

*ESTUDO COM O MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DO RETÍCULO
ENDOPLASMÁTICO EM FIBRAS MUSCULARES
DE CARANGUEIJOS **

ROGER LAVALLARD

(Departamento de Fisiologia Geral e Animal e
Secção de Microscopia Eletrônica da Universi-
dade de São Paulo)

(6 Estampas)

INTRODUÇÃO

Desde as primeiras observações, com o microscópio eletrônico, de uma rede de membranas intracelulares nas células de culturas de tecidos (1, 2), uma série de trabalhos tem estabelecido a existência do "retículo endoplasmático" (3, 4, 5) no citoplasma da maior parte dos tipos de células animais (6, 7, 8). Esta estrutura é interpretada como uma rede tridimensional de cavidades tubulosas e vesiculosas, de conteúdo homogêneo, limitadas por uma membrana simples e contínua, podendo apresentar diferenciações locais (9, 10, 11, 12), variáveis com as categorias celulares; seria contínua através do citoplasma desde a membrana celular (c. F. 13) até o núcleo (14, 8). Uma publicação de PALADE (13) recapitula o progresso dos conhecimentos a respeito do retículo endoplasmático, desde a sua descoberta.

Ao estudarem as fibras musculares estriadas, BENNETT e PORTER (15) evidenciaram, entre as miofibrilas, um sistema de membranas intrasarcoplasmicas, que identificaram com o retículo endoplasmático dos outros tipos celulares. Este sistema é igualmente comparável (15, 16) às formações reticulares já observadas com o microscópio óptico, entre as miofibrilas, pelos histologistas (17, 18) do fim do século XIX. EDWARDS e colaboradores (19, 20) mostraram que o retículo endoplasmático faz parte dos constituintes das células musculares estriadas, cujas estrutura e distribuição variam

(*) Recebido para publicação em Abril de 1960.

com as espécies de animais e a especialização das funções da fibra muscular. PORTER e PALADE (21) analisaram com grande precisão, as relações morfológicas do retículo endoplasmático com as miofibrilas em três tipos diferentes de fibras musculares estriadas.

O tecido muscular estriado dos Crustáceos foi até o momento pouco estudado em microscopia eletrônica. O presente trabalho relata as principais observações feitas sobre o retículo endoplasmático no decorrer do exame de numerosas micrografias eletrônicas de cortes longitudinais e transversais, em músculos das peças bucais de duas espécies de carangueijos. Depois de uma descrição dos principais caracteres morfológicos da fibra muscular em estudo, algumas observações novas são relatadas a respeito da estrutura do retículo endoplasmático, notadamente sobre as formações vesiculares localizadas ao nível das zonas I e sobre o retículo em frente ao disco H. Algumas particularidades, que não estão de acordo com as hipóteses já formuladas sobre as funções do retículo endoplasmático da célula muscular estriada, também são discutidas.

MATERIAL E MÉTODO

Os músculos utilizados provêm das peças bucais de duas espécies de carangueijos, uma *Callinectes danae*. Smith (22), abundante nas praias do Estado de São Paulo, outra *Carcinus maenas*, Penn. (23), muito comum no litoral atlântico da França. São os dois músculos antagonistas que provocam os batimentos do flagelo no exopodito do terceiro maxilípodo. O exopodito é removido por ruptura da sua articulação com o basipodito, para evitar toda lesão das fibras musculares, notadamente ao nível das suas inserções proximais. Para descobrir os músculos, uma janela é recortada na cutícula, do lado interno do artícolo, menos calcificado do que o externo. Depois, o exopodito é imerso no fixador; portanto, os seus músculos são fixados *in situ*, mantidos em suas inserções naturais, sem ter sofrido nenhum dano.

O fixador utilizado é uma solução de O_s O_4 a 3%, tamponada a pH 7,4 — 7,6, que age durante uma hora à temperatura de 18°C. Depois de uma lavagem rápida com água destilada, os músculos são extraídos do tegumento, recortados em peças de menos de 1 mm³ que

são em seguida desidratadas, de maneira contínua, num aparelho de Bernhard (24) modificado (25). Em seguida são incluídas numa mistura de 9 partes de metacrilato de n-butilo com uma parte de metacrilato de n-metilo, polimerizada por 1% de Luperco CDB numa estufa de 45°C, durante 24-36 horas. Os cortes são efetuados com uma navalha de vidro num microtomo Porter-Blum. As micrografias são obtidas com ampliações originais de 2000 a 10500, usando-se um microscópio RCA, modelo EMU.

RESULTADOS

1 — *ESTRUTURA DAS FIBRAS MUSCULARES*

Como no caso da maior parte dos músculos em Artrópodes, cada fibra muscular do exopodito dos maxilípedes está inserida pelas suas duas extremidades sôbre a cutícula: a extremidade proximal sôbre a parede tegumentar do artícuro; a extremidade distal sôbre um apodema que provém da base do flagelo. O comprimento da fibra é assim função da dimensão do exopodito e, portanto, do tamanho do animal. Este pode atingir 12 mm em carangueijos de grandes dimensões. Ao contrário, o diâmetro, sempre inferior a 100 μ , é pequeno em comparação com os apêndices locomotores, onde as fibras musculares podem ter dimensões transversais consideráveis em certos carangueijos (26).

A descrição da estrutura das fibras musculares do exopodito, observada com o microscópio eletrônico, já foi dada numa publicação anterior (27); relatam-se aqui sômente os principais caracteres com a terminologia usada por BENNETT e PORTER (15) a respeito dos músculos do frango. Com exceção do grande desenvolvimento do retículo endoplasmático, êstes caracteres correspondem aos das fibras musculares de alta freqüência de contração, como foram estabelecidos por EDWARDS e colaboradores (19, 20): grande abundância de sarcoplasma (Sp, Figs. 1 e 2), de que resulta um valor pequeno da relação miofibrilas/sarcoplasma; mitocôndrias (Mt, Figs. 1 e 2) muito numerosas; período curto da estriação transversal das miofibrilas (Fig. 3).

As miofibrilas estão agrupadas em colunetas musculares (= colunetas de Leydig, cl, Figs. 1 e 2), de importância variável (de 10

até 200 miofibrilas). As colunetas musculares são amplamente separadas umas das outras por sarcoplasma intercolunar (Sp_2 , Fig. 2), cuja espessura pode exceder 6μ ; são também separadas do sarcoplasma por uma camada espessa (8μ e mais) de sarcoplasma subsarcoplêmico (Sp , Fig. 1 e Sp_1 , Figs. 2 e 4). Numa coluneta, o sarcoplasma interfibrilar (Sp_3 , Fig. 3) ultrapassa raramente $0,4\mu$ de espessura entre duas miofibrilas. A única diferença bem marcada entre as duas espécies utilizadas, do ponto de vista da estrutura da fibra muscular do exopodito, se traduz por uma abundância maior do sarcoplasma em relação às miofibrilas em *Carcinus*; as colunetas musculares são menos numerosas do que em *Callinectes*, e cada uma contém, em média, um número inferior de miofibrilas. Como mostra a Fig. 1, micrografia de um corte transversal de fibras musculares em *Carcinus maenas*, o sarcoplasma é mais importante do que as miofibrilas quanto ao volume ocupado na célula muscular.

As mitocôndrias estão repartidas em dois grupos, um aplicado contra o sarcolema: mitocôndrias subsarcoplêmicas (Mt_1 , Figs. 1, 2 e 4), outro situado ao nível das colunetas musculares, seja na periferia destas: mitocôndrias pericolunares (Mt_2 , Figs. 1 e 2), seja no meio: mitocôndrias centrocolumares (Mt , Fig. 5). O diâmetro destas varia de $0,6$ a $1,2\mu$; o comprimento pode ser grande, até 7μ .

As miofibrilas (Mf , Figs. 1, 2 e 5) apresentam, em corte transversal, um contorno irregular, muitas vezes de aspecto poligonal. As dimensões da superfície de secção destas são muito inconstantes de uma miofibrila para outra: existem miofibrilas grossas e finas, cuja espessura, considerada cada um no seu menor valor (para excluir o erro ligado a uma obliquidade eventual do corte) varia de $0,2$ a 1μ . A estriação transversal das miofibrilas comporta a linha Z, as zonas I e A e o disco H, exibindo muitas vezes medianamente a estria M (Fig. 7). Os miofilamentos, sempre bem individualizados em A, H e M, não são discerníveis na zona I e na linha Z. Isto é bem visível na Fig. 10. Aqui, o corte transversal, ligeiramente oblíquo, passa pela zona I no caso de algumas miofibrilas que contrastam, pelo seu aspecto relativamente homogêneo, com a superfície pontuada de miofilamentos das miofibrilas apanhadas na zona A. Será mostrado também mais adiante, que as miofibrilas têm uma aparência diferente

em corte transversal no disco H em comparação com o resto da zona A.

No sarcoplasma ocorrem, ainda em certos lugares, acumulações irregulares de uma substância densa (GI, Figs. 1 e 15) que foi interpretada (28) como glicogênio, e pequenos grânulos densos (gr, Figs. 4 a 15) de 150 A de diâmetro, distribuídos uniformemente por toda a massa sarcoplasmática.

2 — *ESTRUTURA DO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO*

a. *Generalidades*

O retículo endoplasmático das fibras musculares aqui estudadas está principalmente localizado entre as miofibrilas. Desenvolvido no sarcoplasma interfibrilar, êle não se prolonga nas outras categorias de sarcoplasma (r. e., Figs. 1 e 15) onde sômente se encontram alguns raros perfis de endomembranas, aparentemente sem relação com o sistema interfibrilar. Qualquer que seja o nível considerado de um sarcômero, o retículo endoplasmático está sempre abundantemente representado entre as miofibrilas. A importância dêste é tal que contribui, de algum modo, para sublinhar a individualidade das miofibrilas, em corte transversal, envolvendo cada uma de um envoltório de membranas que a separa das suas vizinhas (r. e., Figs. 3, 10 e 12).

A Fig. 5 é destinada a dar uma vista geral dêste retículo em corte transversal, no interior de um mesmo sarcômero. O corte, ligeiramente oblíquo, passa por duas linhas Z sucessivas, que aparecem nas miofibrilas das extremidades superior e inferior da micrografia, como duas faixas densas (Z); portanto, entre estas duas linhas limitantes, são evidenciados cortes transversais das várias zonas do sarcômero. Êstes diferentes níveis podem ser identificados, de um lado, pela sua posição em relação às linhas Z, de outro, pelos caracteres da estrutura das miofibrilas, que é variável ao longo do sarcômero. Tôdas as miofibrilas que, na proximidade de Z, não mostram miofilamentos, são cortadas na zona I; as outras miofibrilas, com miofilamentos bem diferenciados, são cortadas na zona A; na parte mediana da Fig. 5, miofilamentos de contôrno mais nítido e de diâmetro maior, representam um corte transversal pelo disco H.

Ao primeiro exame, o retículo endoplasmático apresenta-se como um conjunto de perfis de membranas endocelulares de tamanho, forma, densidade e distribuição muito heterogêneos, no qual parece difícil reconhecer-se uma organização. Deve-se notar, porém, uma oposição quanto à morfologia do retículo entre as zonas terminais e a região mediana do sarcômero. Na proximidade da linha Z, o retículo é uma formação quase sem interrupção, feita de uma dupla membrana densa, interposta como uma parede contínua em volta das miofibrilas. Na parte central, ao contrário, o retículo é mais descontínuo transversalmente e, com exceção de uma zona particular designada por Y que corresponde ao disco H, é representado unicamente por túbulos e vesículas em orientação longitudinal, limitados por uma membrana de baixa densidade. O nível em que o retículo torna-se tubuloso e vesiculoso, está situado aproximadamente no meio do segmento de A incluído entre I e H; isto se constata, de um lado, sobre a Fig. 5, onde miofibrilas cortadas em A são envolvidas por retículo contínuo transversalmente, de outro, nos cortes longitudinais das Figs. 6 e 7. Para a comodidade da descrição, serão distinguidas duas partes no segmento da zona A situado entre I e H, uma zona A distal do lado de I, uma zona A proximal do lado de H, a separação entre as duas zonas sendo demarcada pela passagem de um retículo contínuo para um retículo descontínuo no sentido transversal da fibra muscular.

Existe assim heterogeneidade de aspecto do retículo quando se considera níveis diferentes de um sarcômero, mas para um mesmo nível, a organização deste retículo apresenta uma certa homogeneidade. Esta noção é ilustrada pelas Figs. 10 e 11; o aspecto do retículo é muito diferente de um corte para outro, porque o corte passa, na Fig. 10, pela zona I, de cada lado de Z, e pela zona A distal, enquanto que, na Fig. 11, as miofibrilas estão cortadas na zona A proximal e no disco H, mas, em cada Fig., o retículo endoplasmático é bastante uniforme em toda a superfície da micrografia.

Portanto ressalta desta consideração geral que, em Crustáceos, como no caso das fibras musculares do frango (15), de Anfíbios (21, 28), de Répteis (23), de Insetos (20) e de Rato (21), o retículo endoplasmático apresenta uma organização definida que se repete, em cada sarcômero, segundo um sistema cuja segmentação está

em fase com a estriação das miofibrilas. Por outra parte, o estudo mais pormenorizado da estrutura dêste retículo pode subdividir-se em três partes, que correspondem aos três grandes aspectos diferentes que êle apresenta:

- 1) — Nível da linha Z + zona I + zona A distal, ou zona de continuidade transversal do retículo.
- 2) — Nível da zona A proximal, ou zona do retículo tubuloso e vesiculoso.
- 3) — Nível do disco H, onde o retículo exhibe um aspecto de três membranas duplas contíguas.

b. *Linha Z + Zona I + Zona A distal*

Esta região inclui a parte do sarcômero situada entre a linha Z e o meio do segmento A que separa I de H. Nos cortes transversais das fibras musculares, a linha Z é facilmente identificada; aparece como uma linha escura, que atravessa a superfície de secção da coluneta muscular, tendo em geral um percurso bastante sinuoso de uma miofibrila a outra. No interior de uma mesma miofibrila, a linha Z forma uma faixa densa sôbre o fundo mais claro da zona I (Z, Fig. 5). Afora sua densidade maior, a linha Z é como a zona I, sem estruturas reconhecíveis. A zona I comporta, nos cortes transversais (I, Figs. 5, 10 e 12), tôdas as miofibrilas nas quais é impossível distinguir uma estrutura que poderá corresponder aos prolongamentos dos miofilamentos, tão nitidamente diferenciados na zona A. Uma miofibrila, cortada na zona I (I, Fig. 10), aparece como uma mancha de substância de uma densidade semelhante à do material localizado entre os miofilamentos da zona A. Nesta última, ao contrário, os miofilamentos são bem individualizados, com um diâmetro de 120 a 150 A, separados uns dos outros por uma distância de 250 a 300 A. A passagem da zona I à zona A pode-se ver no interior de uma mesma miofibrila, se o corte transversal fôr um pouco oblíquo (A-I, Fig. 10).

Como já foi assinalado em outros tipos de músculos (21, 30), o retículo endoplasmático de dois sarcômeros vizinhos está interrompido ao nível da linha Z, na maior parte dos casos observados. Em c. t., Fig. 4, o retículo parece todavia, atravessar a zona interfibrilar em frente das linhas Z, mas êste aspecto excepcional pode

ser também ligado a uma ruptura ocasionada por retrações no curso da fixação. Existe, entre as miofibrilas, no local da passagem da linha Z, uma zona densa onde não é possível definir-se uma estrutura (Figs. 5 e 10); somente se verifica, neste nível, o desaparecimento progressivo dos contornos do retículo, que afinal não se percebem mais em frente da linha Z. A espessura da zona que separa o retículo de dois sarcômeros vizinhos ao nível das linhas Z é da ordem de 500 A.

O caráter mais notável do retículo endoplasmático em frente da zona I e da zona A distal é, sem dúvida, a sua continuidade, tanto transversal (r. e., Fig. 10) como longitudinal (Figs. 5, 6, 7 e 8) em todo o conjunto do sarcoplasma interfibrilar. Tudo se passa como se o sarcoplasma estivesse, neste nível, completamente dividido em compartimentos, no sentido transversal, por uma membrana dupla e contínua que delimitasse assim uma série de divisões, em cada uma das quais estivessem enclausuradas a zona I e a zona A distal de uma miofibrila. Esta dupla membrana tem uma espessura total de cerca de 250 A, representando o espaço interno de 100 A. Trata-se aqui de valores médios, pois como se pode notar na Fig. 3, esta membrana dupla mostra, em numerosos lugares, constrições que se fazem à custa do espaço interno, às vezes atingindo mais ou menos as bordas densas da formação, o que pode determinar pequenas rupturas. Estas irregularidades no aspecto da dupla membrana são provavelmente alterações ligadas à fixação; produzem-se, de fato, com frequência completamente desiguais segundo as preparações; em geral são mais frequentes quando também as outras estruturas se apresentam defeituosas. Quanto às variações de densidades da dupla membrana, com exceção das que se produzem ao nível da linha Z, devem ser atribuídas principalmente às orientações mais ou menos oblíquas desta membrana em relação ao plano do corte.

Outros caráter interessante deste retículo endoplasmático refere-se à existência de cavidades de grande tamanho que são designadas aqui pelo termo "cavidades terminais" por causa da sua localização em frente das zonas I, nas duas extremidades do sarcômero (c. t., Figs. 5, 6, 9, 10 e 12). Um certo número dos caracteres postos em evidência por PORTER e PALADE (21) a respeito das vesículas da zona I (= terminal cisternae), são aplicáveis a estas for-

mações. Tais cavidades não envolvem completamente as miofibrilas, mas se encontram somente em contiguidade sobre um dos seus lados; sua maior dimensão é transversal; a cada unidade deste tipo de um sarcômero corresponde uma formação equivalente do outro lado da linha Z, no sarcômero seguinte; as faces opostas destas duas cavidades são muitas vezes achatadas contra a estrutura densa de 500 A de espessura situada ao nível das linhas Z. Mas na constituição da parede destas cavidades terminais, intervém uma diferença permitindo pensar que se trata de formação de natureza diversa da das "terminal cisternae" descrita por PORTER e PALADE, em músculos de Vertebrados. As Figs. 6, 9, 10 e 12 mostram em c. t. que estas não são uma simples dilatação local do espaço interno da dupla membrana do retículo, de tal maneira que a parede das vesículas seja uma membrana simples, como é o caso clássico. A parede das cavidades terminais é aqui uma membrana dupla, que tem a mesma estrutura que o retículo endoplasmático entre as cavidades. O conteúdo não é também a substância homogênea, característica do meio interno do retículo. É uma substância que tem a mesma densidade que o sarcoplasma e que, como este, compreende os pequenos grânulos osmiofílicos (gr) de 150 A de diâmetro, dispersos em todos os lugares no sarcoplasma. Nunca estes grânulos são visíveis no interior das membranas do retículo. O conteúdo das cavidades terminais, é, portanto, constituído por sarcoplasma.

c. Zona A proximal

Esta zona corresponde à outra metade do segmento A compreendido entre I e H, a que está em contacto com o disco H, na direção da parte central da Zona A, donde sua designação como "proximal". Não é necessário insistir sobre a determinação desta zona num corte transversal; o aspecto dos miofilamentos é o mesmo do que em A distal, pois é somente a mudança de forma do retículo que introduz a distinção. A proximidade do disco H e o aspecto disperso do retículo bastam para situar esta zona.

Já foi indicado mais acima que a zona A proximal se opõe à zona A distal e à zona I pela descontinuidade transversal do retículo endoplasmático. Este último se apresenta, então, essencialmente sob a forma de túbulos e vesículas (t. c.p., Figs. 3 a 9, Figs. 11 e 13;

com orientação sobretudo longitudinal. Uma outra diferença nota-se na densidade das membranas do retículo, aqui muito mais fraca do que na zona precedente. Há predominância dos túbulos do lado da zona I e predominâncias de vesículas do lado de H. Em direção de H, os túbulos e as vesículas convertem-se em “cisternae”, que têm aparentemente a significação clássica, quer dizer, são o produto da simples dilatação dos túbulos e das pequenas vesículas, provocando um aumento local de volume da fase interna do retículo. Estas cisternas proximais, como os túbulos, possuem uma parede constituída por uma membrana simples; o seu conteúdo é homogêneo; corresponde de fato, ao espaço compreendido no interior das membranas do retículo. Em corte longitudinal (Figs. 3, 4 e 6), as “cisternas” proximais prolongam os túbulos que vão conectar-se com a dupla membrana contínua da zona A distal; isto explica a predominância, em corte transversal, dos túbulos nos níveis próximos de I, de vesículas e de “cisternae” nos níveis próximos de H.

O termo de “central cisternae” utilizado por PORTER e PALADE (21) no caso dos músculos da larva de *Amblystoma*, não pode ser conservado aqui. De fato, as “central cisternae” estão localizadas em frente do disco H; são estruturas ímpares, no sentido em que são representadas uma vez só em cada sarcômero. De outro lado, caracterizam uma zona de continuidade transversal do retículo endoplasmático. No caso presente, a região do disco H está ocupada por uma estrutura particular, que separa duas metades dentro do retículo de um sarcômero; as cisternae proximais, de cada lado desta estrutura, são portanto formações pares. Além disso, já se evidenciou que estas caracterizam uma zona de descontinuidade transversal do retículo endoplasmático. O termo de “cisternae proximais” foi assim adotado em função destas diferenças.

A forma e a dimensão das “cisternae” proximais são variáveis; mais freqüentemente, têm um contôrno arredondado ou ovóide (c. p., Figs. 11 e 13), mas algumas são muito deformadas. A membrana simples que as envolve, cuja osmiofilia é muito fraca, se acha muitas vezes cortada obliquamente e assim a sua densidade enfraquece-se ainda mais até o ponto em que é, às vezes, difícil delimitar a parede dos túbulos e das vesículas. Como dimensão destas “cisternae” proximais, em virtude das irregularidades do contôrno, somente se pode

informar que, para "cisternae" de perfil sub-circular, o diâmetro pode atingir $0,4\mu$.

d. Disco H

Em corte longitudinal, o disco H é geralmente distinto no meio de cada sarcômero; possui um comprimento médio de $150 m\mu$ (H, Figs. 3 e 6). No meio de H, uma faixa mais densa de cerca de $70 m\mu$ representa a estria M. Em corte transversal, a borda dos miofilamentos no disco H parece mais nitidamente delimitada do que na zona A, em razão da densidade menor da substância interposta, do que resulta um contraste maior. O diâmetro dos miofilamentos é também superior no disco H, atingindo $200 A$ (H, Figs. 5, 11, 14 e 14'). O nível da estria M está marcado por uma zona menos densa no centro de cada miofilamento; todavia, nas várias Figs. correspondentes, H designa o conjunto do disco H, sem distinguir a estria M, pois não existe nenhuma diferenciação particular do retículo em frente desta última.

Ao nível do disco H, o retículo assume uma forma particular, designada por Y nas micrografias, que se resume a três duplas membranas contíguas, com a maior dimensão transversal em relação às miofibrilas. (Figs. 5, 6, 9, 11, 14 e 14'). Esta dimensão não é equivalente para as três formações; a formação central é a mais desenvolvida (Fig. 14 e 14'). Muitas vezes, as duas formações laterais menores não estão em frente uma da outra; isto explica porque freqüentemente, em corte longitudinal, há somente duas ou uma formação em frente de H (y, Fig. 8), segundo a passagem do corte respectivamente pela formação central e uma das duas laterais, ou pela única formação central. No sentido longitudinal, as duplas membranas estão estritamente localizadas em frente do disco H, ou seja as suas dimensões não podem exceder $150 m\mu$. As suas espessuras variam de 200 a $250 A$, com um espaço intermediário de 80 a $120 A$.

As três duplas membranas formam uma zona de separação para o retículo endoplasmático de cada meio sarcômero; nenhuma das formações do retículo de um lado de H insinua-se entre essas e as miofibrilas adjacentes, para prolongar-se na outra metade do sarcômero. As cisternas proximais da zona A estão assim opostas de cada lado destas três formações da mesma maneira do que as cavidades

terminais de cada lado da linha Z. A interpretação destas três formações, em relação a outras partes do retículo, torna-se difícil. Algumas micrografias de cortes longitudinais sugerem que a formação mediana estaria em relação com uma das cisternas proximais e viria intercalar-se entre as duas formações laterais ligadas com o fundo da cisterna proximal oposta. Assim, poderia explicar-se, em corte transversal, a presença indiferentemente de três, duas, ou uma duplas membranas, segundo o corte tenha passado, seja a distância igual das cisternas, pelas três membranas duplas contíguas, seja mais em direção de uma ou outra das cisternas, pelas duas duplas membranas laterais ou, ainda, pela única central (y, Figs. 5 e 11). Ademais, também em corte transversal, aparentemente nos lugares os mais vizinhos de A, a formação mediana ou as formações laterais podem ser substituídas por uma fila de pequenas cavidades circulares (y', Fig. 5) que poderiam corresponder à zona de comunicação entre as cisternas e as duplas membranas; esta se estabeleceria por intermédio de túbulos muito curtos, de orientação longitudinal. Todavia, a diferença de osmiofilia entre as duplas membranas densas e as membranas claras das cisternas proximais é tal que não é possível confirmar estas relações de continuidade entre as duas formações. Talvez a membrana de pequena densidade das cisternas somente se apóie contra a membrana densa das três formações e, neste caso, existiria unicamente contiguidade. De todo modo, é preciso conceber que a presença das três duplas membranas corresponde a uma zona de discontinuidade longitudinal dentro do retículo endoplasmático ao nível do disco H.

3 — *RELAÇÕES DO RETÍCULO ENDOPLASMÁTICO COM OS OUTROS CONSTITUINTES CELULARES*

Uma observação freqüentemente descrita pelos histologistas (c. F. 15) refere-se ao aspecto em festão, que pode apresentar, num corte longitudinal, a bordadura de fibras musculares fixadas em estado de encurtamento, quando o sarcolema está com chanfraduras periódicas ao nível de cada linha Z, como se estivesse ligado ao feixe de miofibrilas neste ponto. Este aspecto, que foi atribuído pelos histologistas a uma junção direta entre a linha Z e o sarcolema, foi encontrado de novo em microscopia eletrônica (13) e certas estruturas,

notadas sôbre sarcolema isolado, foram interpretadas (32) como vestígio da inserção da linha Z. Todavia, várias observações, no sarcolema periférico, de túbulos e de vesículas acumuladas em frente de Z e I, e mesmo de membranas ligando o retículo das miofibrilas ao sarcolema, fazem admitir agora que exista lá uma conexão entre, de um lado, não a linha Z mas o retículo endoplasmático situado em redor da região Z — I e, do outro, a membrana plásmica da fibra muscular (15, 16, 19, 20, 29, 21, 28); esta conexão seria assegurada por intermédio de membranas pertencentes ao retículo endoplasmático.

Sob êste prisma, as fibras musculares estudadas aqui parecem fazer exceção. Em virtude do grande desenvolvimento da camada do sarcoplasma subsarcolêmico, tais fibras constituem um material de observação favorável. De fato, para vencer uma tal distância entre as miofibrilas e o sarcolema, o retículo deve desenvolver-se notadamente e não pode escapar à observação numa zona tão largamente desenvolvida (Fig. 1). Na realidade, em todo êste conjunto de sarcoplasma periférico, os perfis de membranas são muito raros e muito distantes uns dos outros, sem relação com o retículo das colunetas musculares. A Fig. 15 representa uma parte da periferia de uma fibra muscular, cortada transversalmente ao nível da zona I, portanto na zona onde o retículo apresenta o seu desenvolvimento máximo entre as miofibrilas. Há uma desproporção enorme entre o retículo interfibrilar (r. e. 1) e alguns perfis (r. e. 2) no sarcoplasma periférico (Sp). O retículo interfibrilar desaparece de repente na zona fronteira entre a coluneta muscular e o sarcoplasma subsarcolêmico, sem apresentar prolongamentos em direção do sarcolema. Êste fato, ilustrado aqui na zona I, foi encontrado também em numerosos cortes longitudinais em todos os níveis dos sarcômeros (Fig. 4). O retículo endoplasmático é praticamente inexistente no sarcoplasma periférico; êste não apresenta acumulação particular de túbulos e vesículas em frente das zonas I e da linha Z. Por outro lado, existe (27) aplicado ao sarcolema, uma camada de mitocôndrias contíguas (Mt, Fig. 4), tão apertadas umas contra as outras que muitas vêzes, estas se deformam reciprocamente, e não deixam entre elas nenhum espaço disponível que possa servir de passagem às junções entre o sarcolema e o retículo interfibrilar. Estas mitocôndrias formam, portanto, um

obstáculo importante entre o retículo e o sarcoplasma. O limite da fibra muscular (m. l., Figs. 1, 2 e 4) comporta uma membrana basal (m. b., Fig. 15) de 40 a 60 $m\mu$ de espessura, talvez equivalente à camada cuticular do sarcolema de PORTER (33), uma membrana mais fina, de cerca de 10 $m\mu$, às vezes difícil de distinguir, considerada como a membrana plásmica (m. p., Fig. 15) e, entre as duas, um espaço de 15 a 20 $m\mu$. Contra esta membrana, as mitocôndrias subsarcolêmicas estão aplicadas tão estreitamente que é muitas vezes difícil discernir a membrana mitocondrial externa da membrana plásmica. Do mesmo modo, no sarcoplasma intercolunar, não aparecem membranas suscetíveis de conectar os sarcômeros de duas colunetas musculares vizinhas, nem acumulações de túbulos e de vesículas em certos níveis. Estas fibras musculares de carangueijos representam, portanto, um caso particular, onde o retículo não se estende através de toda a célula muscular, mas somente no interior de cada coluneta muscular. Estes resultados são obtidos com ainda mais evidência em *Carcinus maenas*, porque o sarcoplasma é muito mais abundante em relação às colunetas musculares.

Os núcleos são pouco numerosos nestas fibras musculares, e, em geral, localizados na periferia da célula. Exibindo acúmulos de cromatina principalmente contra a membrana nuclear e um envelope duplo limitando um espaço de 15 a 50 $m\mu$ de espessura, interrompido localmente pelos "pores canals", a sua estrutura é conforme ao que foi evidenciado em numerosos tipos celulares (14). Em vista da grande raridade dos perfis de membrana fora das colunetas musculares, não existe muito retículo na vizinhança do núcleo e não foi possível constatar com certeza uma junção qualquer do espaço perinuclear com o espaço interno do retículo endoplasmático. A respeito dos mitocôndrios, algumas micrografias (Flecha, Fig. 15) indicam a possibilidade de uma junção entre a membrana mitocondrial externa e o retículo, principalmente no caso de mitocôndrias pericolunares. Os pequenos grânulos são, sem dúvida, equivalentes àqueles observados em fibras musculares de Vertebrados e comparáveis aos grânulos presumidos de RNP evidenciados em outros tipos celulares (10, 11, 12). Esses grânulos estão distribuídos indiferentemente em todo o conjunto do sarcoplasma e podem assim encontrar-se tanto aplicados contra as membranas do retículo, ou mesmo no interior

das cavidades terminais como contra as mitocôndrias, as miofibrilas e as membranas nucleares.

DISCUSSÃO

Examinando a ultraestrutura de fibras musculares de funções diversas e providas de espécies variadas, EDWARDS e colaboradores (20) observaram que o retículo endoplasmático, bem desenvolvido nas fibras de baixa frequência de contração, estava relativamente reduzido nas fibras de alta frequência. No caso presente de fibras musculares das peças bucais de carangueijos, com exceção do grande desenvolvimento do retículo, a estrutura é característica de fibras de alta frequência: diâmetro pequeno, valor baixo da relação miofibrilas/sarcoplasma, abundância e distribuição ordenada das mitocôndrias, curto período da estriação, reservas figuradas do glicogênio. Tal se evidencia ainda mais fortemente da comparação com os músculos dos apêndices locomotores, cujas fibras musculares oferecem um tipo de estrutura completamente oposto (27). Todavia, a frequência de batimento do flagelo do exopodito é baixa; medida por PAINLEVÉ e HAMON (34) em *Galathea strigosa*, por meio de um registro cinematográfico, corresponde nesta espécie a 8 batimentos por segundo. Estimando que numa espécie de comportamento mais rápido como *Callinectes danae*, este valor seja maior, ele não excederá provavelmente o duplo, logo ainda é muito pequeno em relação às fibras dos músculos do vôo dos Insetos que, com uma estrutura análoga, têm uma frequência de várias centenas por segundo. Como explicar, então a existência de uma estrutura de alta frequência em fibras musculares, tendo de fato, uma baixa frequência de contração? Na realidade, é provável que a estrutura de uma fibra muscular seja mais característica da intensidade do seu metabolismo do que da sua frequência de contração. Naturalmente, de uma alta frequência resulta um metabolismo intenso com uma estrutura correlativa, mas uma fibra de baixa frequência pode igualmente apresentar um metabolismo elevado e uma estrutura análoga. De fato, de acordo com a equação de HILL (35, 36): $E = A + ax + W$, a energia E liberada pela fibra muscular no curso de um "twitch" aparece com três formas independentes umas das outras: A, calor

de ativação, ax , calor de encurtamento, c (onde x é a taxa de encurtamento, e a , uma constante) e W o trabalho mecânico. No caso de um batimento, pode ocorrer compensação da baixa frequência por um encurtamento importante e um trabalho mecânico elevado em cada contração da fibra. O valor de W aumenta muito com a carga encontrada pelo músculo; no caso presente, a carga corresponde à resistência oposta pela água aos batimentos do flagelo do exopodito; é evidente que esta é muito maior do que para batimentos efetuados no ar por um animal não aquático. Por outro lado, o flagelo, ao bater desloca-se no interior de um ângulo que pode atingir 130° , o que implica igualmente uma taxa elevada de encurtamento x das duas fibras musculares. Para estimar a validade desta hipótese, medidas do metabolismo das fibras musculares do exopodito estão em andamento e os resultados serão dados ulteriormente. Ainda que tais resultados forem em favor da hipótese, restará não obstante o fato de que, conforme os dados de EDWARDS, o retículo apresenta uma característica de baixa frequência que não está em relação com os outros fatos de estrutura. Seria necessário, nesse caso, considerar que talvez apenas o desenvolvimento do retículo endoplasmático dependa diretamente da frequência de contração da fibra muscular, independentemente da intensidade do metabolismo.

Nas fibras musculares de Vertebrados estudados por PORTER e PALADE (21), o retículo é um sistema que comporta somente túbulos, vesículas e cisternas, formando como regais muito fenestrados em redor das miofibrilas. No caso presente, o retículo comporta além dos túbulos, vesículas e cisternas, outro tipo de estrutura que não se pode referir a estas formações. A parte do retículo que se estende em volta das miofibrilas em frente das zonas I e A distal é de fato uma parede contínua, formada de duas membranas justapostas, separadas por um espaço intermediário correspondendo ao meio interno do retículo. Não existem soluções de continuidade se se admitir que as pequenas rupturas ocasionais são alterações, como sugere a falta de regularidade da presença nas preparações. Trata-se, porém, de uma estrutura com "duplas membranas" que evoca a terminologia utilizada por SJÖSTRAND e colaboradores a respeito de "membranas intracelulares citoplasmáticas" (37, 38, 39 e 40) e de "citomembranas" (40). Mas aqui não são duplas mem-

branas independentes; estão em conexão com as outras partes do retículo endoplasmático, no conjunto do qual se incorporam. A ausência de fenestração nestas duplas membranas em frente da zona I e da zona A distal, modifica a noção de rede introduzida pelo termo "retículo". Assim os regais de membranas dispostos ao redor das miofibrilas não são constituídos por uma rede no sentido longitudinal, ao nível destas duas zonas. Todavia, apesar desta objeção, o termo de retículo pode ser conservado considerando-se que, no sentido transversal, as duplas membranas formam também uma rede numa outra escala, contendo em cada malha, uma miofibrila.

Segundo os dados de PORTER e PALADE, os elementos tubulosos e vesiculosos do retículo são limitados por uma membrana simples, encerrando um conteúdo homogêneo sem estruturas. Não é o caso aqui presente para as formações em frente das zonas I. As cavidades terminais têm de fato uma parede formada de uma dupla membrana e o seu conteúdo é feito de sarcoplasma com pequenos grânulos densos. O termo de "terminal cisternae" não pode ser conservado para designar estas formações, apesar de que elas possuem um certo número de caracteres comuns com as vesículas da faixa I assim designadas por PORTER; sua localização por exemplo é a mesma e justifica o uso da palavra "terminal". Mas o termo "cisternae" implica numa noção de reservatório contendo um fluido e limitado por uma membrana simples, quer dizer, o fluido só pode ser a fase compreendida no interior do retículo. No caso presente, nos níveis terminais em frente da zona I, não há nenhuma dilatação das membranas do retículo determinando uma acumulação do meio interno dêste último. O que está encerrado aí nas cavidades limitadas por uma dupla membrana é outra substância, externa em relação à fase contida no retículo e para qual o termo cisterna não convém. Isto é ainda mais evidente considerando-se que existe neste mesmo retículo perto do disco H, "cisternae" proximais que correspondem à acepção clássica desta palavra. E precisa, portanto, distinguir as cavidades terminais como duas estruturas de natureza bem diferente, apesar de uma localização semelhante.

As formações que representam o retículo em frente do disco H são igualmente estruturas com duplas membranas, que não fazem parte dos tipos túbulos, vesículas e cisternas do retículo. Não há

nenhuma comunicação direta entre as três formações. Se existem relações entre elas, pelo menos, no caso das formações laterais, será pelo intermédio das cisternas proximais, com as quais estas podem ser conetadas. A questão desta junção é de um certo interesse e é lastimável que ainda não esteja elucidada; com efeito, se esta junção não existe, se as cisternas proximais só se apoiam sem anastomoses contra as membranas duplas do disco H, estas últimas devem então ser consideradas como duplas membranas independentes, não incorporadas ao conjunto do retículo. Observações mais completas são necessárias para saber se há descontinuidade do retículo. No caso presente, os raros perfis de membranas das zonas largas de sarcoplasma não têm relações entre êles, não se reúnem com a membrana celular e, aparentemente, não têm conexões com o espaço perinuclear. O retículo endoplasmático forma um sistema contínuo somente no interior de cada coluneta muscular, no sarcoplasma interfibrilar.

A periodicidade de organização do retículo endoplasmático, em fase com a estriação das miofibrilas e suas conexões com o sarcolema e o espaço perinuclear, deram ocasião a uma hipótese a respeito das suas funções prováveis na fibra muscular. Na primeira sugestão (21), o retículo funcionaria como um sistema de canais para o transporte dos metabolitos desde os espaços extracelulares até as diversas partes da célula e formaria, assim, uma espécie de aparelho circulatório intracelular. No caso das fibras musculares estudadas aqui, as largas zonas de sarcoplasma subsarcolêmicas e intercolunares são provavelmente um lugar de acumulação importante de metabolitos, como o fazem supor as aglomerações densas de glicogênio que aí se encontram. Segundo esta hipótese, o retículo deve ter uma função dupla de transporte, de uma parte para os metabolitos destinados diretamente às miofibrilas, de outra parte, para os metabolitos acumulados no sarcoplasma. Isto implica em que, no sarcoplasma periférico, o retículo tem um desenvolvimento em volume pelo menos igual ao volume do retículo localizado entre as miofibrilas. A raridade das endomembranas neste sarcoplasma marca, ao contrário, uma muito grande desproporção em relação ao retículo tão abundantemente representado no sarcoplasma interfibrilar. Por outro lado, a ausência de continuidade do retículo entre o sarcolema e as colunetas musculares torna igualmente esta hipótese bem improvável aqui. Um

transporte de metabolitos pelo retículo endoplasmático seria todavia possível segundo a concepção de BENNET e PORTER (15), na qual o retículo não teria uma estrutura fixa, mas poderia variar de forma no curso da contração e efetuar migrações no sarcoplasma e nas miofibrilas. As poucas vesículas encontradas no sarcoplasma periférico poderiam então conceber-se como sendo móveis e contendo substâncias em trânsito. Como camada contínua de mitocôndrias subsarcolêmicas impõe um limite ao seu trajeto, o transporte somente se faria desde estas mitocôndrias até as mitocôndrias das colunetas musculares, o que se traduziria nas micrografias pelas imagens de junções de endomembranas com as membranas mitocôndrias. Todavia, subsiste sempre a objeção de uma enorme desproporção de volume entre o retículo interfibrilar e os raros perfis periféricos de membranas; é difícil conceber uma compensação para esta desproporção pela grande rapidez dos fenômenos de migração das vesículas periféricas no curso da contração.

A segunda hipótese sugere-se que há uma condução intracelular da excitação da fibra muscular desde o sarcolema até as miofibrilas, pelo intermédio do retículo endoplasmático. Esta idéia, expressa pela primeira vez no século 19 por RETZIUS (17), foi renovada, graças às observações em microscopia eletrônica, primeiramente por BENNETT (16), depois por outros autores (20, 21, 42, 43). No caso das fibras musculares dos carangueijos, a ausência de conexões entre o retículo intrafibrilar e a membrana celular como entre o retículo de duas colunetas musculares vizinhas, torna inconcebível a condução de uma onda de despolarização no interior da fibra. Se a condução intracelular da excitação pelas membranas do retículo endoplasmático pode ser considerada como provável no caso de músculos de Vertebrados (42), é preciso admitir aqui outro processo para efetuar a sua transmissão desde o sarcolema até as miofibrilas, através das camadas espessas de sarcoplasma que circundam as colunetas musculares. Na realidade, existem importantes diferenças nas modalidades da inervação e nos mecanismos mioneurais entre as fibras musculares estriadas dos Vertebrados e as dos Crustáceos. Nos Vertebrados há em geral uma só terminação nervosa (placa motora) por fibra muscular e a contração nasce, com forma de um re-puxo (twitch) do tipo tudo ou nada concomitante à propagação de

um potencial de ação. Em Crustáceos, há grande número de terminações nervosas distribuídas sôbre tôda a superfície da fibra muscular (44) e os músculos que podem responder aos potenciais de junção de valor baixo, produzem contrações muito potentes sem propagação do potencial de ação (45, 46, 47, 48). E' possível que estas diferenças de funcionamento estejam em relação com as diferenças de organização do retículo, verificadas entre as fibras musculares dos Vertebrados e as dos Crustáceos. Nestes últimos, a condução de uma onda de despolarização no interior da célula muscular não seria, pois, mais efetiva do que a passagem de um potencial de ação ao longo da membrana celular.

BIBLIOGRAFIA

1. PORTER, K. R., CLAUDE, A. e FULLAM, E. F., *J. Exp. Med.*, 1945, 81, 233.
2. PORTER, K. R. e THOMPSON, H. P. — *Cancer Research*, 1947, 7, 431.
3. PORTER, K. R. e THOMPSON, H. P. — *J. Exp. Med.*, 1948, 88, 15.
4. PORTER, K. R. e KALLMAN, F. L. — *Ann. New York Acad. Sci.*, 1952, 54, 882.
5. PORTER, K. R. — *J. Exp. Med.*, 1953, 97, 727.
6. PALADE, G. E. e PORTER, K. R. — *Anat. Rec.*, 1952, 112, 370.
7. PALADE, G. E. e PORTER, K. R. — *J. Exp. Med.*, 1954, 100, 641.
8. PALADE, G. E. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1955, 1, 567.
9. PORTER, K. R. — *J. Histochem. and Cytochem.*, 1954, 2, 346.
10. PALADE, G. E. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1955, 1, 59.
11. PALADE, G. E. e SIEKEVITZ, P. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1956, 2, 171.
12. PALADE, G. E. e SIEKEVITZ, P. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1956, 2, 671.
13. PALADE, G. E. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1956, 2, n.º 4, suppl. 85.
14. WATSON, M. L. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1955, 1, 257.
15. BENNETT, H. S. e PORTER, K. R. — *Am. J. Anat.* 1953, 93, 61.
16. BENNETT, H. S. — *Am. J. Phys. Med.*, 1955, 34, 46.
17. RETZIUS, G. — *Biol. Untersuch.*, 1881, 1, Ser. 1, 1.
18. CAJAL, S. R. — *Internat. Monatschr. Anat. u. Physiol.*, 1888, 5, 205.
19. EDWARDS, G. A. e RUSKA, H. — *Quart. J. Micro. Sci.*, 1955, 96, 151.
20. EDWARDS, G. A., RUSKA, H., SOUZA-SANTOS, P. e VALLEJO-FREIRE, A. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1956, 2, n.º 4, suppl. 143.
21. PORTER, K. E. e PALADE, G. E. — *J. Biophysic. and Biochem. Cytol.*, 1957, 3, 269.

22. SMITH, S. L. — Trans. Connecticut Acad. Sci., 1869, 2, 7.
23. PENNANT, Th. — Brit. Zool., 1777, 4, 3.
24. BERNHARD, W. — Exp. Cell. Research, 1955, 8, 248.
25. RIBEIRO DE ARRUDA, P. — Ciência e Cultura, 1957, 9, 144.
26. LAVALLARD, R. — C. R. Acad. Sc., 1957, 244, 2553.
27. LAVALLARD, R., SOUZA-SANTOS, H., SOUSA-SANTOS, P. e SAWAYA, P. — Ciência e Cultura, 1959.
28. PORTER, K. R. — J. Biophysic. and Biochem., Cytol., 1956, 2, n.º 4, suppl. 163.
29. ROBERTSON, J. D. — J. Biophysic. and Biochem. Cytol., 1956, 2, 369.
30. SJÖSTRAND, F. S. e ANDERSSON-CEDERGEN, E. — J. Ultrastructure Research, 1957, 1, 108.
31. HODGE, A. J., HUXLEY, H. E. e SPIRO, D. — J. Exp. Med., 1954, 99, 201.
32. DRAPER, M. H. e HODGE, A. J. — Australian J. Exp. Biol. and Med. Sc., 1949, 27, 465.
33. PORTER K. R. — Anat. Rec., 1954, 118, 342.
34. PAINLEVÉ, J. e HAMON, G. — Film: "Le mouvement des pièces buccales chez des Crustacés marins". Institut de Cinematographie Scientifique, Paris, 1955.
35. HILL, A. V. — Proc. Roy. Soc., B., 1949, 136, 220.
36. HILL, A. V. — Proc. Roy. Soc., B., 1950, 137, 40.
37. SJÖSTRAND, F. S. — Nature, 171, 30.
38. SJÖSTRAND, F. S. e RHODIN, J. — Exp. Cell Research, 1953, 4, 426.
39. RHODIN, J. — Correlation of Ultrastructural Organisation and Function in Normal and Experimental Changed Proximal Convolted Tubule Cells of the Mouse Kidney, Karolinska Institutet, Stockholm, Aktiebolaget Godvil, 1954, 1.
40. SJÖSTRAND, F. S. e HANSON, V. — Exp. Cell. Research., 1954, 7, 393.
41. SJÖSTRAND, F. S. — Electron microscopy of cells and tissues, in Physical Techniques in Biological Research, vol. 3, (G. Oster, and A. W. Pollister, editors). New York, Academic Press Inc., 1956, 241.
42. RUSKA, H., EDWARDS, G. A. e CAESAR, R. — Experientia, 1958, 14, 117.
43. PEACHEY, L. D. e PORTER, K. R. — Science, 1959, 129, 721.
44. HARREVELD, A. van — J. Comp. Neurol., 1939, 70, 267.
45. WIERSMA, C. A. G. — Biol. Symp., 1941, 3, 259.
40. KATZ, B. e KUFFLER, S. W. — Proc. Roy. Soc. B., 1946, 133, 374.
47. KATZ, B. — Biol. Rev., 1949, 24, 1.
48. FATT, P. e KATZ, B. — J. Exp. Biol., 1953, 30, 433.

RÉSUMÉ

Des coupes ultrafines de muscles provenant de pièces buccales de deux espèces de Crabes, ont été examinées au microscope élec-

tronique. Les principaux caractères de la structure de fibres musculaires sont rapportés avec une étude particulière du reticulum endoplasmatique. Ce dernier est constitué par un réseau de membranes localisé à l'intérieur des colonnettes musculaires, dans le sarcoplasme interfibrillaire. Dans chaque sarcomère, le reticulum se subdivise en trois régions de morphologie différente: 1) en face de la zone I et de la zone A distale, le reticulum est formé d'une double membrane continue formant comme un manchon autour de chaque myofibrille; 2) en face de la zone A proximale, le reticulum, comprenant des tubules et des vésicules en orientation longitudinale, est caractérisé par une discontinuité transversale; 3) en face de la bande H, formé par trois doubles membranes contigues, le reticulum semble affecté d'une discontinuité à la fois transversale et longitudinale. Le reticulum présente encore, au niveau des zones I, des cavités terminales limitées par une membrane double et contenant du sarcoplasme, et situées de part et d'autre de la bande H, des cisternes proximales. L'absence de connexion entre le reticulum des colonnettes musculaires et la membrane plasmique de la cellule musculaire est discutée en fonction des hypothèses actuelles sur le rôle probable du reticulum endoplasmique dans les fibres musculaires striées.

Exprimimos nossos agradecimentos à Dra. Helena de SOUZA-SANTOS, ao Dr. Pérsio de SOUZA-SANTOS, ao Dr. Paulo SAWAYA e ao Dr. Paulo RIBEIRO de ARRUDA pelos seus preciosos conselhos e os seus estímulos constantes. A realização deste trabalho foi possível graças ao auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas e da Universidade de São Paulo.

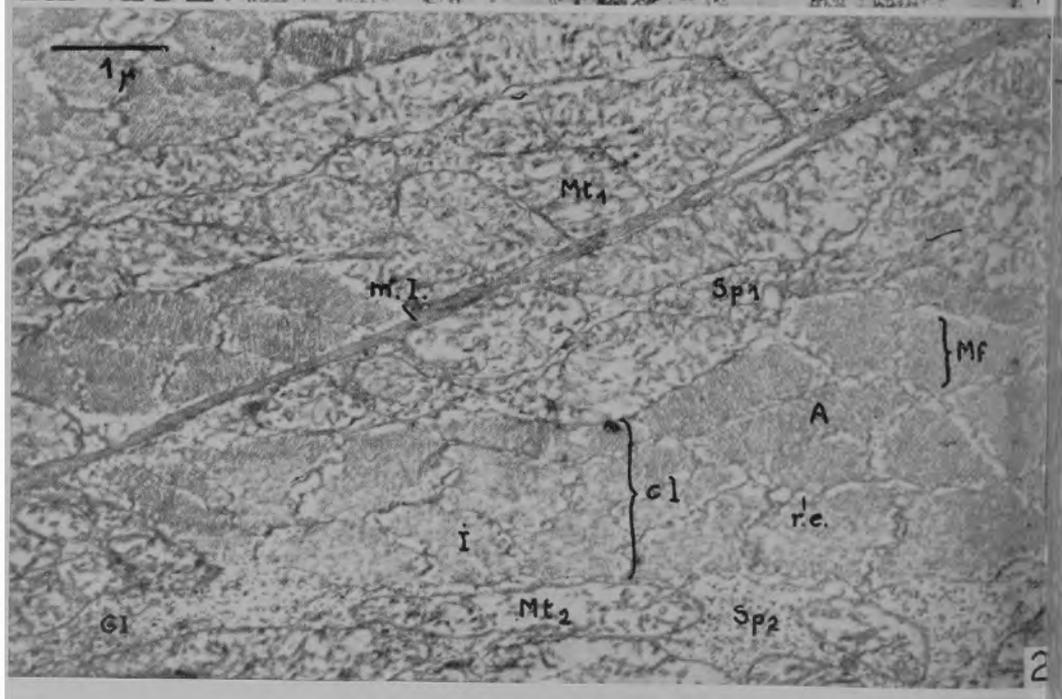
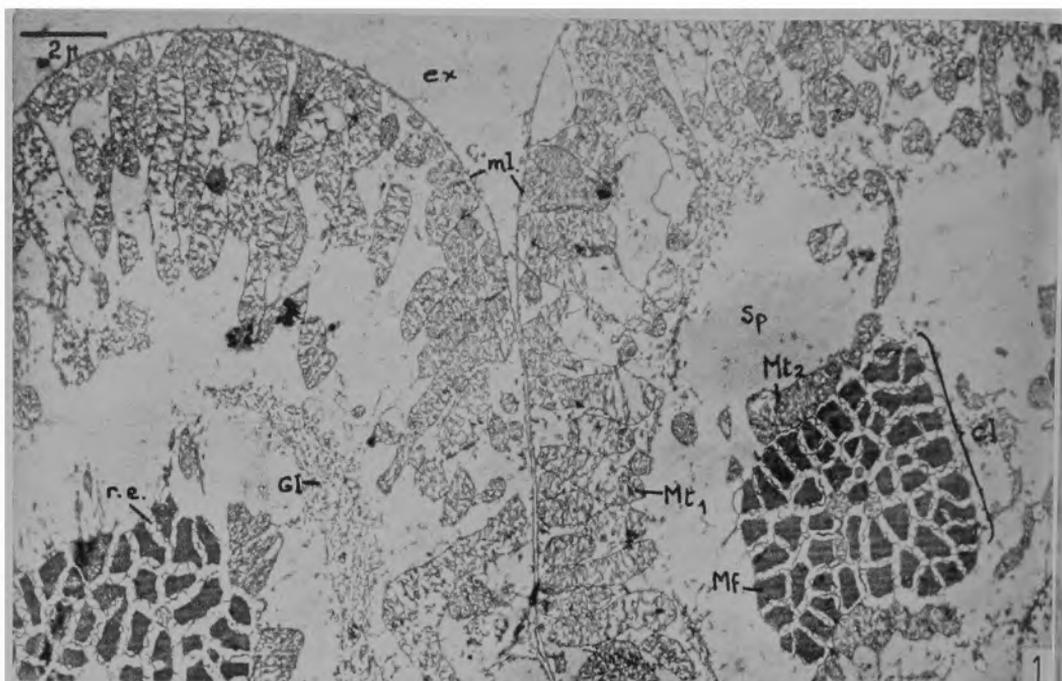
EXPLICAÇÃO DAS PRANCHAS

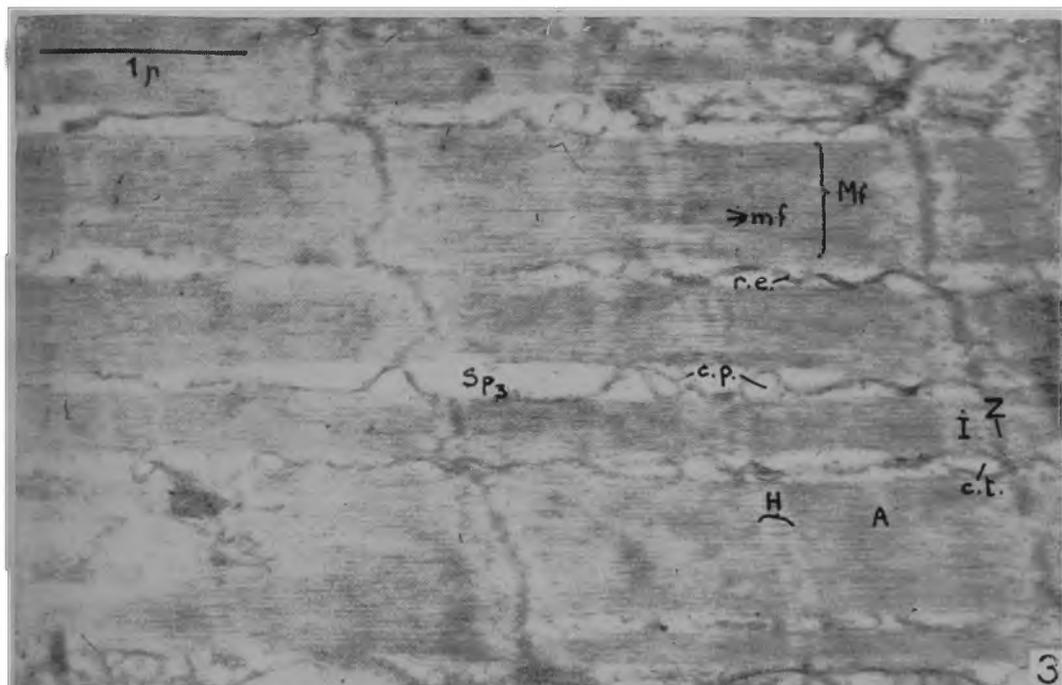
- Fig. 1 — Micrografia eletrônica com aumento pequeno de um corte transversal passando por duas fibras musculares do exopodito em *Carcinus maenas*. x 5.500.
- Fig. 2 — Micrografia eletrônica de corte transversal da periferia de duas fibras musculares contíguas em *Callinectes danae*. x 15.000.
- Fig. 3 — Corte longitudinal de uma coluneta muscular em *Carcinus maenas*. x 27.000.

- Fig. 4 — Corte longitudinal na parte periférica de uma fibra muscular de *Callinectes danae*. x 22.000.
- Fig. 5 — Micrografia eletrônica dando uma vista geral, em corte transversal, do retículo endoplasmático entre os limites de um sarcômero. x 45.000.
- Figs. 6 a 9 — Micrografias eletrônicas de cortes longitudinais, correspondendo mais ou menos ao comprimento de um sarcômero.
- Fig. 10 — Corte transversal de miofibrilas passando na maioria pela zona isotrópica em *Callinectes danae*. x 36.000.
- Fig. 11 — Mesmo material que na fig. 10, mas o corte transversal passa na maioria pela zona anisotrópica. x 42.000.
- Fig. 12 — Corte transversal ao nível de uma cavidade terminal do retículo endoplasmático. x 35.000.
- Fig. 13 — Corte transversal ao nível de cisternae proximais do retículo. x 39.000.
- Figs. 14 e 14' — Cortes transversais passando pelas três membranas duplas contíguas localizadas em frente do disco H. x 61.000.
- Fig. 15 — Micrografia eletrônica da zona subsarcolêmica em corte transversal de uma fibra muscular de *Callinectes danae*. x 41.000.

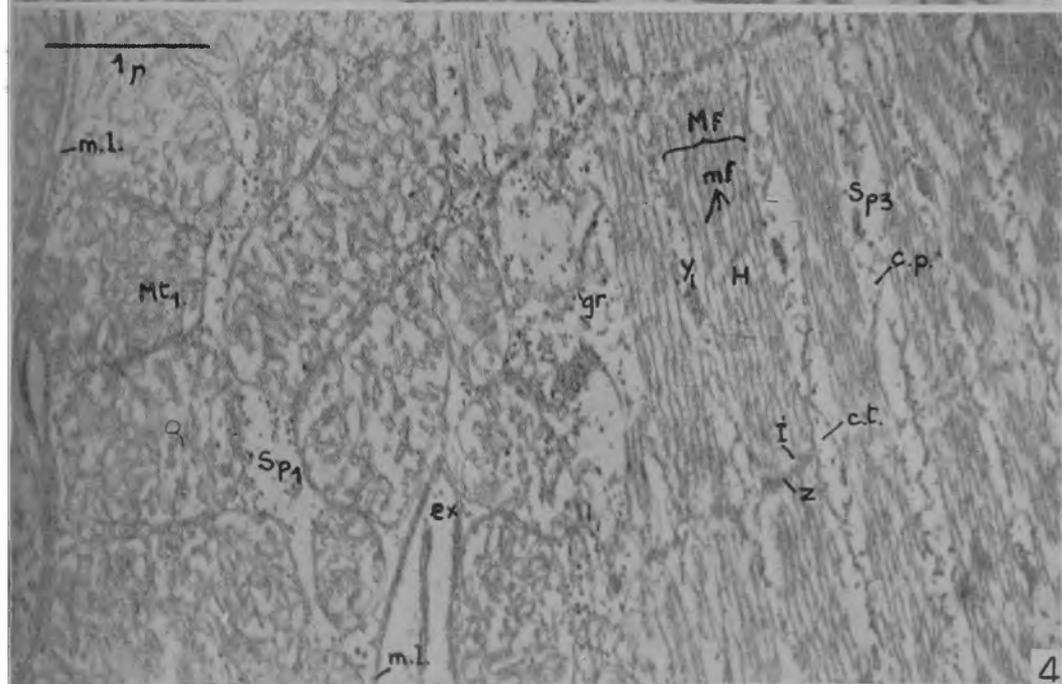
A: zona anisotrópica; cl: coluneta muscular; c. p.: cisterna proximal; c. t.: cavidade terminal; ex: espaço extracelular; Gl: acumulação de glicogênio; gr: pequenos grânulos densos; H: disco de Hansen; I: zona isotrópica; M: estria M; m. b.: membrana basal da fibra muscular; m. l.: complexo de membranas do sarcolema; m. p.: membrana plásmica da fibra muscular; Mf: miofibrilas; mf: miofilamentos; Mt: mitocôndrias; Mt₁: mitocôndrias subsarcolêmicas; Mt₂: mitocôndrias pericolunares; r. e.: retículo endoplasmático; r. e.₁: retículo endoplasmático interfibrilar; r. e.₂: perfil de membranas no sarcoplasma subsarcolêmico; Sp: sarcoplasma; Sp₁: sarcoplasma subsarcolêmico; Sp₂: sarcoplasma intercolunar; Sp₃: sarcoplasma interfibrilar; t: túbulos; y: forma particular do retículo em frente do disco H, com três duplas membranas contíguas; Z: linha Z.

Explicações mais detalhadas encontram-se no texto.





3



4

