

Estudo da glândula pineal de suíno por meio de microscopia de luz

Leonardo Cristiano Neves de Lima, Kleber Fernando Pereira e Celso Ivan Conegero*

Departamento de Ciências Morfológicas, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Paraná, Brasil. *Autor para correspondência. Rua José Barão Neto, 176, 87080-030, Maringá, Paraná, Brasil.

RESUMO. Foram coletadas dez glândulas pineais de suínos da raça Landrace com 180 dias de idade, sendo cinco machos e cinco fêmeas. Após a coleta, o material foi fixado em solução de formalina a 10% por um período de 48 horas e, em seguida, submetido a tratamento de rotina para inclusão em parafina e realização de cortes histológicos, que foram corados por hematoxilina-eosina e Sírius-Red F3BA. As lâminas selecionadas foram fotografadas em fotomicroscópio do Departamento de Ciências Morfológicas da Universidade Estadual de Maringá. O presente estudo teve por objetivo verificar a morfologia da glândula pineal de suínos por meio de microscopia de luz. Os resultados permitem verificar que a glândula pineal de suínos apresenta-se revestida pela pia-máter que emite projeções para o interior da glândula, constituindo septos de tecido conjuntivo. A distribuição dos elementos celulares no parênquima da glândula pineal apresenta-se de maneira heterogênea, na qual se observam regiões com escassez celular e predominância de pequenos feixes de fibras conjuntivas e concreções calcárias. Os resultados permitem concluir que a glândula pineal de suínos apresenta-se delimitada por septações de tecido conjuntivo proveniente da pia-máter, e que no interior da glândula é comum a presença de concreções calcárias.

Palavras-chave: glândula pineal, suíno, biomineralização.

ABSTRACT. Study of the swine pineal gland by means of light microscopy. Ten swine pineal glands from Landrace breed at the age of 180 days were collected, 5 males and 5 females. After the collection, the material was fastened in formaline solution at 10% for a period of 48 hours, and soon after it was undergone a routine treatment for inclusion in paraffin and accomplishment of histologic courts that have been red-faced for hematoxylin-eosin and Sírius-Red F3BA. The selected sheets were photographed in photomicroscopy from the Department of Morphologic Sciences of Universidade Estadual de Maringá (State University of Maringá). The present study aimed to verify the morphology of swine pineal gland by means of light microscopy. The results permit to verify that the swine pineal gland was covered by pia-mater which emits projections into the gland constituting septa of connective tissue. The distribution of the cellular elements in the parenchyma pineal has a heterogeneous way, with scarcity cellular areas and predominance of small bundles of connective fibers and calcarian concretions. The results allow us to conclude that the swine pineal gland structure was characterized by septations of the connective tissue of pia-mater and inside the gland parenchyma calcarian concretions were frequently observed.

Key words: pineal gland, swine, biominerization.

Introdução

A glândula pineal humana, segundo Erhart (1962) e Machado (2000), está localizada na fissura formada pelo encontro do cerebelo e dos hemisférios cerebrais, medindo aproximadamente 8mm de extensão. Ocupa a depressão dos colículos superiores e é inferior ao esplênio do corpo caloso, sendo separada deste pela tela coróide do terceiro ventrículo e pelas veias cerebrais nela contidas, estando envolvida pela camada inferior da tela, que então se reflete sobre o tecto.

Analizando aspectos morfológicos da pineal humana, Erhart (1962) esclarece ser a pineal parte integrante do epítalamo e, devido às variações existentes, não existe duas pineais iguais. Rica em vasos sanguíneos, é constituída essencialmente por elementos neuroectodérmicos, por células da glia e por elementos parenquimatosos diversos. Ressalta a presença principalmente nos indivíduos adultos de concreções calcárias denominadas “acervuli” (areia cerebral).

O tecido conjuntivo que recobre a glândula pineal é a pia-máter, a qual envia trabéculas e septos para dentro do parênquima pineal, subdividindo-a em lóbulos incompletos. Vasos sanguíneos suprem e drenam elementos do tecido conjuntivo da glândula pineal. Os principais elementos celulares são pinealócitos e células da glia. Os espaços intercelulares da glândula pineal contém grânulos calcificados, material conhecido como areia cerebral ou corpórea arenácea, cujo significado é desconhecido (Gartner e Hiatt, 1994).

Os pinealócitos formam o parênquima da pineal, estendendo-se de cada corpo celular, podendo ter núcleos ovais ou lobulados, havendo um ou mais processos basofílicos, tortuosos, contendo microtúbulos (Knight et al., 1973). Estes processos terminam em botões próximos aos capilares, ou menos freqüentemente em células ependimárias do recesso pineal. Estes botões terminais contém retículo endoplasmático rugoso, mitocôndrias e vesículas elétron densas, que estocam monoaminas e hormônios polipeptídicos, cuja secreção parece depender de inervação simpática. Estes elementos são secretados por exocitose, conjuntamente com fragmentos de membranas de vesículas. Estas membranas exocitadas formariam complexos com cálcio, cuja deposição concêntrica ao redor dos fragmentos destas membranas acarretariam as conhecidas concreções calcárias da glândula pineal.

Kappers (1971) relata que a estrutura da glândula pineal é complexa devido à existência de elementos mesodérmicos derivados da pia-máter e elementos derivados do epêndima, ou seja, neuroectodérmicos. Diversos autores atribuem um envolvimento complexo de todas estas estruturas, parenquimatosas e de tecido conjuntivo, na gênese de concreções calcárias da glândula pineal.

Kitay e Altschule *apud* Binkley (1988) consideram que a ocorrência de calcificação em pineal humana segue a seguinte proporção: desprezível no primeiro ano de vida; cerca de 25% na segunda década, havendo um incremento gradual da terceira para a oitava década de vida. Também colocam que nenhuma relação está estabelecida entre a ocorrência de calcificação e estágios funcionais da glândula pineal humana.

Earle (1965) observa que as concreções calcárias em pineal são constituídas por agregação de pequenos cristais em forma de agulha, evidenciando por difração de raio-x e que a constituição destes é característica dos padrões de hidroxiapatita.

Japha et al. (1976) estudaram as calcificações em superfície de glândula pineal de gerbil (*Meriones unguiculatus*), observando que há

similaridades no processo de calcificação neste animal e na pineal humana, sugerindo que o gerbil possa ser o modelo experimental ideal para estudos do fenômeno de calcificação da pineal. Estes autores observam que as inclusões calcárias localizam-se nas porções superficiais, estando ausentes na pineal profunda.

Binkley (1988) ressalta que a estrutura da pineal humana é caracterizada pela presença de muitas inclusões calcárias. O autor acentua aspectos relevantes: quanto ao desenvolvimento de concreções calcárias, há relatos da presença destas estruturas já do primeiro ao terceiro ano de idade, e é alta a incidência em humanos; as concreções têm um formato curioso de amora e são compostas por hidroxiapatita e traços de elementos como magnésio e estrôncio, comparáveis à composição do esmalte dentário; o grau de calcificação da pineal aumenta com a idade.

Schmid e Raykhtsaum (1985) realizaram um importante trabalho com pineais humanas de homens de idades de 14, 47, 62 e 82 anos, procurando relacionar alterações estruturais de concreções calcárias de pineal com o envelhecimento. Utilizaram microscopia eletrônica de varredura e espectrometria de raio-x. Com base em cortes seriados de uma mesma concreção, com intervalos de 20 μ m e utilizando reconstrução estereológica, evidenciou-se a estrutura de lamelas concêntricas em forma de anéis. O número de lamelas concêntricas aumenta com a idade. Gradualmente, conforme aumenta o número de lamelas, estas se tornam mais estreitas e ocorrem ondulações que dão um aspecto de "zig-zag". Evidenciam-se diversas formas evolutivas, a começar por concreções de morfologia esférica, evoluindo até a forma de amora, devido à agregação de unidades, com proporções que vão de 30 a 100 micrômetros. Tais resultados são discutidos no trabalho quanto suas implicações funcionais, dentre as quais ressaltamos alguns aspectos discutidos por estes autores.

Bocchi e Valdre (1993) são levados a concluir que as concreções são um produto fisiológico e não patológico. Possivelmente, muitos processos de biomíneralização, são engendrados por distrofia celular e produtos de pedaços de membranas, que servem como estrutura para a cristalização.

Como estudado na natureza, a biomíneralização lamelar é universalmente observada por deposições episódicas sobre uma matriz polimérica extracelular (freqüentemente fibras colágenas) que servem como faces hidrofóbicas nas quais proteínas ácidas são

agregadas. A mineralização ocorre na interface entre proteínas ácidas e o ambiente aquoso (Mann, 1993). A deposição seqüencial de matéria orgânica e inorgânica cria a aparência de bandas claras e escuras, lamelas ou crescentes. Devido ao fato da mineralização ocorrer por aposição, entende-se a sucessão de estágios, do globular para as formas em mórula. Assim, corroborando essa progressão, observou-se um grande número de formas globulares em amostra de indivíduo de 14 anos com uma mínima quantidade de estratificação e formação ativa de cristais.

Humbert e Pévet (1995) referem que, de acordo com seus resultados, nos estudos em ratos, o material resultante da degeneração celular e produtos secretórios proteináceos podem iniciar a formação de concreções, pelo fato das mitocôndrias e retículo endoplasmático estarem sendo considerados sítios de regulação de cálcio, devido à grande concentração de cálcio e fósforo presentes na mitocôndria durante a mineralização. Walz (1992) considera a possibilidade de ser esta a primeira fase da formação da hidroxiapatita.

Wurthier (1973), em importante revisão, coloca que há duas escolas de pensamento estudando como o processo de mineralização é induzido durante a calcificação de tecidos. Há a visão de que a mineralização é iniciada por núcleos heterogêneos de colágeno isoladamente ou em combinação com várias proteínas com as quais o colágeno se associa. Há também a visão de que a mineralização é um processo diretamente mediado por células, no qual as mitocôndrias e vesículas matriciais servem como sítios do processo de calcificação.

Binkley (1988) ressalta que a pineal pode ser estudada pela microscopia de luz utilizando técnicas histológicas convencionais após preparo e fixação em formalina, solução de Bowin ou glutaraldeído, inclusão em parafina, secção com micrótomo ou ultramicrótomo e coloração, por exemplo, com hematoxilina-eosina. Muitas pineais são pequenas e requerem algumas mudanças técnicas no preparo. Também as concreções podem dificultar os cortes ao micrótomo. Quanto à microscopia eletrônica, o autor ressalta a importância da varredura na análise de anatomia de superfície, estudo da vascularização e das concreções da glândula pineal.

Portanto, de acordo com a literatura acima apresentada, o presente estudo teve por objetivo

verificar a morfologia da glândula pineal de suínos por meio de microscopia de luz.

Material e métodos

Para a realização deste trabalho, utilizamos dez glândulas pineais de suínos da raça Landrace sendo cinco machos e cinco fêmeas, com 180 dias de idade. Foram coletados dez encéfalos de suínos provenientes do abatedouro Suínomania em Maringá, Estado do Paraná. Após a coleta, os encéfalos foram reduzidos a pequenos blocos contendo tronco encefálico e diencéfalo. A glândula pineal foi retirada e fixada em solução de formol a 10% durante um período de 48 horas. Após esta fase, o material foi desidratado em série ascendente de álcoois, diafanizado em xanol e incluído em parafina para a realização de cortes histológicos de 10 μm que foram corados pelos métodos de hematoxilina-eosina para observação dos componentes celulares. Após a análise em microscópio óptico, as lâminas selecionadas foram documentadas em fotomicroscópio Olympus BX 50.

Resultados e discussão

A glândula pineal de suíno apresenta sua superfície revestida pela meninge pia-máter, que emite projeções para o interior da glândula, constituindo verdadeiros septos de tecido conjuntivo que delimitam regiões distintas, conferindo à glândula um aspecto lobular (Figura 1).

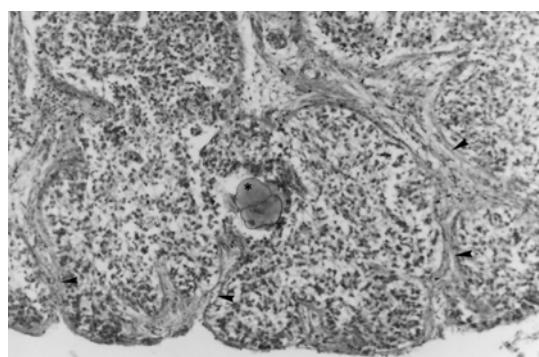


Figura 1. Corte transversal de 10 μm da glândula pineal de suíno, evidenciando septos (setas) de tecido conjuntivo provenientes da pia-máter, conferindo aspecto de estrutura lobulada à glândula. Observar também concreção calcária (*) no parênquima da glândula. Hematoxilina-eosina 306x.

Na porção basal da glândula pineal, em sua face superior, observa-se amplo espaço, no interior do qual observamos pequena

concentração de hemácias, indicando a presença de uma veia calibrosa no interior da glândula (Figura 2).

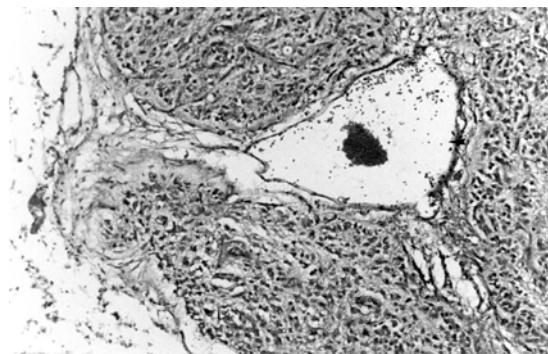


Figura 2. Corte transversal de 10 µm da glândula pineal de suíno. Região basal onde se observa amplo espaço com concentração de hemácias (*). Hematoxilina-eosina 306x.

Quando analisamos a distribuição dos elementos celulares no parênquima da glândula pineal, verificamos que estes apresentam distribuição heterogênea, sendo observado regiões centrais ricas nestes elementos e pobres em tecido conjuntivo (Figura 3). Por outro lado, verificamos outras regiões mais periféricas onde predominam os feixes de fibras colágenas do tecido conjuntivo fibroso, sendo escasso o componente celular (Figura 4).

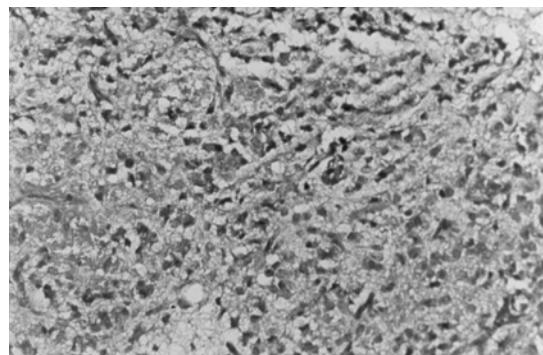


Figura 3. Corte transversal de 10 µm da glândula pineal de suíno, evidenciando região rica em elementos celulares no parênquima da glândula. Hematoxilina-eosina 612x.

Associado aos elementos celulares e feixes de fibras do tecido conjuntivo, verificamos a presença de grânulos calcários que, com maior freqüência, possuem localização periférica na glândula pineal.

Aglomerados destes grânulos calcários constituem estruturas denominadas de concreções calcárias (Figuras 1, 5 e 6) e que apresentam-se sob o aspecto de mórula.

Por meio da metodologia empregada, não encontramos diferenças quanto à análise das glândulas pineais entre machos e fêmeas.

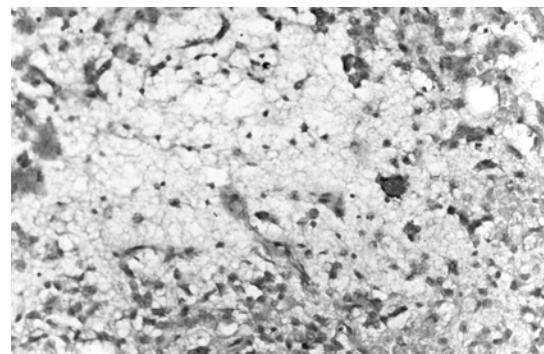


Figura 4. Corte transversal de 10 µm da glândula pineal de suíno, evidenciando região pobre em elementos celulares e rica em fibras de tecido conjuntivo (seta). Hematoxilina-eosina 612x.

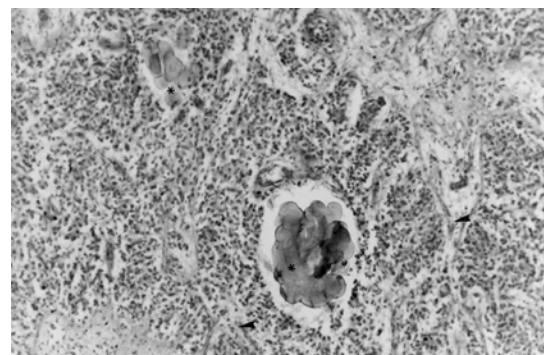


Figura 5. Corte transversal de 10 µm da glândula pineal de suíno, evidenciando aglomerações de grânulos calcários (*) que constituem as concreções calcárias. Hematoxilina-eosina 306x.

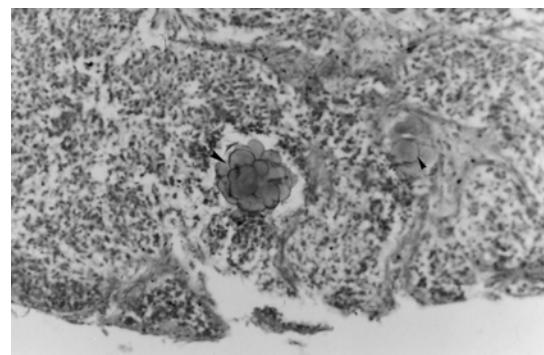


Figura 6. Corte transversal de 10 µm da glândula pineal de suíno, evidenciando concreções calcárias sob o aspecto de mórula. Hematoxilina-eosina 306x.

A glândula pineal de suínos, revestida por membrana rica em fibras conjuntivas, emite projeções para o interior da glândula constituindo

separações que conferem à estrutura o aspecto lobular. Nossos resultados são concordes com os achados de Gartner e Hiatt (1994) que descrevem a estrutura da glândula pineal em humanos. Para esses autores, a glândula pineal é revestida pela pia-máter, a qual envia trabéculas e septos para dentro da pineal, subdividindo a glândula em lóbulos incompletos. De acordo com Machado (2000), durante o desenvolvimento embrionário, o corpo da pineal é invadido por tecido conjuntivo derivado da pia-máter que forma a cápsula do órgão que penetra no seu interior formando septos. Verificamos, com isso, grande semelhança nesse aspecto entre a morfologia da glândula pineal de suínos e de humanos.

Na literatura consultada, não encontramos referência à presença de veia de grande calibre no interior da glândula pineal, como descrito por nós. Acreditamos que, devido ao fato da glândula ser ricamente irrigada, faz-se necessário a presença desta veia, e a não descrição na literatura deve-se ao fato da existência de poucos trabalhos relativos à vascularização da glândula pineal.

Quando analisamos a distribuição dos elementos celulares no parênquima da glândula pineal, verificamos que estes apresentam distribuição heterogênea, sendo observado regiões ricas nestes elementos e pobres em tecido conjuntivo. Por outro lado, verificamos outras regiões onde predominam os feixes de fibras colágenas do tecido conjuntivo fibroso, sendo escasso o componente celular. Nossos resultados são concordes com os achados de Oliveira (1998), que estudou a glândula pineal de humanos, utilizando-se de metodologia de microscopia de luz e eletrônica de varredura e observou a presença de duas regiões distintas na glândula pineal: a) região com predomínio de células e fibras conjuntivas; b) região com predomínio de células parenquimatosas.

Nas regiões onde predominam os elementos celulares, não foi possível a discriminação dos tipos celulares constituintes, como pinealócitos claros e escuros, células da glia, neurônios e mastócitos, já que a microscopia óptica não permite uma definição clara destes tipos celulares quando utilizamos a coloração de Hematoxilina e Eosina. Para tanto, faz-se necessário a utilização de técnicas específicas. Quando analisamos as regiões com predomínio de elementos do tecido conjuntivo, verificamos que estas estão presentes com maior freqüência na região periférica da glândula. Nestas regiões, encontramos com freqüência aglomerados de formações calcárias, constituindo as concreções calcárias que apresentam-se com o formato de mórula. A presença destas concreções nesta região também foi descrita

por Kitay e Altschule *apud* Binkley (1988) e Japha *et al.* (1976). Acreditamos que a diminuição dos elementos celulares nesta região esteja diretamente relacionada aos processos de formações calcárias, uma vez que a formação destas é um processo dinâmico como observado por Oliveira (1998), que afirma que a concreção não é uma estrutura estática, mas metabolicamente ativa, havendo a formação em vários estágios, desde os menores até os maiores, de acordo com a agregação de lamelas em uma unidade funcional, e a agregação destas unidades em um maciço em forma de mórula. Este aspecto dinâmico funcional é evidenciado por Schmid e Raykhtsaum (1995), Humbert e Pévet (1995) e ressaltados por Binkley (1998).

A localização mais superficial das concreções na pineal pode ser interpretada pela maior proximidade com a pia-máter, reforçando a hipótese do envolvimento do tecido conjuntivo neste processo. A matriz conjuntiva pode ser a estrutura precipitadora numa região de alto metabolismo de cálcio envolvida na produção de melatonina, conforme ressaltam Schmid e Raykhtsaum (1995).

Wurthier (1973) faz menção a duas hipóteses sobre os mecanismos de biominalização: a hipótese celular e a conjuntiva. Em nossos resultados, em função da metodologia empregada, encontramos bases morfológicas que sustentam a hipótese da origem matricial conjuntiva, no entanto, acreditamos que as duas hipóteses estão associadas nos processos de formação das concreções calcárias.

A glândula pineal está relacionada à produção de melatonina que requer cálcio para seu metabolismo (Cipolla Neto, 1996) e talvez isso possa explicar o fato do aparecimento de concreções calcárias com freqüência na glândula pineal, uma vez que estas podem funcionar como um estoque dinâmico de cálcio, implicado na regulação da melatonina e aspectos da fisiologia da glândula pineal. Pelo fato das concreções apresentarem estruturas e composição muito semelhantes a ossos e dentes (Angervall *et al.*, 1958), é possível que estejam sujeitos à regulação hormonal do metabolismo de cálcio, tal qual nesses tecidos.

Os aspectos morfológicos ainda não estão totalmente elucidados, no entanto, muitos são os trabalhos que estão sendo realizados para se tentar explicar os processos e mecanismos de formação das concreções calcárias. Estes trabalhos estão sendo realizados em humanos, em sua grande maioria. Portanto, com a realização deste trabalho, verificamos que a glândula pineal de suínos apresenta características morfológicas semelhantes à glândula pineal de humanos, e isso implica em

afirmar que este animal poderá ser utilizado como modelo experimental para o estudo da glândula pineal.

Conclusão

De acordo com os resultados da presente pesquisa, podemos concluir que:

1. A glândula pineal de suíños apresenta-se delimitada por septações de tecido conjuntivo proveniente da meninge pia-máter.
2. A distribuição dos elementos celulares no parênquima da glândula é heterogênea, existindo regiões pobres em elementos celulares e ricas em tecido conjuntivo, e outras onde predominam os elementos celulares.
3. No parênquima da glândula pineal de suíno estão presentes as concreções calcárias. Podemos afirmar que este animal poderá servir como modelo experimental para o estudo da glândula pineal e que não encontramos diferenças quanto à análise das glândulas pineais entre machos e fêmeas.

Referências

- ANGERVALL, L. A microradiographic and X-ray crystallographic study of calcium in the pineal body and intracranial tumors. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, Copenhagen, v. 44, p. 113-119, 1958.
- BINKLEY, S. *The pineal: endocrine and norendocrine function*. London: Ed. Prentice Hall, 1988.
- BOCCHI, G.; VALDRE, G. Physical, chemical and micrological characterization of carbonate-hydroxiapatite concretions of human pineal gland. *J. Inorg. Biochem.*, New York, v. 49, p. 209-220, 1993.
- CIPOLLA NETO, J. *Controle neural do metabolismo da glândula pineal*. 1996. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.
- EARLE, K. M. X-ray diffraction and other studies of the calcareous deposits in human pineal glands. *J. Neurol.*, Darmstadt, v. 24, p. 108-118, 1965.
- ERHART, E. A. *Neuroanatomia*. 2 ed. São Paulo: Atheneu, 1962.
- GARTNER, L.P.; HIATT, J.L. *Color atlas of histology*. 2. ed. Ed. William & Wilkins, 1994.
- HUMBERT, W.; PÉVET, P. Calcium concretions in the pineal gland of age rats: ultrastructural and microanalytical study of their biogenesis. *Cell Tissue Res.*, Berlin, v. 279, n. 3, p. 565-73, 1995.
- JAPHA, J. L. et al. Calcified inclusions in the superficial pineal gland of the mongolian gerbil. *Acta Anat.*, Barel, v. 94, p. 553-544, 1976.
- KAPPERS, J. A. *The pineal organ: introduction – the pineal gland*. A Ciba Foundation Symposium, Churchill Livingstone, 1971.
- KITAY, J.; ALTSCHULE, M. The pineal gland. In: BINKLEY, S. *The pineal. Endocrine and nonendocrine function*. London: Prentice Hall, 1988, p. 203.
- KNIGHT, B.K. et al. The pineal gland a synopsis of present knowledge with particular emphasis on its possible role in control of gonadotrophin function. *S. Afr. J. Sci.*, Pretoria, v. 3, p. 143-146, 1973.
- MACHADO, A.B.M. *Neuroanatomia funcional*. São Paulo: Atheneu, 2000.
- MANN, S. Molecular tectonics in biomimicry and biomimetic materials chemistry. *Nature*, London, v. 365, p. 499-505, 1993.
- OLIVEIRA, S.F. *Estudo da estrutura da glândula pineal humana empregando métodos de microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura, microscopia de varredura por espectrometria de raio-x e difração de raio-x*, 1998. Tese (Doutorado) – Instituto de Ciências Biomédicas – Universidade de São Paulo, São Paulo, 1998.
- SCHMID, H.A.; RAYKHTSAUM, G. Age-related differences in the structure of human calcium deposits: results of transmission electronmicroscope and mineralographic microanalysis. *J. Pineal Res.*, Copenhagen, v. 18, p. 12-20, 1985.
- WALZ, B. Calcium sequestering smooth endoplasmic reticulum in retinal cells of the blowfly. *J. Ultrastruct. Res.*, Orlando, v. 81, p. 240-248, 1992.
- WURTHIER, R.E. The role of phospholipids in biological calcification. *Cli. Orthoped.*, v. 90, p. 191-200, 1973.

Received on May 06, 2003.

Accepted on October 30, 2003.