

HISTOQUÍMICA DOS CARBOIDRATOS NOS MUCOCITOS DA SOLA PEDIOSA DE PROSOBRANCHIA MARINHOS I. ARCHEOGASTROPODA

NEWTON MACHA

Departamento de Histologia. Instituto de
Ciências Biomédicas (ICB) Universidade de
São Paulo (USP) Caixa Postal, 4365 São
Paulo - Brasil. (recebido em 05.V.1981)

RESUMO - Foi realizado um estudo histoquímico do muco da sola pediosa de Prosobranchia marinhos (Archeogastropoda) Utilizando-se métodos para carboidratos foi encontrada a presença de uma sulfomucina em todos os animais estudados. Entretanto, uma espécie revelou grupamentos vic-glicol na constituição do muco.

ABSTRACT - A histochemical study of the mucous glands in the foot of marine Prosobranchs (Archeogastropoda) was carried out. The author found with different methods for carbohydrates a sulphomucin in all animals analyzed. Meanwhile only one animal showed a vic-glicol group in the mucus composition.

INTRODUÇÃO

Os conhecimentos sobre a histoquímica de carboidratos em invertebrados apresentam-se muito incompletos (Gabe, 1962). Destacamos o fato de que inúmeras áreas nesse campo de trabalho, constituem-se em lacunas na literatura especializada, por não apresentarem um trabalho sequer do ponto de vista histoquímico sistemático.

Imbuídos desse espírito, resolvemos empreender este trabalho selecionando três espécies de Prosobranchia representativas de diferentes famílias da ordem dos Archeogastropoda. A finalidade específica é a de caracterizar citoquimicamente o muco secretado pela sola pediosa, na tentativa de estabelecer as possíveis correlações dentro do grupo estudado.

MATERIAL E MÉTODOS

Utilizamos as seguintes espécies: *Fissurella clenchi* (Farfante, 1943), *Acmasa subrugosa* (Orbigni, 1841) e *Tegula viridula* (Gmelin, 1790). Os animais foram coletados no lito-

ral de São Paulo, nas proximidades do Instituto de Biologia Marinha, em São Sebastião. Os mesmos foram utilizados após manutenção em aquário por 24 horas. Material fixado em líquido de Bouin por 24 horas, após o que seccionamos o pé dos animais transversalmente e seguimos rotina de inclusão em parafina. Foram utilizados cortes de 5 a 7 micrômetros, coloração com hematoxilina e eosina e os seguintes métodos histoquímicos:

PAS (Mc Mannus, 1946); Amilase+PAS (Lison, 1960), Acetilação+PAS (Mc Mannus e Cason, 1950); Acetilação+Saponificação+PAS, Azul de Alcian A pH 2,5 e 1,0 (Pearse, 1968); Metilação+Azul de Alcian, e Metilação+Saponificação+Azul de Alcian (Spicer e Lillie, 1959)

RESULTADOS

Encontram-se expressos na tabela abaixo:

TABELA I - Resultados histoquímicos referentes à ordem dos Archeogastropoda.

Espécie	PAS	AM+PAS	A+PAS	A+S+PAS	AA		M+AA	M+S+AA	AA	
					pH 2	5			pH 1.0	1.0
<i>Acmaea subrugosa</i>	-	/	/	/	+	-	-	-	-	+
<i>Tegula viridula</i>	-	/	/	/	+	-	-	-	-	+
<i>Fissurella clenchi</i>	+	R	-	+	+	-	-	-	-	+

CÓDIGO: +, positivo; -, negativo; /, não foi realizada; PAS, ácido periódico SCHIFF; AM, amilase; A, acetilação; S, saponificação; AA, azul de alcian, M, metilação

DISCUSSÃO

A reação do PAS, baseada na oxidação efetuada pelo ácido periódico sobre grupos glicólicos, transforma-os em aldeídos cuja presença é determinada pelo reativo de Schiff, originando uma cor púrpura (Mc Mannus, 1946; Lison, 1960; Pearse, 1968).

A nossa tabela mostra positividade à reação do PAS, e uma das primeiras indagações que surgiu foi se a mesma devia-se à presença de glicogênio. Daí a razão de tratarmos posteriormente uma outra lâmina, previamente à ação do PAS, pela amilase salivar (Lison, 1960), para remover o glicogênio que eventualmente pudesse ocorrer. Como o material continuasse apresentando positividade ao PAS após a ação prévia da amilase salivar, descartamos a presença de glicogênio e aceitamos a possibilidade de que a positividade ao PAS pudesse estar

relacionada com outras substâncias.

A acetilação, esterificando os radicais hidroxila (Mc Mannus e Cason, 1950) bloqueou a positividade ao PAS. A mesma foi restaurada pela saponificação (Mc Mannus e Cason, 1950)

Nossos resultados permitem sugerir que a positividade ao PAS encontrada na *Fissurella clenchi* e que não foi assinalada nas outras espécies estudadas, se deva à presença de radicais vic-glicol (hidroxilas vicinais) nos mucocitos da sola pediosa da referida espécie.

Ao referir-se ao tegumento dos moluscos, Gabe (1962) diz que o produto de secreção tegumentar é nitidamente PAS positivo devido à presença de radicais 1-2 vic-glicol.

Esse fato foi confirmado em Pulmonata onde Arcadi (1963) estudando *Leihmania poirieri* encontrou positividade ao PAS no "basket cell complex". Esse autor verificou que o uso de uma solução de neuraminidase previamente à ação do PAS diminuía a positividade à mesma e ligou o fato à presença de radicais vic-glicol de uma sialomucina. É interessante destacar que as células que compõe esse "basket cell complex" situam-se na superfície dorsal do pé e não na ventral da sola. Nesta última área, o referido autor identificou uma "granular cell complex" cuja parede dos ductos celulares eram negativos ao PAS, embora o lumen contivesse material PAS positivo.

Em outro Pulmonata, *Helix aspersa*, Campion (1961) encontrou um grande número de variedades celulares, dentre as quais elementos glandulares da sola pediosa, PAS positivos

Chetail e Binot (1967) identificaram, na sola pediosa de *Arion rufus*, mucocitos de quatro tipos glandulares diferentes, entretanto, com a característica comum de todas as variedades celulares serem positivas ao PAS.

Taffarel (1969) estudando em *Melampus coffeus* (Pulmonata) os mucocitos intra-conjuntivais da sola pediosa, do manito e da glândula pedial anterior, encontrou positividade ao PAS nessas três variedades celulares

Binot (1965) em seu trabalho sobre *Oncidiella celtica* (Pulmonata) encontrou nas variedades de mucocitos da sola, os mesmos resultados que a maioria dos autores com relação ao PAS.

Bensalem (1967) no estudo que realizou sobre dois moluscos Prosobranchia: *Patella vulgata* (Archeogastropoda) e *Ocenebra erinacea* (Neogastropoda) encontrou nas variedades de mucocitos da sola pediosa positividade ao PAS.

Nos Prosobranchia, estudados por Bolognani Fantine Vigo (1967) os resultados quanto ao PAS são variáveis, falando numericamente mais em favor da negatividade.

Gostan (1960), em *Rissoa parva* (Prosobranchia), comenta o fato com brevidade, e assinala a negatividade ao PAS nesse animal, detectando nessas glândulas um mucopolissacarídeo ácido.

O achado da positividade ao PAS em *Fissurella clenchi* é perfeitamente compatível com os dados da literatura em que *Patella vulgata* (Bensalem, 1967), *Patella coerulea* e em *Neritina ticinensis* (Bolognani Fantine Vigo, 1967), os Archeogastropoda apresentam essa característica.

A coloração indicativa pelo azul de alcian a pH 2,5 sugere a presença de uma mucina com caráter ácido (Lison, 1960). A metilação é um controle para determinação da natureza desse caráter ácido; se esterificação carboxílica ou éster sulfúrico (Lison, 1960; Spicer e Lillie, 1959). Age esterificando o primeiro radical e permitindo sua restauração pela saponificação. Quanto ao segundo, eliminaria o éster sulfúrico (dessulfatação) impedindo a coloração pelo azul de alcian de novo a ausência desse radical.

Isto indica a presença de mucocitos com secreção de esterificação sulfúrica nesse grupo (Archeogastropoda), pelo fato de não se conseguir reversibilidade à coloração indicativa pelo azul de alcian após metilação seguida de saponificação.

Aliada a essa informação dos bloqueios, que seriam mais de caráter indireto, teríamos a indicação da presença de sulfato pela coloração indicativa do azul de alcian a pH 1,0 que é considerada seletiva para esterificação sulfúrica (Lison, 1960; Pearse, 1968) e que também ficou positivada nas três diferentes espécies estudadas.

Pela análise efetuada, verificamos que a característica comum dos Archeogastropoda é a presença de uma sulfomucina secretada pelas glândulas da sola pediosa. Observamos também que a presença de radicais vic-glicol somente foi encontrada em uma das espécies estudadas.

REFERÊNCIAS

- ARCADI, J.A. 1963. Some mucus-producing cells of the garden slug (*Leihmania poirieri*) *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 106:451-457
- BENSALEM, M. 1967. Histologie et histochemie des glandes pedieuses de deux mollusques Prosobranches *Patella vulgata* L. et *Ocenebra erinacea* L., *Bull.Soc.Hist.Nat.Afr.Nord.Alger.*, 58:1-19.
- BINOT, D. 1965. Histologie, histochemie, cytologie de quelques formations glandulaires du tégument d'*Oncidiella celtica* (Cuv.) (Gastéropode Pulmoné) *Cahiers Biol.Mar.*, 6:325-346.
- BOLOGNANI FANTIN, A.M. & VIGO, E. 1967. La mucinogenesi nei Molluschi. IV Caratteristiche istochimiche dei tipi cellulari presente nel piede e nel mantello di alcune specie di Gasteropodi. *Riv.istoch.norm.pat.*, 13:1-28.
- CAMPION, M. 1961. The structure and function of the cutaneous glands in *Helix aspersa*. *Quart.J.micro.Sci.*, 102:195-216.
- CHÉTAIL, M. & BINOT, D. 1967. Particularites histochemiques de la glande et de la sole pedieuses d'*Arion rufus* (Stylomatophora:Arionidae) *Malacol.*, 5:269-284.
- GABE, M. 1962. Résultats de l'histochemie des polysaccharides: Invertébrés. In *Handbuch der Histochemie*, Band II, Polysaccharide. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
- GOSTAN, G. 1960. Répartition des polysaccharides chez *Rissoa parva* (Gast. Pros.) *Bull.Soc.zool.Fr.*, 85:181-188.
- LISON, L. 1960. Histochemie et cytochemie animales, principes et methodes. 3e.ed., Gauthier-Villars, Paris, 2 vols.

- MC MANNUS, J.F.A. 1946. Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, 158:202
- MC MANNUS, J.F.A. & CASON, J.E. 1950. Carbohydrate histochemistry studies by acetylation techniques I. Periodic acid methods. *J. Exp. Med.*, 91:651-654.
- PEARSE, A.G.E. 1968. Histochemistry theoretical and applied. Th. Ed., J & A. Churchill Ltd., London, vol. I.
- SPICER, S.S. & LILLIE, R.D. 1959. Saponification as means of selectively reversing the methylation blockade of tissue basophilia. *J. Histochem. Cytochem.*, 7:123-125.
- TAFFAREL, M. 1969. Estudo histoquímico do material elaborado pelos mucócitos intraconjuntivais do pé e do manto e da glândula pedal anterior de *Melampus coffeus* (Linne, 1758) (Gastropoda, Pulmonata) - Trabalho de Licenciatura em História Natural na F.F.C.L. de São Leopoldo.

