

ESTUDOS HISTOLÓGICOS SÔBRE AS GLÂNDULAS PEÇONHENTAS DA "VIÚVA NEGRA", *LATRODEC-TUS MACTANS* (Fabricius) (Arachnida, Araneae, Theridiidae)*

RUDOLF BARTH

Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Guanabara

(Com 30 figuras no texto)

Apesar da alta importância médica da "viúva negra", pouco se conhece sôbre a histologia de sua glândula peçonhenta. ANCONA (1931) descreve-lhe detalhadamente a morfologia das quelíceras e da musculatura, descurando, porém, da anatomia comparada. Pelas indicações técnicas, verifica-se que as observações feitas por êste autor, sôbre as glândulas peçonhentas, pecam pelo método falho que empregou, de sorte que as análises anatômica e histológica não correspondem aos resultados que obtivemos utilizando métodos mais adequados. ANCONA lava o material, após fixá-lo pelo líquido de Bouin, diretamente com água, destruindo, em virtude do teor de ácido acético no reagente, as partes apicais das delicadas células glandulares, fato êsse comprovado pelo exame das fotografias do seu trabalho. Além disto, os tecidos são danificados pela desidratação, pois passa o material diretamente da água para álcool a 70% e aplica ainda éter-álcool e óleo de cravo, extraindo mais substâncias das células. Por isso, não conseguiu comprovar a presença da estriação transversal, na musculatura glandular "sino hasta cuando se aproximan al extremo anterior, donde aparece débilmente una menuda sucesión de bandas Q y J de Heidenhain", enquanto que em nossas preparações, após fixação no líquido de Bouin (original), todos os músculos mostram uma estriação transversal típica e nítida. Também as descrições histológicas do epitélio glandular sofrem as mesmas restrições, não podendo oferecer-nos um aspecto exato da composi-

* Recebido para publicação a 12 de outubro de 1961.

Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz (Divisão de Zoologia Médica), executado com o auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas, cujo resumo foi apresentado à Academia Brasileira de Ciências, em comunicação feita na reunião do dia 10 de outubro de 1961.

ção e função do tecido glandular, tanto mais que as figuras não vêm acompanhadas de explicações dos pormenores.

O trabalho de REESE (1944) trata da micro-anatomia e histologia da glândula peçonhenta da espécie encontrada no Brasil. A maior parte dos resultados dessa publicação diverge muito das nossas observações. Não podemos, nesta comunicação, discutir tais divergências, pois o fato foge ao âmbito do presente estudo e, por outro lado, as figuras que acompanham o nosso trabalho representam uma correção às apresentadas por REESE. O trabalho de VITAL BRAZIL & VELLARD (1925) contém umas poucas indicações histológicas que não se referem a *Latrodectus*, propiciando apenas um aspecto geral da histologia geral deste tipo de glândulas. Os autores, porém, perceberam o que de principal existe na estrutura e função do órgão. As observações diferem em vários pontos das que fizemos sobre *Latrodectus mactans*, fato este explicável visto como os autores se basearam em outras espécies (*Ctenus medius* etc.) para os seus estudos.

Em um estudo prévio, comparando a histologia de algumas espécies de *Aviculariidae* e a de uma espécie de *Argiopidae* com a de *Latrodectus mactans* (*Theridiidae*), verificamos que a organização do epitélio glandular se complica gradativamente passando do epitélio simples de *Latrodectus* para o de *Argiopidae* e, finalmente, para o dos avicularídeos. É interessante observar não ter REESE encontrado nenhuma diferença nas glândulas do inseto, antes e após a picada, enquanto que VITAL BRAZIL & VELLARD observaram modificações funcionais, porém pouco acentuadas. BORDAS (citado em VITAL BRAZIL & VELLARD, 1925), estudou a composição histológica da glândula de *Latrodectus 13-guttatus* (espécie italiana), considerando holócrina a função das células. MAC LEOD (1880) comunica observações microanatômicas comparadas das glândulas peçonhentas de numerosas espécies de aranhas, descrevendo também as células do epitélio glandular; as descrições coincidem somente em alguns pontos com as observações por nós feitas em *Latrodectus*, *Argiopidae* e *Aviculariidae*.

O trabalho de MILLOT (1931), que refere a anatomia comparada da glândula peçonhenta de numerosas espécies, não trata do gênero *Latrodectus*. Ele encontrou, em certas espécies como *Pholcus phalangoides*, um epitélio glandular, diferente do da glândula peçonhenta, situado na parede do ducto de peçonha. Esse fato lembra a glândula por nós observada em *Latrodectus* e que não foi encontrada nesta espécie, pelos autores anteriormente citados. MILLOT não se dedicou ao estudo da histologia, de modo que não sabemos se a glândula de *Pholcus* é fisiologicamente homóloga à de *Latrodectus*.

MATERIAL E MÉTODOS

O material estudado foi-nos enviado por nosso colega Dr. Herman Lent, Chefe da Divisão de Zoologia Médica, a quem agradecemos também a idéia do estudo e a classificação da espécie.

Êstes animais foram coletados nos focos de invasão, nas costas dos estados da Guanabara e do Rio de Janeiro.

A preparação das glândulas é relativamente simples: Por incisão praticada sagitalmente entre os olhos, é destruída a articulação das quelíceras. Prende-se o animal por meio de uma pinça aplicada ao cefalotórax e seguram-se, com outra, horizontalmente, as duas quelíceras. Puxando lenta e igualmente as quelíceras para a frente, estas e as glândulas projetam-se para fora. Fixam-se, então, imediatamente, os referidos órgãos, no líquido de Bouin (original e alcoólico, segundo Duboscq — Brasil), em “Susa” de Heidenhain e em OsO_4 tamponado. Procede-se muito lentamente à desidratação, precaução esta que deve ser sempre observada quando se trata de tecidos glandulares, passando o material do álcool a 96%, através de misturas de álcool-benzol, nas proporções de 3:1; 1:1; 1:3; e 7:100, para benzol puro. Usa-se exclusivamente a coloração com hematoxilina férrica de Heidenhain e verde-naftol, como contraste ácido.

OBSERVAÇÕES MICROANATÔMICAS

Sôbre anatomia da glândula e de seu aparelho condutor, encontramos uma descrição no trabalho de ANCONA (1931). Observamos, porém, ao contrário do que afirma aquêle autor, apenas dois músculos nas quelíceras (fig. 4; MUB; MUD;), correspondendo aos tendões (fig. 1; AB; AD;) da garra. O músculo abductor, porém, é subdividido em várias partes, correspondentes aos ramos de seu tendão, partes estas que, possuindo um único tendão comum, não podem ser consideradas músculos diferentes. As células gordurosas mencionadas por ANCONA, e as “células conjuntivas” “que dejan entre sí espacios libres en la extremidad distal” da glândula, não as conseguimos encontrar. A região em redor da glândula é cheia de hemolinfa que contém um teor de substância orgânica muito elevado e, ainda, muitas células flutuantes— “hemácias” — (fig. 2). Êste fato observa-se freqüentemente em artrópodes, sendo esta acumulação condicionada pelo embolismo acelerado do tecido glandular.

A glândula apresenta-se, em sua totalidade, como um corpo em forma de ampôla, com o comprimento de 1,7 — 2,0 mm e largura de 0,3 — 0,35 mm, medidas obtidas de material fixado, apresentando uma diminuição (retração) de, aproximadamente, 25%. A composição microanatômica corresponde ao esquema do corte longitudinal da fig. 20. A forma da glândula é mantida por uma membrana grossa, de tecido conjuntivo (ME) e pela pressão do líquido existente na cavidade glandular. Na direção proximal, êste saco continua-se por um ducto de peçonha de 50 — 60 μ de diâmetro, sendo êste revestido internamente por um epitélio simples. O ducto prolonga-se através da quelícera e da garra, desembocando junto à extremidade desta última. O orifício (fig. 1, seta) de saída localiza-se um pouco antes da extremidade da garra, sempre no lado externo desta, de modo que, ao penetrar no tecido

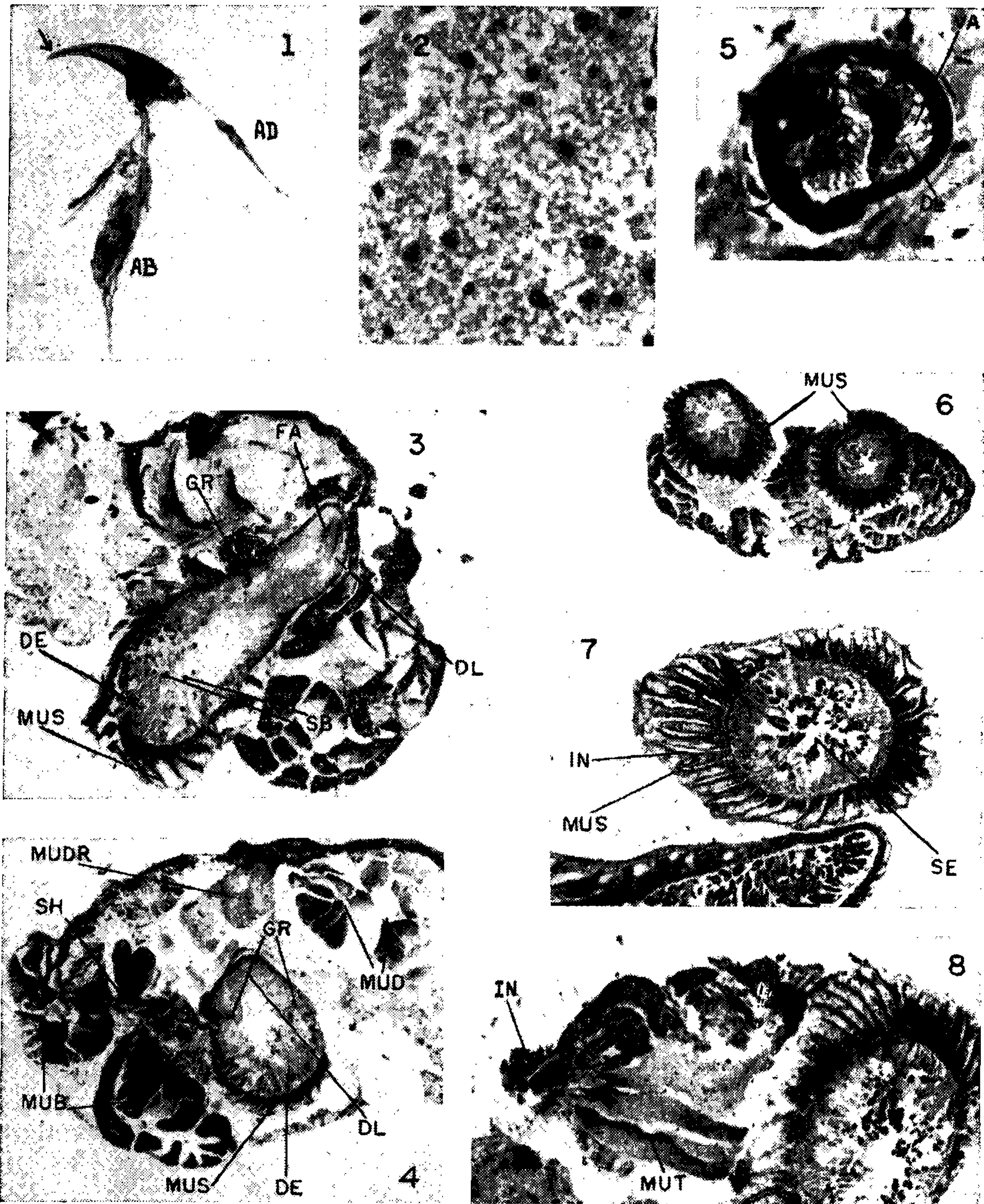


Fig. 1 — Garra com tendões: AB = do músculo abdutor; AD = do adutor. A seta indica a abertura do ducto de peçonha. (Klaue mit sehnen. AB = des Schliessmuskels; AD = des Oeffnungsmuskels. Der Pfeil gibt die Oeffnung des Giftkanals an). — Fig. 2 — Hemolinfa com "hemácias" junto da glândula. (Haemolymphe mit "Haemocyten" nahe der Druese). — Fig. 3 — Corte longitudinal da entrada do ducto: DE = epitélio da glândula principal; DL = glândula da entrada do ducto; FA = dobra da glândula da entrada do ducto; GR = limite entre as duas glândulas; MUS = músculo glandular; SB = corpúsculo de secreção, em dissolução. (Laengsschnitt durch den Kanal Hals. DE = Epithel der Hauptdruese; DL = Kanal Halsdruese; FA = Falte der Kanal Halsdruse; GR = Grenze zwischen beiden Druesen; MUS = Druesenmuskel; SB = Sekretballen in Aufloesung). — Fig. 4 — Corte transversal do limite (GR) entre as duas glândulas: DE = epitélio da glândula principal; DL = epitélio da glândula da entrada do ducto; MUB = músculo abdutor; MUD = músculo adutor; MUDR = músculo

da prêsa, não pode ocorrer uma obstrução, o que se observa em todos os animais que inoculam peçonha (dente de ofídio, garras de quilópodes, ferrão de escorpiões e de himenópteros, etc.).

O lado interno do saco membranoso do órgão é revestido por um epitélio glandular (fig. 20; DE) que sofre, durante sua atividade, modificações características, que descreveremos mais adiante. A cavidade glandular funciona como reservatório (fig. 20; RE) das secreções, sendo êste espaço, em animais mais novos, preenchido apenas parcialmente, ao passo que nos mais velhos o é completamente. A maior parte do epitélio glandular consta, durante a fase produtora das secreções, de células cilíndricas compridas (fig. 20; A). Encontram-se ainda, na base destas, pequenas células glandulares isoladas ou em grupos (BZ). Na saída do saco, localiza-se ainda um outro epitélio glandular (DL), com 250 μ de comprimento, aproximadamente, sendo bem separado do epitélio principal (GR). É esta a glândula que denominamos, pela sua topografia, "glândula da entrada do ducto" ou, pela sua função, que será descrita em outro capítulo, "glândula lipócrina", diferenciando-a assim, da principal, que chamamos "glândula ragiócrina". Esta pequena glândula não foi mencionada por ANCONA (1931), nem por REESE (1944). Sempre no sentido proximal, segue-se o epitélio de revestimento do ducto. O limite entre os dois tecidos glandulares (DE e DL) aparece nas figs. 3 e 4, assinalado por GR. Ventralmente, a glândula forma uma dobra muito acentuada (figs. 3 e 5; FA), impedindo, quando em repouso, a penetração de quase tôda a luz na entrada do ducto.

O órgão é, exteriormente, revestido por um manto de musculatura longitudinal (figs. 6 e 20; MUS). Consta de 40-45 feixes inseridos por meio de curtas tonofibrilas, na membrana de tecido conjuntivo da região posterior do órgão, envolvendo em forma de hélice $3/4$ do eixo longitudinal da glândula. Encontramos a contra-inserção no limite entre os dois epitélios glandulares (figs. 3, 4 e 20; GR), feita também por meio de tonofibrilas (fig. 20; TO). O tamanho dêstes feixes helicóides varia consideravelmente. O corte transversal oferece um aspecto trapezóide, tendo até 100 μ de altura e 50 μ de largura, na face externa, e até 25 μ na interna (fig. 7). Quase a meio do comprimento, insere-se, na parte exterior, um músculo, fixando-se diretamente ao sarcolema resistente dos feixes helicóides e estendendo-se lateralmente até à cutícula da região articuladora da quelícera. A inserção é aí feita por meio de um tendão ramificado, formado por tonofibrilas cuticularizadas (fig. 8).

transversal da glândula; MUS = músculo la glândula; SH = tendão do músculo abdutor. (Querschnitt durch die Grenze (GR) zwischen beiden Drueses. DE = Epithel der Hauptdruese; DL = Epithel der Halskanaldruese; MUB = Abduktor; MUD = Adduktor; MUDR = Transversaler Druesenmuskel; MUS = Druesenmuskel; SH = Sehne des Abduktors). — Fig. 5 — Corte transversal do centro da glândula de entrada do ducto: DL = epitélio glandular; FA = dobra; VA = vacúolo. (Querschnitt durch das Zentrum der Kanalhsdruese. DL = Druesene-pithel; FA = Falte; VA = Vakuolen). — Fig. 6 — Corte transversal dos dois sacos glandulares: MUS = manto muscular. (Querschnitt durch beide Druesensaেকে. MUS = Muskelmantel). Fig. 7 — Corte transversal da glândula peçonhenta junto da inserção (IN) do músculo transversal: MUS = músculo da glândula; SE = secreções. (Querschnitt durch die Giftdruese nahe dem Ansatz (IN) des transversalen Muskels. MUS = Druesenmuskel; SE = Sekret). — Fig. 8 — Corte transversal da glândula na altura do músculo transversal (MUT) e da contra-inserção dêste (IN). (Querschnitt durch die Druese in Hoehe des transversalen Muskels MUT) und dessen Gegeninsertion (IN)).

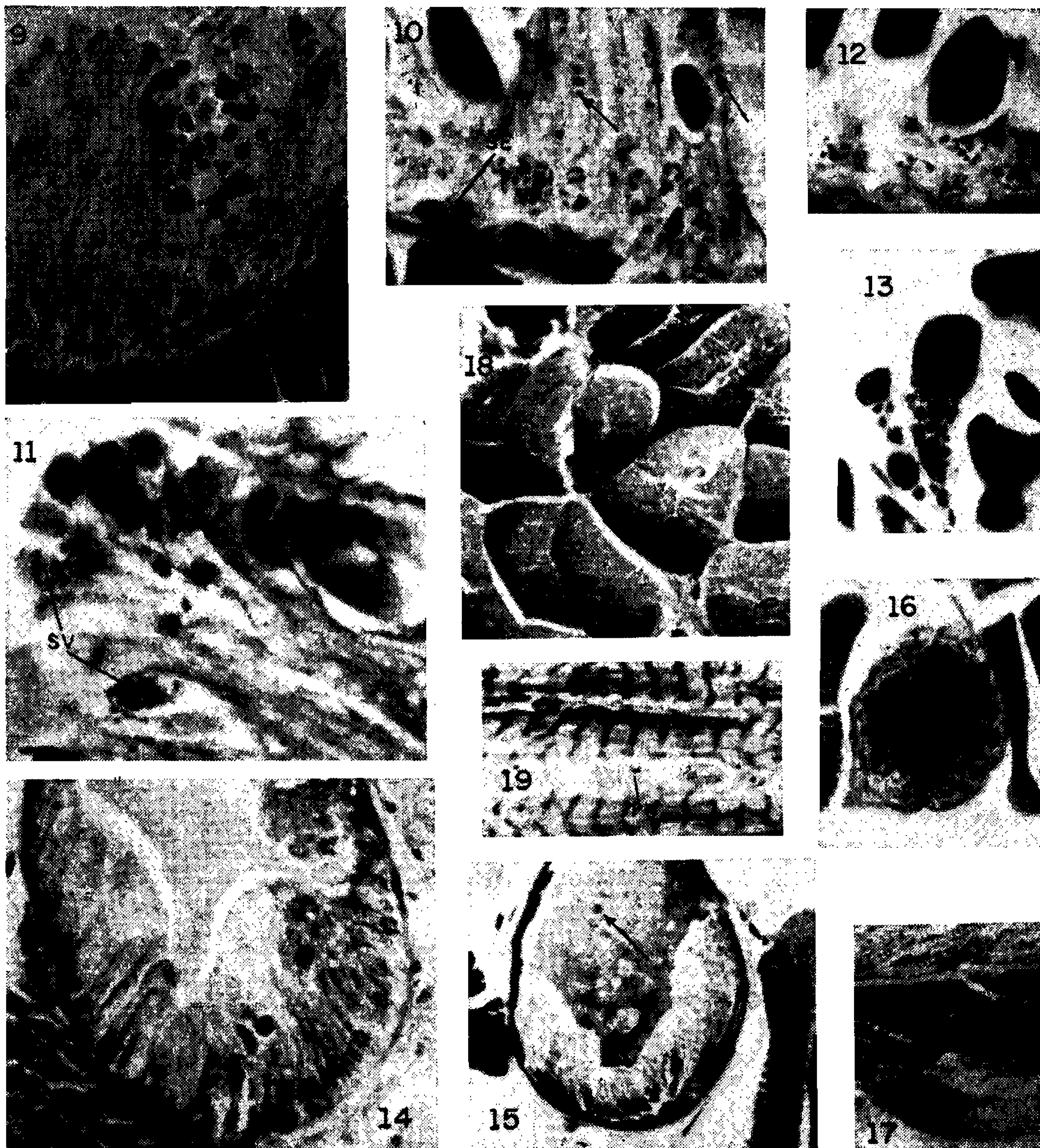


Fig. 9 — Parte inicial da glândula principal (AZ); à direita: células em fases já avançadas de secreção. SM = corpúsculos de secreção ainda não condensados. Seta: formação de secreções na célula glandular principal. (Angangsteil der Hauptdruese (AZ); rechts Zellen in schon fortgeschrittenen Sekretionsstadien. SM = noch nicht kondensierte Sekretballen. Pfeil: Sekretbildung in der Hauptdruesenzelle). — Fig. 10 — Bases de algumas células glandulares principais. SE = secreções das células glandulares auxiliares. Setas: secreções das células glandulares principais. (Basis einiger Hauptdruesenzellen. SE = Sekret der Nebendruesenzellen. Pfeile: Sekret der Hauptdruesenzellen). — Fig. 11 — Partes apicais de algumas células glandulares principais, com vacúolos (SV) antes da confluência das gotículas secretoras. (Köpfe einiger Hauptdruesenzellen mit Vakuolen (SV) vor dem Zusammenfluss der Sekretkugeln). — Fig. 12 — Bases de algumas células glandulares principais, quase esgotadas. (Basis einiger fast erschöpfter Hauptdruesenzellen). — Fig. 13 — Corpúsculos de secreção das células glandulares principais. (Sekretballen der Hauptdruesenzellen). — Fig. 14 — Corte transversal na região inicial da glândula da entrada do ducto. (Querschnitt durch den Anfangsteil der Kanalhsdruese). — Fig. 15 — Corte transversal na região terminal da glândula de entrada do ducto. Seta: Resto de um corpúsculo de secreção da glândula principal dentro da secreção lipóide. (Querschnitt durch den Endteil der Kanalhsdruese. Pfeil: Rest eines Sekretballens der Hauptdruese im lipoiden Sekret). — Fig. 16 — Corte transversal da glândula de

OBSERVAÇÕES HISTOLÓGICAS

1. MEMBRANA SARCOPERITONIAL

A “membrana basal” do saco glandular, fortemente acidófila, apresenta-se como uma só camada, com 3-5 μ de espessura. Em cortes finos, de 2 μ , e fortemente diferenciados, verifica-se que se compõe de dois elementos colados um ao outro por uma substância colagínica, de natureza desconhecida (figs. 21; NM; 23, 24 e 25; KM). O componente externo corresponde ao sarcolema (SL) dos feixes musculares helicóides (MUS): o interno, à membrana peritonal do epitélio glandular. Na região em que terminam os músculos, isto é, no limite entre os dois tecidos glandulares, a membrana adelgaça-se, tendo apenas a espessura de 1-1,5 μ , e apresenta então, somente o elemento peritonal; deixa de aparecer a massa colagínica. Entre membrana e musculatura, bem como nos “septos” sarcoplasmáticos que separam os feixes musculares uns dos outros, localizam-se numerosos núcleos de pouca espessura, disciformes,

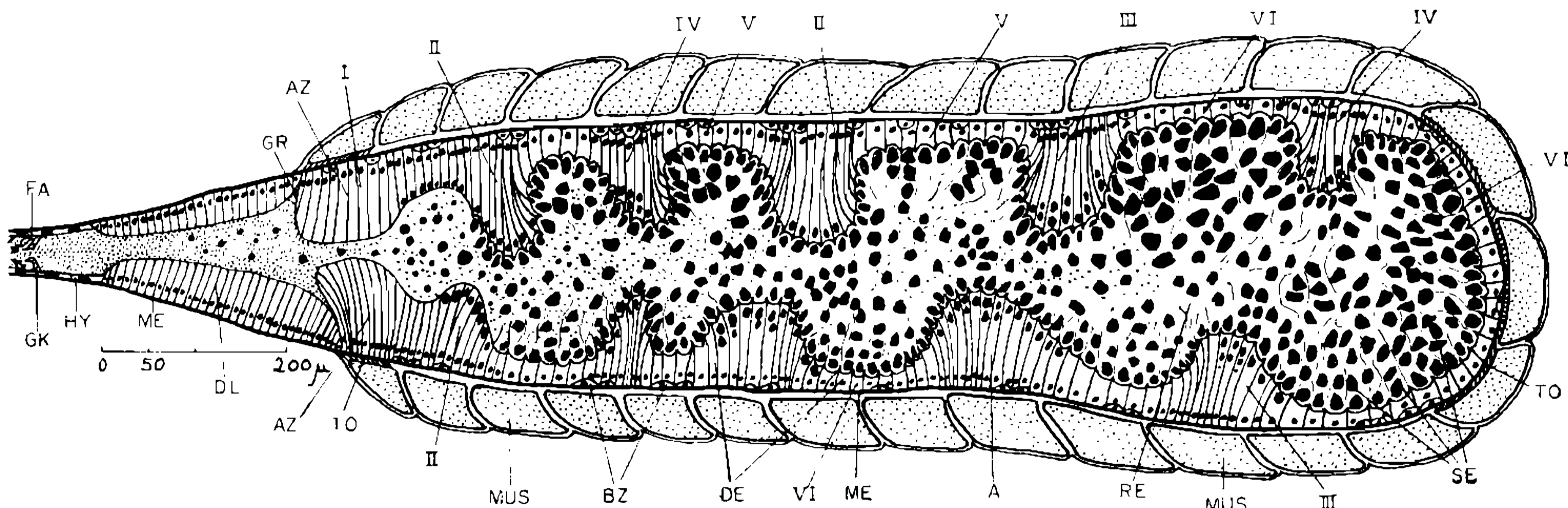


Fig. 20 — Esquema do corte longitudinal da glândula peçonhenta. A = células glandulares principais; AZ = região inicial da glândula principal; BZ = células da glândula auxiliar; DE = epitélio glandular; DL = glândula da entrada do ducto; FA = dobras do ducto da peçonha; GK = ducto da peçonha; GR = limite entre os dois epitélios glandulares; HY = epitélio do ducto da peçonha; ME = membrana peritonal; MUS = musculatura da glândula; RE = reservatório; SE = secreções; TO = tonofibrilas; I — VI = estádios de secreção. (Schema des Laengsschnitts der Giftdruese. A = Hauptdruesenzellen; AZ = Anfangsteil der Hauptdruese; BZ = Nebendruesenzellen; DE = Druesenepithel; DL = Kanalhsdruese; FA = Falten des Giftkanals; GK = Giftkanal; GR = Grenze zwischen den beiden Druesenepithellen; HY = Epithel des Giftkanals; ME = Peritonealmembran; MUS = Druesenmuskel; RE = Reservatorium; SE = Sekret; TO = Tonofibrillen; I — VI = Sekretionsstadien).

pertencentes ao sarcoplasma (fig. 21; KL). No lado interno da membrana, situados entre esta e o epitélio glandular, encontram-se também núcleos disciformes, incluídos em pequenas porções do denso protoplasma (fig. 21; BU); trata-se de células de tecido conjuntivo, indicando que esta parte da “membrana basal” tem origem no peritônio mesodérmico e, por isto, o termo usado para designar a membrana basal da hipoderme, será substituído pelo de “membrana sarcoperitonal”. Ape-

entrada do ducto, após fixação por ácido ósmico. (Querschnitt durch die Kanalhsdruese nach Fixierung in Osmiumsaeure). — Fig. 17 — Corte longitudinal da musculatura da glândula com estriação transversal. (Laengsschnitt durch die Druesenmuskulatur mit Querstreifung). — Fig. 18 — Corte transversal de uma parte do músculo abductor da garra. (Querschnitt durch einen Teil des Abduktormuskels der Klaue). — Fig. 19 — Corte longitudinal de uma parte do músculo abductor da garra. PK = ducto sarcoplasmático com núcleos. (Laengsschnitt durch einen Teil des abduktormuskels der Klaue. PK = Sarcoplasmakanal mit Kernen).

sar de a membrana ser espessa e de material compacto, ela possui uma permeabilidade acentuada, pois através dela passa tôda a matéria necessária para formação das secreções.

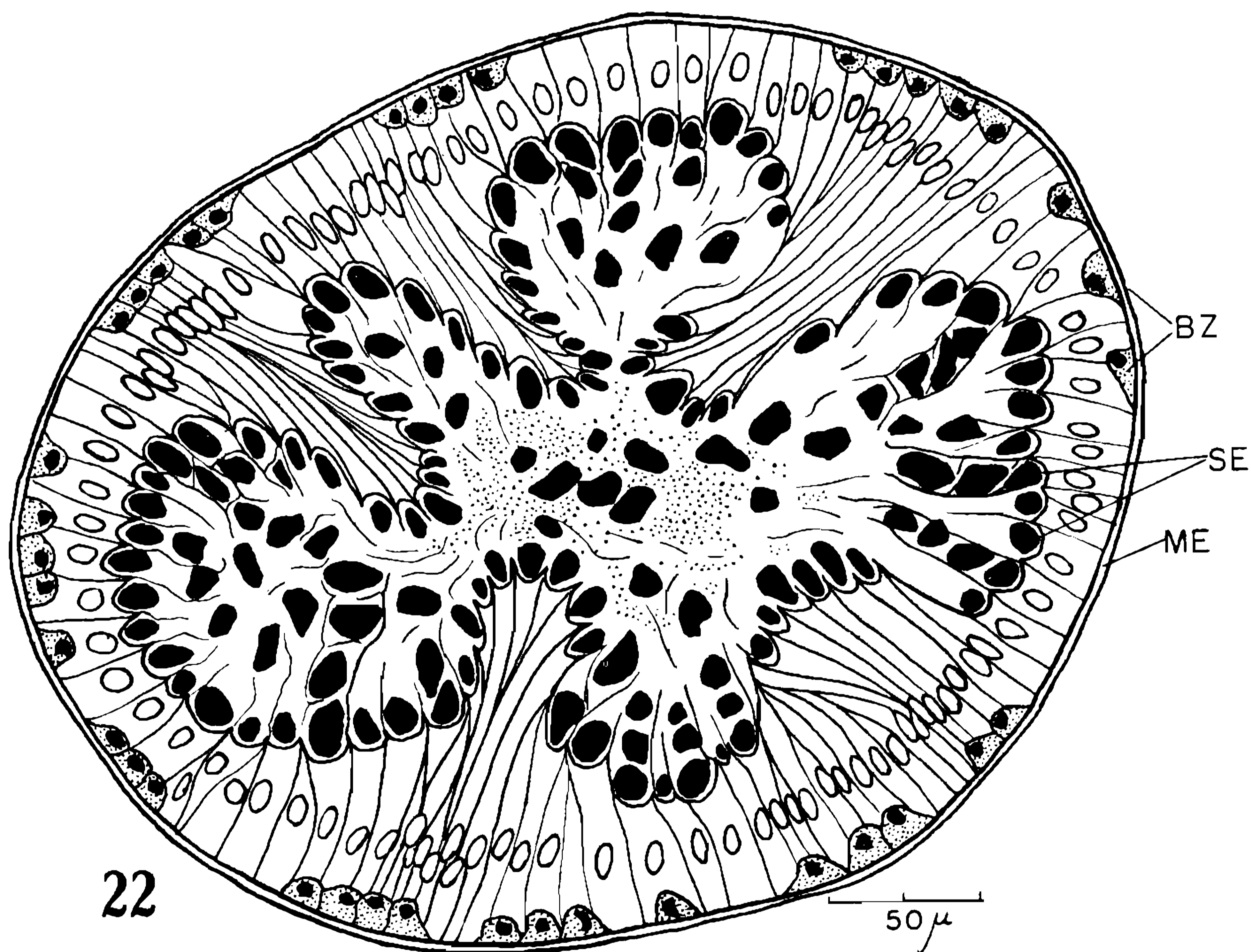
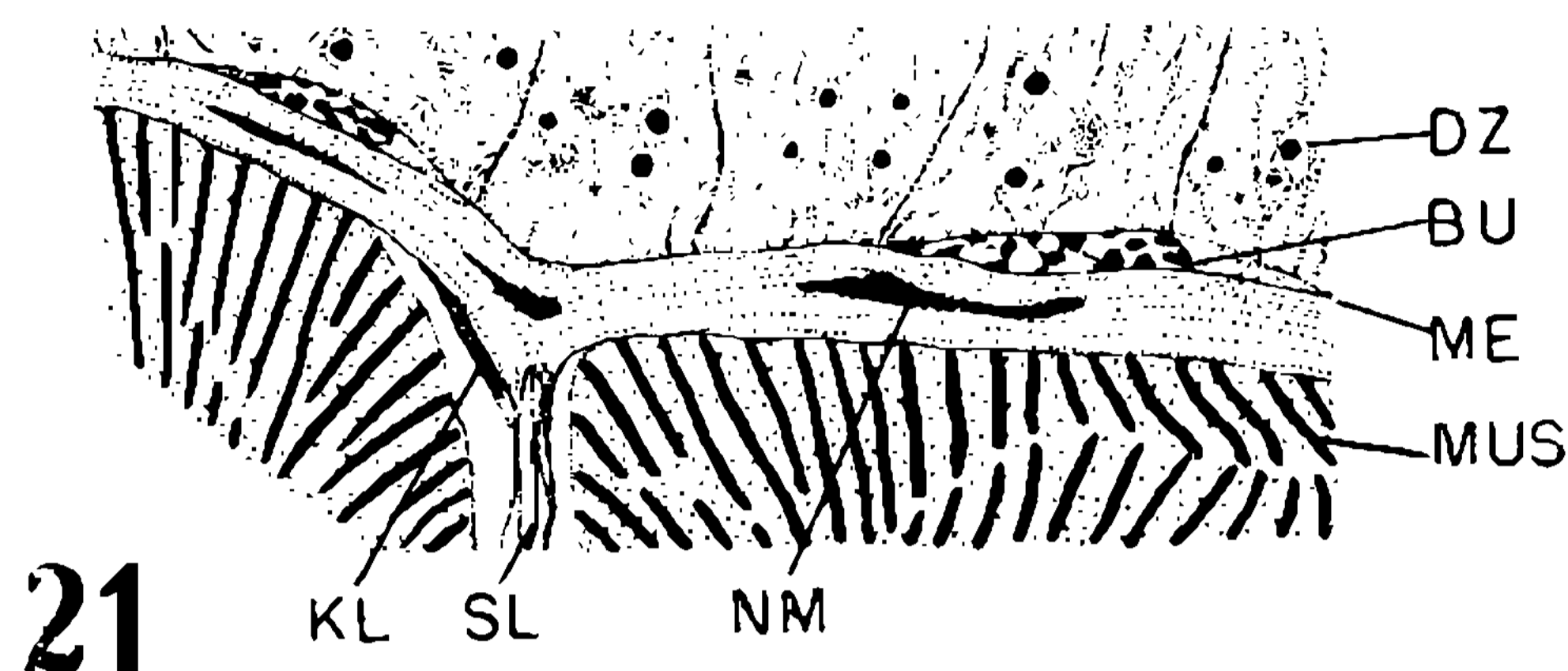


Fig. 21 — Corte transversal da membrana sarcoperitoneal. BU = célula da membrana peritoneal; DZ = célula da glândula principal; KL = núcleo do sarcolema; ME = membrana sarcoperitoneal; MUS = músculo da glândula; NM = massa colagínosa; SL = sarcolema. (Querschnitt durch die Grundmembran. BU = Zelle der sarcoperitonealen Membran; DZ = Hauptdrüsenzelle; KL = Kern des Sarkolemma; ME = sarcoperitoneale Membran; MUS = Drüsenmuskel; NM = Kittmasse; SL = Sarkolemma). — Fig. 22 — Corte transversal esquemático da glândula principal. BZ = célula da glândula auxiliar; ME = membrana sarcoperitoneal; SE = secreções. (Schematischer Querschnitt durch die Hauptdrüse. BZ = Nebendrüsenzelle; ME = sarcoperitoneale Membran; SE = Sekrete).

2. EPITÉLIO GLANDULAR PRINCIPAL

Como se vê em cortes transversais e longitudinais da glândula de um animal não muito idoso, a formação das secreções não é um processo sincrônico em tôdas as células do epitélio principal. Encontram-se

grupos de células, distribuídos por toda a extensão da glândula, que se acham em vários estádios de atividade (fig. 20; I — VI), observando-se uma acumulação do estágio VI, na extremidade posterior do saco glandular, e do estágio I, na parte anterior. Para o conhecimento geral da função das glândulas é de grande interesse que todo o epitélio glandular de *Latrodectus mactans* esteja em fase de produção, sem a existência de células de regeneração ou qualquer indício de auto-regeneração das células produtoras. Aparentemente, a produção das secreções inicia-se no fundo da glândula, propagando-se da extremidade distal para a proximal, onde encontramos os estádios mais novos. Esta propagação, porém, não se verifica em forma de onda, porque observamos sempre grupos de células em atividade mais ou menos sincrônica, intercalados em outros em estádios mais avançados ou mais retardados. Em animais velhos, notamos apenas um estágio (estádio VII, não desenhado na fig. 20, correspondendo às figs. 25 e 26-7), em que todas as células são reduzidas, estando toda a cavidade interna do órgão repleta de partículas das secreções. Comparando estas nossas observações com as publicadas por ANCONA (1931) e REESE (1944), verifica-se que esses autores estudaram as glândulas de animais velhos, encontrando apenas células no estágio VII, que não permitem análise histológica, por estarem completamente esgotadas.

Encontramos, ainda, no epitélio principal, pequenas células intercaladas nas partes basais das células principais, que não foram vistas pelos citados autores. As secreções produzidas por estas células são acentuadamente acidófilas. Chamamo-las “células auxiliares” (figs. 20, 23, 24 e 25; BZ). Os dois tipos de células que compõem o epitélio principal, assentam pelas faces basais, sobre a membrana sarcoperitonial.

a) *Células glandulares principais* — Em todas as glândulas estudadas, as células glandulares principais encontram-se em diferentes fases de atividade, com exceção das dos animais mais velhos, cujas células glandulares atingiram todas o estágio VII, já anteriormente descrito. Somente na região de entrada do ducto, imediatamente antes da glândula lipócrina (fig. 20; DL), se localiza uma zona de 50 a 100 μ de extensão (figs. 9 e 20; AZ), onde se observam os primeiros passos da formação das secreções. Não conseguimos ver glândulas que ainda não tivessem iniciado a produção; isto, porém, não quer dizer que não ocorram estádios primitivos, em animais novos ou após a muda da cutícula, porque observamos somente exemplares adultos. As células atingem até 120 μ tendo apenas 5 — 7 μ de largura. O corte transversal apresenta um aspecto pentagonal ou hexagonal, condicionado por adaptação das células uma à outra. O núcleo (fig. 23; KH) é ovóide, atingindo até 10 μ de comprimento e 6 μ de diâmetro. A sua cromatina espalha-se, parcialmente e em partículas grosseiras, sobre a parede do núcleo, ou distribui-se, em parte, pelo interior do mesmo. O núcleo situa-se sempre na parte basal, 2 — 3 diâmetros nucleares sobre a face basal da célula. O protoplasma, muitas vezes escondido pela quantidade elevada de pro-

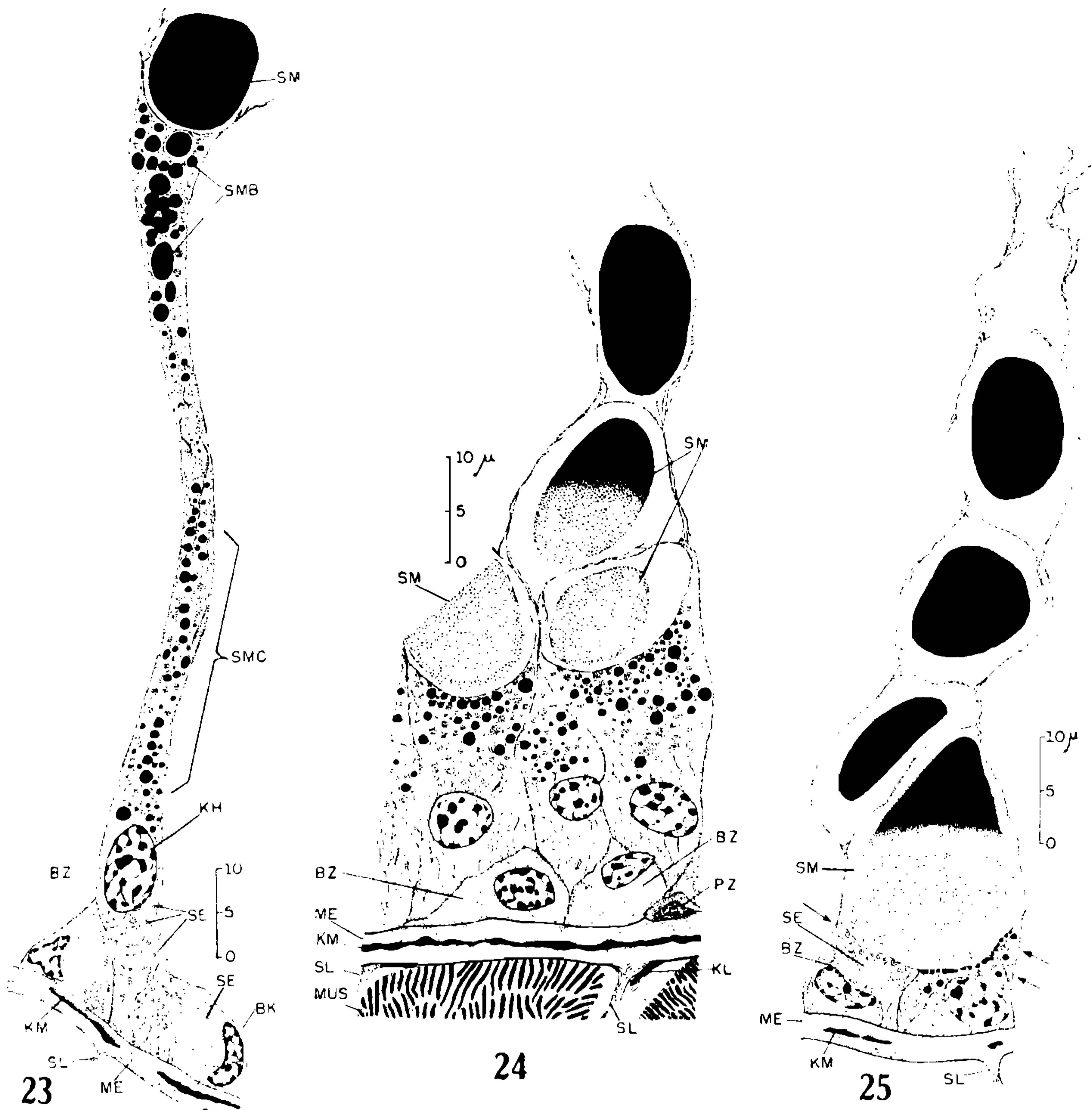


Fig. 23 — Corte longitudinal de uma célula principal e de duas auxiliares, no início da atividade. BK = núcleo da célula auxiliar; BZ = célula glandular auxiliar; KH = núcleo da célula principal; KM = massa colagínica; ME = membrana sarcoperitonal; SE = secreções; SL = sarcolema; SM = primeiro corpúsculo de secreção; SMB = secreções para o segundo; SMC = para o terceiro corpúsculo de secreções. (Laengsschnitt durch eine noch junge Hauptdruesen — und zwei Nebendruesenzellen. BK = Kern der Nebendruesenzelle; BZ = Nebendruesenzelle; KH = Kern der Hauptdruesenzelle; KM = Kittmasse; ME = sarcoperitoneale Membran; SE = Sekret; SL = Sarkolemma; SM = erster Sekretballen; SMB = Sekrete fuer den zweiten; SMC = fuer den dritten Sekretballen). — Fig. 24 — Parte do epitélio glandular em estado avançado de função. BZ = célula da glândula auxiliar; KL = núcleo do sarcolema; KM = massa colagínica; ME = membrana sarcoperitonal; MUS = músculo da glândula; PZ = célula peritonal; SM = corpúsculos de secreção em diferentes estados de condensação; SL = sarcolema. (Teil des Druesenepithels in fortgeschrittenem Stadium. BZ = Nebendruesenzelle; KL = Kern des Sarkolemma; Km = Kittmasse; ME = sarcoperitoneale Membran; MUS = Druesenmuskel; PZ = Peritonealzelle; SM = Sekretballen in verschiedenen Stadien der Kondensation. SL = Sarkolemma). — Fig. 25 — Células principal e auxiliar, quase esgotadas. BZ = célula da glândula auxiliar; KM = massa colagínica; ME = membrana sarcoperitonal; SE = massa de secreções da célula da glândula auxiliar; SL = sarcolema; SM = corpúsculo de secreções da célula da glândula principal em formação e condensação. Setas: passagem das secreções para o vacúolo. (Fast erschöpfte Haupt- und Nebendruesenzelle. BZ = Nebendruesenzelle; KM = Kittmasse; ME = sarcoperitoneale Membran; SE = Sekretballen der Nebendruesenzelle; SL = Sarkolemma; SM = Sekretballen der Hauptdruesenzelle in Bildung und Kondensation. Pfeile; Uebertritt der Sekrete in die Vakuole).

duto celulares, é pouco denso, apresentando um aspecto fibro-reticular, isto após a fixação pelo líquido de Bouin, e também depois do tratamento por OsO_4 . Encontramos, muitas vezes, dificuldade em observar os limites celulares, em virtude de superposição de células estreitas e longas, por serem os limites muito finos, aproximadamente da grossura dos filamentos protoplasmáticos do citoplasma (fig. 23).

b) *Células glandulares auxiliares* — Entre as partes basais das células principais, encontram-se as células auxiliares baixas, deixando observar um ritmo de fases de atividade pouco acentuado. A forma das células varia consideravelmente, segundo a necessidade de adaptação às vizinhas, assentando elas a face basal sobre a membrana sarcoperitonal. O núcleo é um pouco menor que o das células principais, e possui relativamente mais cromatina. O protoplasma não apresenta filamentos, mas tem sempre um número maior ou menor de vacúolos, de harmonia com o estágio da função.

c) *Função celular do epitélio glandular principal* — 1.º estágio: Apresentamos, na fig. 26, algumas fases características de função das duas formas celulares. No 1.º estágio, a célula principal encontra-se ainda em estado de repouso. A célula auxiliar, entretanto, já produziu uma quantidade de secreção (ver parte pontilhada da fig. 26), acentuadamente acidófila e fixada pelos líquidos de Bouin e OsO_4 (figs. 23 e 25; SE). A massa secretada encontra-se sempre junto ao limite celular, freqüentemente em contato com este, enquanto que o núcleo está na parte oposta, sendo muitas vezes deformado em virtude da produção acelerada das substâncias secretadas. As secreções, apresentadas na fig. 26, em forma de círculos brancos, passam da célula auxiliar para a principal, através das membranas celulares. Em cortes favoráveis, pode-se observar diretamente a passagem das pequenas gotículas de secreção, de uma para outra célula. Aparentemente, as células auxiliares são forçadas a expelir seus produtos através das células principais, pois estas colocam-se umas junto das outras, não deixando espaços intercelulares (figs. 9 e 24) e impossibilitando a passagem de qualquer substância da célula auxiliar para a cavidade glandular.

2.º estágio: No 2.º estágio (fig. 26), continua o processo. A célula principal produz agora, na região superior (nunca na inferior) do núcleo, secreções específicas, fixadas pelos dois líquidos de Bouin, pelo OsO_4 e, ainda, pelo fixador de Carnoy com sublimado (figs. 9 e 10; setas). As secreções encontram-se em forma de gotículas maiores ou menores, dentro de vacúolos que, provavelmente, têm origem no tratamento do material, durante a fixação e desidratação. Os dois tipos de gotículas de secreção deslocam-se simultaneamente, sem qualquer modificação e sem confluírem, para o pólo apical da célula principal. Durante este percurso, são facilmente diferenciáveis, porque as secreções das células auxiliares, depois da coloração por hematoxilina férrica — verde-naftol, aparecem nitidamente verdes, enquanto que as das células

principais se tingem de prêto. Nas fotografias, a secreção verde das células auxiliares apresenta-se em forma de massa escura (fig. 10; SE), ao passo que, depois da passagem para a célula principal, as gotículas formam sombras cinzentas, em virtude da refração da luz reduzida.

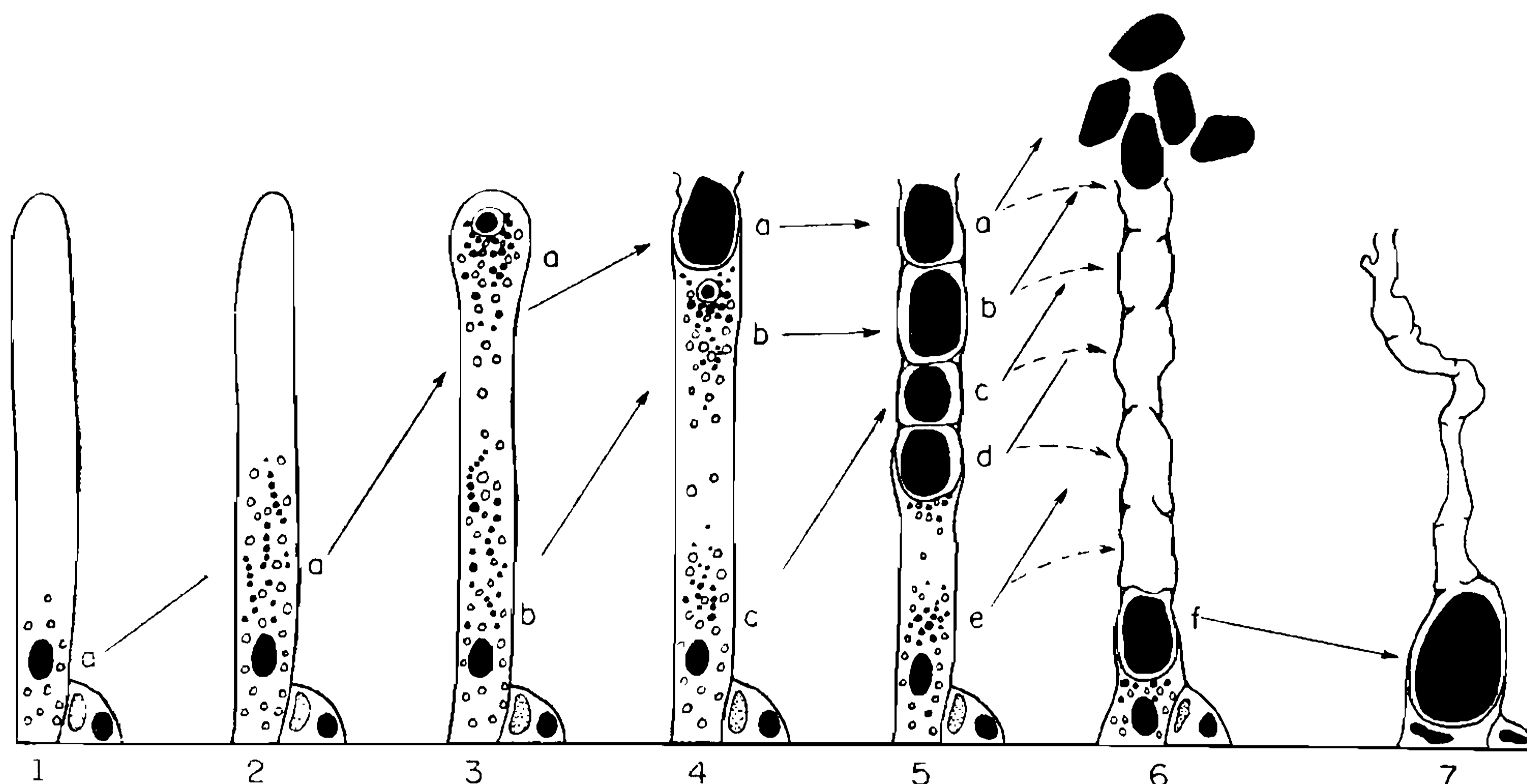


Fig. 26 — Esquema da formação das secreções na glândula principal. Ver outras explicações no texto. (Schema des Sekretionsvorganges in der Hauptdrüse. Erklärung siehe Text).

3.^o estágio: Uma das gotículas da secreção da célula principal, junto ao pólo apical, começa a crescer, confluindo para ela as outras gotículas vizinhas, resultantes dos dois tipos de células de secreção, em proporção mais ou menos igual. A gotícula em crescimento penetra em um vacúolo que, por seu turno, vai aumentando de diâmetro e cuja parede é consideravelmente forte para suportar a inflação. O processo pode desenvolver-se ainda de outra forma: Numerosas gotículas das duas espécies de células secretoras acumulam-se dentro de um vacúolo, confluindo mais tarde (fig. 11; SV) para a gotícula de secreção da célula principal. Nesse momento, podem ser vistas gotículas de secreção das duas espécies de células, uma ao lado de outra, de modo a poder excluir-se a possibilidade de transformação da secreção menos compacta das células auxiliares em gotículas densas das células principais. Durante a acumulação das secreções na região apical da célula (fig. 26; a), inicia-se, na região acima do núcleo, a formação de um novo grupo de gotículas mistas, de secreção (fig. 26; b).

4.^o estágio: O grupo "b" desloca-se também para a parte superior, para onde o grupo "a" já confluíra, formando uma só massa (fig. 23; SM). A membrana celular rompe-se sobre esta massa, de modo que a primeira porção de secreção cai na cavidade glandular. A região basal da parede do vacúolo que se rompeu torna-se, então, o limite apical da célula. O grupo "b", situado abaixo do limite apical da célula, começa a fazer confluir as suas gotículas uma para as outras (fig. 23; SMB),

formando nova massa de secreção, ao mesmo tempo que, junto do núcleo, se compõe o grupo "c" de gotículas. Após cada formação de uma nova massa de secreções, a célula fica menor (fig. 26).

5.º estágio: Ao atingir este estágio, já foram produzidas 4 porções de secreções e, a 5.ª, proveniente do grupo "e", está em preparação. Estas porções permanecem no tubo membranoso da célula ou caem na cavidade glandular, como se observa no estágio seguinte (figs. 12 e 24).

6.º estágio: Não podemos dizer com segurança quantas partículas das secreções se formam em cada célula. O número varia dentro de certos limites, sendo aproximadamente de 8 a 10.

7.º estágio: A última massa das secreções é produzida na região basal da célula principal. Depois disto, as células dos dois tipos ficam esgotadas e seu protoplasma reduzido a pequenas partículas. Este estágio é representado na fig. 25.

d) *Partículas de secreção* — A massa das secreções não é, no início de sua formação, muito compacta (figs. 9, 24 e 25; SM). A reação que oferece aos corantes indica a mesma acidofilia que se observou nas secreções das células auxiliares. Conclui-se desta observação que a acidofilia das secreções das células auxiliares é muito elevada, sendo levemente reduzida pela mistura com a secreção basófila das células principais. Logo, porém, às vezes ainda durante a época de formação (fig. 25; parte inferior), a parte apical sofre rápida e intensa condensação, de modo que a massa se torna progressivamente mais compacta, partindo de cima para baixo. Esta eliminação de líquidos dá-se mais cedo e mais rapidamente, durante os primeiros estádios de secreção (fig. 23); nos últimos, porém, o processo é retardado e vagaroso (fig. 9; SM). Justamente nos últimos estádios, observa-se a passagem das gotículas de secreção, da célula principal para o grande vacúolo (fig. 25; setas). A eliminação dos líquidos não é uma simples desidratação, porque, durante a condensação, a massa secretada perde a acidofilia, tornando-se, por fim, fortemente basófila. Conclui-se disto ocorrerem nesta massa ainda outros processos, como, por exemplo, a eliminação de substâncias alcalinas, de modo que o resultado final é uma gotícula ácida, condensada e viscosa, fato este também sugerido pelo protoplasma altamente acidófilo, da célula principal.

3. GLÂNDULA LIPÓCRINA

A localização deste epitélio glandular, com quase 250 μ de extensão, situado à entrada do ducto da peçonha, é indicada na figura 20 (DL). A glândula forma um anel cuja parte basal é mais alta e mais comprida do que a região dorsal. Compõe-se também de um epitélio simples, que consta, com o da glândula principal, de células cilíndricas, assentadas sobre a membrana peritoneal, tendo apenas 20 — 30 μ de altura e 3 — 4 μ de largura (fig. 14). A meio do seu comprimento, o epitélio forma, na linha ventral, uma dobra longitudinal que vela a maior parte

da luz, da cavidade glandular (fig. 27). Encontram-se também, entre as bases das células glandulares, alguns grupos de células epiteliais (figs. 27 e 28; HZ).

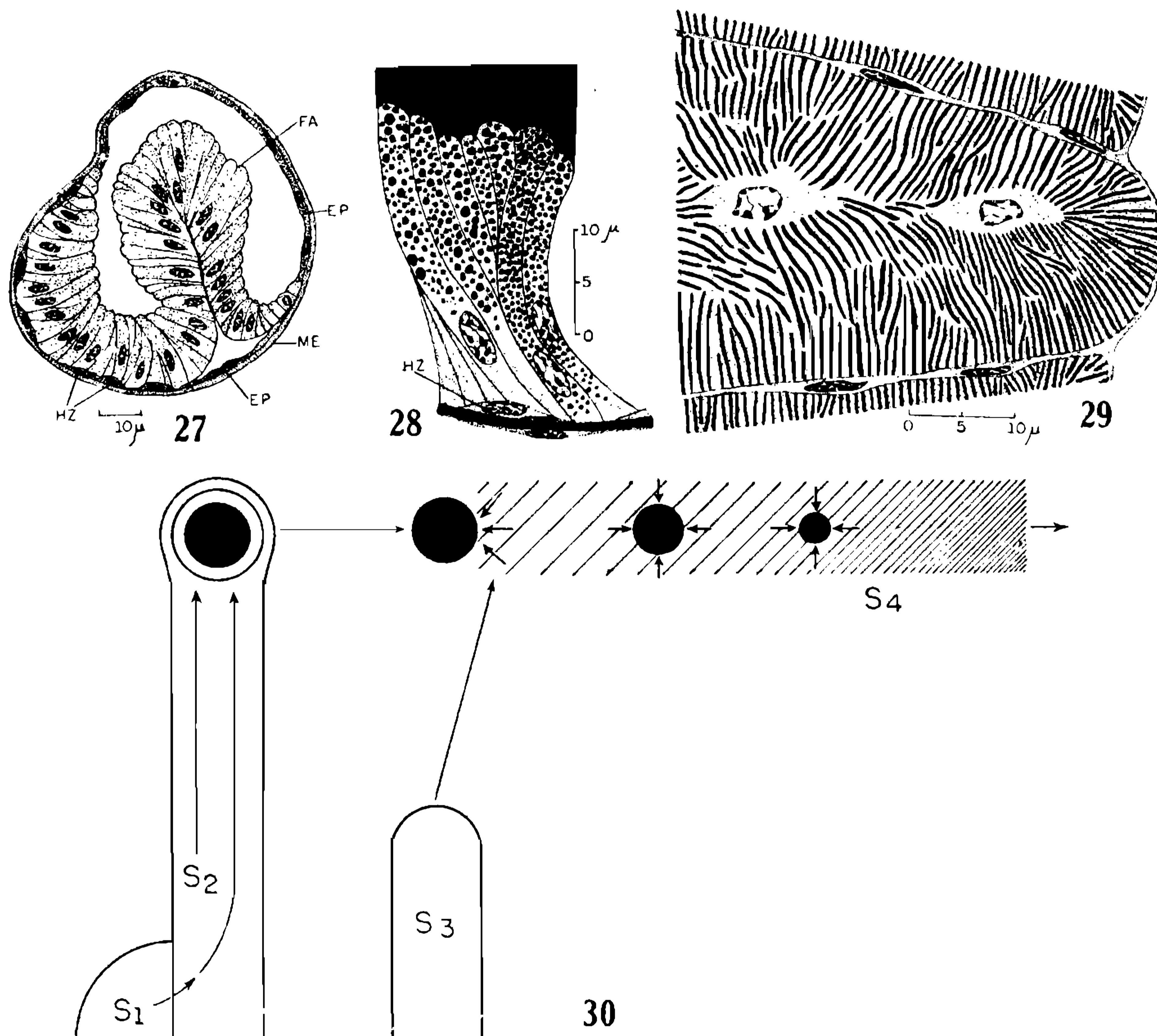


Fig. 27 — Corte transversal da região inicial da glândula de entrada do ducto, com a dobra (FA). EP = epitélio do ducto; HZ = células do epitélio do ducto; ME = membrana peritoneal. (Querschnitt durch den Anfangsteil der Kanalhsdruese mit Falte (FA). EP = Kanalepithel; HZ = Zellen des Kanalepithels; ME = peritoneale Membran). — Fig. 28 Algumas células da glândula de entrada do ducto após fixação por ácido ósmico. HZ = células do epitélio do ducto. (Einige Zellen der Kanalhsdruese nach Fixierung in Osmiumsaeure. HZ = Zellen des Kanalepithels). — Fig. 29 — Parte do corte transversal de uma secção do músculo abductor da garra. (Teil des Querschnitts durch einen Teil des Abduktormuskels der Klaue). — Fig. 30 — Esquema da formação das secreções. A secreção S1 é produzida na glândula auxiliar e penetra na célula vizinha da glândula principal, formando com a secreção S2 desta o corpúsculo de secreção. Este é dissolvido pela secreção S3 da glândula de entrada do ducto. O soluto final S4 representa a peçonha definitiva. (Schema der Sekretbildung. Das Sekret S1 wird in der Nebendruese gebildet und tritt in die benachbarte Hauptdruesenzelle ein, mit deren Sekret es den Sekretballen bildet. Dieser wird von dem Sekret S3 der Kanalhsdruese aufgelöst. Die Endloesung S4 bildet das endgueltige Giftsekret).

As células glandulares cilíndricas possuem núcleo ovóide, situado sempre na zona basal. O protoplasma da região basal, sob o núcleo, é fibriloso, porém, acima dêste, é muito vacuolizado (fig. 14), após fixação pelo líquido de Bouin (original e alcoólico) e pelo de Carnoy (com sublimado). Após tratamento com OsO_4 , o conteúdo dos vacúolos não é eliminado e torna-se preto pela impregnação de ósmio (figs. 16 e 28).

Estas gotículas de secreção não confluem uma para as outras, no interior da célula, permanecendo isoladas e ocupando quase toda a célula, para depois a deixarem, apócrinamente, através da face apical arqueada. A atividade obedece a certo ritmo: Encontram-se alguns grupos de células quase repletas de gotículas de secreção (fig. 28; à direita), e outros que possuem tais gotículas apenas na parte apical (fig. 28; à esquerda). Não foi possível concluir se a diferença na altura das células das partes ventral e dorsal da glândula é resultante de diferentes estádios de atividade ou se se trata de mera característica morfológica.

Da solubilidade das gotículas de secreção em álcool e sua fixação e impregnação por OsO_4 e ósmio metálico, respectivamente, concluímos que as secreções são substâncias do grupo lipídios-lipóides, sendo a glândula considerada lipócrina. Sabendo-se, porém, que os meios histológicos por nós empregados, na fixação e coloração, não permitem uma determinação histoquímica da natureza das substâncias deste grupo, podemos apenas afirmar tratar-se de substâncias gordurosas líquidas, que preenchem toda a cavidade da região inicial do saco glandular (fig. 16).

4. MUSCULATURA

ANCONA (1931) e REESE (1944) observaram somente vestígios de uma estriação transversal dos músculos glandulares, ou seja, o manto de feixes musculares que reveste externamente o saco glandular. Em nosso material, esta estrutura é muito nítida (fig. 17). Corresponde ao tipo simples, com zonas isotrópicas e anisotrópicas, não possuindo ino-fragma (linha Z). Este último fato pode ser considerado como semelhante ao da musculatura indireta do vôo da maioria dos insetos, levando-nos a supor que a ação da musculatura glandular seja também rápida. Os outros músculos da quelícera, isto é, o músculo transversal e os dois da garra, mostram, além deste período, uma linha Z nítida, situada na zona isotrópica, e que, na circunferência do feixe, está em contato com o sarcolema. Ao corte transversal, também as duas formas de músculos se diferenciam uma da outra. O músculo glandular possui um acúmulo de substância contrátil, na região interna, ao passo que a parte externa de cada componente do manto muscular é mais rica em sarcoplasma (figs. 7 e 8). Os outros músculos apresentam os feixes de fibrilas uniformemente distribuídos (figs. 18 e 29). Os núcleos do músculo glandular são muito freqüentes na parte externa, rica em sarcoplasma, enquanto que, nos demais músculos, eles se localizam em um ou alguns canais sarcoplasmáticos (figs. 18 e 19). Estes fatos indicam uma dupla função exercida pelos músculos glandulares: as porções externas, ricas em sarcoplasma, quando em repouso, mantêm, por meio de uma contração de caráter "tônico", tensão permanente sobre a parede do saco glandular. Esta tensão é suficiente para, em caso de picada, possibilitar um efeito direto e imediato da contração da porção interna dos feixes musculares, cuja atividade é puramente "tetânica".

Este mecanismo garante uma inoculação eficaz da peçonha, no momento da penetração das garras no tecido da presa.

FUNÇÃO DA GLÂNDULA PEÇONHENTA

Três secreções diferentes se apresentam ao exame: duas expelidas pelas células do epitélio principal, em forma de mistura mais ou menos homogênea, com origem nas células principais e auxiliares. A terceira é produzida na glândula lipócrina. A mistura das duas primeiras forma corpúsculos grosseiros, solidificados pela fixação, os quais, no animal vivo, são viscosos, porque não confluem uns para os outros depois de expelidos. A secreção principal que, pela sua resistência ao álcool, é de natureza albuminóide e produzida permanentemente (pelo menos no animal adulto) até o esgotamento total das células produtoras. Observa-se neste processo um retardamento da função, em certos grupos de células, estendendo-se a produção por um longo período. Se observarmos a glândula *in totum*, vemos que a produção se inicia no fundo do saco glandular, de modo que o grupo das células junto à entrada do ducto da peçonha, é o último a entrar em atividade. Em animais velhos, tôdas as células do epitélio principal se encontram esgotadas, e a cavidade glandular preenchida por corpúsculos das secreções, sendo êstes adaptados, na forma, uns aos outros.

A secreção da segunda glândula é uma substância lipóide e apresenta-se como líquido homogêneo, preenchendo a parte inicial do ducto, até às dobras, e subindo pela região subsequente da cavidade glandular. Uma vez aí, o líquido dissolve, mais ou menos vagorosamente, os corpúsculos da secreção principal, como se pode ver na fig. 3 (SB). Não há perda de peçonha através do ducto e da garra, quando o aparelho peçonhífero está em repouso, porque o epitélio do ducto, forma algumas dobras, antes da glândula lipócrina, que o fecham (fig. 20; FA). Na fig. 15, encontramos os últimos resíduos da secreção principal (seta), em dissolução. O líquido assim preparado, é espremido, durante a picada, pela contração muscular, suficientemente forte para deslocar as dobras do ducto. Simultaneamente, outros corpúsculos são impelidos para a frente, onde serão liquefeitos para a próxima picada (ver esquema da fig. 30), de modo que, somente depois de um certo período, o animal pode inocular de novo uma quantidade normal de peçonha.

Queremos ainda chamar a atenção para o fato de a combinação de epitélios ragiócrinos e lipócrinos, dentro de um sistema glandular, verificar-se freqüentemente em insetos hematófagos, como os *Triatoma infestans* (BARTH, 1954), *Aedes scapularis* (BARTH, 1956), *Forcipomyia fuliginosa* (BARTH, 1961) e *Tabanus fuscus* e *Erephopsis besckii* (BARTH, no prelo). Este mecanismo ainda não foi mencionado em aranhas.

Como resultado final, podemos ressaltar que a quantidade das secreções produzidas pelas células principais, durante sua única fase de atividade, é suficiente para levar a efeito numerosas picadas, fato êste que justifica a elevada virulência da peçonha. A quantidade de peçonha produzida nessa única fase de atividade das células principais, é restrita, mas suficiente para tôda a vida do animal.

RESUMO

A glândula peçonhenta de *Latrodectus mactans* compõe-se:

1. De um saco formado por uma membrana de tecido conjuntivo peritoneal, que se projeta proximalmente no ducto de peçonha.

2. De um manto externo, formado por 40-45 feixes musculares, circundando 3/4 da glândula, helicoidalmente. Os feixes inserem-se nas extremidades apical e basal da membrana sarcoperitoneal; sua contração impele a peçonha, através do ducto, para as garras.

3. Do epitélio glandular, composto: a) de células da glândula principal, b) de células da glândula auxiliar, c) de célula da glândula situada à entrada do ducto.

As células das glândulas principal e auxiliar, juntas, formam uma unidade glandular de natureza ragiócrina. A secreção das células da glândula auxiliar passa, através das membranas celulares, para o interior das células glandulares principais, deslocando-se, juntamente com a secreção destas, para o pólo apical, a que ambas confluem, formando uma substância viscosa, fortemente condensada em virtude da eliminação de certos líquidos. Após a formação de 8 a 10 destas porções de secreções, os dois tipos de células esgotam-se; não se dá a regeneração ou substituição por outras células. A quantidade de peçonha, uma vez produzida, é armazenada na cavidade da glândula, sendo suficiente para tôda a vida do animal.

As células da glândula situada à entrada do ducto, ou glândula lipócrina, produzem uma substância lipóide. Esta substância dissolve uma porção de corpúsculos das secreções segregadas pelas células principais e auxiliares. O líquido resultante é inoculado no tecido da prêsa ou do inimigo, por contração do manto muscular. Ao mesmo tempo, novas porções da peçonha armazenada são transportadas no sentido proximal e dissolvidas no líquido lipóide, preparando-se, assim, nova peçonha para outra picada.

As formas das células e os pormenores histológicos estão explicados nas figuras que acompanham êste texto.

Os músculos da glândula, ao contrário do que afirmam outros autores, verificamos serem de natureza "tetânica", apresentando uma estriação transversal, típica. Certas zonas, porém, ricas em sarcoplasma, possuem propriedades "tônicas", mantendo-se sempre em certo grau de contração que provoca a tensão adequada na membrana sarcoperitoneal, o que permite um efeito imediato da contração da parte tetânica, no momento da picada.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Giftdruese von *Latrodectus mactans* besteht aus:

1. einem Sack aus peritonealem Bindegewebe und Sarcolemm, der sich proximal in den Giftkanal fortsetzt;

2. einer Schicht von 40-45, die Druese in 3/4-Spirale umlaufender Muskelbündel, die apikal und basal an der Bindegewebsmembran inserieren und deren Kontraktion die Giftsubstanz in die Wunde presst;

3. dem Druesenepithel, das sich zusammensetzt aus: a) den Hauptdruesenzellen; b) den Nebendruesenzellen; c) den Zellen der Kanalhsdruese.

Hauptdruesenzellen und Nebendruesenzellen bilden zusammen eine rhagiokrine Drueseneinheit. Das Sekret der Nebendruesenzellen tritt durch die Zellmembranen in die Hauptdruesenzellen und wandert mit dem Sekret dieser zu deren apikalen Pol, wo sich beide sekrete unter Fluessigkeitsaustritt zu einer stark vikoesen, sauren Masse vereinigen. Nach der Bildung von 8-10 solcher Sekretballen sind beide Zellen erschopft; sie regenerieren nicht und werden nicht durch andere Zellen ersetzt.

Die einmal produzierte Giftmenge wird im Druesenhohlraum gespeichert und reicht fuer das ganze Leben des Tieres aus.

Die Zellen der Kanalhsdruese sind lipokrin. Das fluessige Sekret loest einen Teil der Sekretballen auf. Diese Loesung wird beim Biss durch die Kontraktion des Muskelmantels injiziert. Eine gleichzeitig nach vorne transportierte, neue Portion von Sekretballen wird von neuerdings abgeschiedener lipoider Fluessigkeit der Kanalhszellen fuer den naechsten Biss aufgelost.

Die Zellformen und histologischen Einzelheiten gehen aus den Abbildungen hervor.

Die Muskeln der Druese sind im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Autoren tetanischer Natur mit typischer Querstreifung. Gewisse plasmareiche Zonen besitzen tonische Eigenschaften und befinden sich dauernd in einer gewissen Kontraktur, wodurch eine angepasste Spannung in der Peritonealmembran erzeugt wird, die einen sofortigen Effekt der Kontraktion der tetanischen Muskelanteile beim Biss erlaubt.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANCONA, L., 1931, Anatomia e histologia del aparato venenoso de *Latrodectus mactans*, o aranã capulina. *An. Inst. Biol.*, 2: 77-84, 12 figs.
- BARTH, R., 1954, Estudos anatômicos e histológicos sôbre a subfamília *Triatominae* (*Heteroptera, Reduviidae*), IV. parte: O complexo das glândulas salivares do *Triatoma infestans*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 52: 517-585, 54 figs.
- BARTH, R., 1956, O complexo das glândulas salivares de *Aedes scapularis*. *An. Acad. Brasil. Ciên.*, 28: 231-242, 20 figs.
- BARTH, R., 1961, Ueber die Speicheldruesen und ihre Ausfuehrgaenge von *Forcipomyia fuliginosa* (*Diptera, Ceratopogonidae*). *An. Acad. Brasil. Ciên.*, 33: 91-99, 10 figs.
- BARTH, R., Ueber die Speicheldruesen einiger Tabaniden (*Diptera*). *An. Acad. Brasil. Ciên.*, 35 figs. (no prelo).
- MAC LEOD, M. J., 1880, Notice sur l'appareil venimeux des Aranéides. *Arch. Biol.*, 1: 573-582, 1 est.
- MILLOT, J., 1931, Les glandes venimeuses des Aranéides. *Ann. Sci. Nat., Zool.*, (10) 14: 113-147, 23 figs.
- REESE, A. M., 1944, The anatomy of the venem glands in the black widow spider, *Latrodectus mactans*. *Trans. Amer. Micr. Soc.*, 63: 170-174, 7 figs.
- VITAL BRAZIL & VELLARD, J., 1925, Contribuição ao estudo do veneno das aranhas. *Mem. Inst. Butantan*, 2: 1-77, 14 ests.