

# MORFOLOGIA Y DISTRIBUCION DE CELULAS INTERRENALES ESTEROIDOGENICAS DEL PRONEFROS EN *SICYASES SANGUINEUS* MULLER Y TROSCHELL (OSTEICHTHYES: TELEOSTEI)

NUNUTZA SOTO F.\* y ELISA T. MARUSIC\*\*

SOTO N. and MARUSIC E. 1979. Morphology and distribution of steroidogenic interrenal cells of the pronephrus in *Sicyases sanguineus* Muller and Troschell (Osteichthyes: Teleostei). *Rev. Biol. Mar. Dep. Oceanol. Univ. Chile* 16(3): 229-233.

The morphology under optic microscope of the pronephrus (head kidney) of a teleost *Sicyases sanguineus* was studied in order to identify the interrenal cells. The histology of head kidney showed the presence of limphoid tissue with some uriniferous tubules and pigmentary cells. The above mentioned structures are adjacent to the posterior cardinal vein; branches of this vein are observed in the limphoid tissue.

The interrenal cells are observed scattered in the subendothelium of the cardinal vein, either packed in groups or as irregular cell cords. The histochemistry of these groups of cells demonstrated a positive reaction to the 3  $\beta$ -ol dehydrogenase enzyme, confirming their participation in the steroidogenesis.

## INTRODUCCION

Se ha descrito en el pronefros de los teleosteos células cromafines que son homólogas a las células cromafines de la médula suprarrenal de mamíferos. Por otra parte, las células homólogas a la corteza adrenal de los mamíferos está representada en la mayoría de los teleosteos por grupos de células acidófilas en relación a la vena cardinal posterior en el tejido linfoides del pronefros. La distribución de estas células presenta grandes variaciones en las diferentes especies, como observamos en los trabajos de Oguri (1957), Chester J. *et al.* (1969) y Gordon *et al.* (1973).

*Sicyases sanguineus* es un pez cuyas características de anfibiosis le permiten sobrevivir en la zona intermareal de la costa chilena y es una especie que reviste especial interés desde el punto de vista de su osmoregulación. Vargas y Concha (1957 a, b) estudiaron en esta especie los mecanismos de regulación hi-

drolítica y su relación con lo que ellos consideraron como un tejido adrenal encapsulado ubicado en la región caudal del mesonefros. Sin embargo, trabajos recientes realizados en nuestro laboratorio demostraron que dichas estructuras correspondían a los llamados corpúsculos de Stannius (Galli *et al.* 1977).

El presente trabajo tuvo por objeto analizar la estructura histológica del pronefros de *Sicyases sanguineus* y particularmente establecer la ubicación, morfología y distribución de las células interrenales de esta especie.

## MATERIAL Y METODOS

Los experimentos se efectuaron en aproximadamente veinte especímenes que fueron colectados en la zona litoral de Reñaca (Valparaíso) gracias a la colaboración del Departamento de Oceanología de la Universidad de Chile, Montemar.

\*Departamento de Morfología Experimental. Facultad de Medicina, Sede Norte, Universidad de Chile, Santiago.

\*\*Departamento de Fisiología y Biofísica. Facultad de Medicina, Sede Norte, Universidad de Chile, Santiago.

NOTA: Trabajo parcialmente financiado por el Proyecto N° 4361-N. Oficina Desarrollo Científico. Universidad de Chile y Proyecto N° 0027 PNUD/UNESCO RLA 76/007.

Los peces fueron trasladados a Santiago en un ambiente húmedo. Las muestras fueron obtenidas en un lapso que fluctuó entre las 15.00 y las 20.00 hrs. después del momento en que fueron sacados del acuario de Montemar. El peso de los pejesapos osciló entre 80 y 500 gramos y no se hizo distinción de sexo.

El tejido estudiado fue obtenido sacrificando los animales por decorticación cervical y luego abordando las venas cardinales posteriores, para perfundirlas con formol salino o formol calcio al 5%. Una vez perfundida la zona se diseccionó la vena cardinal y el pronefros adyacente; las muestras fueron incluidas en parafina-celoidina de acuerdo al método de Peterfi, y cortados en serie de 5 micrones de grosor. Se utilizaron las siguientes técnicas de tinción:

- Tinción corriente de hematoxilina-eosina.
- Método tricrómico de Gomori para gránulos cromafines (Lee G. Luna 1968).
- Método del tetróxido de osmio. Bicromato de potasio para identificar lípidos en cortes de parafina (Lee G. Luna 1968).

En otra serie de experimentos el tejido fue inmediatamente congelado a  $-30^{\circ}$ , obteniéndose cortes de criostato de 7 micrones que fueron sometidos a la reacción de Wattenberg (Wattenberg Lee 1958), para demostrar la actividad de la 3 beta hidroxideshidrogenasa esteroidea usando como sustrato dehidroepiandrosterona. Se sometieron también a esta reacción cortes de adrenal de rata, como control, y cortes de corpúsculos de Stannius.

## RESULTADOS

El pronefros del *Sicyases sanguineus* está constituido de un tejido linfoide, en el cual aparecen algunos túbulos uriníferos cuyas paredes están formadas de células altas, cilíndricas, rodeadas de tejido conjuntivo que generalmente está en relación a ramas de la vena cardinal. Existen también pigmentóforos que pueden estar aislados o bien formando grupos celulares.

En la figura 1 se representa un esquema topográfico de la organización de las estructuras anteriormente mencionadas. Algunas características del pronefros del pejesapo chileno se observan en la figura 2. En dicha fotografía se observa que la malla reticular es más laxa en la periferia tubular, y las células pigmentarias aisladas suelen verse entre las células cilíndricas de la pared de los túbulos. Las paredes de la vena cardinal están constituidas por un endotelio de células planas, que es solevantado en forma de ondas regulares por un subendotelio de tejido conectivo laxo en el cual aparecen grupos celulares de tres a veinte células que presentan caracteres morfológicos compatibles con células secretoras de esteroides (Fig. 3). Estas células tienen una forma más o menos cuboidea, de núcleo central, bien teñido. El citoplasma presenta un aspecto vacuolado que se tiñe con el ácido ósmico, lo que es un índice de su contenido lipídico (Fig. 4).

Con el objeto de confirmar si las células anteriormente descritas son capaces de sintetizar hormonas esteroideas se utilizó la técnica histoquímica clásica descrita por Wattenberg 1958 y modificada por Bara en 1968. La técnica consiste en demostrar la actividad de la 3 beta-hidroxideshidrogenasa esteroidea. Esta enzima cumple un rol fundamental en la biosíntesis de las hormonas esteroideas al cambiar la estructura de la molécula, con formación de un grupo ceto en posición 3 y traslado de un doble enlace a la posición 4-5 del ciclo pentano-perhidrofenantreno. La figura 5 muestra una fotografía en la que se observan los gránulos típicos de una reacción positiva por debajo del endotelio de la vena. Estos gránulos coinciden con las zonas que ocupan las células interrenales anteriormente descritas. Cabe destacar que dicha reacción fue negativa en los corpúsculos de Stannius.

## DISCUSION

Es evidente que un mayor conocimiento del tejido interrenal de vertebrados inferiores ha sido y será de gran importancia en el desa-

rollo de la relación que existe entre estructura y función de las células secretoras de esteroides.

En vertebrados con un metanefros funcional, el tejido adrenocortical forma una glándula adrenal encapsulada, separada de los riñones. En los anfibios y en la mayoría de los peces la corteza adrenal está íntimamente asociada con el mesonefros y no constituye por lo tanto una glándula encapsulada (Chester Jones *et al.* 1969).

El riñón de los teleósteos marinos está generalmente dividido en dos porciones: pronefros y mesonefros, aunque en muchos casos ambas regiones no pueden ser distinguidas por el solo examen macroscópico. En el pejesapo chileno *Sicyases sanguineus* hay una clara distinción entre ambas regiones, ya que la ausencia de glomérulos renales en el pronefros le confiere una palidez propia de los tejidos menos vascularizados.

Adheridos a la región caudal del mesonefros del pejesapo es posible detectar, al simple examen macroscópico, la presencia de cierto número de cuerpos foliculares encapsulados. En trabajos anteriores (Vargas y Coñcha 1957 a, b) se le había atribuido a dichas estructuras características de un tejido adrenal. Sin embargo, en la actualidad se sabe que los corpúsculos de Stannius, si bien es cierto tienen la calidad de glándulas endocrinas, no son secretoras de esteroides como lo demostrara Cohen *et al.* en 1975, y su rol en la producción de esteroides ha sido descartado en trabajos recientes (Chief *et al.* 1963, Cohen *et al.* 1975 y Galli *et al.* 1977).

Giacommi fue uno de los primeros autores que describió en los teleósteos que el homólogo a la glándula adrenal de los mamíferos estaba representada por grupos celulares que no formaban un órgano, sino que están diseminados a lo largo de la vena cardinal. Este tejido, cuyo nombre genérico es de interrenal, presenta diferentes distribuciones en las diversas especies de teleósteos estudiados. No existen en la literatura datos acerca del tejido adrenal del *Sicyases sanguineus*. Esta especie, por sus características de anfibio-

sis, podría presentar alguna peculiaridad no conocida en otros teleósteos dado que las hormonas corticales están relacionadas en los anfibios con el equilibrio hidrosalino.

Los resultados presentados en este trabajo nos indica que, en relación a la abundancia de grupos celulares, existe un gradiente de cefálico a caudal y que ellos desaparecen en el mesonefros, y que los grupos celulares son más pequeños que los descritos en otras especies de teleósteos (Hanke 1966). Otra característica que lo diferenciaría de otros teleósteos estudiados sería que estos grupos celulares no se observan entre el tejido linfóide, como es el caso de *Salmo gairdnerii irideus*, *Parasilurus asotus*, *Carassius auratus*, etc. estudiados por Mikio Oguri y Takashi-Hi-biya en 1957.

En el pejesapo, las células interrenales fueron observadas sollevando el endotelio de la vena cardinal principal, no así de sus ramas, imagen que lo asemeja a la *Anguilla japonica* descrita también por Oguri. Aparentemente la frecuencia de los grupos de células interrenales del pejesapo sería mucho menor que el observado por Hanke y colaboradores en la *Anguilla anguilla L.*

De los resultados presentados en este trabajo se podría concluir que *Sicyases sanguineus* presenta un tejido interrenal acorde a lo esperado para su categoría taxonómica a pesar de mostrar algunas diferencias con otros teleósteos estudiados.

## RESUMEN

En el presente trabajo se estudia la morfología a nivel de microscopio óptico del pronefros del pejesapo *Sicyases sanguineus* con el fin de identificar las células interrenales.

La histología del pronefros reveló la presencia de un tejido linfóide con escasos túbulos uriníferos y en estrecha relación con la vena cardinal posterior y sus ramas.

Las células interrenales aparecen dispersas o en grupos en el subendotelio de la vena cardinal y son positivas a la reacción de 3B-hidroxideshidrogenasa esteroideal, lo que de-

muestra fehacientemente su actividad esteroidogénica.

Comparando la distribución de estas células con la de otras especies de teleósteos, se pudo observar que ésta asemeja a la disposición descrita por Oguri en *Anguilla japonica*. Sin embargo, la cantidad de células interrenales

es menor que en otras anguilas (ej. *Anguilla anguilla* descrita por Hancke).

De las observaciones realizadas se concluye que *Sicyases sanguineus*, en lo que a tejido interrenal se refiere, presenta variaciones acordes con su categoría taxonómica.

## LITERATURA CITADA

- BARA G. Histochemical study of 3 beta, 3 delta, 11 beta y 17 hidroxisteroid dehidrogenases in the adrenocortical tissue and the Corpuscles of Stannius of *Fundulus heteroclitus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **10**:126-137.
- CHESTER JONES, D.K.O. CHAN, I.W. HENDERSON and J.N. BALL. The adrenocortical steroids, adrenocorticotropin and the Corpuscles of Stannius. *Fish Fisiology*, Chapter 6, p. 321 Academic Press N.Y. and London.
- CHIEFFI, G. and V. BOTTE. Histochemical reaction for steroid 3 B-ol dehidrogenase in the interrenal and the Corpuseles of Stannius of *Anguilla anguilla* and *Conger conger*. *Nature (London)* **200**:793-794.
- COHEN, R.S., P.K.T. PANG and N.B. CLARK. Ultrastructure of the Stannius Corpuscles of the Killifish, *Fundulus heteroclitus*, and its relation to environmental calcium. *Gen. Comp. Endocrinol.* **27**:413-423.
- GALLI, S.M., FUENTES, I., MARUSIC E.T. y PANG P.K.T. Estudio preliminar sobre el rol funcional de los Corpúsculos de Stannius en *Sicyases sanguineus*. *Rev. Biol. Mar. Dep. Oceanol. Univ. Chile*, **16** (2):189-193.
- GORDON BUTLER D. Adrenal glands of Fishes. *American Zoologist* **13**:839-879.
- 1973
- HANKE W. and I. CHESTER JONES. Histological and histochemical studies on the adrenal cortex and the Corpuscles of Stannius of the European Eel (*Anguilla anguilla* L.). *Gen. Comp. Endocrinol.* **7**:166-178.
- LEE G. LUNA (Editor). Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology. Third Edition. Chapter 9, p. 143 and Chapter 7, p. 108 Mc Graw-Hill, Inc. New York.
- LEE WATTENBERG. Microscopic Histochemical demonstration of steroid 3 B-ol dehidrogenase in tissue Sections. *Jour. Hist. and Cytochem.* **6**(4):225-232.
- OGURI MIKIO and TAKASHI HIBIYA. Studies on the adrenal glands of Teleost II. On the adrenal tissues in 15 species of Fishes. *Bull. Jap. Soc. of Scient. Fish.* **23**(3):144-149.
- OGURI MIKIO. Studies on the adrenal glands of teleost III. On the distribution of cromaffin cells and interrenal cells in the head kidneys of fishes. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **26**(5):443-447.
- VARGAS F., y J. CONCHA B. Histología y técnica de extirpación de las glándulas adrenales en el teleósteo *Sicyases sanguineus*. *Invest. Zool. Chilenas* **3**:81-87.
- VARGAS F., y J. CONCHA B. Fisiología de las glándulas adrenales en el teleósteo *Sicyases Sanguineus*. *Invest. Zool.* **1957b**, *Chilenas* **3**:88-89.

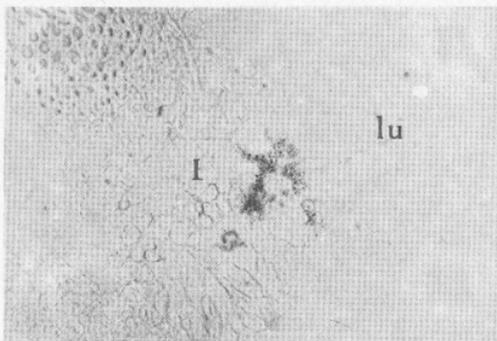
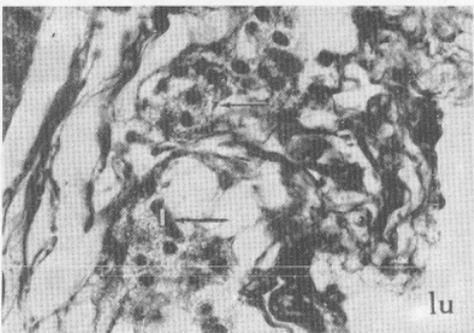
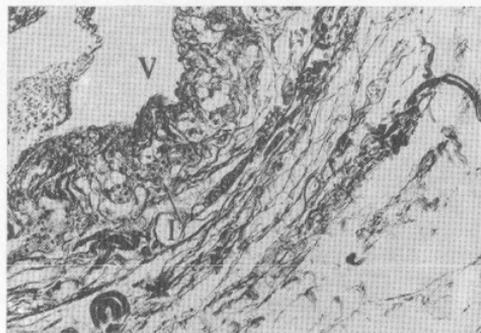
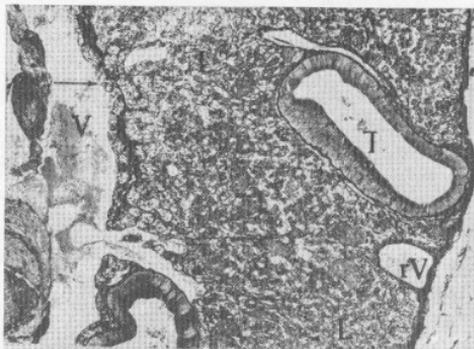
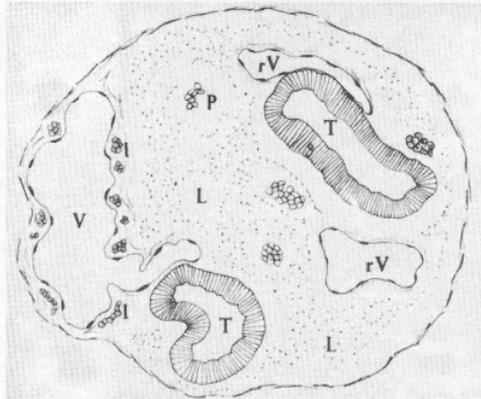


Fig. 1. Esquema de pronefos de *Sicyases sanguineus*: I, Células interrenales; V, Venas cardinal posterior; rV, ramas de venas cardinal posterior; L, tejido linfóide; T, túbulos uriníferos.

Fig. 2. Fotografía 100 × de pronefos (Método hematoxilina-cosinal). V, Vena cardinal posterior; L, tejido linfóide; T, túbulos uriníferos; rV, ramas de la vena cardinal posterior.

Fig. 3. Fotografía 250 × de la pared de la vena cardinal posterior en relación con el pronefos (Método tricrómico Gomori). V, Vena cardinal posterior; I, Células interrenales.

Fig. 4. Fotografía 1.000 x de las células interrenales (Método tricrómico Gomori). I, Células interrenales y lu, Lúmen de la vena cardinal posterior.

Fig. 5. Fotografía de la pared de la vena cardinal posterior 250 x. Reacción enzimática positiva en las células interrenales, sin tinción de contraste. V, Vena cardinal posterior; lu, Lúmen de la vena cardinal posterior; I, Células interrenales, gránulos.