas neuroniais. O hialoplasma neurosecretor pode ser acidófilo ou basófilo. Como foi citado na descrição do sistema neurosecretor caudal das espécies objeto deste trabalho, o citoplasma das células de Dahlgren-Speidel evidencia-se pela sua basofilia. Neste aspecto assemelha-se das células neurosecretoras dos núcleos pré-ópticos do sistema hipotálamo-neurohipofisário dos peixes. Esta é uma das semelhanças entre este sistema e o neurosecretor caudal.

Determinadas organelas citoplasmáticas neuroniais são de difícil observação ao microscópio óptico. É o caso das neurofibrilas, só identificáveis ao microscópio eletrônico.

A característica morfológica essencial do pericário neurossecretor é a presença de produto secretor tanto no interior do corpo celular como nos prolongamentos axonais e no órgão neuro-hemal.

Das afinidades tintoriais da neurosecreção a mais constante é a acidofilia; esta propriedade também existe na secreção do sistema caudal dos peixes.

Uma peculiaridade que os produtos secretores apresentam é a de exibirem colorações diferentes quando na presença de dois corantes ácidos (como acontece na coloração tricrômica de Masson). As diferenças de coloração são encaradas por muitos autores como sendo indicativas de diferenças na natureza química da secreção.

Sabe-se atualmente (Gabe, 1.c.) que as cores manifestadas por uma determinada estrutura são dependentes unicamente de fatores físicos tais como: densidade, textura e coeficiente de difusão dos corantes; a natureza química das estruturas em nada influencia a coloração.

Em *Pseudoplatystoma*, *Paulicea*, *Rhamdia* e *Pimelodus* os grânulos secretores apresentam coloração azul-acinzentada quando corados pelo método do tricromo de Masson.

A afinidade pela hematoxilina crômica e pela fucsina paraldeído é exibida por um grande número de produtos neurossecretores em numerosos animais; no entanto, o produto secretor das células de Dahlgren-Speidel, o de alguns moluscos e vermes não se coram pela hematoxilina crômica. Seja dito que em células de Dahlgren-Speidel de *Pseudoplatystoma*, *Paulicea*, *Rhamdia* e *Pimelodus* se nota certa afinidade pela fucsina paraldeído durante os meses do período de chuvas.

Em resumo, até o presente momento, não se pode afirmar que haja um método de coloração específico para qualquer produto neurossecretor. Isto pode ser explicado pelo fato de a afinidade da secreção pelos corantes ser o resultado de um grande número de funções que não podem ser analisadas por uma simples interpretação química.

A presença de proteínas parece ser de ocorrência geral na neurosecreção e a de grupos sulfidrílicos e dissulfidrílicos foi detectada em um grande número de produtos secretores. Em *Pseudoplatystoma* e *Paulicea*, preparações coradas segundo a reação de Millon dão resultados negativos. Isto significa que a secreção caudal não apresentaria proteínas que contenham tirosina.

Fazendo-se a reação de ninhidrina (Serra, 1946: 5) observa-se que os grânulos secretores tomam uma coloração violeta. Este aspecto indica a presença de amino-ácidos, proteínas ou peptídeos.

Em certos produtos de neurosecreção, foi identificado um componente glucídico. Assim Schiebler (1952a: 393 e 1952b: 249) encontrou grânulos PAS positivos no sistema neurosecretor hipotálamo-neurohipofisário de mamíferos; Moisier (1955: 662) assinalou-os no sistema neurosecretor hipotálamo-neuro-hipofisário de embrião de galinha. Estes dois autores admitem um componente glucídico na secreção deste sistema neurosecretor.

A reação do PAS apresenta resultados positivos em *Pseudoplatystoma* e *Paulicea*, o que significa haver na secreção componentes mucopolissacarídeos, mucoproteínas ou glicogênio. Os mesmos resultados foram obtidos usando-se a reação com carmim de Best.

A bibliografia é relativamente pobre em estudos de pesquisa lipídica nos sistemas neurosecretores. Divry (1934: 649) deu ênfase ao fato de os pericários do núcleo supra-óptico no homem não terem afinidade pelo Sudan III ou pelo azul Nilo. Schiebler (1952a: 393 e 1952b: 249) admitiu que a secreção hipotálamo-neurohipofisária nos Vertebrados possui um componente lipídico. Howe e Pearse (1956: 561) aceitaram a hipótese de que esta secreção em alguns mamíferos não possui tal componente.

O sistema neurosecretor caudal de *Pseudoplatystoma* e *Paulicea* apresenta grânulos sudanófilos quando corados pelo Sudan B e pelo Sudan IV.

O tamanho dos grânulos secretores varia sobremaneira nos diferentes grupos de animais e num mesmo animal, dependendo do local em que se encontram; a saber, corpo celular, axônios ou órgão neuro-hemal.

Este fato pode ser facilmente observado no sistema neurosecretor caudal nos Siluriformes estudados; assim, no interior do corpo celular os grânulos possuem em média 2 a 3 micrômetros; no interior dos axônios estes grânulos coalescem formando grânulos maiores de aproximadamente 10 micrômetros. No interior da urófise os grânulos aparecem em maior número e com dimensões menores (de 2 a 3 micrômetros).

Ao microscópio eletrônico a secreção caudal apresenta uma característica mais ou menos constante qual seja a de se apresentar

sob forma de grânulos diminutos cujo diâmetro varia entre 1 000 e 3 000 Angstroms. Os estudos nesse sentido foram efetuados por Enami e Imai (1958: 164) em *Anguilla japonica*; Holmgren e Chapman (1960: 15) em *Fundulus heteroclitus*; Afzelius e Fridberg (1963: 289) em *Raia batis*; Oota (1963: 129) em *Cyprinus carpio* e Sano & col. (1966: 328) em *Channa argus* e *Cyprinus carpio*.

As células neurosecretoras caudais apresentam sinapse no seu interior; assim Fridberg (1963a: 265) aludiu a presença de axônios no interior das células de Dahlgren-Speidel em peixes.

Uma das características dos sistemas neurosecretores é a ocorrência de secreção ao longo dos axônios das células neurosecretoras; este fato foi observado por Fridberg (1962a: 43) em várias espécies de Teleósteos; Bern e Takasugi (1962: 96) em 125 espécies de Teleósteos; Holmgren (1959: 1) em *Fundulus heteroclitus*; Fridberg (1962: 249) em Elasmobrânquios e vários outros autores.

Os axônios "neurosecretores" formam cordões latero-ventrais ao canal endimário e conduzem a secreção até o órgão armazenador. No interior destas fibras axônicas encontram-se grânulos corados em violeta pela fucsina paraldeído, demonstrando a presença de secreção no seu interior.

O arranjo dos grânulos em forma de rosário ("rosary" ou "perlchnur") é um aspecto que se nota em axônios de alguns animais. Fridberg (1962a: 42) descreve este aspecto e Sano (1958: 489) admite estas estruturas se encontrarem perifericamente nos axônios. Estes elementos não foram identificados nos animais aqui em estudo.

A presença de agregados de material neurosecretor constituindo os chamados corpúsculos de Herring, tão comuns no sistema hipotálamo-neurohipofisário, no sistema neurosecretor caudal foi mencionada inicialmente por Enami (1955: 23) depois por Sano (1958: 481), Holmgren (1959: 10), Fridberg (1962a: 45).

Em *Pseudoplatystoma*, *Paulicea*, *Rhamdia*, os "corpúsculos de Herring" existem com bastante freqüência; sua presença implicaria em indução de acúmulo de material secretor.

No interior da urófise, como já foi aludido, os grânulos secretores são pequenos, e em grande número. Provavelmente isto se deva ao fato de que para serem absorvidos pelos capilares, os grânulos devam ser de mínimas dimensões.

Nos sistemas neurosecretores o estudo das terminações axônicas é de particular interesse. A anatomia dos principais sistemas neurosecretores mostra como são diferentes os contactos destas terminações e as glândulas endócrinas do sistema nervoso.

A histologia revela que estas terminações estão agrupadas em órgãos anatomicamente separados, que podem estar próximos a glândulas endócrinas.

Os órgãos supra-citados são denominados neuro-hemais em vista das suas características nervosas e por possuírem na sua constituição grande quantidade de capilares sanguíneos (Bern e Hagadorn, 1965: 364).

Neste órgão nota-se acúmulo de material neurosecretor em íntimo contato entre as fibras neurosecretoras e os capilares. Ao que tudo indica este arranjo anatômico facilitaria a passagem da secreção para a circulação.

Ao examinar a extensa bibliografia especializada em sistema neurosecretor caudal não se encontrou qualquer referência à possível interferência deste sistema no metabolismo dos carboidratos.

Há relativamente poucos dados acerca da glicemia em peixes e dos vários fatores intervenientes no metabolismo da glicose nestes animais.

Em 1928 Simpson (p. 197) determinou em *Ophiodon elongatus*, peixe marinho, teor muito baixo de glicose sanguínea (cerca de 0,025 mg %). Quando estes animais eram submetidos à asfixia, a glicemia subia para 0,125 mg %. Fazendo a hepatectomia, os animais apresentavam valores semelhantes aos normais sem asfixia.

Lazarow e Berman (1947: 219) utilizando peixes *Opsanus tau*, determinaram a glicemia em animais normais e nos submetidos à ação de aloxana a 10%. Para os animais normais o valor da glicemia era de 26 a 86 mg %, e os trabalhos com aloxana injetada intraperitonealmente, com doses de 0,3 e 1g/kg de peso, apresentavam, após 48 h, uma glicemia de 100 mg %. No entanto, a administração de aloxana por via subcutânea na dose de 0,4g/kg de peso provocava hiperglicemia com valores superiores a 100 mg %. Esta hiperglicemia permanecia 5 dias após a administração da aloxana.

Nace (1955: 366) observou em *Opsanus tau* uma hiperglicemia decorrente de injeção de aloxana e de esteróides adrenais. Este autor dividiu os animais em 3 grupos: os normais, os tratados com

aloxana e os tratados com esteróides. Os animais normais apresentavam uma glicemia da ordem de 73 a 100 mg %; os tratados com aloxana 130 mg % e os submetidos a esteróides 210 mg %.

Em *Ictalurus* e *Opsanus* Murrel e Nace (1958: 1121) registraram um teor glicídico da ordem de 20 a 185 mg %.

Ainda Nace, Moule e Schuh (1964: 225) verificaram que durante os meses de inverno, a glicemia é superior à dos meses de verão. O aumento da glicemia durante o inverno poderia estar relacionado com a osmoregulação. Este fenômeno de aumento da osmoconcentração já havia sido referido por Scholander e col. (1957: 5), que observaram peixes de águas rasas da região ártica apresentando um aumento da osmoconcentração de glicose sanguínea. Este seria um processo de defesa pelo qual os animais de regiões muito frias lançariam mão para se protegerem do congelamento.

Em 1969 encontrei em animais do gênero *Rhamdia* valores glicêmicos plasmáticos da ordem de 123 mg %, utilizando o método de determinação da glicose de Somogy (1952: 19).

Shinomiya (1970: 66) dosou a glicose em *Lepidosiren paradoxa* de Belém do Pará em fase aquática e em fase estival. Observou que animais em fase aquática apresentavam valores glicêmicos de 26 a 46 mg % e, em animais na fase estival, os valores variavam entre 41 e 51 mg %. Admitiu a autora que a baixa glicemia do animal em fase aquática seja decorrente da grande movimentação do animal dentro do aquário e da sua alimentação artificial.

O problema da regulação da glicose nos vertebrados é bastante complexo, envolvendo várias glândulas endócrinas tais como: hipófise, pâncreas, adrenais e tireóide, etc. Os mecanismos pelos quais a glicemia é mantida mais ou menos constante em mamíferos, aves, répteis e anfíbios já são bastante conhecidos.

Nos peixes, estes mecanismos reguladores de glicemia não se encontram ainda perfeitamente esclarecidos, admitindo-se que as mesmas glândulas endócrinas e praticamente os mesmos hormônios atuantes nos demais Vertebrados sejam responsáveis também nestes animais.

Como se pode observar pela Tabela 5 os valores da glicemia são alterados nos animais urofisectomizados (lote C).

Pelo exame dos valores glicêmicos no decorrer do tempo operatório, verificam-se várias alterações bastante interessantes. Assim, uma hora após a operação, aparece uma ligeira hipoglicemia que se

torna menor no decorrer da hora seguinte. Nesta segunda hora pós-operatória, os níveis glicêmicos voltam aos valores normais. A hipoglicemia verificada logo após a operação poderia ser interpretada como decorrência de um aumento da secreção de insulina pelo pâncreas devida ao "stress". Como conseqüência do trauma operatório, haveria uma liberação acentuada de adrenalina, e esta, como se sabe, provoca um aumento na glicogenólise, o que traria como conseqüência um aumento da glicose circulante. Esta hiperglicemia seria um estímulo para a secreção de insulina.

A quase volta ao normal, que se verifica na segunda hora pós-operatória, estaria sob a dependência da quantidade de insulina ainda na circulação.

Poder-se-ia explicar a ação hiperglicemiante na terceira hora como o resultado de um aumento na circulação de adrenalina ou de corticóides adrenais.

A glicose tem o seu metabolismo intimamente associado ao das proteínas. Sabe-se que estes metabolitos são regulados pela ação conjunta de insulina, tiroxina, hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), glucagon, cortisol e cortisona.

Dos hormônios citados, o único hipoglicemiante é a insulina, que aumenta a fixação de glicose pelas células, facilitando a sua transformação em gorduras, proteínas e glicogênio.

Os esteróides corticais promovem hiperglicemia atuando sobre a glicemia de dois modos; inibindo a incorporação de amino-ácidos às proteínas e estimulando a provisão de material gliconeogênico.

O ACTH atuaria estimulando a secreção de hormônios adrenocorticais que por sua vez aumentaria a provisão de carboidratos alterando deste modo a gliconeogênese.

A adrenalina provoca hiperglicemia, pois atua sobre a velocidade da glicogenólise. Uma outra atuação indireta se faz através da hipófise que sob a ação da adrenalina libera ACTH. A excitação emocional, os traumatismos e certos anestésicos promovem liberação deste hormônio.

A hiperglicemia resultante poderia ser explicada pela ação conjunta do pâncreas que atuaria por intermédio do glucagon como resultado do aumento da insulina presente no sangue. Por intermédio da adrenalina a medula adrenal poderia interferir como decorrência do trauma operatório.

O cortex adrenal agiria através dos corticóides, uma vez que a adrenalina liberada influiria sobre a hipófise liberando o ACTH.

Esta última afirmação parece ser pouco provável pois Roy (1962: 449) admite que os extratos urofisários de *Labeo rohita* e *Catla catla* apresentam um princípio liberador de ACTH da hipófise.

Com a retirada da urófise nos animais do lote C, se este fato for verdadeiro, a quantidade de ACTH e portanto de corticóides no sangue deverá ser bem menor.

O mais provável, a meu ver, é que a hiperglicemia que aparece no decorrer das três horas pós-operatórias seja o resultado da ação da adrenalina e do glucagon.

Nas horas seguintes, após a urofisectomia, nota-se um abaixamento da glicemia que poderia ser explicado pela maior secreção de insulina, uma vez que os níveis de glucagon e de adrenalina se acham bastante elevados no sangue.

Após 12 horas seguintes à operação, nota-se que os animais exibem uma hiperglicemia progressiva e mais ou menos uniforme e permanece durante todo o experimento.

Os animais dos Lotes D, E e F submetidos à ação de extrato de urófise apresentaram um restabelecimento progressivo dos níveis glicêmicos normais. O máximo de ação do extrato foi encontrado 24 horas após a sua administração.

Através da análise dos resultados obtidos nos experimentos realizados pode-se admitir que a urófise dos animais aqui encontrados contenha um princípio hipoglicemiante que poderá ser comparado ao da insulina, pois a ablação da urófise provoca hiperglicemia e o seu extrato promove o restabelecimento da glicemia em animais urofisectomizados.

6.

CONCLUSÕES

1. O sistema neurosecretor caudal de quatro espécies de peixes de água doce da região neotropical (*Pseudoplatystoma*, *Paulicea*, *Rhamdia* e *Pimelodus*) foi estudado do ponto de vista histológico e parcialmente citológico.

2. As células neurosecretoras caudais nestes animais estão distribuídas ao longo da medula espinhal numa região compreendida entre a sétima e a última vértebra caudal.
3. A urófise apresenta-se como um órgão perfeitamente individualizado, ocupando uma posição ventral em relação à medula espinhal. Sua forma varia nas quatro espécies estudadas.
4. Em todos os animais, a urófise está dividida em duas regiões o cortex e a medula.
5. Em *Paulicea* a urófise apresenta as estruturas "Zwischenstreifen" além da região cortical e da medular.
6. As células de Dahlgren-Speidel são monopolares, encontrando-se raramente algumas bipolares.
7. As células de Dahlgren-Speidel distribuem-se ventro-lateralmente ao canal do epêndima.
8. A secreção urofisária é formada de grânulos ou de corpúsculos diminutos de 2 ou 3 micrômetros de diâmetro.
9. Os grânulos de secreção são todos Gomori negativos, apresentando ligeira afinidade pela fucsina paraldeído.
10. As fibras "neurosecretoras" constituem dois grossos cordões laterais e ventrais ao longo da medula espinhal.
11. Os peixes urofisectomizados mostram grandes variações de glicemia no período pós-operatório.
12. Nos peixes urofisectomizados há acentuado aumento da glicemia que continua mesmo 12 horas após a operação.
13. Injeção intraperitoneal de extrato de urófise restabelece a glicemia normal em animais urofisectomizados.
14. O máximo de ação de extrato se verifica 24 horas após a administração.
15. Admite-se a presença no órgão neuro-hemal de um princípio hipoglicemiante que poderia ser comparado ao da insulina, em decorrência da hiperglicemia que se registra após a urofisectomia.

BIBLIOGRAFIA

- AFZELIUS, B.A. & FRIDBERG, G. — 1963 — The Fine Structure of the Caudal Neurosecretory System in *Raia batis*. *Zeit. Zellforsch. u. mikr. Anat.*, 59: 289-308.
- ARSAKY, A. — 1813 — De piscium cérebro et medulla spinali. *Hendelianis ed. Hale* p. 45 ap. ARVY, L. 1966, 1. c.: 218.

- ARVY, L. — 1966 — Le Système Neurosécréteur Spinal Des Poissons ou "Système Neurosécréteur Caudal" d'Enami (1955). Bull. Soc. Zool. Fr., 91: 217-249.
- BAKER, J.R. — 1944 — The Structure and Chemical Composition of the Golgi Element. Quart. Journ. microsc. Sc. 85: 1-72.
- BARGMANN, W. — 1949 — Über die Neurosekretorische Vernüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. Z. Zellforsch. 34: 610-634.
- BELLONCI, G. — 1882 — Sistema nervoso e organi dei sensi delle Sphaeroma serratum. Atti Accad. Real. Lincei, Roma, 10: 91-104. ap. GABE, M. 1966 a, 1. c.: 3.
- BENSLEY e GERSCH — 1933 — ap. PEARSE, A.G.E. 1960, 1. c.: 53.
- BENTLEY, P.J. — 1971 — Zoophysiology and Ecology — 1. Endocrines and Osmoregulation. A Comparative Account of the Regulation of Water and Salt in Vertebrates. XVI+300 pp. Springer — Verlag, Berlin.
- BERN, H.A. — 1967 — Hormones and Endocrine Glands of Fishes. Science, 158: 455-462.
- — 1969 — Urophysis and Caudal Neurosecretory System. ap. HOAR, W. S. & RANDALL, D.J. — Fish Physiology, 2: XIV + 446 pp.
- BERN, H.A. & HAGADORN, I.R. — 1959 — A Comment of the Elasmobranch Caudal Neurosecretory System. ap.: GORBMAN, A. — Comparative Endocrinology, XX + 746 pp.
- — 1965 — Neurosecretion ap: BULLOCK, T.H. HORRIDGE, G.A. — 1965 — Structure and Function in the Nervous System of Invertebrates. 1: XX + 798 pp. W.H. Freeman & C^o-London.
- BERN, H.A. & TAKASUGI, N. — 1962 — The Caudal Neurosecretory System of Fishes. Gen. comp. Endocrinol., 2: 96-111.
- BERN, H.A. & YAGI, K. — 1965 — Electrophysiology of Neurosecretory System. Proc. II Intern. Congr. Endocrinol., Excerpta Medica Intern. Congr. Series 83 (1): 577-583.
- BERN, H.A., YAGI, K. & NISHIOKA, R.S. — 1965 — The Structure and Function of The Caudal Neurosecretory of Fishes. Arch. Anat. Micro. Morph. Exp., 54: 217-238.
- BEST, F. — 1906 — Tincion Carmin para Glucogeno. ap. PEARSE, A.G.E. — 1960, 1. c.: 487.
- BOUIN, P. — 1897 — Études sur l'évolution normale et l'involution du tube sémenifère. Archs. Anat. microsc. 1: 299, ap. LANGERON, M. 1949. 1. c.: 430.
- BOUIN, P. & HOLLANDE, A. Ch. — 1918 — Enrichissement du liquide fixateur de Bouin en acide picrique, par addition d'acetate neutre de cuivre. C.R. Soc. Biol. Paris, 81: 17 — ap. LANGERON, M. 1949, 1. c.: 431.
- CHIFFELE, T. & PUTT, F.A. — 1951 — A Propylene and Ethylene Glycol as Solvents for Sudan IV and Sudan Black B. Stain Techn. 26: 51-56.
- DAHLGREN, U. — 1914 — On The Electric Motor Nerve-Center in Skates (Rajidae). Science, 40 (1041): 862-863. New York.
- DIVRY, P. — 1934 — Sécrétion ou dégérescence colloide au niveau de l'hypothalamus. J. Belge Neurol. 34: 649-658.
- DOMINICI, P. — 1905 — Sur une méthode de technique histologique appropriée à l'étude du Systeme hematopoïétique. C.R. Soc. Biol. 54: 221-223. Paris.

- including A Study of The Ecological Grouping of Species and The Relation of The Fauna of the Plateau to That of The Lowlands. Mem. Carneg. Mus. V-XXII + 578 pp.
- ENAMI, M. — 1955 — Caudal Neurosecretory System in the Eel (*Anguilla japonica*). Gunma J. Med. Sci., 32: 23-36.
- — 1956 — Changes in the Caudal Neurosecretory System of the Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) in Response to Osmotic Stimuli. Proc. Japan. Acad., 32: 759-764.
- — 1958 a — Activity of an Extract from the Caudal Neurosecretory System of the Eel as tested upon the Buoyancy of Tailless and Finless Goldfish. Proc. Japan Acad., 34: 50-55.
- — 1958 b — Occurrence of Zinc in the Caudal neurosecretory System of the Eel — Ibidem; 44-49.
- ENAMI, M. & IMAI, K — 1956 — Neurohypophysis-like Organization near the Caudal Extremity of the Spinal Cord in Several Estuarine Species of Teleosts. Proc. Japan Acad., 32: 197-200.
- — 1958 — Electron Microscopy of Secrete Granules in the Caudal Neurosecretory System of the Eel. Proc. Japan Acad. 34: 164-168.
- ENAMI, M., MIYASHITA, S. & IMAI, K. — 1956 — Possibility of Occurrence of Sodium-Regulating Hormone in the Caudal Neurosecretory System of Teleosts. Endocr. Japan., 3: 280-290.
- FAVARO, G. — 1925 — Contributi allo studio morfologico dell'Ipofisi caudale (rigonfiamento caudale della midolla spinale) dei Teleostei. Mem. R. Accad. Lincei, 1: 30-72.
- — 1926 — Contribution à l'étude morphologique de l'hypophyse caudal (Renflement caudal de la moelle epiniere) des Téléostéens. Arch. ital. Biol., 75: 164-170.
- FLOWER, H.W. — 1948-1951 — Os Peixes de Agua Doce do Brasil. Arq. Zool. Est. São Paulo, 6-XII + 625 pp.
- FRIDBERG, G. — 1962 — The Caudal Neurosecretory System in Some Elasmobranchs. Gen. comp. Endocrinol., 2: 249-266.
- — 1962 a — Studies on the Caudal Neurosecretory System in Teleosts. Acta. Zool., Stockh., 43: 1-77.
- — 1963 a — Electron Microscopy of the Caudal Neurosecretory System in *Leuciscus rutilus* and *Phoxinus phoxinus*. Acta Zool., Stockh., 44: 245-267.
- — 1963 b — Morphological Studies on the Caudal Neurosecretory System in Teleosts and Elasmobranchs. Ake Nyblom & Co. Stockholm: 1-20 ap. ARVY, L. 1966, 1. c.: 246.
- FRIDBERG, G. & BERN, H.A. — 1968 — The Urophysis and the Caudal Neurosecretory System of Fishes. Biol. Rev. 43 (2): 175-199.
- FRIDBERG, G., BERN, H.A. & NISHIOKA, R.S. — 1966 — The Caudal Neurosecretory System of the Isospondylous Teleosts, *Albula vulpes* from different Habitats. Gen. comp. Endocrinol., 6: 193-212.
- FRIDBERG, G., NISHIOKA, R.S., BERN, H.A. & FLEMING, W.R. — 1966 — Regeneration of the Caudal Neurosecretory System of the Cichlid Fish *Tilapia mossambica*. J. exp. Zool., 162: 311-336.
- FRIDBERG, G., IWASAKY, S., YAGI, K., BERN, H.A., WILSON, D.M. & NISHIOKA, R.S. — 1966 — Relation of Impulse Conduction to Electrically Induced Release of Neurosecretory Material from the Urophysis of Teleost Fish, *Tilapia mossambica*. J. exp. Zool., 161: 137-150.

- GABE, M. — 1953 — Sur quelques applications de la coloration par la fucisine-paraldéhyde Bull. Micro. appl. 3: 153-162.
- — 1966 — Neurosecretion. XIV + 872 pp. Pergamon Press. Oxford.
- — 1968 — Techniques histologiques. V + 1051 p. Masson et Cie. Paris.
- GENDRE, H. — 1935 — ap. GABE, M. 1968, 1. c.: 433.
- GOMORI, G. — 1950 — Aldehyde-fucsin — A new stain for elastic tissue. Amer. J. Clin. Pathol., 20: 665-668.
- HALMI, N.S. — 1951 — Differentiation of two types of basophils in the adenohypophysis of the rat and the mouse. Stain Tec. 27: 61-64.
- HELLY, K. — 1903 — Eine modifikation der Zenkerschen Fixierungsflüssigkeit. Z. wiss. Mikr. 20: 413-415. ap. LANGERON, M., 1949, 1. c.: 426.
- HIGHNAM, K.C. & HILL, L. — 1969 — The comparative endocrinology of the invertebrates. ix + 270 p. Edward Arnold Ltd., London.
- HIRANO, T., KAMYA, M., STISHY, S. & UTIDA, S. — 1967 — Effects of Hypophysectomy and Urohypophysectomy on Water and Sodium Transport in Isolated Intestine and Gills of Japanese Eel (*Anguilla-japonica*). Endocrinol. Jap., 14: 182-186.
- HOLMGREN, U. — 1958 — On the Caudal Neurosecretory System of the Teleost Fish *Fundulus heteroclitus*. L. Anat. Rec., 132: 454-455.
- — 1959 — On the Caudal Neurosecretory System of the Teleost Fish *Fundulus heteroclitus*. Breviora, 115: 1-15.
- — 1961 — On the Morphology of the Urophysis Spinalis and the Caudal Neurosecretory System of two Deep Sea Teleosts. Zool. Anz., 167: 83-92.
- HOLMGREN, U. & CHAPMAN, G.B. — 1960 — The fine Structure of Urophysis spinalis of the Teleost Fish *Fundulus heteroclitus*. J. Ultrastr. Res., 4: 15-25.
- HOTCHKISS, R.D. — 1948 — A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissues. Em: HUMASON, G.L. 1962 — Animal Tissue Techniques. XIV + 468 p. W.H. Freeman and Company.
- HULTMANN, E. — 1959 — Rapid Specific Method for Determination of Aldosaccharides in Body Fluids. Nature, 183 (4654): 108-109, London.
- HOWE, A. & PEARSE, A.G.E. — 1956 — A histochemical investigation of neurosecretory substance in the rat. J. Histochem. Cytochem., 4: 561-569.
- INOUE, S. & SATO, N.L. — 1966 — Uptake of Radioactive Leucine and Uridine by the Caudal Neurosecretory Cell of the Loach *Misgurnus anguillicaudatus*. Endocrinol. Jap., 13: 464-468.
- ISHIBASHI, T. — 1962 — Electrical Activity of the Caudal Neurosecretory Cells in the Eel *Anguilla japonica*, with special Reference to Synaptic Transmission. Gen. comp. Endocrinol., 2: 415-424.
- IVIC, M. — 1959 — Neue selektive Färbungsmethode der A- und B-Zellen der Langerhansschen Inseln. Anat. Anz., 107: 347-350.
- KAPPERS, A.C.O., HUBER, C.G. & CROSBY, E.C. — 1936 — The Comparative Anatomy of the Nervous System of Vertebrates including Man. 1: XVII + 864 pp. The Mc Millan Co. ed. New York.
- KAWAMATO, N.Y. — 1962 — Studies on the Swim-bladder of Goldfish *Carassius auratus* L. in special Reference to the Relation between

- the Swim-bladder and the Caudal Neurosecretory System. Rep. Fac. Fish. Pref. Univ. Mie. 4: 1-6.
- KOBAYASHI, H., UEMURA, H., OOTA, Y. & ISHII, S. — 1963. Cholinergic Substance in Caudal Neurosecretory Storage Organ of Fish. Science. 141: 714-716.
- LACANILAO, F. — 1969 — Teleostean Urophysis Stimulation of Water Movement across the Bladder of the Toad *Bufo marinus*. Science, 163: 1326-1327.
- LANGERON, M. — 1949 — Précis de microscopie. VIII + 1430 p. Masson et Cie. Paris.
- LAZAROW, A. & BERMAN, J. — 1947 — The Production of Diabetes in the Toad fish with Alloxan. Biol. Bull., 93: 219.
- MANN, G. — 1894 — Ueber die Behandlung der Nervenzellen für experimentellhistologische Untersuchungen. Z. wiss Mikr., 11: 479-494.
- MASSON, P. — 1912 — Carcinoids (argentaffin cell tumors) and nerve hyperplasia of the appendicular mucosa. Amer. J. Pathol., 4: 181-211. em: HUMASON, G.L. 1962 — Animal Tissue Technique: XV + 468 pp. W.H. Freeman and Company.
- Mc MANUS, J.F.A. — 1946 — The Histological Demonstration of Mucin after Periodic Acid. Nature, 158: 202.
- MAETZ, J. BOURGET, J. & LAHLOU, B. — 1963 — Action de l'urohypophyse sur les échanges de sodium (étudiés au 24 Na) et sur l'excretion urinaire du telestéen *Carassius auratus*. J. Physiol. Paris, 55: 159-160.
- MAGALHÃES, A.C. de — 1931 — Monografia brasileira de peixes fluviais 260 p. Secret. Agric. Ind. Com., São Paulo.
- MARTINS, F.O. — 1969 — A Urohipófise de alguns países tropicais de água doce tese de mestrado (no prelo).
- METALNIKOFF, S. — 1900 — *Sipunculus nudus*. Z. viss Zool. 68: 261-322.
- MOISIER, H.D. — 1955 — The Development of the Hypothalamo-neurohypophyseal secretory System in the Chick Embryo. Endocrinol., 57: 662-669.
- MURREL, L.R. & NACE, P.F. — 1958 — Determination of Glucose in Fish Blood. A modification of the Folin Malmros Microprocedure. Can. J. Bioch. Physiol., 36: 1121-1124.
- NACE, P.F. — 1955 — Arterial Blood Sugar Content of Toad fish intact and treated with Alloxan or adrenal Steroids. Biol. Bull., 109: 366.
- NACE, P.F. MOULE, M.L. & SCHUH, J.E. — 1964 — The Normal Blood Sugar of the Toadfish. Cann. J. Physiol. Pharm., 42: 225-232.
- NANSEN, F. 1886 — The Structure and Combination of the Histological Elements of the Central Nervous System. Bergens Mus. Arskr., 29-215, ap. GABE, M. 1966, 1. c.: 3.
- OOTA, Y. — 1963 — Fine Structure of the Caudal Neurosecretory System of the Carp. *Cyprinus carpio*. J. Fac. Sci. Univ. Tokyo, 10: 129-141.
- PEARSE, A.G.E. — 1960 — Histoquímica teorica y aplicada. xix + 599 p. Tradução espanhola de F.P. Salas, Aguilar ed. Madrid.
- PEYROT, A. & MANTELINO, S. — 1962 — Osservazioni istologiche preliminari sulla distribuizione di alcuni enzimi nel sistema neurosecretorio caudale de la tinca (*Tinca tinca*). Boll. Soc. ital. Biol. sper., 38: 923-924.

- RAUBER, A. — 1876 — Über die Caudal. Intumescenz des Fischmarks. Sitz Naturf. Ges. Leipzig, 3: 7-8. ap. ARVY, L. 1966, 1. c.: 218.
- — 1877 — Die letzten spinalen Nerven und Ganglien. Morphol. Jahrb. 3: 620-622. ap. ARVY, L., 1966, 1. c.: 237.
- ROMEU, F.G. & PASCAR, C.G. — 1962 — The Caudal Neurosecretory System of the Teleostean *Clupea melanostoma*. Zeit. Zellforsch. u. mikr. Anat., 58: 422-426.
- ROY, BB. — 1962 — Histological and Experimental Observations on the Caudal Neurosecretory System of Some Indian Fishes. Proc. Nat. Acad. Sci. India, B, 28: 449-477.
- SAINT-REMY, G. — 1888 — Recherches sur la portion terminale du canal de l'épendyme chez les Vertébrés. J. Intern. mensuel Anat. Physiol., 5: 57-61. Ap. ARVY, L. 1966 1. c.: 218.
- SANO, Y. — 1958 — Über die Neurophysis (sog. Kaudalhypophyse) des Teleostiern *Tinca vulgaris*. Zeit. Zellforsch. u. mikr. Anat., 47: 481-497.
- SANO, Y & HARTMAN, F. — 1958 — Zur vergleichenden Histologie von Neurophysis spinalis caudalis und Neurohypophysis. Ibidem; 48: 538-547.
- SANO, Y. KAWAMOTO, M. — 1959 — Entwicklungsgeschichtliche Beobachtungen an der Neurophysis spinalis caudalis von *Lebistes reticulatus*. P. Zeit. Zellforsch. u. mikr. Anat., 51: 56-64.
- SANO, Y. KNOOP, A. — 1959 — Elektronenmikroskopische Untersuchungen am kaudalen neurosekretorischen System von *Tinca vulgaris*. Ibidem, 49: 464-492.
- SANO, Y. HAMANA, K. & KAWAMOTO, M. — 1962 — Über die segmentale Ausbildung der Neurophysis spinalis caudalis bei einigen Fischarten. Ibidem, 57: 881-887.
- SANO, Y. IIDA, T. & TAKEMOTO, S. — 1966 — Weitere elektronenmikroskopische Untersuchungen am kaudalen neurosekretorischen System von Fischen. Ibidem, 75: 328-338.
- SANTOS, E. — 1954 — Peixes de água doce. 267 p. Briguiet & Cia. Rio.
- SAWYER, W.H. & BERN, H.A. — 1963 — Examination of the Caudal Neurosecretory System of *Tilapia mossambica* for the Presence of Neurohypophyseal like activity. Amer. Zool., 3: 555-556.
- SCHARRER, E. — 1928 — Die Lichtempfindlichkeit Blinder Elrkten. Zeit. vergl. Physiol., 7: 1-38.
- SCHIEBLER, T.H. — 1952a — Zur Histochemie des neurosekretorischen hypothalamisch-hypophysären System. Acta. Anat., 15: 393-416.
- — 1952b — Die chemischen Eigenschaften der Neurosekretorischen Substanz in Hypothalamus und Neurohypophys. Exp. Cell Res., 3: 249-250.
- SCHOLANDER, P.F. DAM, L. von, KANWISHER, J.W., HAMMEL, H.T. & GORDON, N.S. — 1957 — Supercooling and Osmoregulation in Artic Fish, J. Cell & Comp. Physiol., suppl. 49: 5-24.
- SHINOMYIA, N. — 1970 — Biologia da Tambaki-M'boya — *Lepidosiren paradoxa* (Fitz 1836) Peixe Dipnóico e metabolismo da glicose. Tese de mestrado. 78 pp. São Paulo (no prelo).
- SIMPSON, W.W. — 1928 — Relation of the Liver to Asphyxial Hyperglycaemia in Fishes. Quart. J. exp. Physiol., 19: 197-199.
- SOMOGYI, M. — 1952 — Notes on sugar determination. J. Biol. Chem. 195: 19-23.

- SPEIDEL, C.C. — 1919 — Gland Cells of Internal Secretion in the Spinal Cord of the Skates. Carnegie Inst. Washington Publ. 13: 1-31.
- — 1922 — Further Comparative Studies in other Fishes of Cells that are Homologous to the large irregular glandular Cells in the Spinal Cord of the Skates. J. comp. Neurol., 34: 303-317.
- STERZI, G. — 1900-1901 — Recherche intorno all'anatomia comparata ed all'ontogenesi delle meningi e considerazioni sulla filogenesi. Atti Inst. Veneto Disc., Lett. Arti., 60: 1101 ap. KAPPERS A.C.O., HUBER, C.G. & CROSBY, E.C. — 1936 — 1. c.: 57.
- SUSA, — 1916 — ap. LANGERON, M. — 1949, 1. c.: 429.
- van GELDEREN, C. — 1924 — Die Morphologie der Sinus durae matris. Die vergleichende Ontogenie der neurokranialen Venen der Vögel und Säugetieren. Zeit. f. d. ges. Anat., Abt. 1. Zeit.* f. Anat. u. Entwickl. 73: 541. ap. KAPPERS, A.C.O., HUBER, C.G. & CROSBY, E.C. — 1936, 1. c.: 60.
- VERNE, J. — 1914 — Lé renflement caudal de la moelle des Poissons. Arch. Anat. microsc., 16: 157-169:
- WEBER, E.H. — 1827 — Knoten und unpaaren Faden mit dem sich das Rückenmark bei einigen Fischen endigt namentlich bei *Cyprinus carpio*. Arch. f. Anat. Physiol., 2: 316-317. ap. ARVY, L., 1966, 1. c.: 230.
- YAGI, K. & BERN, H.A. — 1963 — Electrophysiologic indications of the osmoregulatory role of the Teleost Urophysis. Science, 142: 491-493.
- ZENKER — 1894 — ap. Langeron, M. — 1949 — 1. C.: 426.

