



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

CARLOS EDUARDO VALE REBOUÇAS

MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE PREÁS
(*Galea spixii* WAGLER, 1831)

MOSSORÓ-RN
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

CARLOS EDUARDO VALE REBOUÇAS

MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE PREÁS
(Galea spixii WAGLER, 1831)

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da Universidade
Federal Rural do Semi-Árido como requisito
para obtenção do título de Mestre em Ciência
Animal.

Linha de Pesquisa: Morfofisiologia e
Biotecnologia Animal

Orientador: Prof. Dr. Moacir Franco de
Oliveira - UFERSA.

MOSSORÓ-RN
2018



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo ele (a) passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Central Orlando Teixeira (BCOT)
Setor de Informação e Referência (SIR)

R289m Rebouças, Carlos Eduardo Vale .
MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE
PREÂS (Galea spixii WAGLER, 1831) / Carlos
Eduardo Vale Rebouças. - 2018.
113 f. : il.

Orientador: Moacir Franco de Oliveira.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em
Ciência Animal, 2018.

1. Macroscopia. 2. Histoquímica. 3. Galea
spixii. 4. Ácinos. 5. Ductos. I. Oliveira, Moacir
Franco de , orient. II. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

CARLOS EDUARDO VALE REBOUÇAS

MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE PREÁS
(Galea spixii WAGLER, 1831)

Dissertação apresentada ao Mestrado em
Ciência Animal do Programa de Pós-
Graduação em Ciência Animal da
Universidade Federal Rural do Semi-
Árido como requisito para obtenção do
título de Mestre em Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Morfofisiologia e
Biotecnologia Animal

Defendida em: 27 / 02 / 2018

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira (UFERSA)
Presidente

Prof. Dr. Wirton Peixoto Costa (UFERSA)
Membro Examinador

Dr. Gleidson Benevides de Oliveira
Membro Examinador



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

A **Deus**, que me concedeu durante todo esse período força e perseverança para a conclusão deste trabalho.

À minha mãe, **Maria de Fátima Vale Rebouças**, minha esposa, **Laura Helena Costa Silva Aires**, e meu filho, **Luís Eduardo Aires Rebouças**, por todo apoio, carinho e compreensão, que de alguma forma estiveram e estão próximos de mim, fazendo a minha vida valer a pena.

Ao meu orientador, Dr. **Moacir Franco de Oliveira**, que não mediu esforços para me ajudar nessa etapa tão importante da minha vida.

Dedico



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a **Deus**, que iluminou o meu caminho durante esta caminhada. Assim, junto a Ti, tudo é mais fácil.

À minha amada esposa, companheira, amiga e confidente **Laura Helena Costa Silva Aires**, pelo seu grande amor, afeto e imenso carinho, estando comigo em todos os momentos, sempre de sorriso aberto, me acalmando nos momentos mais difíceis com seus abraços, beijos e suas palavras amorosas que me serviram de incentivo para continuar lutando. Você é meu tudo e minha vida.

Ao meu amado filho, **Luís Eduardo Aires Rebouças**, por tê-lo ao meu lado, sempre estando presente em todos os momentos da minha vida, sendo compreensivo por tantas vezes durante a minha ausência e me dando forças no decorrer da execução deste trabalho.

À minha amada mãe, **Maria de Fátima Vale Rebouças**, que com suas palavras de carinho e afeto sempre me estimulou a seguir em frente e não mediu esforços para me ajudar. Ao meu pai, **Evônio do Carmo Rebouças** e demais **familiares**, que representam a base sólida da minha existência e me ensinaram a viver com dignidade. A todos, um muito obrigado!

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Moacir Franco de Oliveira**, mais conhecido como Moa. Agradeço a forma tranquila, objetiva e amigável como conduziu tudo até aqui. Mesmo com tantos afazeres, sempre esteve à disposição para me orientar. Tenho uma imensa admiração, respeito e gratidão por ter confiado no meu trabalho e pela oportunidade de crescimento científico.

A **Silvia Helena da Costa Silva Aires** e **Tertuliano Aires Dias Segundo**, que juntos sempre foram muito mais que sogra e sogro, são amigos, pais e conselheiros, que me mostraram a



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

importância da mudança e a necessidade de recomeçar. Hoje cheguei aqui através dos seus incentivos.

Agradeço imensamente a **Maria Fabiola Vale Andrade**, diretora do Centro de Aprendizagem Moderna (CEAMO), pelo apoio, compreensão, confiança e suporte oferecido, que foram fundamentais para me incentivar a continuar a crescer na minha profissão e a sempre buscar mais conhecimentos. Estendo esse agradecimento a todas as coordenadoras do colégio, em especial **Maria Vilani Alves, Abilene Costa Guimarães e Daladiana Myrlla Vale**.

Agradeço imensamente aos meus amigos de laboratório, **Hélio Noberto de Araújo Júnior, Carlos Magno Oliveira Júnior e Ferdinando Vinícius Fernandes Bezerra**. Sem a ajuda e incentivo de vocês, a realização deste trabalho não teria sido possível. A todos vocês só posso dizer: “muitíssimo obrigado!”

Aos amigos da pós-graduação, **Herson da Silva Costa, Paulo Mateus Alves Lopes, Luã Barbalho de Macedo, Radan Elvis Matias de Oliveira, Felipe Venceslau Câmara, Igor Renno Guimarães Lopes e André Menezes do Vale**, agradeço pela amizade, ajuda na conclusão deste trabalho e também por todo esse período de ótima convivência.

À **Universidade Federal Rural do Semi-Árido**, que tornou possível a realização do meu estudo.

A todos os **professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal**, que contribuíram para a minha formação acadêmica.

À **Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**, pela ajuda na realização das análises das técnicas de microscopia eletrônica de transmissão.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

Aos **funcionários do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS), Caubi Rocha de Macedo, Antônio Almeida dos Santos, Manoel Messias dos Santos e Francisco das Chagas Souza**, pela enorme ajuda nas coletas dos materiais.

A **todos** que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, a minha eterna gratidão.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

"Não há saber mais ou saber menos. Há saberes diferentes".

(Paulo Freire)



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE PREÁS (*Galea spixii* WAGLER, 1831)

REBOUÇAS, C. E. V. **Morfologia das Glândulas Salivares Maiores de Preás (*Galea spixii* Wagler, 1831). 2018. 113f.** Dissertação (Mestrado em Morfofisiologia Animal) – Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2018.

RESUMO

Os trabalhos de morfofisiologia com animais silvestres são pertinentes, pois fornecem dados que servem de subsídios para a tomada de atitudes que visam a criação de planos de manejo zootécnico, sanitário e alimentar, possibilitando a preservação e manutenção dessas espécies criadas em cativeiro. Estudos sobre a morfologia de preás abordam os vários sistemas, mas nenhum deles faz referência à topografia ou arranjo estrutural de suas glândulas salivares maiores. Esta pesquisa teve como objetivos descrever a morfologia das glândulas salivares maiores de *Galea spixii*, com base em técnicas de macroscopia, microscopia de luz convencional, microscopia eletrônica de transmissão, de varredura e histoquímica. Os protocolos foram autorizados pelo ICMBio e Comissão de Ética no Uso de Animais, tendo sido utilizados 12 animais adultos. Os animais foram dissecados, as glândulas caracterizadas macroscopicamente e fotodocumentadas. Em seguida foram coletados fragmentos de cada glândula que foram processados segundo técnicas para Hematoxilina-Eosina, Ácido Periódico de Schif, Tricômico de Gomori e Azul de Alcian. Secções de cinco micrômetros foram coradas, analisadas e fotografadas em microscópio Leica RM2125 RT[®]. Os resultados permitem que se afirme que o preá silvestre possui quatro pares de glândulas salivares maiores representadas pelas parótidas, mandibulares, zigomáticas e sublinguais. Estas são lobuladas, constituídas por ácinos mucosos e serosos, secretam mucinas de natureza ácidas e neutras e, comumente, apresentam ductos intercalares, estriados e excretores. A ultraestrutura das células acinares sugere, que estas possuem grande atividade celular e confirmam o que se estabeleceu com base na microscopia de luz. Dentre as glândulas, apenas as mandibulares são lobadas e contêm adicionalmente ductos granulosos.

Palavras-chave: Macroscopia. Histoquímica. *Galea spixii*. Ácinos. Ductos.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

MORPHOLOGY OF THE MAJOR SALIVARY GLANDS OF THE SPIX'S YELLOW-TOOTHED CAVY (*Galea spixii*, WAGLER, 1831).

REBOUÇAS, C. E. V. **Morphology of the major salivary glands of the Spix's yellow-toothed cavy (*Galea spixii* Wagler, 1831). 2018. 113f.** Dissertação (Master's degree in animal science) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró – RN, Brasil, 2018.

ABSTRACT

Morphophysiology studies with wild animals are pertinent, since they provide data that serve as a basis for the adoption of attitudes towards the creation of plans for zootechnical, sanitary and alimentary management, allowing the preservation and maintenance of these species raised in captivity. Studies about the morphology of *preás* approach the various systems, but not a single study makes reference to both topography and structure arrangement of their salivary glands. This research had the objectives of describing the morphology of the salivary glands of the *Galea spixii*, based on macroscopic techniques, conventional light microscopy, electronic transmission microscopy, electronic scanning microscopy and histochemistry. The protocols were authorized by the ICMBio and the Ethics Committee on the Use of Animals, for 12 adult animals. The animals were dissected and the glands were photodocumented and macroscopically characterized. Then, fragments from each gland were collected and processed according to Hematoxylin-Eosin, Schiff Periodic Acid, Gomori Trichome and Alcian Blue staining techniques. 5-micrometer sections were stained, analyzed and photographed under a Leica RM2125 RT® microscope. The results allow us to state that the Spix's yellow-toothed cavy has four pairs of major salivary glands represented by the parotid, mandibular, zygomatic and sublingual glands. They are lobulated, constituted by mucous and serous acini, they secrete mucins of acid of a neutral nature and commonly present intercalated, striated and excretory ducts. The ultrastructure of the acinar cells suggests that they have great cellular and confirm what was established based at light microscopy. Among the glands, only the mandibular glands are lobed and also contain granular ducts.

Keywords: Macroscopy. Histochemistry. *Galea spixii*. Acini. Ducts.



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Representação diagramática dos adenômeros das glândulas salivares maiores. Fonte: (RAUBENHEIMER; NIEKERK; HAUMAN, 1987)..... 34
- Figura 2 - Espécie estudada. Preá (*Galea spixii* Wagler, 1831) CEMAS – UFERSA, 2017. Fonte: Arquivo pessoal..... 45
- Figura 3 - Macroscopia das glândulas salivares maiores do preá (*Galea spixii*). Em A, na vista lateral, verifica-se o músculo parótido auricular (MPA), com suas fibras dispostas em sentido longitudinal e a presença do músculo masseter (M). Em B, observa-se que após o rebatimento do músculo cutâneo e cutâneo da face, é possível visualizar a topografia das glândulas salivares maiores do preá, na qual observa-se a presença da glândula mandibular (GM), glândula parótida (GP), glândula zigomática (GZ), além do ducto (D) da glândula parótida que percorre ventralmente o músculo masseter (M). Bar = 1 cm..... 57
- Figura 4 - Macroscopia das glândulas salivares maiores do preá (*Galea spixii*). Em A, na vista lateral, verifica-se o músculo parótido auricular (MPA), que após o rebatimento, encontra-se ventrolateral a glândula parótida (GP). Na porção ventral da região ocular (RO), observa-se a presença da aponeurose que recobre a glândula zigomática (GZ), além da presença da glândula mandibular (GM) na porção lateral cervical e o músculo masseter (M). Em B, vista ventral, observa-se a presença do ducto da glândula parótida (seta amarela), e lateral ao ducto, verifica-se a veia lingual (seta vermelha), além da presença da glândula mandibular (GM), do linfonodo (Li) e do músculo parótido auricular (MPA). Bar = 1 cm..... 58
- Figura 5 - Macroscopia das glândulas salivares maiores do preá (*Galea spixii*), vista ventral. Visualiza-se o músculo masseter (M), na porção ventral ao músculo, observa-se o ducto da glândula parótida (cabeça de seta). Em sua porção mais caudal, pode-se observar a glândula mandibular (GM) e na região medial verifica-se o músculo esternohioideo (ME). Dispostos em pares na lateral do músculo, verificam-se os linfonodos (Li). Bar= 1cm..... 58
- Figura 6 - Microscopia de luz da glândula parótida do preá. Em A, observa-se uma porção da cápsula de tecido conjuntivo (TC) que envolve a glândula e seus lóbulos (Lo) delimitados por septos (seta amarela) de conjuntivo oriundos da cápsula presente nessa glândula. Em B, os ácidos (asterisco) da glândula parótida são constituídos por células predominantemente serosas, com forma variando entre cúbica (seta amarela) e piramidal (seta preta), núcleos basófilicos



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

arredondados (cabeça de seta) e situados na região basal da célula. Em C, vários ductos (setas verdes) de tamanhos variados dispostos no interior dos lóbulos parênquima glandular, envoltos por colágeno (cabeça de seta). A e B - Coloração em HE. C - Coloração em Tricrômico de Gomori..... 60

Figura 7 - Microscopia de luz da glândula mandibular do preá. Em A, visualiza-se parte da cápsula (C) que envolve a glândula, separando-a em lóbulos (Lo) delimitados por tecido conjuntivo (setas pretas) e ainda há organização acinar do parênquima (asterisco). Também se verificam ductos de diâmetro variados (setas amarelas), dispostos em porções distintas do parênquima dos lóbulos glandulares. Em B, os ácinos serosos são formados por células piramidais altas (cabeça de seta), com núcleos redondos (setas pretas), localizados na porção basal da célula. Os ácinos mucosos (asterisco) eram menos numerosos, possuíam núcleos achatados (seta vermelha) localizados na região basal. Em C, septos de tecido conjuntivo (setas pretas) dividem a glândula em lóbulos (Lo). A e B - Coloração em HE. C - Coloração em Tricrômico de Gomori..... 62

Figura 8 - Microscopia de luz da glândula zigomática do preá. Em A, verifica-se que a zigomática se assemelhou à glândula mandibular e parótida no que se refere à presença da cápsula de tecido conjuntivo emitindo septos (setas pretas) e sua divisão em lóbulos (Lo). Em B, ácinos predominantemente mucosos (asterisco), com células piramidais (seta) e núcleos grandes e esféricos (cabeça de seta), dispostos na posição basal. Em C, visualiza-se no estroma da zigomática, tecido conjuntivo (cabeça de seta) margeando os ácinos. A e C - Coloração em Tricrômico de Gomori. B - Coloração em HE. 64

Figura 9 - Microscopia de luz da glândula sublingual do preá. Em A, ácinos mucosos (asterisco) e serosos (cabeça de seta) da glândula sublingual. É possível observar a presença de células mioepiteliais (setas amarelas) envolvendo alguns ácinos. As células acinares apresentaram epitélio cúbico simples, com núcleos achatados, localizados na região basal (seta preta). Em B, há poucas fibras colágenas (setas pretas) ao redor dos ácinos (asterisco) sublinguais. A - Coloração em HE. B - Coloração em Tricrômico de Gomori. 65

Figura 10 – Fotomicrografias dos ductos intercalar e estriado da glândula parótida do Preá. Em A, fotomicrografia do ducto intercalar da glândula parótida do preá. As células ductais apresentam um epitélio cúbico simples, citoplasma eosinofílico (seta amarela), núcleos dispostos na região central das células (cabeça de seta) e um pequeno lúmen ductal (seta verde). Os ductos intercalares possuem íntima relação com os ácinos (asterisco). Em B, fotomicrografia do ducto estriado (DES) da glândula mandibular do preá. O ducto está formado por epitélio simples com células cúbicas, citoplasma abundante e muito acidófilo (setas pretas). Os núcleos



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

(cabeça de seta) apresentam forma esférica e alguns deles continham nucléolo organizado (setas amarelas). O lúmen acinar do ducto estriado (setas verdes) apresentava maior diâmetro quando comparado ao lúmen do ducto intercalar. A e B - Coloração Hematoxilina-Eosina..... 66

Figura 11 - Fotomicrografias do ducto granuloso da glândula mandibular do preá. Em A, verifica-se a presença de vários ductos granulosos (asterisco) com diferentes diâmetros, em que se observam, no ápice do citoplasma, os grânulos de secreção (setas verdes). Em B, percebe-se que as células ductais possuem base larga (cabeça de seta), ápices estreitos e granulações na porção apical das células (seta verde). Seus núcleos (setas pretas) são poucos basofílicos e alguns deles continham nucléolo evidente (setas amarelas). Ao centro das células ductais está o lúmen (L) do ducto. Identifica-se ainda a presença de células mioepiteliais (setas vermelhas) e os grânulos de secreção (seta verde). A - Coloração em Tricrômico de Gomori. B - Coloração em HE..... 67

Figura 12 - Fotomicrografia dos ductos excretores das glândulas salivares maiores do preá. Em A, os ductos excretores da parótida (setas amarelas) estão envolvidos por grande quantidade de tecido conjuntivo frouxo (setas verdes) próximos a vasos sanguíneos (setas pretas) e dispostos entre lóbulos glandulares (asteriscos). Em B, os ductos excretores da zigomática apresentam fibras de colágeno (setas) ao redor do ducto. Em C, o ducto excretor da sublingual apresenta um epitélio cúbico (seta preta), com núcleos variando entre a forma ovoide e esférica (seta verde), localizados na região apical do citoplasma. O citoplasma apresentou-se eosinofílico (seta amarela) e os núcleos (seta verde) coravam-se mais fortemente pela hematoxilina. A e C - Coloração em HE. B - Coloração em Tricrômico de Gomori..... 68

Figura 13 - Histoquímica das glândulas salivares maiores do preá coradas com azul de Alcian (pH 2,5). Em A, a parótida apresentou reação negativa para o AA. Em B, acerca da mandibular, observa-se que o resultado é positivo fraco na lâmina própria, que se cora em azul. Em C, e D, a zigomática e a sublingual, respectivamente, reagiram fortemente ao AA, demonstrando que secretam glicoconjugados ácidos carboxilados. 70

Figura 14 - Histoquímica das glândulas salivares maiores do preá coradas com Ácido Periódico de Schif (PAS). Em A, a parótida mostrou-se pouco reativa ao PAS. Em B, a mandibular reagiu moderadamente ao PAS e em C (zigomática) e D (sublingual) ocorreu uma forte coloração a essa técnica, indicando a produção de glicoconjugados neutros presente em suas secreções.. 70

Figura 15 - Histoquímica das glândulas salivares maiores do preá coradas com associação de azul de Alcian (AA) pH 2,5 com Ácido Periódico de Schif (PAS). Em A, as lâminas com ácinos da glândula parótida reagiram fracamente à associação das duas técnicas (setas pretas) demonstrando que a secreção produzida por estes ácinos é pouco ácida. Em B, a mandibular



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

apresentou reação moderada apenas ao azul de Alcian (seta pretas), indicando que sua secreção é pobre em mucinas neutras. Em C, quando comparados os marcadores histoquímicos PAS (setas vermelhas) e Azul de Alcian (setas pretas) para os ácinos mucosos da zigomática, observou-se que eles apresentaram forte positividade à associação. Em D, os ácinos da sublingual reagiram moderadamente a apenas ao azul de Alcian (setas pretas). 71

Figura 16 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá usando *Arachis hypogaea* (PNA). Em A, o ducto da glândula parótida reagiu fracamente (setas pretas) à lecitina PNA. Em B, ocorreu uma fraca marcação (setas pretas) a *Arachis hypogaea* no ducto da mandibular. Em C, a zigomática corou fracamente (setas pretas) o seu ducto com PNA. Em D, a lecitina *Arachis hypogaea* teve fraca positividade (setas pretas) ao ducto da sublingual. 72

Figura 17 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá utilizando *Bandeiraea simplicifolia* (BSA-I-B₄). Em A e B, a glândula parótida e mandibular, respectivamente, não reagiram com a BSA-I-B₄. Em C, o ducto da zigomática apresentou fraca positividade (setas pretas) com *Bandeiraea simplicifolia*. Em D, a lecitina BSA-I-B₄ reagiu fracamente (setas pretas) à marcação nos ductos da sublingual. 73

Figura 18 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá utilizando *Canavalia ensiformis* (Con-A). Em A, a lecitina *Canavalia ensiformis* apresentou intensa positividade (setas pretas) para glândula parótida em seu conjunto de ductos. Em B, os ductos da mandibular tiveram marcações que variaram de moderado (setas vermelhas) a intensa (setas pretas) com Con-A. Em C, a zigomática reagiu intensamente com *Canavalia ensiformis* na superfície do lúmen (setas pretas) e moderadamente na região basal das células ductais (setas vermelhas). Em D, a Con-A corou (setas pretas) os ductos da sublingual de maneira moderada. 74

Figura 19 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá utilizando *Triticum vulgare* (WGA). Em A (parótida), B (mandibular) e C (zigomática), a lecitina *Triticum vulgare* reagiu fracamente (setas pretas) nos ductos das glândulas. Em D, a WGA corou moderadamente (seta preta) o ducto da sublingual. 75

Figura 20 - Eletromicrografias das glândulas salivares maiores do preá. Em A, observam-se que as células acinares da glândula parótida são piramidais (seta azul) repletas de grânulos de secreção (asterisco) eletrofluorescentes e núcleo (N) esférico. Identificam-se ainda vasos sanguíneos e hemácias (seta vermelha). Bar = 10µm. Em B, o citoplasma da célula acinar da parótida possui várias mitocôndrias (setas verdes), retículo endoplasmático (RE) e grânulos de secreção (setas amarelas) eletrofluorescentes de diâmetros variados. Células mioepiteliais (seta vermelha) foram observadas com aspecto achatado. Bar = 5µm. Em C, células acinares (seta verde) da zigomática são piramidais, com a base larga na região basal e o ápice estreito voltado para o



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

lúmen (seta amarela). O citoplasma possui grande quantidade de grânulos de secreção (setas vermelhas), o núcleo (N) é esférico e basal. Células acinares juntas formam o ácino e no centro do ácino está o lúmen (seta amarela). Bar = 5 μ m. Em D, células acinares piramidais da sublingual apresentam o ápice em contato com um lúmen (seta amarela), grande quantidade de grânulos de secreção eletrofluorescentes de tamanhos variados, alguns contendo pontos elétrondensos em seu interior (setas vermelhas). Os núcleos (N) são redondos e heterocromático. Bar = 5 μ m.77

Figura 21 - Eletromicrografias das glândulas salivares maiores do preá. Em A, observa-se o aspecto lobular (setas amarelas) da mandibular e a cápsula de tecido conjuntivo da glândula (seta verde). Bar – 100 μ m. Em B, os ácinos ovoides (setas amarelas) da mandibular estão envolvidos por tecido conjuntivo. Bar – 100 μ m. Em C, detalhe de um ducto percorrendo a glândula mandibular. Bar – 100 μ m. Em D, é possível observar os ácinos (AC) da zigomática e vários ductos (setas verdes) convergindo para formar um ducto principal (DP). Bar – 100 μ m. Em E, observa-se a disposição dos ácinos (setas verdes) da zigomática e tecido conjuntivo (seta amarela). Bar – 50 μ m. Em F, ducto da glândula zigomática rodeado de tecido conjuntivo (setas verdes), no centro do ducto encontra-se o lúmen (seta amarela) ductal. Bar – 20 μ m..... 79



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Especificação das colorações histoquímicas utilizadas nas glândulas salivares maiores dos preás.	50
Tabela 2 - Lecitinas utilizadas em estudos histoquímicos nas glândulas salivares maiores dos preás.....	51
Tabela 3 - Reações histoquímicas das glândulas salivares maiores do preá.	69
Tabela 4 - Padrões de marcação das lecitinas nos ductos das glândulas salivares maiores do preá.	72



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

µm -	Micrometro
AA -	Azul de Alcian
AC -	Ácinos
Bar -	Barra
BSA-I-B ₄ -	<i>Bandeiraea simplicifolia</i>
C -	Cápsula
CEMAS -	Centro de Multiplicação de Animais Silvestres
CEUA -	Comissão de Ética no Uso de Animais
Con-A -	<i>Canavalia ensiformis</i>
D -	Ducto
DES -	Ducto estriado
DP -	Ducto principal
Fuc -	Fucose
Gal -	Galactose
GalNAc -	N-acetilgalactosamina
Glc -	Glicose
GlcNAc -	N-acetilglicosamina
GM -	Glândula mandibular
GP -	Glândula parótida
GZ -	Glândula zigomática
ha -	Hectare
HE -	Hematoxilina-Eosina
IBAMA -	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente
ICMBio -	Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

kg -	Quilograma
L -	Lúmen
Li -	Linfonodo
Lo -	Lóbulos
M -	Masseter
Man -	Manose
ME -	Músculo esternohioideo
mEq.Kg ⁻¹ -	Miliequivalente por quilo
MET -	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV -	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg -	Miligramas
mg.Kg ⁻¹ -	Miligrama por quilo
MPA -	Músculo parótido auricular
N -	Núcleo celular
Neu5Ac -	Ácido 5-acetilneuraminic
Neu5Gc -	Ácido 5-glicolilneuraminico
NeuNAc -	Ácido N-acetilneuraminico
PAS -	Ácido Periódico de Schiff
PNA -	<i>Arachis hypogaea</i>
RE -	Retículo endoplasmático
RO -	Região ocular
TC -	Tecido conjuntivo
UFERSA -	Universidade Federal Rural do Semi-Árido
WGA -	<i>Triticum vulgare</i>



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

LISTA DE SÍMBOLOS

- © Copyright
- ® Marca registrada
- % Porcentagem



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	25
2 OBJETIVOS	28
2.1 OBJETIVO GERAL.....	28
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	30
3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE GLÂNDULAS	30
3.2 ORIGEM E DESENVOLVIMENTO DAS GLÂNDULAS SALIVARES	32
3.3 OS PRINCIPAIS COMPONENTES DAS GLÂNDULAS SALIVARES	33
3.3.1 Ácinos.....	34
3.3.2 Células mioepiteliais.....	35
3.3.3 Ductos	36
3.4 GLÂNDULAS SALIVARES MENORES.....	38
3.5 GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES.....	38
3.5.1 Glândulas mandibulares	38
3.5.2 Glândulas parótidas	39
3.5.3 Glândulas sublinguais	41
3.5.4 Glândulas zigomáticas.....	42
3.6 – HISTOQUÍMICA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	43
3.7 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE	44
4 MATERIAL E MÉTODOS	47
4.1 LOCAL DE AMOSTRAGEM	47
4.2 ANIMAIS AMOSTRADOS	47
4.3 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO E EUTANÁSIA	48



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

4.4 PROCEDIMENTO PARA MACROSCOPIA	48
4.5 PROCEDIMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ.....	49
4.6 HISTOQUÍMICA.....	50
4.6.1 Histoquímica das mucinas	50
4.6.2 Imunohistoquímica das lecitinas	51
4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO	52
4.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA	53
5 RESULTADOS	56
5.1 MACROSCOPIA E TOPOGRAFIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	56
5.2 MICROSCOPIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	59
5.2.1 Microscopia de luz da glândula parótida	59
5.2.2 Microscopia de luz da glândula mandibular.....	61
5.2.3 Microscopia de luz da glândula zigomática	63
5.2.4 Microscopia de luz glândula sublingual	65
5.3 MICROSCOPIA DO SISTEMA DUCTAL DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	65
5.4 IMUNOHISTOQUÍMICA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES.....	69
5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	75
5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	77
6 DISCUSSÃO	81
6.1 MACROSCOPIA E TOPOGRAFIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	81
6.2 MICROSCOPIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	82
6.2.1 Microscopia de luz da glândula parótida	83
6.2.2 Microscopia de luz da glândula mandibular.....	83



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

6.2.3 Microscopia de luz da glândula zigomática	85
6.2.4 Microscopia de luz da glândula sublingual	86
6.3 MICROSCOPIA DO SISTEMA DUCTAL DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	87
6.4 IMUNOHISTOQUÍMICA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	88
6.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	92
6.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES	94
7 - CONCLUSÃO	98
REFERÊNCIAS	100
ANEXOS	110

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A pesquisa com animais silvestres fornece apoio para preservação de espécies ameaçadas de extinção e para sua manutenção em cativeiro. Lewinsohn e Prado (2006) estimaram que, considerando as possíveis necessidades de revisão taxonômica, existam 1.359.400 espécies de animais conhecidos no mundo e pelo menos 103.870 espécies ocorrem no Brasil. Dentre os mamíferos atualmente descritos, em cerca de 652 espécies são encontradas em território brasileiro e, embora haja preocupação com sua conservação e preservação, tais espécies continuam sendo substancialmente exterminadas, direta ou indiretamente, pela ação antrópica.

No Brasil 110 espécies de mamíferos estão oficialmente ameaçadas de extinção, sendo 30 espécies pertencentes à ordem Rodentia, o que representa 27,3% das espécies ameaçadas no país segundo o Ministério do Meio Ambiente (2014). As razões para a perda dessa biodiversidade são múltiplas, mas todas resultam da ação antrópica sobre os ecossistemas, aspectos que tornam importante a realização de estudos e pesquisas científicas que possam fornecer informações que possibilitem o desenvolvimento sustentável de modelos de manejo, sejam em ambiente natural ou em cativeiro, permitindo a elaboração de programas de conservação da vida silvestre, seja de roedores ou de outros mamíferos.

O preá (*Galea spixii*) é um roedor pertencente à subordem Hystricomorpha, família Caviidae e subfamília Caviinae. Possui o corpo alongado, é desprovido de cauda e apresenta cor uniforme, com a superfície dorsal cinza-escura e ventre branco. Pode ser encontrado desde o sudeste do estado do Pará e leste de Mato Grosso ao noroeste de Minas Gerais, oeste da Bahia, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte, sul do Ceará, centro-sul do Piauí e Maranhão, além do Distrito Federal (PINHEIRO et al., 1989; BONVICINO et al., 2008).

Devido à grande capacidade de adaptação, os roedores podem apresentar um grande número de variações fisiológicas, dentre elas a presença de glândulas salivares desenvolvidas, que interferem na ambientação destes animais, já que torna possível a ingestão de diferentes dietas, principalmente de alimentos mais secos (PHILLIPS; TANDLER, 1987; BRASIL, 2002).

Para que o alimento seco seja mais facilmente deglutido pelos mamíferos, é necessário que ele seja lubrificado pelas secreções mucosas e serosas das glândulas salivares. O produto de secreção dessas glândulas, a saliva, auxilia na degustação e dissolução dos alimentos, colabora no ajuste do pH do trato digestivo cranial, facilita a mastigação e umidifica os alimentos (GEORGE et al., 1998). Além disso, possui função antibacteriana (SAMUELSON, 2007).

As glândulas salivares de roedores possuem estrutura histológica muito similar à observada em glândulas salivares de humanos, fazendo com que esses animais sejam utilizados, muitas vezes, em pesquisas comparativas e em experimentos funcionais, devido às limitações técnicas e bioéticas em relação ao manuseio de tecidos humanos (GRESIK, 1994; TUCKER; MILETITCH, 2010; AMANO et al., 2012), sendo o camundongo o principal organismo modelo em mamíferos para estudos de genética funcional (HYTTEL et al., 2012).

Algumas doenças sistêmicas interferem na atividade das glândulas salivares, alterando a quantidade e composição da saliva produzida. Essas mudanças fazem da saliva um importante fluído na busca de biomarcadores de doenças, contribuindo para o diagnóstico e detecção precoce (KAUFMAN; LAMSTER, 2002). A fibrose cística é um exemplo: os pacientes apresentam concentrações de cálcio aumentadas, fazendo com que os clínicos utilizem a saliva para o diagnóstico dessa doença (MANDEL et al., 1967; BLOMFIELD et al., 1976; MANGOS e DONNELLY, 1981).

Os trabalhos de morfofisiologia com animais silvestres são pertinentes, pois fornecem dados que servem de subsídios para a tomada de atitudes que visam à preservação e manutenção dessas espécies criadas em cativeiro (SANTOS et al., 2010). Esses estudos possibilitam o desenvolvimento de modelos que podem viabilizar sua criação em cativeiro, bem como permitir o desenvolvimento de modelos sustentáveis para exploração comercial, pois propiciam o estabelecimento de planos de manejo zootécnico, sanitário e alimentar (NOGUEIRA FILHO; NOGUEIRA, 2000).

Estudos abordando aspectos como preservação e exploração de preás (PINHEIRO et al., 2002), morfologia do sistema nervoso (OLIVEIRA et al., 2010), sistema cardiovascular (COSTA et al., 2017) e placentação (OLIVEIRA et al., 2008) já foram realizados em preás. Todavia, verifica-se que, na literatura, há carência de dados referentes à morfologia do aparelho digestório e seus anexos, nesses animais. Com base nisto, este estudo descreve a morfologia das glândulas salivares maiores desses animais, a partir dos parâmetros microscópicos e macroscópicos, assim como descreve as relações de sintopia dessas glândulas, tornando possível entender melhor sua fisiologia digestiva, adicionando informações que possam agregar conhecimentos necessários à construção de um modelo animal experimental para com a espécie, uma vez que ela possui excelentes aptidões à manutenção em cativeiro. Tais resultados permitiram inferir sobre aspectos relativos ao manejo alimentar desses animais em cativeiro, o que poderá contribuir para a definição de planos de manejo voltados à preservação ou manutenção em cativeiro com finalidades diversas.

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever a morfologia das glândulas salivares maiores de preás, com base em técnicas de macroscopia, microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura e eletrônica de transmissão.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Descrever a anatomia e sintopia das glândulas salivares maiores de preás;
- b) Caracterizar histologicamente e ultraestruturalmente as glândulas salivares maiores de preás;
- c) Caracterizar o padrão histoquímico das glândulas salivares maiores de preás.
- d) Descrever os ductos das glândulas salivares maiores de preás

Revisão de Literatura

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE GLÂNDULAS

As glândulas são invaginações das superfícies epiteliais, envolvidas primariamente em processos de secreção, sendo formadas durante o desenvolvimento embrionário pela proliferação do epitélio de revestimento para os tecidos subjacentes (YOUNG et al., 2007). Elas podem ser classificadas de acordo com o número de células, número de ductos, forma, tipo de material secretado, método de distribuição de secreção e pela maneira com que as secreções são liberadas. Tomando como base o método de distribuição de seus produtos de secreção, são divididas em dois grandes grupos, o das glândulas endócrinas, que não possuem ducto excretor, pois perderam suas conexões com epitélios de origem, sendo sua secreção liberada dentro de vasos sanguíneos ou linfáticos, e o grupo das glândulas exócrinas, que liberam seus produtos por meio de ductos na superfície epitelial que as originaram (GARTNER; HIATT, 2011).

De acordo com Kierszenbaum e Tres, (2012) as glândulas exócrinas são classificadas conforme seus aspectos morfológicos em: tubular simples, tubular enovelada simples, tubular ramificada simples, acinosa ou alveolar simples, tubular ramificada, acinosa/alveolar ramificada e tubuloacinosa ramificada.

A glândula tubular simples possui um único lúmen tubular retilíneo, revestido por células secretoras caliciformes ou colunares e onde ficam armazenados os produtos da secreção. Glândula intestinais de Lieberkühn é um exemplo dessa glândula. A glândula tubular enovelada simples, que tem a glândula sudorípara como exemplo mais marcante, é caracterizada por possui um ducto excretor longo e a porção secretora intensamente enovelada, fazendo com que essa glândula seja vista nos vários planos de cortes histológicos. A glândula tubular ramificada simples caracterizar-se por ser dividida em duas ou mais porções secretoras tubulares que convergem para um curto ducto excretor único e não ramificado como exemplificado pelas glândulas da língua e do esôfago. As glândulas do estômago e do útero são exemplos de tubulares ramificadas simples que não possuem ducto excretor. A glândula acinosa ou alveolar simples sofre invaginações em superfícies epiteliais, possuindo a porção secretora terminal dividida em sacos arredondados chamados de ácinos ou alvéolos, sendo exemplificada pelas glândulas sebáceas da pele (KIERSZENBAUM e TRES, 2012).

As glândulas ramificadas são envolvidas por uma cápsula de tecido conjuntivo que emite septos, dividindo-as em lobos, que são subdivididos em pequenas unidades chamadas lóbulos. A glândula tubular ramificada possui um sistema de ducto excretor ramificado, sua porção

secretora possui forma tubular, ramificada e enovelada, um exemplo disso são as glândulas de Brunner do duodeno e as glândulas da cavidade oral. A glândula acinosa/alveolar ramificada possui ducto excretor com forma acinosa e que lança seus produtos para dentro de um sistema ramificado de ductos. Um exemplo desse tipo de glândula é o pâncreas exócrino, onde os numerosos ácinos pancreáticos secretam para pequenos ductos que desembocam em ductos excretores que aumentam progressivamente de diâmetro (YOUNG et al., 2007).

A glândula tubuloacinosa ramificada inclui as glândulas que possuem os três tipos de unidades secretoras ramificadas: a tubular, a acinosa e a tubular com regiões terminais acinosas chamadas semiluas. A glândula saliva submandibular exemplifica bem este tipo glandular. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

As glândulas salivares são estruturas anexas do aparelho digestório, localizadas na cavidade bucal, que eliminam a saliva através de seus ductos na cavidade oral, de modo a garantir a manutenção das condições fisiológicas normais do corpo, já que, como solução hipotônica, assume função lubrificante, facilita a mastigação e a deglutição, assim como auxiliam o paladar (SAMUELSON, 2007; GARTNER; HIATT, 2011; DYCE et al., 2004; SANTOS et al., 2012).

As estruturas morfofuncionais das glândulas salivares responsáveis pela produção e secreção salivar são chamadas de adenômeros. Esses são constituídos por células acinares e um complexo sistema de ductos glandulares (intercalares, estriados e excretores). A célula mioepitelial é outro tipo celular encontrado junto à lâmina basal e à membrana das células secretoras ou ductais, sendo responsável pelo esvaziamento da secreção das unidades secretoras e dos ductos (EMMELIN; GJORSTRUP, 1973; KATCHBURIAN; ARANA, 1999).

De acordo com a *Nomina Anatomica Veterinaria* (2017), as glândulas salivares dividem-se em menores (*glandulae salivariae minores*) e maiores (*glandulae salivariae majores*). As glândulas salivares menores são nomeadas, de acordo com sua localização, como labiais, bucais, linguais, palatinas, gengivais e glossopalatinas (BHASKAR, 1978; HAND, 1986; KLEIN, 1994), produzindo uma secreção mucosa, enquanto que as glândulas salivares maiores são compostas pelas glândulas parótidas, sublinguais e mandibulares, além da zigomática nos carnívoros e molar nos gatos domésticos (MOHAMMADPOUR, 2010), que produzem um fluido mais aquoso (seroso) e algumas produzem uma secreção mucosserosa, contendo a enzima ptialina (BANKS, 1991; VIEIRA et al., 2001, SAMUELSON, 2007; SANTOS et al., 2010).

3.2 ORIGEM E DESENVOLVIMENTO DAS GLÂNDULAS SALIVARES

As glândulas salivares, em humanos, se originam na cavidade oral primitiva, durante a sexta e a sétima semana do desenvolvimento embrionário, como brotos epiteliais sólidos do endoderma, na qual suas extremidades crescem em direção ao mesênquima subjacente, enquanto o tecido conjuntivo presente nelas é derivado das células da crista neural, segundo descreve Moore et al., (2012). A partir da proliferação do epitélio oral, tem início à propagação de um cordão epitelial sólido, que se ramifica e adentra ao ectomesênquima subjacente, levando à formação de um sistema ductal e dos ácinos secretores (CUTLER, 1990, KASHIMATA; GRESIK, 1996; CARLSON, 2000).

Tucker (2007) afirma que a formação das glândulas salivares se inicia a partir de um sólido núcleo de células epiteliais, que envolve o desenvolvimento coordenado das células mesenquimais, endoteliais e neuronais, e para que os ductos salivares possam desempenhar sua função, necessitam submeter-se à cavitação, para permitir o livre acesso entre a cavidade oral e a produção de saliva pelos ácinos.

Durante a sexta semana do seu desenvolvimento embrionário humano, surgem as glândulas salivares parótidas a partir do brotamento ectodérmico do estomodeu. Da mesma forma, através de brotamentos endodérmicos do assoalho do estomodeu, surgem as glândulas mandibulares, e ao final da organogênese surgem as glândulas sublinguais, por meio de brotos do endoderma do sulco paralingual, segundo descreve Almeida (1999).

Norberg et al. (1996) afirmam que o desenvolvimento das glândulas salivares maiores varia nos diferentes grupos animais. A glândula mandibular, em mini porcos, tem o seu broto formado pela invaginação do tecido epitelial, proveniente da cavidade oral primitiva, adjacente à língua em desenvolvimento, enquanto que o broto da glândula parótida se desenvolve a partir da adesão dos epitélios da porção de ligação do processo maxilar e mandibular (ZHOU et al., 2010). Em embriões de bovinos e suínos com vinte e um centímetros de comprimento, as glândulas mandibulares e sublinguais monostomáticas são as primeiras a se desenvolverem. Essas duas glândulas possuem longos ductos excretórios, que se abrem nas carúnculas sublinguais de forma pareada. As glândulas parótidas e sublinguais polistomáticas são as últimas a se desenvolverem (HYTTEL et al., 2012)

As glândulas zigomáticas, no porquinho da índia (*Cavia porcellus*), transcorridos quarenta e oito horas do parto, situam-se bilateralmente em torno do arco zigomático, próximo da região ventral de cada globo ocular. Ela apresenta uma cápsula de tecido conjuntivo

formando um septo, dividindo-se em lobos e lóbulos irregulares, rodeados de pequenos ácinos (RIBEIRO et al., 2007).

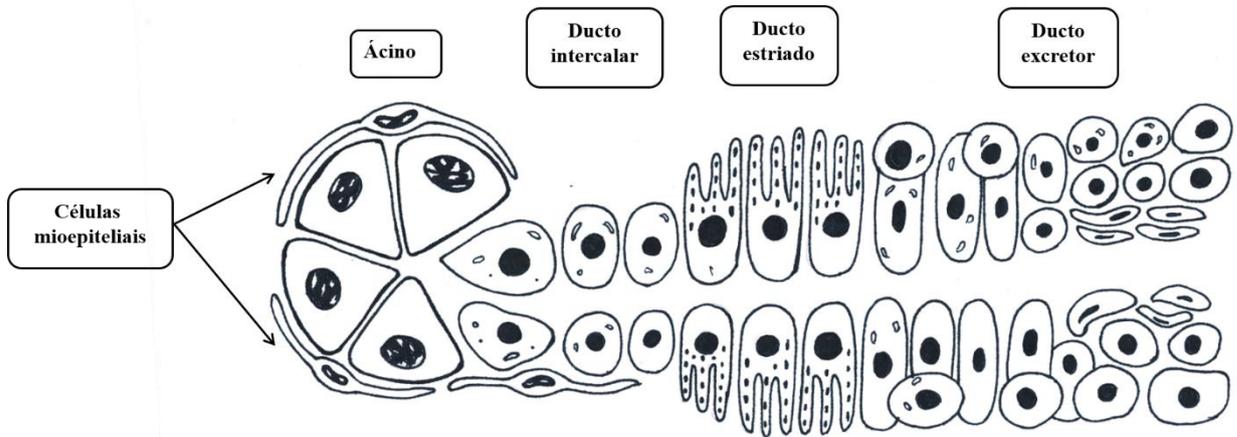
Taga e Sesso (2001) relatam que as glândulas parótidas de ratos albinos (*Rattus norvegicus*) recém-nascidos são totalmente imaturas, com botões e cordões terminais sólidos de células epiteliais indiferenciadas morfológicamente dentro de um tecido conjuntivo com características mesenquimais.

Para Fossati et al., (2004), as glândulas mandibulares de ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) iniciam o seu desenvolvimento na segunda semana de vida intrauterina, finalizando seu desenvolvimento somente no final do primeiro mês de vida. Wolff et al. (2002) descrevem que aos dezoito dias do desenvolvimento pré-natal, a maioria das gemas terminais das glândulas sublinguais de camundogos (*Mus musculus*) não possuem lúmen e consistem principalmente em células pouco diferenciadas. Os autores relatam que as células mucosas e serosas possuem origens de desenvolvimento separadas pelo fato de as células mucosas diferenciarem antes das células serosas.

3.3 OS PRINCIPAIS COMPONENTES DAS GLÂNDULAS SALIVARES

As glândulas salivares são classificadas como glândulas exócrinas pelo fato de a saliva convergir para o interior da boca, possuindo uma estrutura composta túbulo-acinar. Os componentes principais que formam o parênquima dessas glândulas são originados do ectoderma, a partir do epitélio oral primitivo, e podem ser subdivididos em: adenômeros, vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. Os adenômeros (Figura 1) são as unidades morfofuncionais das glândulas salivares, compostos por ácinos e ductos (JENSEN et al., 2003; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Figura 1 Representação diagramática dos adenômeros das glândulas salivares maiores. Fonte: (RAUBENHEIMER; NIEKERK; HAUMAN, 1987).



3.3.1 Ácinos

O parênquima da glândula salivar é formado pela união da unidade secretora terminal esférica ou tubular (ácino) mais uma série de ductos ramificados que liberam o produto secretado na região bucal (JAEGER; FREITAS, 2016).

Junqueira e Carneiro (2008) relatam que as glândulas salivares de humanos podem ser classificadas de acordo com a predominância de seus ácinos. A parótida é uma glândula salivar em que há um predomínio de ácinos serosos esféricos, sendo exclusivamente serosa, já a glândula submandibular é caracterizada como uma glândula mista, sendo que o número de estruturas serosas se sobrepõe ao de células mucosas. Na glândula sublingual há um predomínio das células mucosas; as células serosas se localizam na extremidade dos túbulos mucosos, arranjadas na forma de semiluas.

Ácinos serosos são aqueles que possuem grande quantidade de íons e água, com pouca expressão de glicoconjugados que podem apresentar atividade antimicrobiana e enzimática. As células acinares serosas são piramidais, polarizadas e sua região apical é especializada na secreção de substâncias. O citoplasma da célula serosa é basofílico, o núcleo é esférico, situado na porção basal. Sua cromatina é dispersa e o nucléolo é evidente, o que sugere que elas possuem intensa atividade metabólica. Já os ácinos mucosos produzem glicoproteínas pertencentes à família das mucinas como produto principal, acumulado em grânulos no citoplasma apical, além de glicoconjugados. A mucina forma uma barreira protetora de superfície, agregando-se a micro-organismos, além de promover lubrificação da cavidade oral.

A morfologia das células secretoras de muco varia de cúbica a cilíndrica e seus núcleos são elípticos (BERKOVITZ et al., 1992; MALKI, 2012; TEN CATE, 2013).

3.3.2 Células mioepiteliais

As células mioepiteliais podem ser encontradas em muitas glândulas exócrinas dos mamíferos, estando localizadas entre a membrana das células secretoras ou ductais e a lâmina basal da célula epitelial (OGAWA et al., 1999; EVESON et al., 2005). Essas células possuem citoplasma delgado, devido a sua forma fusiforme ou estrelária, e em cortes processados para microscopia óptica corados com hematoxilina–eosina, somente seus núcleos são visíveis (ARAÚJO et al., 1990).

Conforme estudos de Ogawa et al. (2000) e de Eveson et al. (2005) as células mioepiteliais são híbridas, com características epiteliais e musculares. Ten Cate (2001) afirma que as células mioepiteliais têm origem epitelial e se assemelham ultraestruturalmente às células musculares lisas. Para Shear (1966) as células mioepiteliais estão associadas às unidades secretoras e aos ductos das glândulas salivares, com função similar à contração muscular, desprovidas de função secretora. De acordo com Dardick (1996), a função contráctil das células mioepiteliais se deve à presença de filamentos de actina e miosina no citoplasma celular. As contrações dessas células auxiliam a expulsão da saliva através de compressão e fortalecimento das células do parênquima glandular. Produção da membrana basal, supressão de tumores e transporte de metabolitos são funções relatadas para essas células (REDMAN, 1994; HARDY; KRAMER, 1998; IANEZ et al., 2010; CHITTURI et al., 2015).

As células mioepiteliais também estão envolvidas com a manutenção da polaridade celular dada sua capacidade de sintetizar laminina-1, segundo citam Gudjonsson et al., (2002), em estudos com células de culturas primárias de biópsias de pacientes submetidos a mamoplastia e mastectomia com carcinoma de mama. Embora não comprovado, outra possível função dessas células é a propagação de estímulos nervosos devido à presença de junções do tipo GAP e pela detecção citoquímica de colinesterase, que dão suporte de forma ultramicroscópica a essa hipótese de transmissão de impulsos nervosos (CHITTURI et al., 2015).

Na glândula parótida do pika (*Ochotona rufescens*) e do coelho (*Romerolagus diazi*) de ambos os animais, não foram detectadas células mioepiteliais ao redor dos ácinos, ductos intercalados ou ductos estriados, enquanto os terminais nervosos foram observados entre as células acinares adjacentes, segundo descreve Suzuki et al. (1987).

Miguel (2006), trabalhando com glândulas parótidas de ratos submetidos à obstrução do ducto excretor principal, realizou um estudo morfológico e imunohistoquímico visando avaliar o comportamento das células mioepiteliais durante o processo de atrofia glandular. A autora pretendia analisar a expressão imunohistoquímica da calponina, um marcador de células mioepiteliais nas parótidas. Todos os espécimes exibiram positividade para a calponina nas células mioepiteliais, constatando um grande aumento no número de células marcadas positivamente, principalmente circundando as estruturas ductiformes que surgiram com o decorrer do tempo de obstrução.

3.3.3 Ductos

Quanto aos ductos, existem três tipos integrando o parênquima das glândulas salivares. Os ductos intercalados, os ductos estriados e os ductos excretores, conforme descrevem Katchburian e Arana, (2014). Bazan et al., (2001) estudando a ultraestrutura da glândula mandibular do gerbil (*Meriones unguiculatus*), descrevem a existência de um ducto granuloso separando os ductos intercalares e estriados. De acordo com Wong (2008), os ductos das glândulas salivares têm como função auxiliar a passagem da saliva da porção acinar até a cavidade oral, como também a troca iônica dessa secreção para correta execução de suas funções.

Os ductos intercalares são alongados e ramificados; os citoplasmas de suas células possuem alguns grânulos elétron-densos de tamanho variado na região apical e supranuclear. O complexo de Golgi possui vacúolos bem desenvolvidos na região supranuclear (SIMSON, 1969; PINKSTAFF, 1980). A estrutura dos ductos intercalares é formada por um epitélio cúbico simples, coberta parcialmente por células mioepiteliais. Como estão conectados diretamente aos ácinos, as células do ducto intercalado são a primeira porção ductal a receber a saliva, produzida pelas células acinares interligando-se ao restante dos ductos. O lúmen da porção secretora é contínuo ao lúmen do ducto intercalar, sendo seu comprimento diferente entre as glândulas salivares maiores e menores. Há a presença de pequenos grânulos de secreção na região apical, a qual possui pequenos microvilos projetando-se para dentro do lúmen. Esses grânulos possuem componentes como lisozima e lactoferrina, que são secretados na saliva. A junção dos ductos intercalares dá origem aos ductos estriados. (BERKOVITZ et al., 1992; SATO; MIYOSHI, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; TEN CATE, 2013).

Martinez-Madrigal e Micheau (1989) descrevem com base em microscopia eletrônica de transmissão, que as características estruturais das células do ducto estriado das glândulas

salivares são semelhantes às aquelas exibidas por células que transportam ativamente íons, como as células do túbulo contorcido renal. Já Gartner e Hiatt (2011) descrevem que os ductos intercalares diferem dos ductos estriados por possuírem uma única camada de células cúbicas. A característica morfológica mais relevante do ducto estriado é a presença de estrias na região basal do ducto devido aos dobramentos na superfície basolateral da membrana plasmática que formam as paredes dos ductos. No citoplasma das células que compõem a parede deste tipo de ducto há numerosas mitocôndrias alongadas, vesículas e grânulos de secreção em que há presença de calicreína e outras proteínas plasmáticas o que sugere a possibilidade de participação celular na endocitose de substâncias a partir do lúmen ductal (BERKOVITZ et al., 1992; PROCTOR; CARPENTER, 2007; TEN CATE, 2013).

A presença de ductos granulosos pode ser observada em glândulas mandibulares de roedores, tais como ratos (TAMARIN; SREEBNY, 1965), camundongos (CARAMIA, 1966) e cutias (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2016). Os ductos granulares de glândulas mandibulares, além de modificarem a saliva, secretam grande quantidade de proteínas, como as calicreínas (PROCTOR; CARPENTER, 2007). Os ductos granulosos do rato albino de laboratório (*Mus norvegicus albinis*) representam um segmento ductal altamente desenvolvido, sendo mais comumente designado como túbulo granular convoluto formado por uma camada de células prismáticas altas, que por sua vez, continuam-se com os ductos estriados (BARBOSA; TAGA, 1997).

Os trabalhos com a célula secretora do ducto granuloso da glândula mandibular, no camundongo, mostraram a existência de um dimorfismo sexual em nível subcelular, caracterizado pelo marcante desenvolvimento deste ducto secretor nos animais machos, sendo essas células mais altas e mais volumosas que as das fêmeas. Foi observado também que o retículo endoplasmático granular e o complexo de Golgi das células dos machos são mais desenvolvidos (ASSIS et al., 1994).

Em cutias (*D. aguti*), dos quatro pares de glândulas salivares maiores, apenas na glândula mandibular foi identificada a presença de ducto granuloso, com apenas uma única camada de células variando de cúbicas a colunares baixas, com pouco espaço citoplasmático e de aspecto eosinofílico. O núcleo era grande, localizado próximo à região basal, pouco basofílico, heterocromático e com um nucléolo proeminente (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2016).

3.4 GLÂNDULAS SALIVARES MENORES

O sistema salivar é composto por um grupo de glândulas exócrinas comumente separadas em dois grandes grupos: as glândulas salivares menores e as glândulas salivares maiores. Para Hand et al. (1999) as glândulas salivares menores são formadas por células luminiais acinares mucosas, podendo apresentar um componente seroso ou seromucoso, recobrando os ácinos ou túbulos mucosos. Secretam mucinas altamente glicosiladas, proteínas antimicrobianas e imunoglobulinas, que promovem a lubrificação dos tecidos e a agregação bacteriana. Também chamadas de glândulas salivares secundárias, intrínsecas ou acessórias, são encontradas na mucosa ou submucosa cavidade bucal, exceto nas gengivas e porção anterior e média do palato duro (FERRARIS; MUNÓZ, 2006; KATCHBURIAN; ARANA, 2014).

A secreção seromucosa das glândulas salivares menores, juntamente com um componente aquoso, confere aspectos químicos, físicos e biológicos muito semelhantes às lágrimas, sendo bem aceita pela superfície ocular (GOMES; ALVES, 2006).

3.5 GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

As glândulas salivares maiores são compostas pelas glândulas mandibulares, parótidas, sublinguais, zigomática nos carnívoros e alguns roedores, que são apresentadas a seguir.

3.5.1 Glândulas mandibulares

Glândula mandibular é a denominação dada à glândula submandibular pela *Nomina Anatomica Veterinaria* (2017) por considerar que esta, nos mamíferos domésticos, apresenta grande parte disposta caudalmente à mandíbula. Nos mamíferos domésticos esta glândula geralmente é menor que a parótida, mais compacta e localizada próxima ao ângulo da mandíbula. Caracteriza-se por apresentar um formato ovoide muito regular. Essa glândula drena por um ducto grande e único que segue ventralmente a mucosa do assoalho bucal, perto do frênulo da língua, abrindo-se na carúncula sublingual (DYCE et al., 2004; MARTUCCI et al., 2004). Já König e Liebich (2011) descrevem-na como uma glândula ligeiramente maior que a glândula parótida nos dos cães e gatos, sendo notavelmente maior que a parótida em ruminantes.

Abordando sobre a sintopia dessa glândula, Dyce et al. (2004) citam que a mesma se relaciona na sua porção cranial com a glândula sublingual e os músculos masseter e digástrico,

enquanto, medialmente, mantém vizinhança com o digástrico, a artéria carótida externa e o linfonodo retrofaríngeo medial. Já sua porção caudal relaciona-se com os músculos do pescoço.

Em cutias (*Dasyprocta aguti*), Oliveira Júnior et al. (2016) inferem que a glândula mandibular possui forma triangular e está localizada próximo ao ângulo da mandíbula, rostralmente com os linfonodos mandibulares, dorsalmente com a parte ventral da glândula parótida, ventralmente com o músculo digástrico, apresentando a parte mais encoberta pelo músculo masseter superficial e pela região ventral da glândula parótida

Santos et al. (2010), trabalhando com quatis (*Nasua nasua*), citam que as glândulas mandibulares se localizam caudoventralmente ao músculo masseter, no ângulo da junção das veias maxilar e línguofacial, cobertas parcialmente pelas glândulas parótidas em sua porção superior. As glândulas mandibulares dos quatis são macroscopicamente multilobadas, semelhantes às dos carnívoros domésticos. Microscopicamente essas glândulas encontram-se constituída por ácinos serosos, ductos intralobulares estriados, revestidos por epitélio prismático simples, ductos interlobulares que variam seu epitélio de cúbico simples a cúbico biestratificado e ductos intercalados revestidos por epitélio cúbico simples.

Em *Procyon cancrivorus* a glândula mandibular foi descrita como apresentando forma arredondada, seu ducto passando ao longo da face occiptomandibular do músculo digástrico e estiloglosso, emergindo na boca próximo ao frênulo da língua (PEREIRA, 2012). Já Leirião-Riva (2005) descreve que em cães que este ducto está localizado lateralmente, entre o músculo masseter e a mandíbula, medial ao digástrico, estiloglosso e milo-hióideo, abrindo-se próximo ao frênulo da língua.

Castro et al. (2010) realizaram um estudo envolvendo os aspectos morfológicos, morfométricos e topográficos do aparelho digestório do roedor *Chinchilla lanigera* e, ao abordarem sobre a glândula mandibular, citam que esta possui forma ovoide, mede aproximadamente 0,8 cm de tamanho e está localizada na região ventral ao corpo da mandíbula.

3.5.2 Glândulas parótidas

Para König e Liebich (2011), a glândula salivar parótida é um órgão pareado, que se situa na união entre a cabeça e pescoço, ventral à cartilagem auricular na fossa retromandibular, sendo que nos equinos ela recobre parcialmente a parede lateral da bolsa gutural. Está inserida ventralmente à orelha em relação à região caudal da mandíbula. Na maioria dos animais domésticos, o ducto salivar parotídeo cruza cranialmente e ventralmente a face profunda da parte caudal da mandíbula, cruzando a bochecha superficialmente na região cranial do músculo

masseter. Em seguida, o ducto segue em direção dorsal para penetrar na mucosa da bochecha, próximo do terceiro ou quarto dente maxilar molar (FRANDSON et al., 2011). Semelhante à glândula humana, a parótida em roedores é estritamente serosa, composta por ácinos e ductos (intercalares, estriados e excretores) que constituem o parênquima, e um estroma formado por tecido conjuntivo. (SUZUKI et al., 2003).

Oliveira Júnior et al. (2016), em trabalhos com cutias (*Dasyprocta aguti*), relatam que a glândula parótida possui forma irregular e é dotada de pequenos lobos, sendo a maior entre as quatro glândulas salivares maiores identificadas, localizada no ponto de união entre a cabeça e o pescoço, na intersecção do masseter e da cartilagem auricular, indo dorsalmente a partir da glândula mandibular em direção à base da orelha, cobrindo a porção cranial da glândula mandibular na região cervical. As glândulas parótidas apresentaram-se como sendo do tipo tubuloacinares, contendo em seu parênquima ductos dos mais variados tamanhos, sendo estritamente serosa.

As glândulas parótidas de cuíca (*Glironia venusta*), possuem forma triangular e cor parda esbranquiçada. Está localizada na depressão do músculo masseter, ventral à cartilagem auricular, dorsocaudal ao músculo masseter e cranialmente ao músculo esternomastoide. Estendendo-se em direção rostral, o ducto parotídeo cruza superficialmente o músculo masseter, entre as ramificações dos nervos faciais dorsal e ventral. Histologicamente, a glândula parótida é revestida por uma cápsula de tecido conjuntivo denso não-modelado, limitada externa e internamente por um epitélio simples pavimentoso. Apresentaram um parênquima formado predominantemente por ácinos do tipo serosos, de formato irregular, células arredondadas, núcleo redondo e central, com lúmen circular e central. O citoplasma é basófilo e sem granulações. Formando o estroma da glândula são observados, dispersos no tecido conjuntivo, uma série de feixes nervosos (VIEIRA et al., 2015).

A caracterização morfológica das glândulas parótidas de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*) adultos, foi realizada por Greco et al. (2008). Os autores descrevem macroscopicamente essa glândula em forma de halteres, larga nas extremidades e estreita no terço médio, em 53 casos (88,3%). Em apenas 7 casos (11,3%), a glândula parótida apresenta forma de pêra, larga no terço dorsal se estreitando em direção ao terço ventral. O ducto parotídeo tem origem na borda rostral da glândula, variando seu trajeto entre os ramos bucais do nervo facial em 50 casos (83,3%), dorsal aos ramos bucais do nervo facial em 6 casos (10%), e ventral aos ramos bucais do nervo facial em 4 casos (6,7%). Lateralmente ao segundo dente molar superior, na mucosa da bochecha, encontra-se localizada a papila parotídea em 55 casos (91,7%) e lateralmente ao terceiro dente molar superior em 5 casos (8,3%). A forma de pêra da glândula parotídea, a

variação da posição do ducto parotídeo e da papila parotídea não haviam sido relatadas anteriormente na literatura, segundo descrevem os autores.

Em chinchilla (*Chinchilla lanigera*), após análise da disposição dos órgãos, evisceração e medição, observou-se que a cavidade oral é característica de roedores e as glândulas salivares se assemelham aos lagomorfos, constituindo uma relação entre essas ordens. A glândula parótida é bem desenvolvida, com aproximadamente 1,3 cm, posicionada lateralmente ao músculo masseter, desde a porção ventral da orelha externa até a região mandibular, com forma irregular tipo elipsoide. Seu ducto salivar cursa lateralmente o músculo masseter e adentra a cavidade oral próximo ao diastema (CASTRO et al., 2010).

3.5.3 Glândulas sublinguais

A glândula salivar sublingual localiza-se internamente à mucosa ao longo do lado ventral da superfície lateral da língua, próximo ao assoalho da boca. Inúmeros ductos saem diretamente da glândula, abrindo-se ventrolateralmente à língua. Nos animais domésticos, com exceção dos equinos, a glândula sublingual possui uma porção monostomáticas, que tem origem na borda rostroventral da glândula mandibular, esvaziando-se na carúncula sublingual, por um único ducto sublingual, no assoalho da boca, que corre paralelo ao ducto mandibular. A porção polistomática, encontrada imediatamente abaixo da mucosa oral é separada em vários lóbulos frouxamente unidos, que circundam o canal inferior, secretando para dentro da cavidade oral (FRANDSON et al., 2011; FOSSUM, 2014)

As glândulas sublinguais do rato albino de laboratório (*Mus norvegicus albinis*) são as que exibem menor tamanho, entre as glândulas salivares maiores (LEESON, 1967, PINKSTAFF, 1980). Utilizando autorradiografia e microscopia eletrônica de transmissão, Taga e Sesso (2002) analisaram o desenvolvimento pós-natal da glândula sublingual de ratos Wistar albinos (*Rattus norvegicus*). A análise ultraestrutural mostrou que, durante o período de alta atividade proliferativa, as células secretoras tinham uma ultraestrutura que era qualitativamente similar à das células das glândulas de ratos idosos. Somente após o vigésimo dia é que essas células mostraram grandes quantidades de retículo endoplasmático rugoso e grânulos de secreção que atingiram o padrão adulto no trigésimo dia após o nascimento.

Vieira et al. (2015) em trabalhos com a morfologia das glândulas salivares da cuíca, descrevem as glândulas sublinguais como pequenas estruturas alongadas de coloração esbranquiçada, ventrais ao ramo da mandíbula, caudais ao músculo digástrico, apresentando um ducto curto que emerge da sua extremidade cranial e se abre próximo à base da língua. Em

cutias, Oliveira Júnior et al. (2016) descrevem que o acesso às glândulas sublinguais torna-se possível, após a remoção do músculo milo-hióideo. A porção monostomática localiza-se próxima ao ângulo da mandíbula, medianamente em relação à glândula mandibular, separada dessa pelo músculo estiloglosso e protegida por uma cápsula fibrosa, lobulada, difusa e de cor amarela pálida. A porção polistomática não apresenta lobação, possui forma oblonga e está localizada próxima a base da língua abaixo da membrana do pavimento da boca, fazendo sintopia com a fóvea mandibular e o músculo genioglosso.

3.5.4 Glândulas zigomáticas

A glândula salivar zigomática, encontrada em carnívoros tais como o cão e o gato, é ovoide ou irregular, localizada no assoalho da órbita, ventrocaudal ao olho e medialmente ao arco zigomático. Os diversos ductos correm ventralmente, abrindo-se sobre uma dobra da mucosa, lateralmente ao último dente molar maxilar. O ducto zigomático principal é facilmente identificado a poucos centímetros caudalmente à papila parotídea (FOSSUM, 2014).

Al-Gailani et al. (1981), estudando a glândula zigomática de gatos (*Felis catus*), citam a presença de uma cápsula de tecido conjuntivo que envolve a glândula e da qual partem septos que a separam em duas partes. Seus ácinos são grandes e mucosos. Trabalhando com o mão-pelada (*Procyon cancrivorus*), Pereira (2012), relata que a glândula zigomática possui forma arredondada, localizada na fossa pterigopalatina, seus ductos se abrem na mucosa lateral próximo ao último dente molar superior, quase tão grande quanto o ducto parotídeo. Nas cuícas (*Glironia venusta*) as glândulas zigomáticas acompanham a forma da porção anterior do arco zigomático na margem infraorbital alongando-se suavemente sobre a maxila em forma de triângulo. Os autores não realizaram histologia da glândula zigomática devido a problemas de procedimentos histológicos (VIEIRA et al., 2015).

Oliveira Júnior et al. (2016), em trabalhos com cutias, descrevem a glândula zigomática como sendo uma estrutura com forma oblonga, sendo melhor observada após o rebatimento do músculo zigomático-auricular, logo após o processo temporal do osso zigomático, entre os músculos masseter e temporal, disposta na região suborbital, ao ponto de se relacionar com o músculo pterigóideo e a porção profunda da periórbita. A glândula está dividida em lobos e lóbulos, separados por tecido conjuntivo denso não-modelado. Essa mesma glândula caracteriza-se como mista, apresentando tanto ácinos serosos quanto mucosos.

3.6 – HISTOQUÍMICA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

As técnicas histoquímicas são comumente utilizadas em cortes histológicos para localizar e identificar substâncias de interesse nas células ou matriz extracelular, como por exemplo as mucinas e lecitinas (glicoproteínas). Esses métodos normalmente originam substâncias coloridas insolúveis na microscopia de luz ou elétron-densas na microscopia eletrônica de transmissão (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

Em trabalho com glândulas salivares de coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), Al-Saffar e Simawy (2014) utilizando os corantes histoquímicos Azul de Alcian (pH 2,5) para identificar as mucinas ácidas e o Ácido Periódico de Schiff (PAS) para identificar as mucinas neutras, verificaram que os ácinos das glândulas parótidas reagiram positivamente ao PAS, mas negativamente com Azul de Alcian (AA), caracterizando a glândula como exclusivamente serosa. As glândulas mandibulares do roedor *Thryonomys swinderianus* foram descritas por Onwuaso et al. (2015) com base em técnicas histológicas e histoquímicas. A glândula se mostrou predominantemente serosa, reagindo fortemente com o PAS e negativamente com o AA. Alguns ácinos mucosos encontrados dispersos nos lóbulos da glândula coraram moderadamente ao PAS e fortemente positiva ao AA.

Os ácinos mucosos da glândula sublingual da cutia (*Dasyprocta leporina*) coraram-se fortemente com o AA, exibindo uma coloração azul turquesa, evidenciando que o muco produzido era ácido. A glândula apresentou forte positividade tanto ao PAS como também na associação de AA e PAS. Al-Gailani et al. (1981) utilizando o método histoquímico AA e PAS nas glândulas zigomáticas de gatos, verificaram que os ácinos encontrados eram grandes e predominantemente mucosos, com grânulos de mucinas neutras PAS positivas, que contrastavam fortemente com as substâncias mucosas sulfatadas, coradas pelo AA.

As lecitinas constituem uma classe de proteínas ou glicoproteínas, derivadas principalmente de sementes de vegetais, que se ligam com alta afinidade e especificidade a determinados carboidratos, podendo ser encontradas em quase todos os organismos, incluindo plantas, animais, bactéria e vírus (FÁTIMA et al., 2005). As lecitinas são muito usadas para caracterizar moléculas de membranas celulares que contêm sequências específicas de carboidratos (DWEK, 1996).

As células dos ductos granulosos da glândula mandibular de camundongos reagiram com coloração moderada a forte para a lecitina *Arachis hypogaea* (PNA) e uma porcentagem variável de células na região basal dos ductos interlobulares apresentaram reatividade intensa com a lecitina *Bandeiraea simplicifolia* (BSA-I-B₄). As células acinares serosas da glândula

parótida desses animais evidenciaram coloração moderada a forte com a PNA e variaram em intensidade de coloração para BSA-I-B₄, sendo as células com maior afinidade para essa lecitina localizadas na periferia dos lóbulos da glândula (SCHULTE; SPICER, 1983).

Çinar et al. (2016) utilizaram a coloração histoquímica das lecitinas para determinar a distribuição de glicoconjugados na glândula salivar parótida de *Ovis aries*. A lecitina *Canavalia ensiformis* (Con-A) marcou fracamente as células epiteliais dos ductos da parótida, embora tenha ocorrido uma reação de moderada a fortemente nas superfícies luminiais dessas estruturas glandulares. Para a lecitina *Bandeiraea simplicifolia* (BSA-I-B₄) observou-se uma reação muito forte na superfície apical das células epiteliais dos ductos. Os pesquisadores relatam ainda que ocorreu uma forte reação nas superfícies das células epiteliais ductais utilizando as lecitinas *Arachis hypogaea* (PNA) e *Triticum vulgare* (WGA).

3.7 CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

De acordo com Moojen (1952), os roedores são mamíferos com cérebro e placentação variável, que possuem tamanho e forma de dentição características, pois são desprovidos de caninos e possuem espaços entre incisivos e molares bem definidos. Os dentes incisivos estão em constante crescimento e geralmente possuem cinco e quatro molares em cada lado da maxila e da mandíbula respectivamente, além disso, possuem uma modificação na fossa glenoide, permitindo a livre movimentação da mandíbula para frente, para trás e para os lados (CARLETON; MUSSER, 2005).

Os *Galea spixii* são roedores caracterizados por apresentarem pequeno porte, orelhas pequenas, serem desprovidos de cauda, possuírem membros torácicos com quatro dígitos, enquanto os pélvicos apresentam apenas três. O peso corporal e o comprimento da cabeça e corpo juntos variam entre 200g a 357g e 220mm a 285mm, respectivamente. Esses animais possuem o dorso com coloração acinzentada e a região ventral de cor branca (BRASIL, 2002; BONVICINO et al., 2008). São conhecidos como preás do campo nas regiões do Seridó e oeste do estado do Rio Grande do Norte. Habitam as capoeiras, entre pedras, barreiras de rios e canaviais, alimentando-se de capins e raízes. Pode ser encontrado desde o sudeste do estado do Pará e leste de Mato Grosso ao noroeste de Minas Gerais, oeste da Bahia, Pernambuco, Paraíba e Rio Grande do Norte, sul do Ceará, centro-sul do Piauí e Maranhão, além do Distrito Federal (PINHEIRO et al., 1989; BONVICINO et al., 2008). Quando a fêmea está no cio, o acasalamento é precedido de dança nupcial, onde o macho dança ao seu redor até que ela emita o som de aceitação (MATA, 2016).

De acordo com IUCN (2017) a taxonomia do preá (Figura 1) é descrita como espécie pertencente ao:

- Reino Animalia
- Filo Chordata
- Classe Mammalia
- Ordem Rodentia
- Família Caviidae
- Gênero Galea
- Espécie *Galea spixii* Wagler, 1831

Figura 2 - Espécie estudada. Preá (*Galea spixii* Wagler, 1831) CEMAS – UFERSA, 2017. Fonte: Arquivo pessoal.



Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 LOCAL DE AMOSTRAGEM

O material destinado ao estudo das glândulas salivares maiores do preá, *Galea spixii*, foi obtido do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) localizado no campus leste da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA). Seu objetivo é promover pesquisas voltadas à preservação e manutenção de espécies silvestres em cativeiro. Ocupa uma área de 20 ha, está a uma altitude de aproximadamente 16 metros acima do nível do mar e localiza-se entre as coordenadas geográficas 5° 11' S e 37° 20' W Gr. Está registrado pelo IBAMA como criadouro científico sob o número 1478912.

Os procedimentos desenvolvidos para obtenção dos resultados da macroscopia e microscopia de luz foram realizados nas dependências da UFERSA, no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada do Departamento de Ciências Animais. As análises por meio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Centro de Pesquisas Vegetais do Semi-Árido (CPVSA) da UFERSA. Os procedimentos relativos à Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET), foram realizados no Laboratório de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo (USP).

4.2 ANIMAIS AMOSTRADOS

Para desenvolvimento deste estudo foram utilizados 12 preás adultos (ambos os sexos), com idades entre quatro e seis meses de vida e obtidos no Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da UFERSA. Estes animais foram acondicionados em boxes específicos com dimensão de 5 m² e alimentados com ração para roedores, frutos, grãos de soja, milho e água *ad libitum*, de modo que cada grupo tivesse o mesmo manejo alimentar.

A metodologia utilizada na experimentação da presente dissertação foi aprovada pelo Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) sob parecer nº 54608-1 e também aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA, processo nº 23091.012294/2016-11.

4.3 PROCEDIMENTO ANESTÉSICO E EUTANÁSIA

Os animais foram eutanasiados com base no protocolo anestésico utilizado por Bezerra (2014), adaptado sempre que necessário. No momento da coleta, os animais foram pesados e submetidos ao procedimento anestésico, com associação da medicação pré-anestésica de Cloridrato de Xilazina (Xilazin[®] 2% na dose de 1mg.kg⁻¹, fabricante Syntec) e Cloridrato de Cetamina (Quetamina[®] 10% na dose de 15mg.kg⁻¹, fabricante Vetnil) em associação por via intramuscular. Após 10min, foi administrado o anestésico tiopental 1g (Tiopental sódico[®] 1g na dose de 25mg.kg⁻¹, fabricante Richmond, División Veterinaria S.A.) por via endovenosa como fármaco indutor da anestesia. Atingido o plano anestésico, procedeu-se a eutanásia do animal com a administração de Cloreto de Potássio (Cloreto de potássio[®] 19,1% na dose de 2,56 mEq.kg⁻¹, fabricante Halexistar) também por via endovenosa, confirmando o óbito do animal após identificada a parada cardiorrespiratória.

4.4 PROCEDIMENTO PARA MACROSCOPIA

Após a eutanásia, os animais foram incisados medianamente para acesso a região torácica e conseqüentemente a artéria aorta torácica foi canulada, objetivando perfundir os animais com solução aquosa de formaldeído a 10%, no sentido cranial. Em seguida, os animais foram imersos em uma solução de mesma concentração por no mínimo 72 horas, e após este período, realizaram-se as dissecações, no laboratório de Anatomia Veterinária da UFERSA.

Quanto às dissecações, procedeu-se com uma incisão ventral mediana desde a região do mento até o limite da região cervical definida pelo manúbrio do osso esterno. Em seguida, realizou-se o rebatimento da pele e do músculo cutâneo da face, contornando os músculos orbicular da boca e orbicular do olho. Em seguida o músculo cutâneo foi rebatido em ambos os antímeros de modo a expor as glândulas parótidas e mandibulares. De maneira a garantir a completa exposição dessas glândulas, o músculo cutâneo foi rebatido contornando o músculo orbicular da boca, o músculo orbicular do olho e a base da orelha externa. Posteriormente rebateu-se o músculo cutâneo da face e do pescoço de modo a serem visualizadas as glândulas especificadas. Já para acesso à glândula sublingual, retirou-se inicialmente uma hemimandíbula juntamente com o músculo masseter, de maneira a expor a base da língua.

De forma a documentar as dissecações e evidenciar a topografia das glândulas salivares maiores, após identificadas, as estruturas eram fotografadas com uma câmera digital Nikon

D5300. Ressalta-se que as estruturas macroscópicas foram nominadas com base na *Nomina Anatomica Veterinaria* (2017).

4.5 PROCEDIMENTO PARA MICROSCOPIA DE LUZ

Para as análises de microscopia de luz convencional, as amostras passaram por processamento histológico de rotina no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, segundo metodologia descrita por Tolosa et al. (2003), adaptando-a sempre que necessário, tendo sido seguidas as seguintes etapas:

- **Fixação** - foram coletados fragmentos com cerca de 0,5cm e fixados em paraformaldeído a 4%, tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4 °C;
- **Desidratação** - o material foi lavado em água corrente para retirada do excesso do fixador e ser iniciado o processo de desidratação das amostras, que foram submetidas a banhos de imersão de 60 minutos em álcoois nas concentrações de 70%, 80%, 90%, 95%, 100%;
- **Diafanização** - finalizado o processo de desidratação, os fragmentos foram imersos em dois banhos de xilol, também de 60 minutos, a fim de garantir o clareamento e total retirada do álcool;
- **Inclusão** - foi realizada por meio de banhos de imersão em parafina histológica (Synt®, granulada com ponto de fusão 58°C a 62°C), na qual os fragmentos foram imersos em duas parafinas a 60°C, permanecendo por “*over night*” no primeiro banho e por uma hora no segundo, a fim de garantir a completa impregnação do material pela parafina. Posteriormente os fragmentos foram emblocados e etiquetados;
- **Microtomia** - foram realizados cortes de 5µ a 7µ de espessura em micrótomo (LEICA RM 2125 RT®) e coletados em lâminas de vidro e levados a estufa a 60°C por até seis horas;
- **Desparafinização e reidratação** - o material foi imerso em dois banhos de xilol por dez minutos, reidratados em álcoois decrescentes de 100%, 95%, 70% e água corrente, por três minutos cada;

- **Coloração** - nessa etapa, as lâminas foram coradas pelas técnicas de Hematoxilina-Eosina (HE) e Tricrômico de Gomori.
- O material foi analisado, sendo as imagens mais expressivas fotomicrografadas em microscópio de luz (LEICA DM 500 HD) com câmera acoplada (LEICA ICC50W).

4.6 HISTOQUÍMICA

O procedimento de histoquímica foi realizado no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, tendo sido seguidas as seguintes etapas:

4.6.1 Histoquímica das mucinas

Os cortes foram submetidos às reações histoquímicas utilizando os corantes Ácido Periódico de Schiff (PAS), Azul de Alcian (AA) pH 2,5, Ácido Periódico de Schiff (PAS) associado com azul de Alcian (pH 2,5) para marcar a diferenciação das mucinas neutras e ácidas (Behmer et al. 1976). De acordo com Junqueira e Junqueira (1983), azul de Alcian (AA) com pH 1,7 a 3,2 reage com polissacarídeos carboxilados e reações com PAS permitem evidenciar a presença de polissacarídeos neutros. A associação azul de Alcian-Ácido Periódico de Schiff [AA (pH 2,5)-PAS], serviu como uma contraprova, para sinalização da presença tanto de mucinas neutras quanto de mucinas ácidas. A caracterização do padrão histoquímico das mucinas (Tabela 1) foi baseada nos componentes orgânicos das secreções das unidades secretoras, sendo a reação histoquímica classificada em negativa e positiva.

Tabela 1 - Especificação das colorações histoquímicas utilizadas nas glândulas salivares maiores dos preás.

Método	Finalidade	Cor adquirida
PAS (ácido periódico de Schiff)	Polissacarídeos <i>Cora mucina e glicogênio</i>	Magenta
Azul de Alcian (pH 2,5)	Mucopolissacarídeos ácidos <i>Cora mucina ácida</i>	Azul pálido

4.6.2 Imunohistoquímica das lecitinas

A histoquímica com lecitina foi empregada para determinar a presença, distribuição e características dos glicoconjugados nas glândulas salivares maiores dos preás. Para a análise foram utilizadas quatro lecitinas (Tabela 2):

Tabela 2 - Lecitinas utilizadas em estudos histoquímicos nas glândulas salivares maiores dos preás.

Lecitina	Abreviatura	Ligação de carboidratos especificidade ^{a, b}	Concentração (µg/mL) ^c
<i>Canavalia ensiformis</i> ¹	Con-A	α Man> α Glc> α GlcNAc	50 µg/mL
<i>Bandeiraea simplicifolia</i> ²	BSA-I-B ₄	α Gal> α GalNAc	25 µg/mL
<i>Triticum vulgare</i> ³	WGA	GlcNAc(β 1,4GlcNAc)1-2> β GlcNAc >Neu5Ac	25 µg/mL
<i>Arachis hypogaea</i> ⁴	PNA	Gal β 1,3GalNAc> α and β Gal	25 µg/mL

a – A especificidade dos carboidratos foi feita de acordo com Liener, Sharon e Goldstein (1986);

b – Abreviação: Man, manose; Glc, glicose; GlcNAc, N-acetilglicosamina; Gal, galactose; Neu5Ac, Ácido 5-acetilneuramínico; GalNAc, N-acetilgalactosamina; Fuc, fucose; Neu5Gc, Ácido 5-glicolilneuramínico; NeuNAc, Ácido N-acetilneuramínico;

c – Tabela e concentração de acordo com Çinar, Öztop e Özkarasu (2016);

d - O controle negativo foi feito utilizando tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4 em câmara úmida na ausência das lecitinas.

O procedimento de histoquímica com lecitinas foi realizado no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada da UFERSA, segundo metodologia descrita por Çinar et al. (2016), adaptando-a sempre que necessário, tendo sido seguidas as seguintes etapas:

- **Desparafinização e hidratação** - Cortes de 5 µm foram aderidos em lâminas silanizadas, desparafinizados em dois banhos de 5 minutos de xilol, posteriormente reidratados em concentrações decrescentes de etanol (100%, 95% e 70%);
- **Bloqueio da peroxidase endógena** – O material foi imerso em peróxido de hidrogênio a 3% por 30 minutos, lavado em 3 imersões de 5 minutos em água destilada e depois em tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4 em cada lavagem;

¹ *Canavalia ensiformis* – Con-A (Referência: C2272, Sigma-Aldrich®)

² *Bandeiraea simplicifolia* – BSA-I-B₄ (Referência: L2140, Sigma- Aldrich®)

³ *Triticum vulgare* – WGA (Referência: L5142, Sigma- Aldrich®)

⁴ *Arachis hypogaea* – PNA (Referência: L6135, Sigma- Aldrich®) concentração 0,1 mg/ml

- **Recuperação antigênica** - A recuperação antigênica dos tecidos foi realizada em tampão citrato (10 mM, pH 6,0), esquentado em aparelho de micro-ondas (em potência máxima de 700mW por 15 minutos), seguida por três lavagens em tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4;
- **Bloqueio das ligações inespecíficas** - Para o bloqueio das reações inespecíficas foi utilizado o Protein Block (Spring Bioscience[®]) em câmara úmida por 30 minutos, seguido de três lavagens de cinco minutos em tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4;
- **Incubação** – A incubação do material com as lecitinas foi realizada em câmara úmida (aproximadamente 8 horas), e após incubação, o excesso das lecitinas foi retirado com três lavagens de cinco minutos com o tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4;
- **Amplificação e revelação** - O material foi incubado em Spring Reveal Complement (Spring Bioscience[®]) por 30 minutos e depois em Spring Reveal HRP Conjugate (Spring Bioscience[®]) também por 30 minutos, e por fim, a revelação ocorreu com o cromógeno Diaminobenzindina (Spring DAB Cromogen - Bioscience[®]) diluído em substrato específico (Spring DAB Substrate - Bioscience[®]). As lâminas foram montadas com uso de Permount[®] (Fisher Scientific), analisadas e fotografadas.

4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO

A Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) foi utilizada para a análise e caracterização ultraestrutural das glândulas salivares maiores do preá. O processamento e análise das amostras foram realizados no Laboratório de Histologia do setor de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, conforme metodologia descrita por Oliveira (2004).

- **Fixação** - coletadas as amostras com cerca de 0,5cm das glândulas, elas foram imersas em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1 molar em pH 7,4 a 4°C para fixação;

- **Pós-Fixação** - os fragmentos foram lavados em tampão fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4 por meio de banhos de imersão com duração de 10 minutos, sendo este processo repetido por três vezes, para então os fragmentos serem pós-fixados em solução de Tetróxido de Ósmio 2% tamponado com Fosfato de Sódio 0,1M e pH 7,4 durante duas horas;
- **Contrastação e desidratação** - Realizada a pós-fixação, às amostras foram contrastadas com acetato de uranila a 3%, lavadas com solução tampão e desidratadas em uma bateria de álcool etílico com concentração crescente (50%, 70% e 90%) por dez minutos cada e finalizando-se com quatro imersões em álcool etílico 100% por vinte minutos cada;
- **Inclusão** - concluída a desidratação, as amostras foram lavadas com óxido de propileno, óxido de propileno-resina e, por último, incluídas em resina Spurr pura para obtenção dos blocos;
- **Ultramicrotomia** - os fragmentos das glândulas eram trimados, para obtenção de cortes semifinos e após selecionadas as áreas de interesse foram obtidos cortes ultrafinos, com o auxílio de um ultra-micrótomo automático (Ultracut R, Leica Microsystems, Germany). Esses foram contrastados com acetato de uranila a 2% e citrato de chumbo a 5% para posterior visualização em microscópio eletrônico de transmissão (Morgagni 268D, FEI Company, The Netherlands; Mega View III câmera, Soft Imaging, Germany).

4.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As amostras das glândulas salivares maiores foram caracterizadas ultraestruturalmente com o auxílio da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Centro de Pesquisas Vegetais do Semi-Árido (CPVSA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido, conforme metodologia descrita por Oliveira (2004).

- **Fixação** - Para esta técnica, amostras das glândulas foram fixadas em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1 M, pH 7,4 a 4°C durante 24 horas.

- **Pós-Fixação** - após a fixação, o material foi lavado com tampão para retirada do excesso de fixador e em seguida pós-fixado em Tetróxido de Ósmio a 1% tamponado com solução Fosfato de Sódio 0,1M pH 7,4, por duas horas.
- **Desidratação** - foram realizadas três lavagens em tampão e duas com água destilada, e na sequência tratou-se o material com ácido tânico a 1% e desidratou-se o mesmo em séries crescentes de álcool 50%, 70%, 90% e 100%.
- **Ponto Crítico, Montagem e Metalização** - o material foi secado em aparelho de ponto crítico (Quorum K 850) utilizando gás carbônico (CO₂), montado em suporte do ponto de amostra (Stub) para metalização com ouro por “sputtering” e observado em microscópio eletrônico de varredura (TESCAN VEJA 3 LMU).

Resultados

5 RESULTADOS

Os resultados descritos a seguir estão dispostos com base na sequência dos objetivos e metodologia apresentados nos itens correspondentes e referem-se a macroscopia, microscopia de luz convencional, imunohistoquímica, microscopia eletrônica de varredura e de transmissão.

5.1 MACROSCOPIA E TOPOGRAFIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

Foram encontradas quatro pares de glândulas salivares maiores: parótidas, mandibulares, zigomáticas e sublinguais que encontravam-se na cavidade oral ou fora dela. Essas glândulas exócrinas são tubuloacinosas, visualmente possuem aspecto de que são compartimentadas em vários lóbulos por tecido conjuntivo, contendo vasos sanguíneos, nervos e canais excretores, que secretam saliva através dos vários ductos espalhados pela glândula na cavidade oral.

Após rebatimento dos músculos cutâneo e cutâneo da face foi possível identificar como músculos de interesse para determinação da topografia das glândulas parótidas e mandibulares o músculo parótido-auricular e o músculo masseter (Figura 2).

O músculo parótido-auricular apresentou-se como uma estrutura longa e estreita, composta por fibras longitudinais e de cor amarelo pálida, com origem na base da orelha externa se inserindo na rafe mediana do pescoço, ventralmente ao masseter. Sua origem era alargada e recobria a glândula parótida. Por sua vez, a glândula parótida apresentava cor pálida, forma irregular e situava-se dorso-caudal ao músculo masseter. O ducto parotídeo era de pequena espessura e percorria ventralmente o masseter. Já o músculo masseter era espesso, de cor vermelha intensa e possuía margens arredondadas, cuja borda caudal encontrava-se em posição medial à glândula mandibular. A glândula mandibular macroscopicamente, constituía-se de três lobos distintos, com aspecto triangular, apresentava cor marrom e situava-se caudo-ventral ao músculo masseter, com seus lobos agregados por tênues ligamentos de tecido conjuntivo, juntamente com os linfonodos mandibulares e cervicais. Ressalta-se ainda que, essa glândula parece fazer sintopia com o membro torácico do animal dada a pequena extensão da região cervical, juntamente com os linfonodos cervicais. Seu ducto principal percorre medianamente o masseter e tem origem na sua porção ventral, resultando de três ductos secundários que se unem para formar o ducto principal da glândula (figuras 3 e 4).

Quanto à glândula zigomática, esta encontrava-se sobreposta por uma espessa aponeurose que se inseria no músculo orbicular do olho, rostral a glândula parótida, repousando

em uma depressão delimitada pelo arco zigomático. Está localizada caudo-ventralmente à órbita e ventralmente à parótida. Possuía forma triangular, cor amarelo pálido, a exemplo da glândula parótida, sendo sua porção cranial mais alargada. Logo abaixo dessa glândula e dorso-lateralmente ao músculo masseter, foi identificada a presença do ramo dorsal do nervo facial. Já o ramo ventral do nervo facial percorria a porção látero-ventral deste músculo.

As glândulas sublinguais foram identificadas como uma estrutura com aspecto lobular de cor castanho claro, situada no assoalho oral logo após os limites caudais da base da língua, cranialmente à fóvea mandibular e o músculo genioglosso. O acesso às glândulas sublinguais tornava-se possível após a remoção do músculo milo-hióideo. Salienta-se que foi possível identificar apenas a porção monostomática dessa glândula.

Já em relação às artérias carótidas e à veia jugular interna, verificou-se que estas percorrem as faces laterais do pescoço num plano mais profundo e em sintopia com a traqueia, juntamente com o décimo par de nervos cranianos.

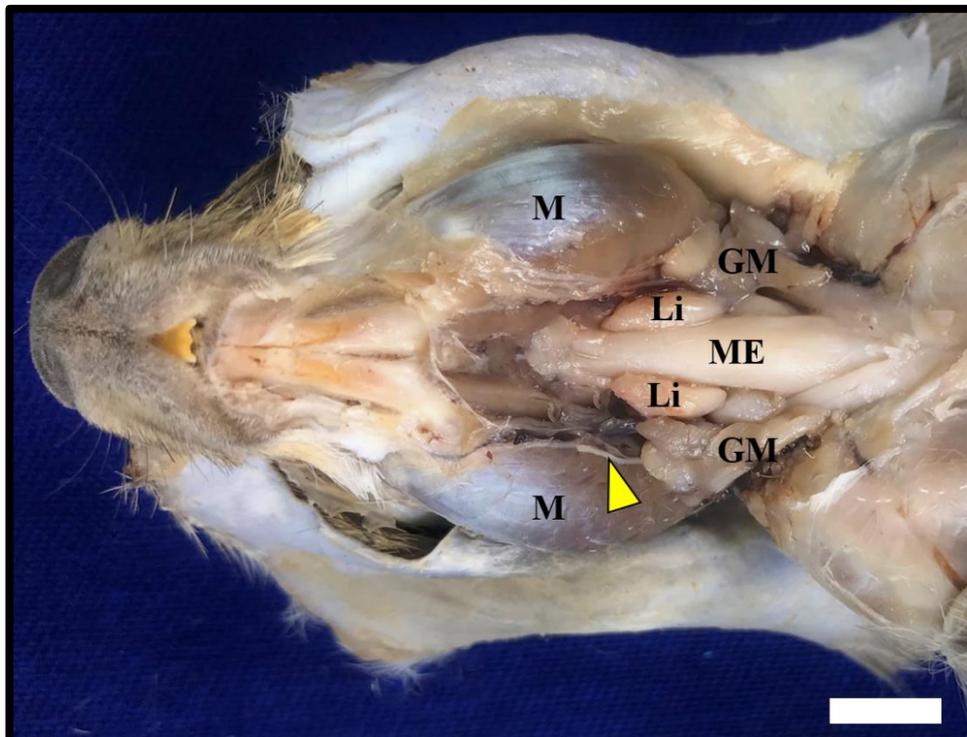
Figura 3 - Macroscopia das glândulas salivares maiores do preá (*Galea spixii*). Em A, na vista lateral, verifica-se o músculo parótido auricular (MPA), com suas fibras dispostas em sentido longitudinal e a presença do músculo masseter (M). Em B, observa-se que após o rebatimento do músculo cutâneo e cutâneo da face, é possível visualizar a topografia das glândulas salivares maiores do preá, na qual observa-se a presença da glândula mandibular (GM), glândula parótida (GP), glândula zigomática (GZ), além do ducto (D) da glândula parótida que percorre ventralmente o músculo masseter (M). Bar = 1 cm.



Figura 4 - Macroscopia das glândulas salivares maiores do preá (*Galea spixii*). Em A, na vista lateral, verifica-se o músculo parótido auricular (MPA), que após o rebatimento, encontra-se ventrolateral a glândula parótida (GP). Na porção ventral da região ocular (RO), observa-se a presença da aponeurose que recobre a glândula zigomática (GZ), além da presença da glândula mandibular (GM) na porção lateral cervical e o músculo masseter (M). Em B, vista ventral, observa-se a presença do ducto da glândula parótida (seta amarela), e lateral ao ducto, verifica-se a veia lingual (seta vermelha), além da presença da glândula mandibular (GM), do linfonodo (Li) e do músculo parótido auricular (MPA). Bar = 1 cm.



Figura 5 - Macroscopia das glândulas salivares maiores do preá (*Galea spixii*), vista ventral. Visualiza-se o músculo masseter (M), na porção ventral ao músculo, observa-se o ducto da glândula parótida (cabeça de seta). Em sua porção mais caudal, pode-se observar a glândula mandibular (GM) e na região medial verifica-se o músculo esternohioideo (ME). Dispostos em pares na lateral do músculo, verificam-se os linfonodos (Li). Bar= 1cm.

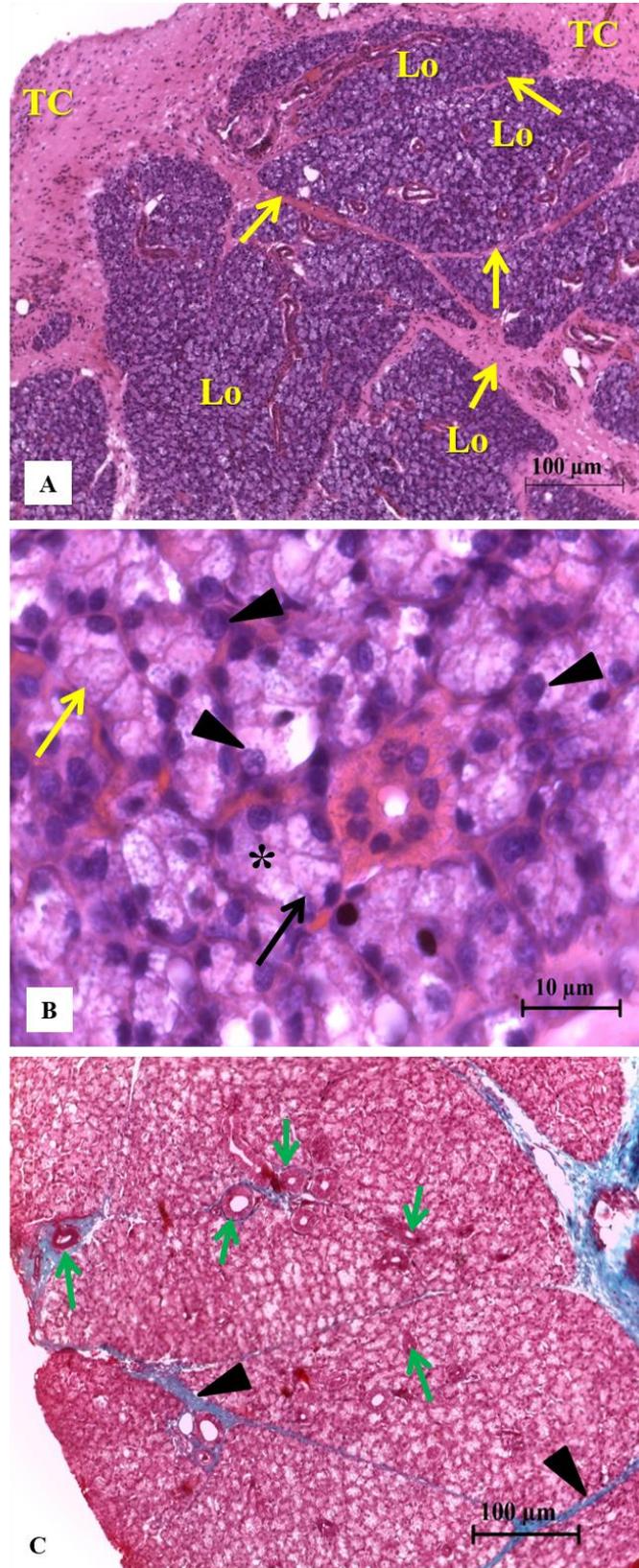


5.2 MICROSCOPIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

5.2.1 Microscopia de luz da glândula parótida

Quando analisada à luz da microscopia convencional (Figura 5A e 5C), a glândula parótida caracterizou-se por estar envolta em uma cápsula de tecido conjuntivo denso com características de tecido não modelado que emitia septos para o seu interior, formando lóbulos. Esses lóbulos eram constituídos por grupamento de ácinos compostos por células predominantemente serosas (Figura 5B), com forma variando entre cúbica e piramidal, que possuíam uma base larga repousando sobre uma lâmina basal e ápice voltado para o lúmen dos ácinos. Foi possível observar que o citoplasma dessas células continha estriações, indicando a existência de atividade celular do tipo secretora. O ácinos eram circundados com tênues fibras colágenas. No interior do parênquima glandular foi possível visualizar ductos de tamanhos variados dispostos no interior dos lóbulos. Quando corados pela técnica de coloração com hematoxilina-eosina, os núcleos dessas células mostravam-se com forma arredondada e situados predominantemente na região basal da célula. Além disso, mostraram-se basofílicos, indicando que a afinidade de seu conteúdo recai sobre a ação da hematoxilina.

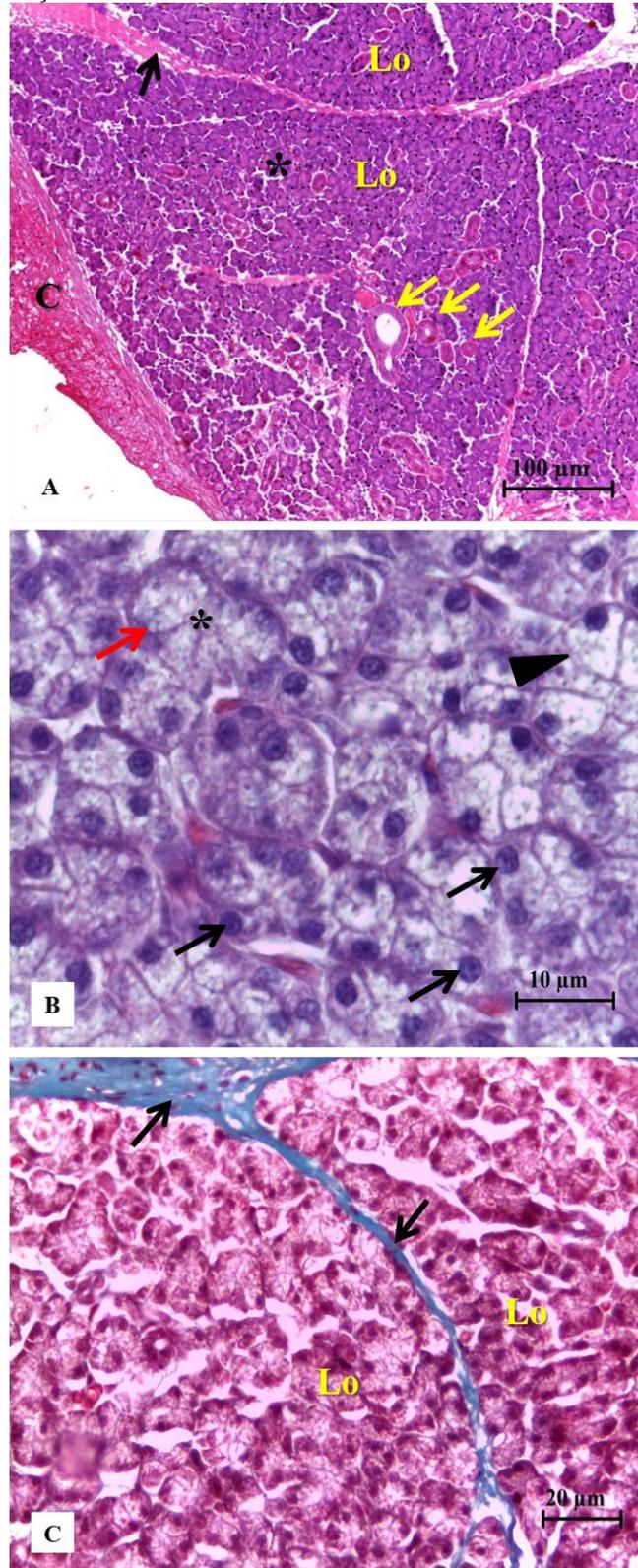
Figura 6 - Microscopia de luz da glândula parótida do preá. Em A, observa-se uma porção da cápsula de tecido conjuntivo (TC) que envolve a glândula e seus lóbulos (Lo) delimitados por septos (seta amarela) de conjuntivo oriundos da cápsula presente nessa glândula. Em B, os ácinos (asterisco) da glândula parótida são constituídos por células predominantemente serosas, com forma variando entre cúbica (seta amarela) e piramidal (seta preta), núcleos basófilos arredondados (cabeça de seta) e situados na região basal da célula. Em C, vários ductos (setas verdes) de tamanhos variados dispostos no interior dos lóbulos parênquima glandular, envolvidos por colágeno (cabeça de seta). A e B - Coloração em HE. C - Coloração em Tricrômico de Gomori.



5.2.2 Microscopia de luz da glândula mandibular

A glândula mandibular, assim como a parótida, apresentou seu parênquima entremeado por septos de conjuntivo denso não-modelado delimitando lóbulos, assim como estava envolvida por uma cápsula de conjuntivo (Figura 6A e 6C). A glândula mandibular apresentou-se como uma glândula mista, com predominância serosa. Os ácinos serosos eram constituídos por células piramidais altas, com núcleos redondos, localizados na porção basal da célula e fortemente corados pela hematoxilina (Figura 6B). Os núcleos dos ácinos mucosos se situavam na região mais basal das células e no ápice dessas, observavam-se impressões que sugeriam a existência de grânulos de secreção (Figura 6B). Também foram observados ductos de diâmetros variados dispostos em porções distintas do parênquima dos lóbulos glandulares e funcionalmente do tipo intercalar, granuloso, estriado e excretor, descritos em item específico.

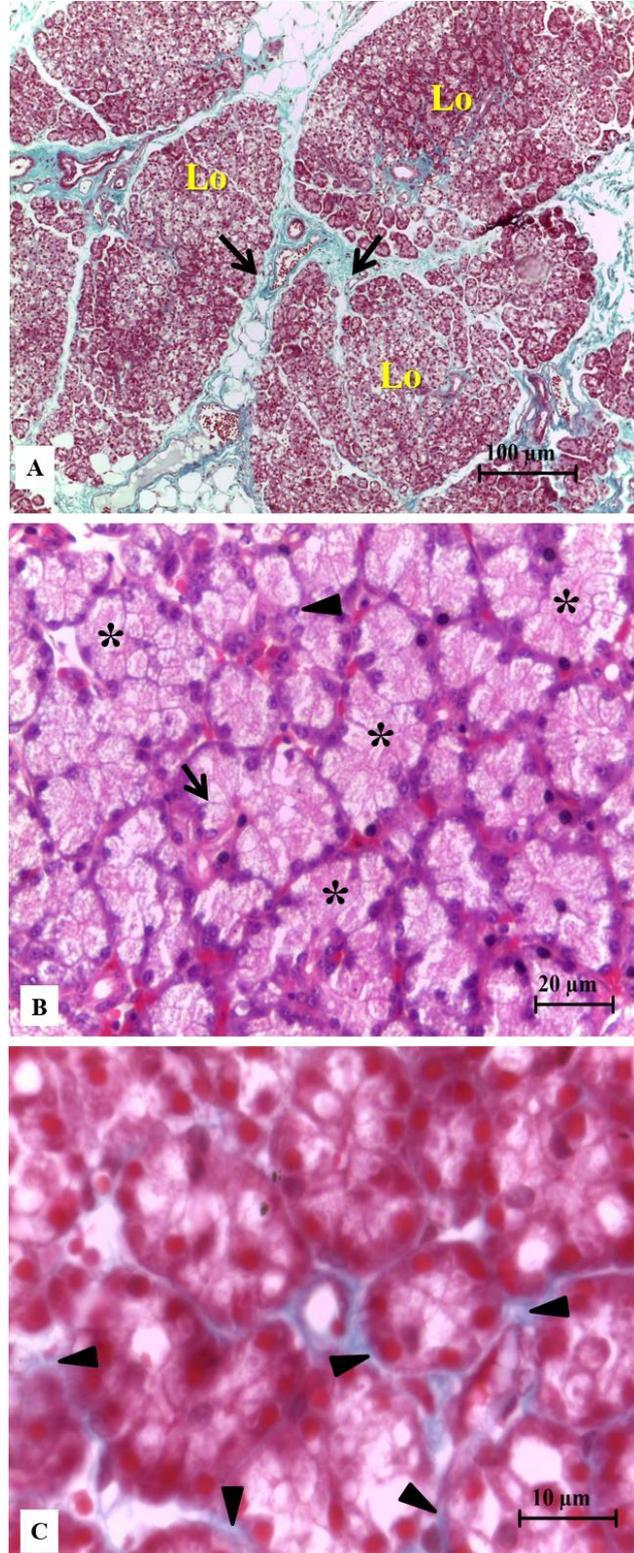
Figura 7 - Microscopia de luz da glândula mandibular do preá. Em A, visualiza-se parte da cápsula (C) que envolve a glândula, separando-a em lóbulos (Lo) delimitados por tecido conjuntivo (setas pretas) e ainda há organização acinar do parênquima (asterisco). Também se verificam ductos de diâmetro variados (setas amarelas), dispostos em porções distintas do parênquima dos lóbulos glandulares. Em B, os ácinos serosos são formados por células piramidais altas (cabeça de seta), com núcleos redondos (setas pretas), localizados na porção basal da célula. Os ácinos mucosos (asterisco) eram menos numerosos, possuíam núcleos achatados (seta vermelha) localizados na região basal. Em C, septos de tecido conjuntivo (setas pretas) dividem a glândula em lóbulos (Lo). A e B - Coloração em HE. C - Coloração em Tricrômico de Gomori.



5.2.3 Microscopia de luz da glândula zigomática

Avaliando-se o tecido parenquimal da glândula zigomática de preás verificou-se que esta apresenta uma cápsula delgada, menos espessa que a mandibular e a parótida. Também se evidenciou que a mesma era composta de lóbulos com formas variadas, separados por septos de conjuntivo oriundos da cápsula que a envolvia (Figura 7A). Observou-se ainda, a presença de ácinos de natureza predominantemente mucosos (Figura 7B), cujas células possuíam formas piramidais. O citoplasma dessas células era preenchido por grânulos de secreção, corado mais fortemente com eosina, o que sugere a predominância de substâncias de natureza eosinofílica (acidófila). Já os núcleos, encontravam-se principalmente dispostos em posição basal das células. Estes eram relativamente grandes e esféricos (Figura 7B e 7C). Outra característica evidenciada com base na microscopia de luz é o fato de se observar tecido conjuntivo servindo como arcabouço de sustentação dos ácinos, bem mais abundante que nas demais glândulas. Em seu estroma também foi identificado vasos sanguíneos e ductos de tipos distintos que recolhem as secreções acinares para um ducto principal.

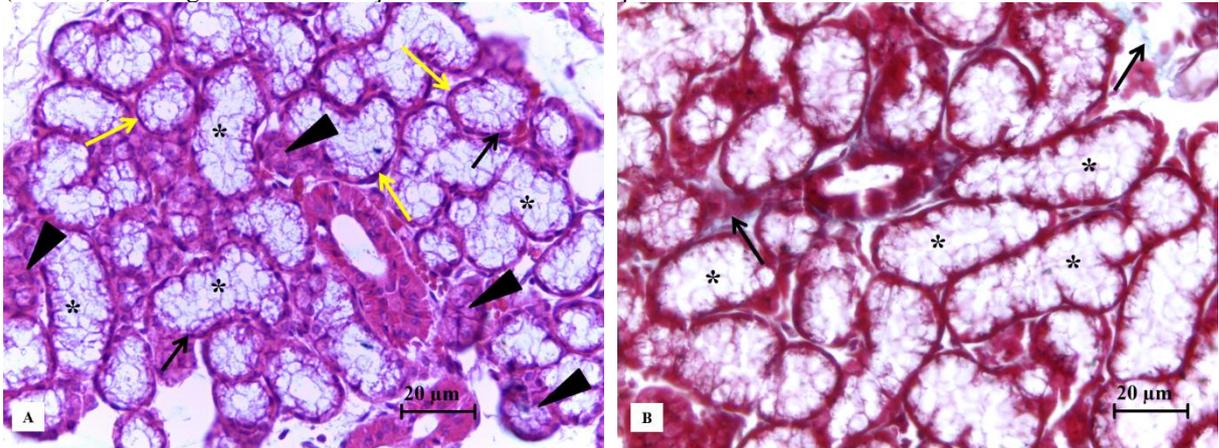
Figura 8 - Microscopia de luz da glândula zigomática do preá. Em A, verifica-se que a zigomática se assemelhou à glândula mandibular e parótida no que se refere à presença da cápsula de tecido conjuntivo emitindo septos (setas pretas) e sua divisão em lóbulos (Lo). Em B, ácidos predominantemente mucosos (asterisco), com células piramidais (seta) e núcleos grandes e esféricos (cabeça de seta), dispostos na posição basal. Em C, visualiza-se no estroma da zigomática, tecido conjuntivo (cabeça de seta) margeando os ácidos. A e C - Coloração em Tricrômico de Gomori. B - Coloração em HE.



5.2.4 Microscopia de luz glândula sublingual

As análises microscópicas da glândula sublingual de preá permitiram inferir que ela se compõe de dois tipos de ácinos, serosos e mucosos (Figura 8A), constituindo um parênquima relativamente adensado, sugerindo grande atividade glandular. Além disso, estava envolta por uma delgada camada de tecido conjuntivo, neste caso, de aspecto menos denso que nas demais glândulas (Figura 8B), que delimitava grupos acinares de modo menos organizado do que constatado para as demais glândulas. As células acinares eram piramidais, possuíam um citoplasma volumoso, repleto de grânulos de secreção, com núcleos pequenos e redondos, apresentando a mesma afinidade observada para as demais glândulas, quando coradas pela técnica de hematoxilina-eosina.

Figura 9 - Microscopia de luz da glândula sublingual do preá. Em A, ácinos mucosos (asterisco) e serosos (cabeça de seta) da glândula sublingual. É possível observar a presença de células mioepiteliais (setas amarelas) envolvendo alguns ácinos. As células acinares apresentaram epitélio cúbico simples, com núcleos achatados, localizados na região basal (seta preta). Em B, há poucas fibras colágenas (setas pretas) ao redor dos ácinos (asterisco) sublinguais. A - Coloração em HE. B - Coloração em Tricrômico de Gomori.



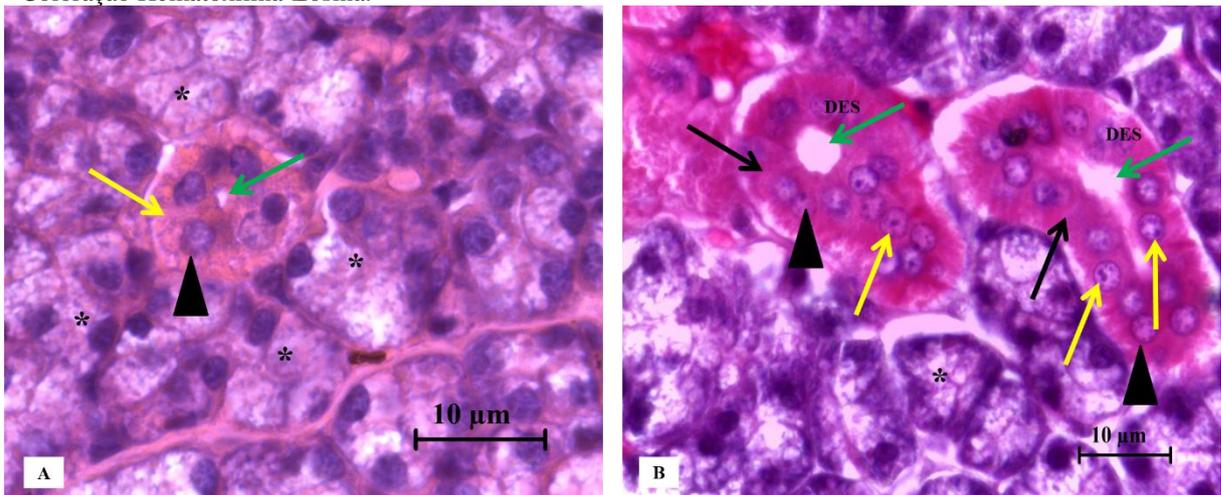
5.3 MICROSCOPIA DO SISTEMA DUCTAL DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

No que se refere à presença de ductos (figura 9) no estroma das glândulas salivares maiores dos animais estudados, foram identificados quatro tipos constituindo a rede de drenagem das secreções acinares, localizados nas regiões intralobulares e interlobulares, representados pelos intercalares, seguidos pelos granuloso, estriados e excretorios.

Os intralobulares estiveram representados no preá pelos tipos intercalares, granuloso e estriados, com exceção do granuloso identificado apenas na glândula mandibular, enquanto que, os interlobulares (excretorios) foram visualizados em todas as glândulas salivares maiores.

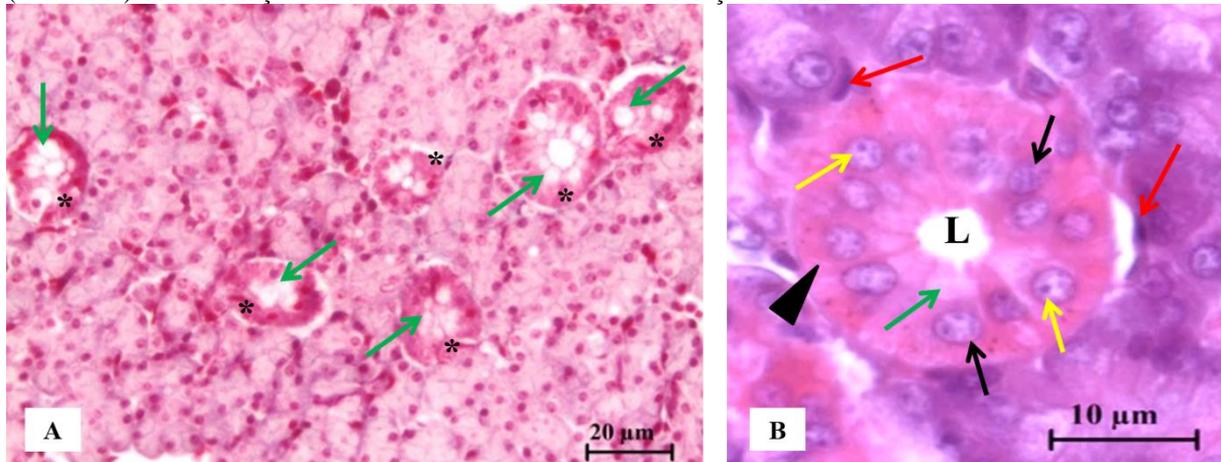
Os ductos intercalares eram envoltos por tecido conjuntivo e suas paredes eram constituídas por epitélio cúbico simples, cujas células possuíam forma piramidal, citoplasma eosinófilo e núcleos dispostos na região central das células (Figura 9A). Quanto aos ductos estriados, mostravam-se discretamente alongados, delimitados por uma delgada camada de conjuntivo. Suas células organizavam-se formando um epitélio do tipo cúbico simples, possuíam citoplasma abundante e muito acidófilo. Os núcleos tinham forma esférica e alguns deles continham nucléolo organizado (Figura 9B).

Figura 10 – Fotomicrografias dos ductos intercalares e estriados da glândula parótida do Preá. Em A, fotomicrografia do ducto intercalares da glândula parótida do preá. As células ductais apresentam um epitélio cúbico simples, citoplasma eosinofílico (seta amarela), núcleos dispostos na região central das células (cabeça de seta) e um pequeno lúmen ductal (seta verde). Os ductos intercalares possuem íntima relação com os ácinos (asterisco). Em B, fotomicrografia do ducto estriado (DES) da glândula mandibular do preá. O ducto está formado por epitélio simples com células cúbicas, citoplasma abundante e muito acidófilo (setas pretas). Os núcleos (cabeça de seta) apresentam forma esférica e alguns deles continham nucléolo organizado (setas amarelas). O lúmen acinar do ducto estriado (setas verdes) apresentava maior diâmetro quando comparado ao lúmen do ducto intercalares. A e B - Coloração Hematoxilina-Eosina.



Destaca-se que, em relação aos ductos intralobulares, nas glândulas mandibulares foi observada a presença de ductos do tipo granuloso (figura 10). Estas se caracterizavam por apresentarem células com base larga e ápices estreitos e granulações na porção apical das células. Os núcleos dessas células coravam-se fracamente pela técnica de hematoxilina-eosina. Quando analisadas pela técnica de coloração com Tricômico de Gomori foi possível inferir que estes ductos eram revestidos por uma delgada camada de tecido conjuntivo.

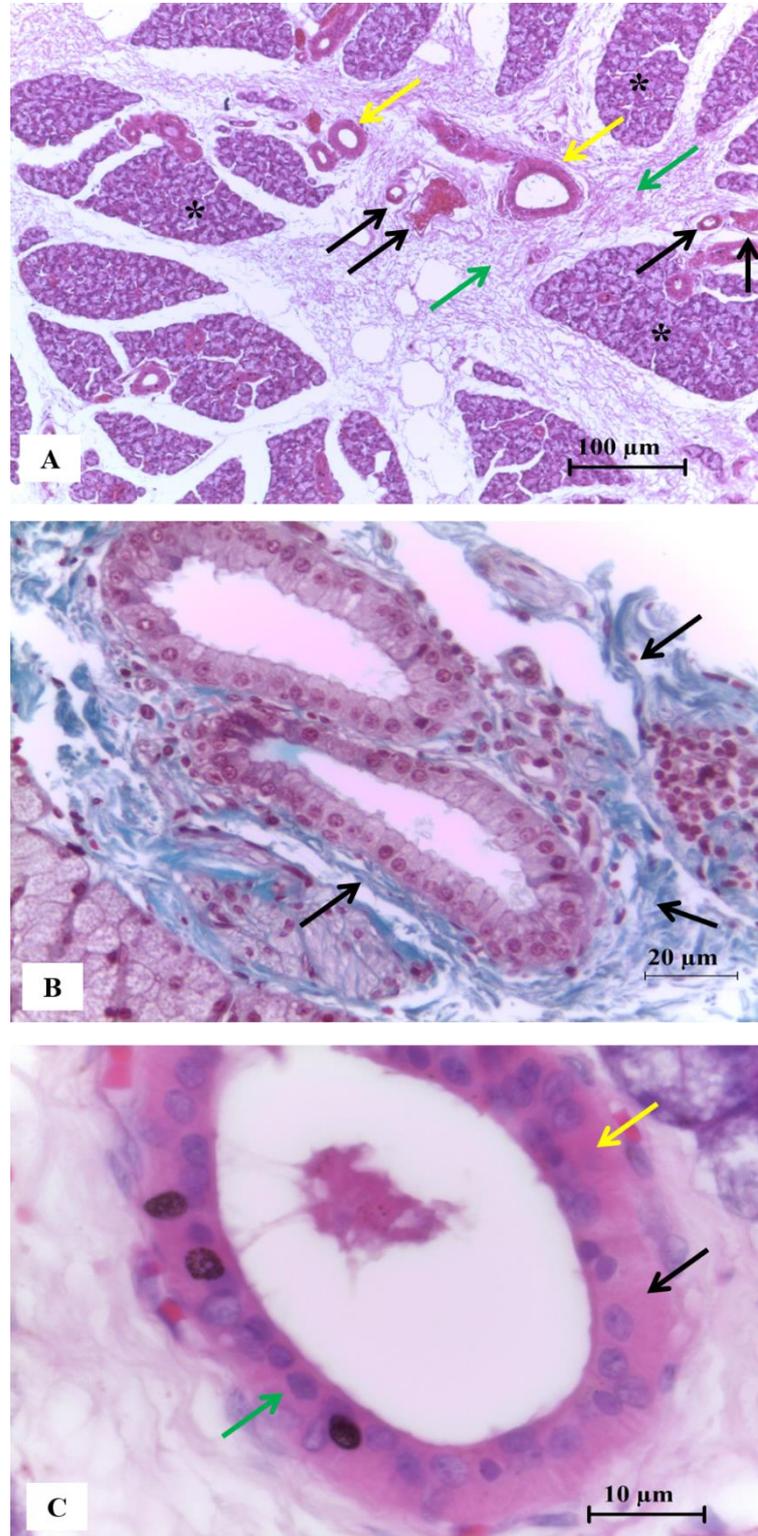
Figura 11 - Fotomicrografias do ducto granuloso da glândula mandibular do preá. Em A, verifica-se a presença de vários ductos granulosos (asterisco) com diferentes diâmetros, em que se observam, no ápice do citoplasma, os grânulos de secreção (setas verdes). Em B, percebe-se que as células ductais possuem base larga (cabeça de seta), ápices estreitos e granulações na porção apical das células (seta verde). Seus núcleos (setas pretas) são poucos basofílicos e alguns deles continham nucléolo evidente (setas amarelas). Ao centro das células ductais está o lúmen (L) do ducto. Identifica-se ainda a presença de células mioepiteliais (setas vermelhas) e os grânulos de secreção (seta verde). A - Coloração em Tricrômico de Gomori. B - Coloração em HE.



Em relação aos ductos excretores, estes se caracterizaram por estarem circundados por grande quantidade de tecido conjuntivo frouxo (Figura 11A e 11B), associado a vasos sanguíneos e dispostos entre lóbulos glandulares. Quando vistos em secção transversal sua parede era relativamente delgada na glândula sublingual (Figura 11C), porém mais espessa nas demais. Seu lúmen apresentava grande diâmetro.

Quanto à organização celular constatou-se que estes eram delimitados por tecido epitelial do tipo cúbico com núcleos variando entre a forma ovoide e esférica, especialmente, voltados para a região apical do citoplasma celular. O citoplasma apresentou-se acidófilo com alta afinidade pela eosina, uma vez que, quando corados com base na técnica de hematoxilina-eosina, mostram-se acidófilos. Os núcleos com características basofílicas, coravam-se mais fortemente pela hematoxilina (Figura 11C).

Figura 12 - Fotomicrografia dos ductos excretores das glândulas salivares maiores do preá. Em A, os ductos excretores da parótida (setas amarelas) estão envolvidos por grande quantidade de tecido conjuntivo frouxo (setas verdes) próximos a vasos sanguíneos (setas pretas) e dispostos entre lóbulos glandulares (asteriscos). Em B, os ductos excretores da zigomática apresentam fibras de colágeno (setas) ao redor do ducto. Em C, o ducto excretor da sublingual apresenta um epitélio cúbico (seta preta), com núcleos variando entre a forma ovoide e esférica (seta verde), localizados na região apical do citoplasma. O citoplasma apresentou-se eosinofílico (seta amarela) e os núcleos (seta verde) coravam-se mais fortemente pela hematoxilina. A e C - Coloração em HE. B - Coloração em Tricrômico de Gomori.



5.4 IMUNOHISTOQUÍMICA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

Os resultados das reações histoquímicas para AA, PAS e AA + PAS estão descritos na tabela 3, sendo a positividade dessas reações observada pela coloração magenta para o PAS, azul para o Alcian e podem ser observados nas Figuras 12, 13 e 14. Destaca-se que essas marcações se referem aos lúmens acinares das estruturas exócrinas objeto deste estudo e são indicativos de que elas produzem mucinas ácidas ou neutras.

Tabela 3 - Reações histoquímicas das glândulas salivares maiores do preá.

	AA	PAS	AA+PAS
Parótida	-	+	+
Mandibular	+	++	++
Zigomática	+++	+++	+++
Sublingual	+++	+++	++

Intensidade da reação: + fraco, ++ moderado, +++ intenso, - Reação negativa.

Assim, quando coradas pelo AA, verificou-se que a glândula parótida (Figura 12A) apresentou reação negativa, enquanto a glândula mandibular (Figura 12B) demonstrou uma reação fraca e as zigomáticas e sublinguais reagiram fortemente (Figura 12C e 12D). Quanto ao PAS, as glândulas parótidas e mandibulares reagiram fraca e moderadamente, respectivamente (Figura 13A e 13B), e as zigomáticas e sublinguais reagiram fortemente ao mesmo (figura 13C e 13D).

Figura 13 - Histoquímica das glândulas salivares maiores do preá coradas com azul de Alcian (pH 2,5). Em A, a parótida apresentou reação negativa para o AA. Em B, acerca da mandibular, observa-se que o resultado é positivo fraco na lâmina própria, que se cora em azul. Em C, e D, a zigomática e a sublingual, respectivamente, reagiram fortemente ao AA, demonstrando que secretam glicoconjugados ácidos carboxilados.

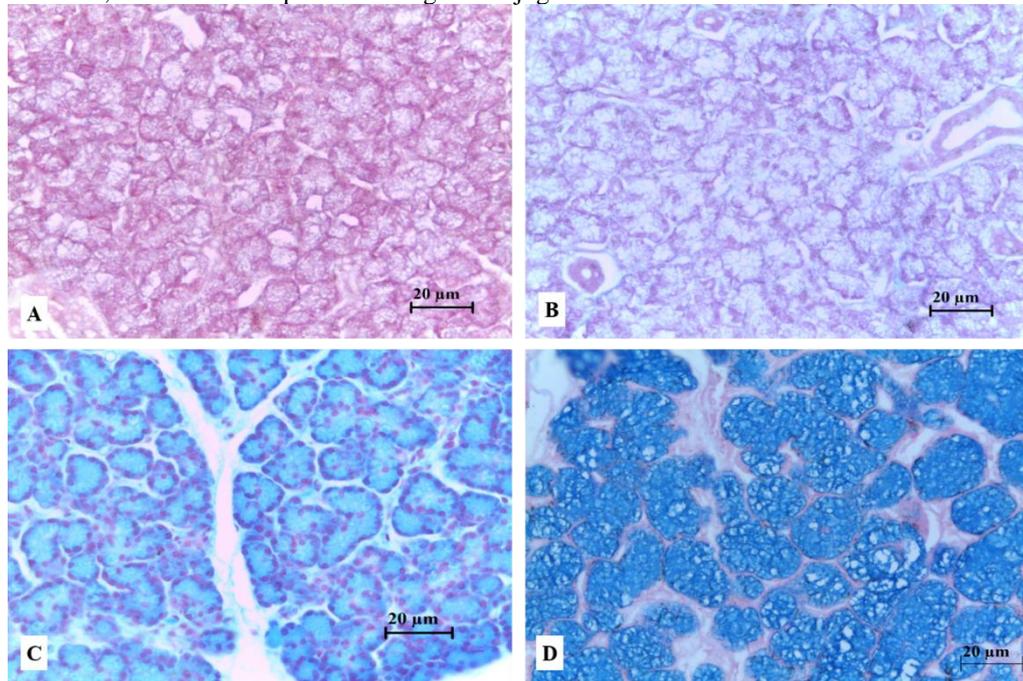
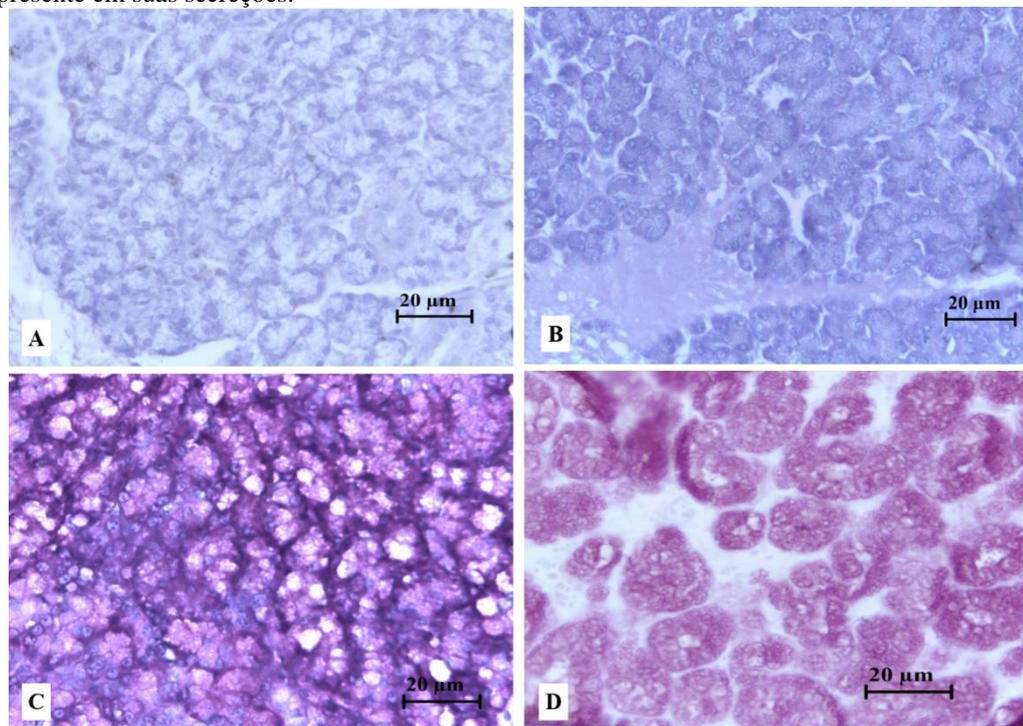
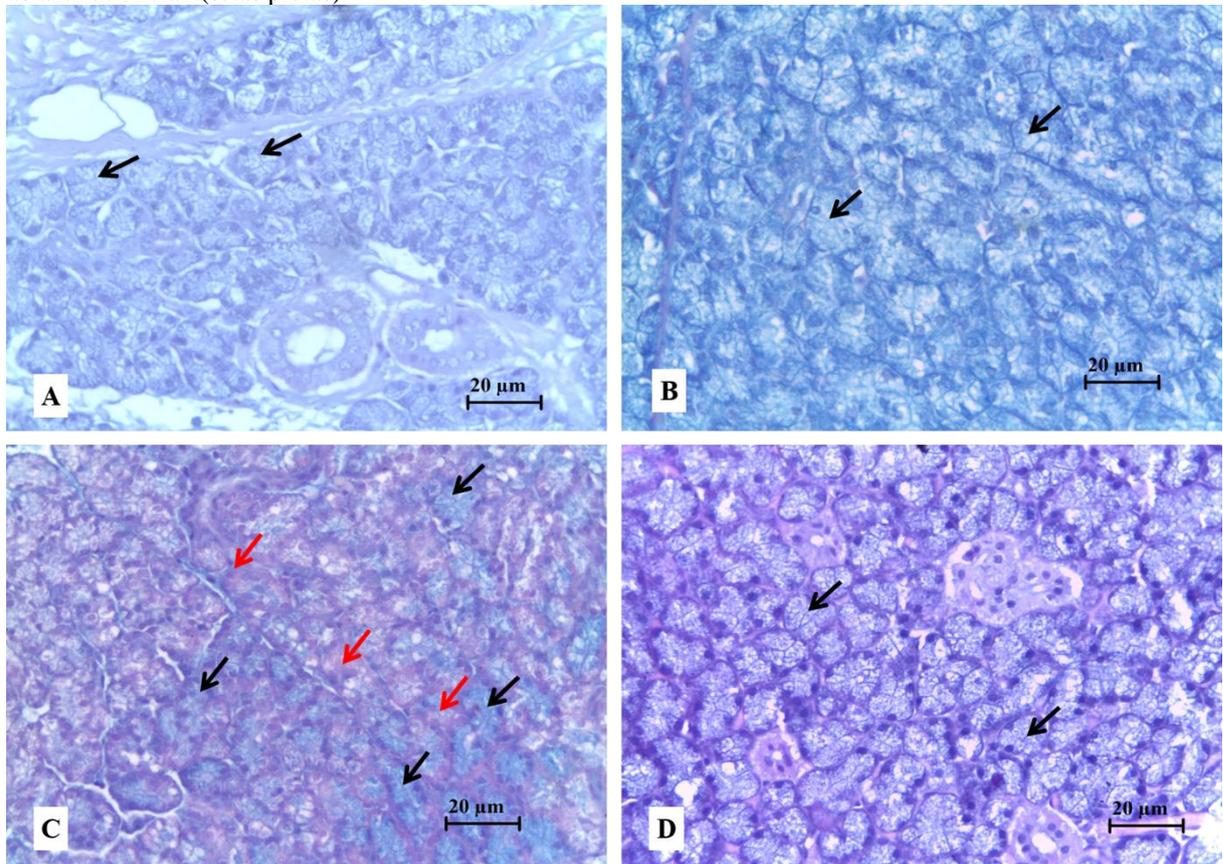


Figura 14 - Histoquímica das glândulas salivares maiores do preá coradas com Ácido Periódico de Schiff (PAS). Em A, a parótida mostrou-se pouco reativa ao PAS. Em B, a mandibular reagiu moderadamente ao PAS e em C (zigomática) e D (sublingual) ocorreu uma forte coloração a essa técnica, indicando a produção de glicoconjugados neutros presente em suas secreções.



Todavia, em relação à avaliação histoquímica da associação AA + PAS observou-se que a glândula parótida reagiu fracamente à associação (Figura 14A) e que a mandibular apresentou reação moderada apenas ao azul de Alcian, indicando que sua secreção é pobre em mucinas neutras (Figura 14B). As sublinguais, por conseguinte, reagiram moderadamente a apenas ao azul de Alcian ((Figura 14D). Já a zigomática apresentou forte reação à associação das duas técnicas (Figura 14C).

Figura 15 - Histoquímica das glândulas salivares maiores do preá coradas com associação de azul de Alcian (AA) pH 2,5 com Ácido Periódico de Schiff (PAS). Em A, as lâminas com ácinos da glândula parótida reagiram fracamente à associação das duas técnicas (setas pretas) demonstrando que a secreção produzida por estes ácinos é pouco ácida. Em B, a mandibular apresentou reação moderada apenas ao azul de Alcian (seta pretas), indicando que sua secreção é pobre em mucinas neutras. Em C, quando comparados os marcadores histoquímicos PAS (setas vermelhas) e Azul de Alcian (setas pretas) para os ácinos mucosos da zigomática, observou-se que eles apresentaram forte positividade à associação. Em D, os ácinos da sublingual reagiram moderadamente a apenas ao azul de Alcian (setas pretas).



Em relação à marcação com as lecitinas *Arachis hypogaea* (PNA), *Bandeiraea simplicifolia* (BSA-I-B₄), *Canavalia ensiformis* (Con-A) e *Triticum vulgare* (WGA), preconizou-se o critério de marcação como intensa, moderada ou fraca considerando o grau de intensidade das marcações. Os resultados são apresentados na Tabela 3.

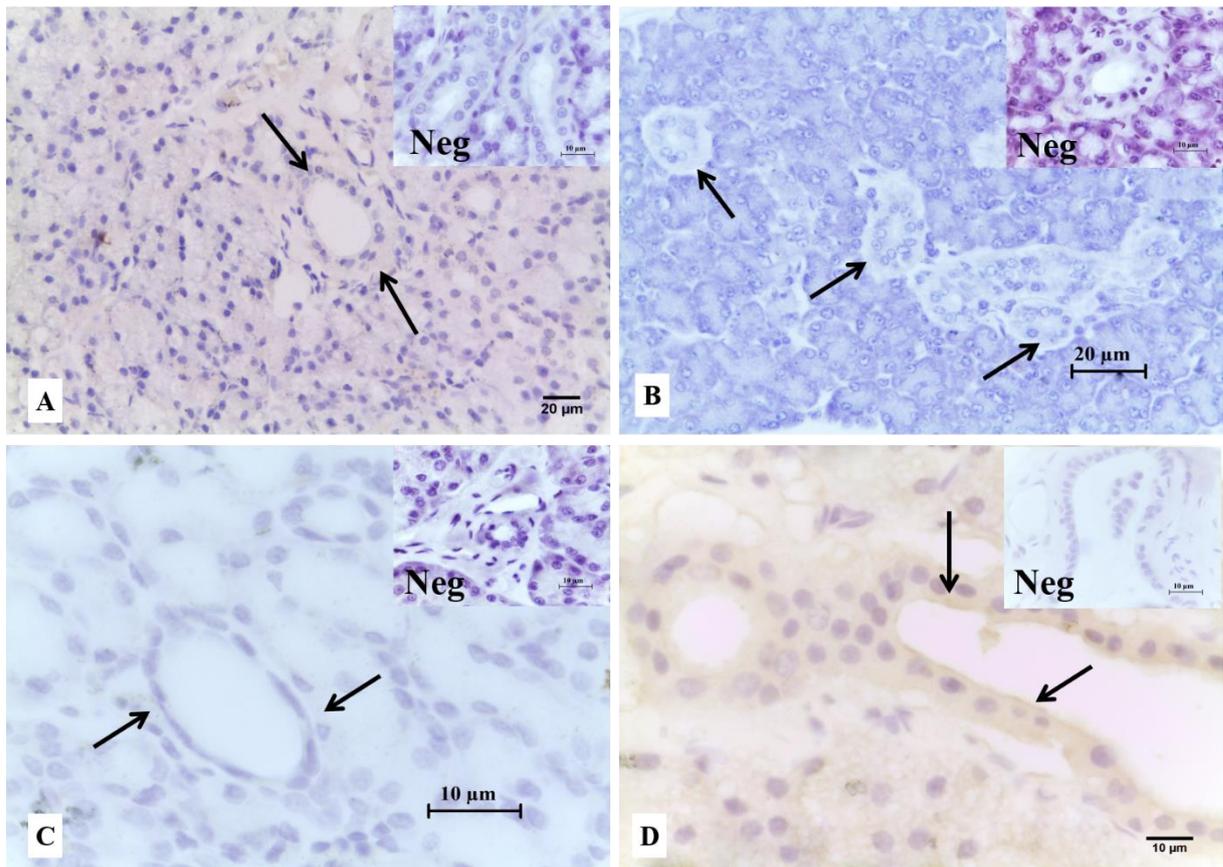
Tabela 4 - Padrões de marcação das lecitinas nos ductos das glândulas salivares maiores do preá.

	<i>Arachis hypogaea</i> (PNA)	<i>Bandeiraea simplicifolia</i> (BSA-I-B ₄)	<i>Canavalia ensiformis</i> (Con-A)	<i>Triticum vulgaris</i> (WGA)
Parótida	+	-	+++	+
Mandibular	+	-	+++	+
Zigomática	+	+	+++	+
Sublingual	+	+	+++	++

Intensidade de marcação: - sem marcação, + fraca, ++ moderada, +++ intensa.

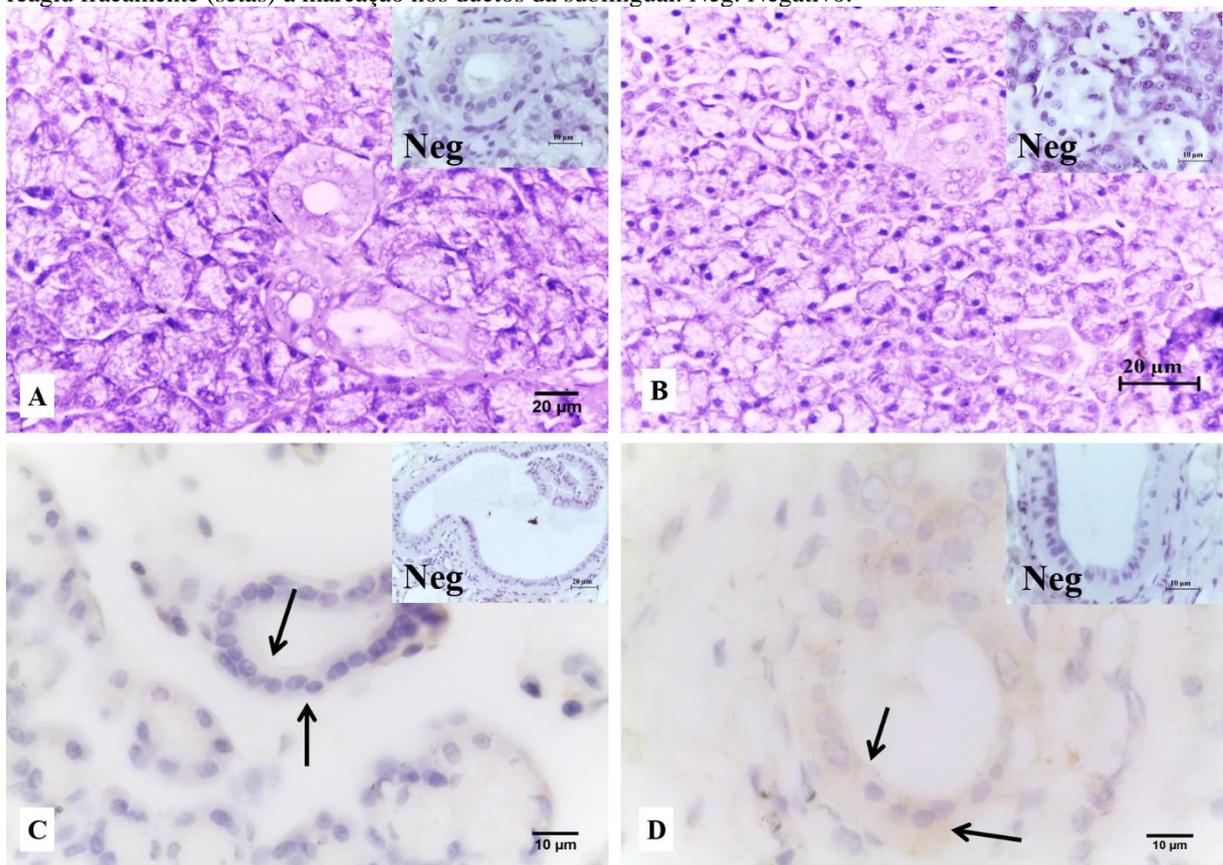
Dessa forma, constatou-se que a *Arachis hypogaea* (PNA) marcou fracamente os ductos da parótida, mandibular, zigomática e sublingual. (figura 15A, 15B, 15C e 15D).

Figura 16 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá usando *Arachis hypogaea* (PNA). Em A, o ducto da glândula parótida reagiu fracamente (setas) à lecitina PNA. Em B, ocorreu uma fraca marcação (setas) a *Arachis hypogaea* no ducto da mandibular. Em C, a zigomática corou fracamente (setas) o seu ducto com PNA. Em D, a lecitina *Arachis hypogaea* teve fraca positividade (setas) ao ducto da sublingual. Neg: Negativo.



Já quanto à lecitina *Bandeiraea simplicifolia* (BSA-I-B₄), verificou-se que as paredes dos ductos que compõem o estroma das glândulas parótida e mandibular (Figura 16A e 16B) tiveram reação negativa a mesma e, que as dos ductos das glândulas zigomática e sublingual apresentaram uma reação fracamente positiva (figura 16C e 16D).

Figura 17 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá utilizando *Bandeiraea simplicifolia* (BSA-I-B₄). Em A e B, a glândula parótida e mandibular, respectivamente, não reagiram com a BSA-I-B₄. Em C, o ducto da zigomática apresentou fraca positividade (setas) com *Bandeiraea simplicifolia*. Em D, a lecitina BSA-I-B₄ reagiu fracamente (setas) à marcação nos ductos da sublingual. Neg: Negativo.



A *Canavalia ensiformis* (Con-A) foi, entre o conjunto de lecitinas utilizado, a que marcou fortemente a parede do sistema ductal do conjunto de glândulas (Figura 17). Finalmente, observou-se que a parede dos ductos que compõem o parênquima das glândulas parótida, mandibular e zigomática (Figura 18A, 18B e 18C) reagiu fracamente à presença da *Triticum vulgaris* (WGA), enquanto a dos ductos da sublingual reagiu de forma moderada a mesma (Figura 18D).

Figura 18 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá utilizando *Canavalia ensiformis* (Con-A). Em A, a lectina *Canavalia ensiformis* apresentou intensa positividade (setas pretas) para glândula parótida em seu conjunto de ductos. Em B, os ductos da mandibular tiveram marcações que variaram de moderado (setas vermelhas) a intensa (setas pretas) com Con-A. Em C, a zigomática reagiu intensamente com *Canavalia ensiformis* na superfície do lúmen (setas pretas) e moderadamente na região basal das células ductais (setas vermelhas). Em D, a Con-A corou (setas pretas) os ductos da sublingual de maneira moderada. Neg: Negativo.

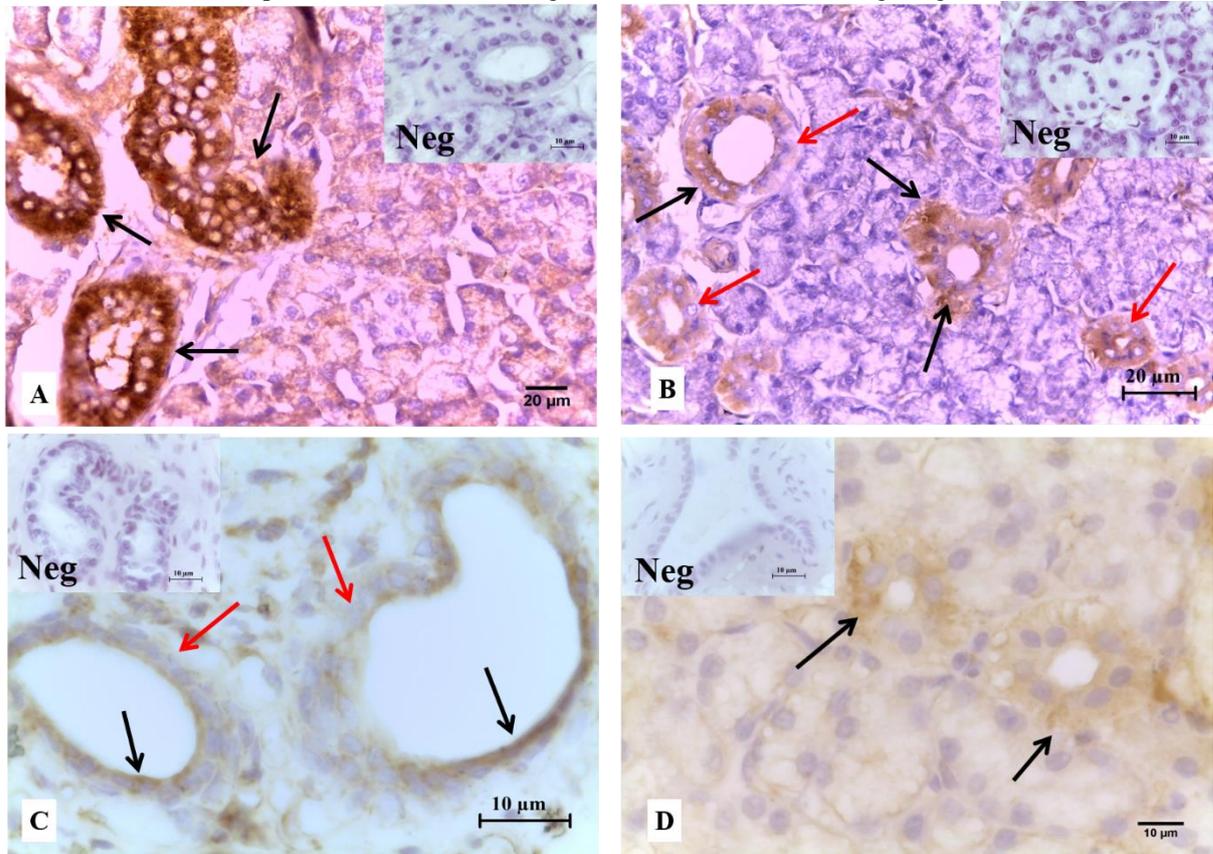
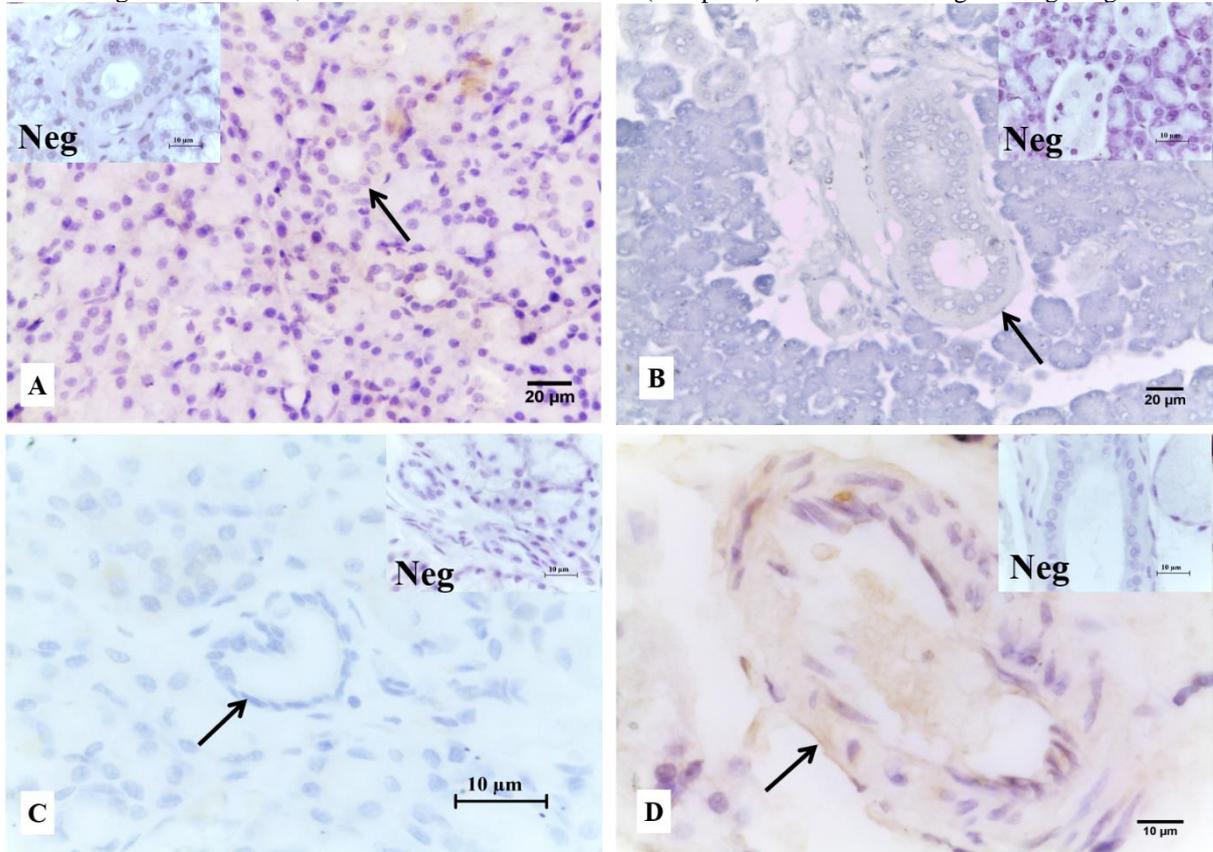


Figura 19 - Imunohistoquímica das glândulas salivares maiores do preá utilizando *Triticum vulgaris* (WGA). Em A (parótida), B (mandibular) e C (zigomática), a lectina *Triticum vulgaris* reagiu fracamente (setas pretas) nos ductos das glândulas. Em D, a WGA corou moderadamente (seta preta) o ducto da sublingual. Neg: Negativo.



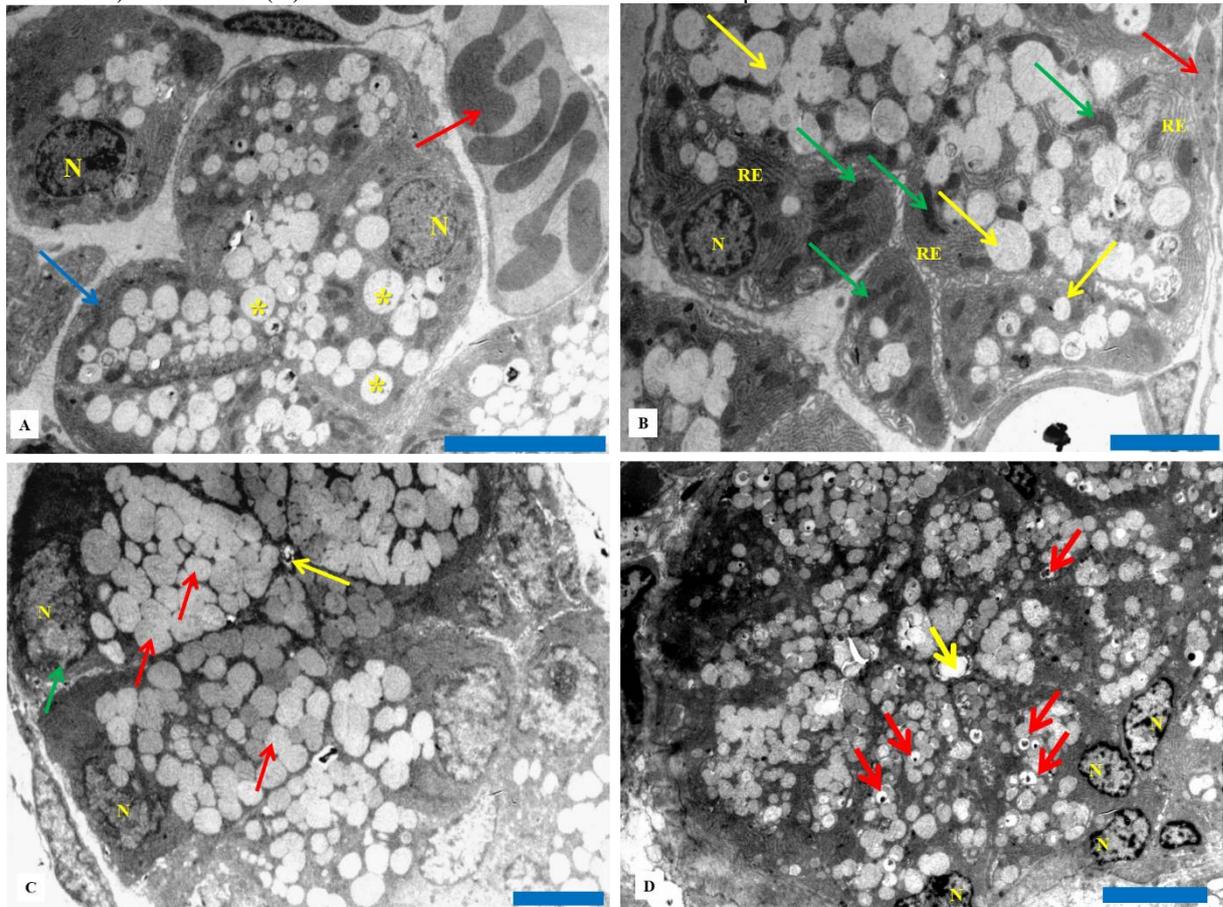
5.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

O tecido da glândula parótida quando avaliado segundo técnicas de microscopia eletrônica de transmissão permitiu verificar que as células que formavam os ácinos de fato possuíam forma piramidal. O citoplasma basicamente era tomado pelo retículo endoplasmático rugoso, muitas mitocôndrias e, além disso, possuía muitas vesículas de natureza eletroluscente, resultantes do processo de secreção celular, que pareciam se concentrar especialmente na porção mais basal da célula. Os núcleos eram predominantemente esféricos, situavam-se em posição basal da célula e sua cromatina era vista de forma dispersa, sugerindo a existência de grande atividade celular. Células mioepiteliais também foram observadas nos limites tubulares com aspecto achatado. Com base nessa técnica, também foram identificados vasos em meio ao tecido interlobular e a presença de espaços entre as células acinares o que representa o tecido conjuntivo identificado nas análises de microscopia de luz (figura 19A e 19B).

Da mesma forma que observado na glândula parótida, na glândula zigomática as células acinares também possuíam geometria piramidal, cujo ápice voltava-se para o lúmen. O citoplasma era abundante e os núcleos pareciam estar comprimidos na região basal da célula em função da grande quantidade de vesículas eletroluscentes carregadas de produtos de secreção. A cromatina nuclear apresentava-se dispersa, embora pudessem ser vistos alguns núcleos com nucléolo organizado (Figura 19C).

A exemplo do constatado para as glândulas parótida e zigomática, verificou-se que as células acinares da glândula sublingual do preá apresentavam forma piramidal, com ápice voltado para o lúmen e seu citoplasma possuía retículo endoplasmático rugoso abundante e repleto de grânulos de secreção eletrolucentes de tamanhos variados, alguns contendo pontos elétron-densos em seu interior. Os núcleos eram basais, de forma variada e com sua cromatina dispersa (Figura 19D).

Figura 20 - Eletromicrografias das glândulas salivares maiores do preá. Em A, observam-se que as células acinares da glândula parótida são piramidais (seta azul) repletas de grânulos de secreção (asterisco) eletrolucentes e núcleo (N) esférico. Identificam-se ainda vasos sanguíneos e hemácias (seta vermelha). Bar = 10 μ m. Em B, o citoplasma da célula acinar da parótida possui várias mitocôndrias (setas verdes), retículo endoplasmático (RE) e grânulos de secreção (setas amarelas) eletrolucentes de diâmetros variados. Células mioepiteliais (seta vermelha) foram observadas com aspecto achatado. Bar = 5 μ m. Em C, células acinares (seta verde) da zigomática são piramidais, com a base larga na região basal e o ápice estreito voltado para o lúmen (seta amarela). O citoplasma possui grande quantidade de grânulos de secreção (setas vermelhas), o núcleo (N) é esférico e basal. Células acinares juntas formam o ácino e no centro do ácino está o lúmen (seta amarela). Bar = 5 μ m. Em D, células acinares piramidais da sublingual apresentam o ápice em contato com um lúmen (seta amarela), grande quantidade de grânulos de secreção eletrolucentes de tamanhos variados, alguns contendo pontos elétron-densos em seu interior (setas vermelhas). Os núcleos (N) são redondos e heterocromático. Bar = 5 μ m.

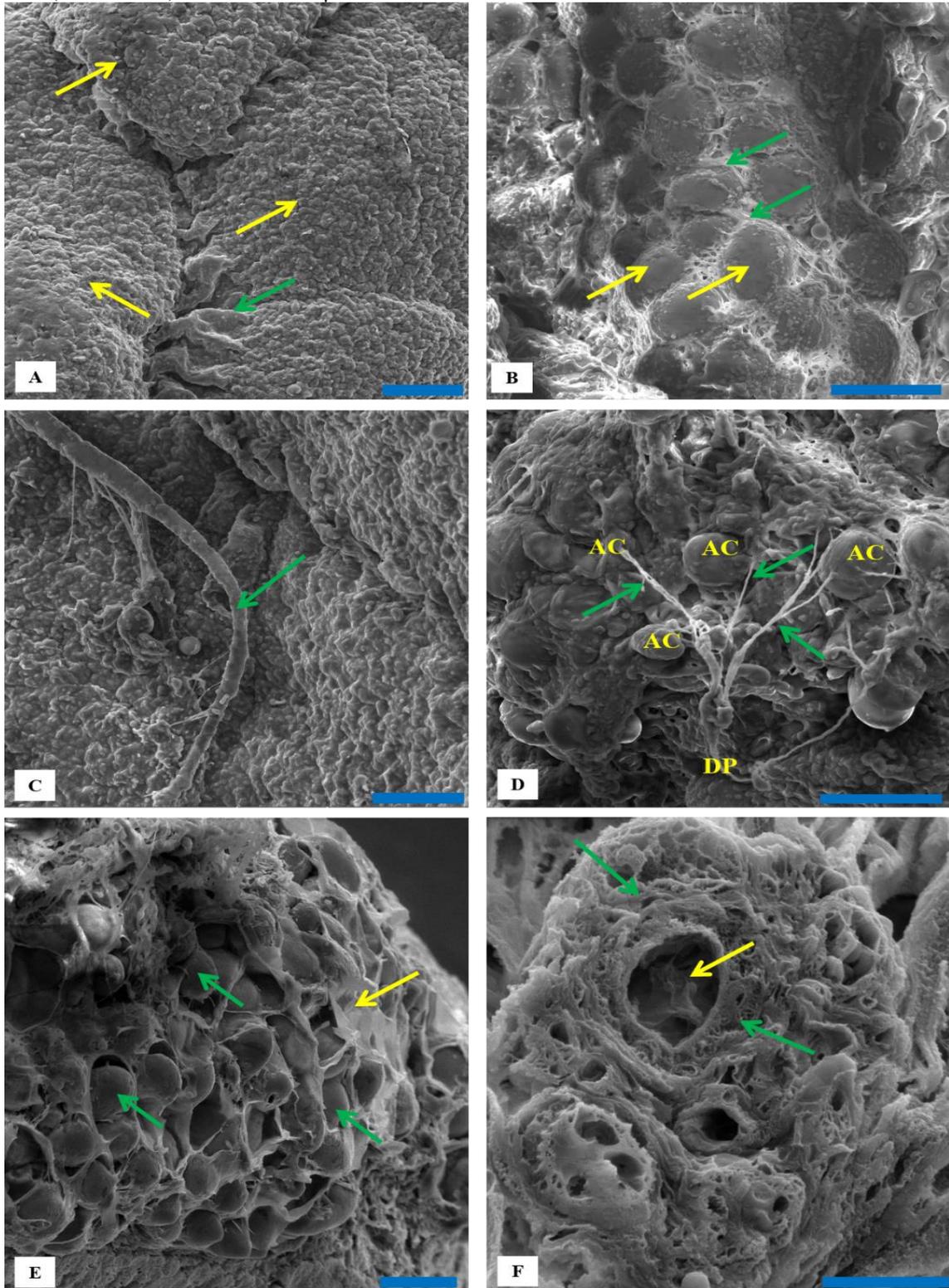


5.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

Visando avaliar o conjunto de glândulas salivares maiores do preá, de maneira a ter uma ideia bidimensional das estruturas que integram seu parênquima e de forma a complementar a descrição feita com base nas técnicas de dissecação e de microscopia de luz, foram realizadas técnicas de microscopia eletrônica de varredura, cujos resultados são apresentados a seguir.

As análises realizadas no microscópio eletrônico de varredura das salivares permitiu que se verificasse, em fragmentos submetidos à criofratura, que os ácinos possuem tamanhos distintos e que sua forma varia entre ovoide, poligonal e irregular a semelhança do que se observa na microscopia de luz, e que se encontram em diferentes alturas no interior do parênquima glandular. Percebem-se ainda, fibras de conjuntivo compondo a parede dos ácinos, bem como tecido conjuntivo compondo o interstício. Essa técnica permitiu também verificar o arranjo dos ductos ao se ramificarem para garantir a condução da secreção acinar. Estes se originam como estruturas de pequeno diâmetro que vão aumentando seu calibre até formar os ductos principais das secreções que vão compor a saliva. Essa técnica permitiu visualizar vários ductos excretorios nas glândulas, conforme podem ser observados na figura 20.

Figura 21 - Eletromicrografias das glândulas salivares maiores do preá. Em A, observa-se o aspecto lobular (setas amarelas) da mandibular e a cápsula de tecido conjuntivo da glândula (seta verde). Bar – 100µm. Em B, os ácinos ovoides (setas amarelas) da mandibular estão envolvidos por tecido conjuntivo. Bar – 100µm. Em C, detalhe de um ducto percorrendo a glândula mandibular. Bar – 100µm. Em D, é possível observar os ácinos (AC) da zigomática e vários ductos (setas verdes) convergindo para formar um ducto principal (DP). Bar – 100µm. Em E, observa-se a disposição dos ácinos (setas verdes) da zigomática e tecido conjuntivo (seta amarela). Bar – 50µm. Em F, ducto da glândula zigomática rodeado de tecido conjuntivo (setas verdes), no centro do ducto encontra-se o lúmen (seta amarela) ductal. Bar – 20µm.



Discussão

6 DISCUSSÃO

Os itens que se seguem representam a relação entre os resultados encontrados nessa pesquisa e aqueles referenciados na revisão de literatura, entre outros, e visa estabelecer comparações entre pesquisas realizadas com outras espécies com o intuito de inferir sobre aspectos evolutivos dentre representantes dos mamíferos.

6.1 MACROSCOPIA E TOPOGRAFIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

Os achados descritos para o preá em relação às glândulas salivares maiores indicaram a presença de quatro pares de glândulas, que atuam como coadjuvantes nos processos de digestão destes animais, facilitando a mastigação, deglutição e mesmo iniciando o processo de digestão no interior da cavidade bucal. Estudos envolvendo o conjunto de glândulas salivares maiores não têm sido muito comuns na literatura, mas destacam-se, a exemplo deste, os trabalhos realizados por Oliveira Júnior et al. (2016), em *Dasyprocta aguti*, Vieira et al. (2015), em *Glironia venusta*, Lobo et al. (2014) em *Gracilinanus microtarsus* e Santos et al. (2010), em *Nasua nasua*, tendo os mesmos se referido à presença dessas quatro glândulas nas espécies pesquisadas, o que se entende por serem bastante relevantes, pois informam em um mesmo estudo como estão organizadas as glândulas salivares maiores nestes indivíduos, facilitando o acesso às informações sobre cada um.

Quanto à macroscopia dessas glândulas, verifica-se que há um padrão para elas relativo ao revestimento por uma cápsula de conjuntivo, que a glândula mandibular é lobada, além de estarem topograficamente situadas na mesma região, o que se constata quando se analisam produções científicas disponíveis na literatura (TAGA; SESSO, 2002; GRECO et al., 2008; CASTRO et al., 2010; FOSSUM, 2014). Ressalta-se, no entanto, que é comum a variação na disposição dos ductos que excretam os produtos de secreção das glândulas parótidas, que ora situam-se em posição mediana ao masseter e outras vezes percorrem ventralmente esse músculo.

Em relação à cor, forma e lobação das glândulas salivares maiores de preás constatou-se que a glândula parótida possuía cor pálida, forma irregular, com ducto delgado; que a glândula mandibular é constituída por três lobos distintos, com aspecto triangular; que a glândula zigomática, possuía forma triangular; e que as glândulas sublinguais apresentam coloração castanho claro e aspecto lobular.

Descrevendo sobre as glândulas mandibulares, parótidas, sublinguais, labiais e zigomáticas de *Glironia venusta*, Vieira et al. (2015), verificaram que as parótidas eram triangulares e de cor parda esbranquiçada; citam também que as mandibulares eram alongadas, constituídas por lobos não septados e localizadas na porção cranial da região cervical. Já as glândulas zigomáticas possuíam forma triangular e as sublinguais eram alongadas e de coloração esbranquiçada. Os autores descrevem ainda a presença das glândulas labiais, em formato de “U”. Os resultados encontrados pelos pesquisadores diferem quanto aos observados para preás, para a parótida quanto à forma e quanto à cor e se assemelham quanto à forma encontrada para a zigomática.

Oliveira Júnior et al. (2016) ao descrever as glândulas salivares maiores da *Dasyprocta aguti*, relatam que a glândula parótida da cutia possuía forma irregular, era dotada de pequenos lobos e apresentava cor rosa. A glândula mandibular possuía forma triangular e cor amarelo pálido e apresentava macrolobação. Já a glândula zigomática tinha forma oblonga e cor variando de vermelho ao marrom, enquanto que, a glândula sublingual era composta por uma porção monostomática lobulada, difusa e de cor amarelo pálido e a uma porção polistomática de forma oblonga e de cor vermelha intensa.

Quando comparado os achados de Viera et al. (2015) aos resultados obtidos para o preá, constata-se que as parótidas e mandibular de preás assemelham-se as do marsupial estudado por esses autores no que se refere a forma irregular e diferem quanto à coloração, uma vez que ambas apresentam forma irregular, mas possuem cores distintas.

O que se infere observando-se os achados desses autores é que a forma, a cor e a lobação das glândulas salivares maiores, diferentemente de sua topografia, assumem particularidades inerentes a cada grupo de animal, o que pode ser constatado, por exemplo, observando os relatos feitos por Xin et al. (2005), Greco et al. (2008), Castro et al. (2010) e Santos et al. (2013).

6.2 MICROSCOPIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

As glândulas salivares maiores são constituídas microscopicamente, por células secretoras e mioepiteliais, organizadas formando as unidades secretoras da glândula, as quais se ligam a uma rede de canalículos de maneira a garantir que seu produto de secreção seja liberado dentro de lúmen principal. Para Jaeger e Freitas (2016), o parênquima das glândulas salivares maiores forma-se pela união de um conjunto de unidades secretoras terminais esféricas

ou tubulares que compreendem os ácinos e ainda por uma série de ductos ramificados que liberam o produto secretado na região bucal.

6.2.1 Microscopia de luz da glândula parótida

Avaliado microscopicamente o estroma da glândula salivar de preás, verificou-se a presença de uma cápsula de tecido conjuntivo delimitando-a externamente e emitindo septos para o interior da glândula, o que lhe dava a característica de glândula lobulada, em cujos lóbulos podiam ser identificados ácinos serosos e mucosos e ductos do tipo intercalares, estriados e excretorios.

Nessa mesma linha de pesquisa, Onwuaso et al. (2015) descrevem a glândula parótida do *Cricetomys gambianus* e *Thryonomys swinderianus*, referindo-se a mesma como uma estrutura composta por unidades túbulo-alveolares complexas, lobulada e constituída por ácino e ductos puramente serosos. O autor cita ainda que os ácinos eram formados por cerca de quatro a sete células piramidais, com núcleos esféricos basais, contendo um minúsculo lúmen. Esses achados diferem dos observados para o preá, quanto ao fato de que nestes animais a parótida possuía apenas ácinos serosos, sendo que no preá também se observaram ácinos mucosos. Outro achado a ser considerado corresponde a quantidade de células acinares, que no preá estiveram entre quatro e cinco, sendo que nos animais pesquisados pelo autor foram observadas entre quatro e sete células.

Os resultados descritos para o *Cricetomys gambianus* e *Thryonomys swinderianus* pelo pesquisador no parágrafo anterior, assim como no caso do preá corroboram com os relatados para a glândula parótida de camundongos (TREUTING; DINTZIS, 2012) e de *Cricetus cricetus* (KHOJASTEH; DELASHOUB, 2012), quanto a esta ser capsulada e emitir septos de conjuntivo que a dividem em lóbulos.

6.2.2 Microscopia de luz da glândula mandibular

A glândula mandibular, além de ser lobada quando avaliada macroscopicamente, tinha seu parênquima dividido em lóbulos separados por tecido conjuntivo oriundo de uma delgada cápsula de delimitação e, continham predominantemente ácinos serosos, os quais eram constituídos por células piramidais com núcleos redondos e em posição basal da célula, diferentemente dos núcleos dos ácinos mucosos, que embora basais apresentavam aspecto irregular. Ambas as células acinares possuíam citoplasma com acentuada quantidade de

grânulos de secreção. Além dos ductos observados na parótida nessa glândula, também foram identificados ductos granulosos.

Estudando a morfologia microscópica da glândula salivar mandibular do *Cricetomys gambianus*, Ikpegbu et al. (2013) citam que ela é revestida por uma cápsula de tecido conjuntivo que separa duas regiões distintas por finas fibras de tecido conjuntivo, sendo que uma região continha principalmente células serosas, enquanto a outra continha principalmente células mucosas triangulares ou arredondadas, com núcleos basais achatados. Salienta-se ainda que, os estudiosos referem-se à presença de semiluas serosas e de células mioepiteliais observadas em torno das células secretoras de ácidos e dos ductos intercalares. O epitélio destes ductos variou de cúbico simples a estratificado. Os resultados relatados condizem com os descritos para o *Galea spixii*, exceto pelo fato de que em todos os ductos descritos observou-se apenas epitélio do tipo cúbico simples.

Ao estudar as glândulas salivares maiores de *Thryonomys swinderianus* e *Cricetomys gambianus*, Onwuaso et al. (2015) descrevem achados semelhantes aos relatados por Ikpegbu et al. (2013), porém este é enfático ao afirmar que a mandibular do *Thryonomys swinderianus*, apesar de seromucosa, tem um predomínio de ácidos serosos e que a presença de semiluas serosas era comum na glândula mandibular de *Thryonomys swinderianus*, mas não em *Cricetomys gambianus*, aspecto não identificado no preá.

Sobre essa glândula, é interessante referenciar os estudos realizados por Tirapelli et al. (1998) em *Cebus apella*, uma vez que os autores afirmam que a localização da glândula é semelhante à dos roedores e que possui organização do tipo tubuloacinoso, composta de ácidos seromucosos e túbulos mucosos com semiluas seromucosas, cujas células seromucosas são piramidais e encontradas formando ácidos independentes ou constituindo-se de semiluas no final dos túbulos mucosos, bem como os estudos realizados por Moghaddam et al. (2009) sobre um grupo de roedores como *Hamster Nesokia indica*, *Cricetulus migratorius*, *Allactaga elater*, *Funambulus pennati*, *Meriones libycus* e *Apodemus sp.*, onde afirmam que essa glândula é composta por ácidos mucosos e serosos, excetuando-se a do roedor *Jaculus blanfordi* que continha apenas ácidos serosos, uma vez que a organização descrita para o preá vem consolidar a ideia de que a glândula salivar é uma estrutura evolutivamente com características de tipo tubuloacinoso, composta de ácidos seromucosos.

6.2.3 Microscopia de luz da glândula zigomática

A glândula zigomática é uma estrutura relatada para mamíferos carnívoros domésticos como o *Canis familiaris* (FOSSUM, 2014) e *Felis catus* (AL-GAILANI et al., 1981), assim como também é relatada para alguns roedores como o *Cavia porcellus* (RIBEIRO et al., 2007) e marsupiais como o *Glironia venusta* (VIEIRA et al., 2015), o que sugere que deva existir em outros grupos de animais, mas que ainda não foi investigada, embora tenha sido caracterizada como uma glândula salivar bastante característica, dada sua organização microscópica, devendo por conseguinte possuir grande relevância na produção da saliva, a exemplo do que se preconiza para as demais glândulas salivares maiores.

Nas glândulas zigomáticas de preás, verificou-se a presença de uma cápsula delgada, bem menos espessa que a mandibular e a parótida. A zigomática também era constituída por lóbulos margeados por septos de conjuntivo oriundos dessa cápsula, em cujos parênquimas havia ácinos predominantemente mucosos e formados por células com forma variando entre ovoide e piramidal, com citoplasma preenchido por grânulos de secreção basofílica e com núcleos esféricos e basais. Adicionalmente, é preciso colocar que o tecido conjuntivo que servia de arcabouço de sustentação para seus ácinos, era bem mais abundante que nas demais glândulas.

De acordo com Ribeiro et al., (2007), as glândulas zigomáticas do *Cavia porcellus*, apresentavam uma cápsula de tecido conjuntivo formando septos, que dividem essa glândula em lobos e lóbulos irregulares, rodeados de pequenos ácinos. Para esse achado é preciso colocar que possivelmente tenha ocorrido um problema de terminologia, por parte dos autores, pois a zigomática sempre se apresenta como uma estrutura não lobada, embora constituída por lóbulos ou do contrário essa lobação estaria associada ao desenvolvimento da glândula, uma vez que nos animais analisados pelos autores possuíam apenas dois dias de nascidos.

Ao descrever a glândula zigomática em cães e gatos, Fossum (2014) cita que esta é ovoide ou irregular, localizada no assoalho da órbita, ventrocaudal ao olho e medialmente ao arco zigomático, cujos ductos correm ventralmente, abrindo-se sobre uma dobra da mucosa, lateralmente ao último dente molar maxilar. Em relação ao roedor aqui pesquisado, percebeu-se que a zigomática possuía a forma de um triângulo isósceles, aspecto que torna diferente a forma da glândula nessas espécies. No entanto, a topografia da mesma foi observada como sendo similar à descrita para cães e gatos.

Quanto às características dos ácinos dessas glândulas, Al-Gailani et al. (1981) estudando a glândula zigomática de gatos (*Felis catus*), descrevem que são grandes e mucosas. Da mesma

forma, ao descrever o desenvolvimento da zigomática do *Cavia porcellus*, Ribeiro et al. (2007), referem-se a ela como túbulo-acinar e com ácinos predominantemente mucosos, sendo que nos ácinos serosos algumas vezes podiam ser identificadas semiluas serosas.

Os achados relatados por esses estudiosos condizem com os resultados descritos para o preá, contudo, não se realizaram experimentos que permitam afirmar que as glândulas possuem ácinos muito grandes quando comparados aos das demais glândulas pesquisadas, embora se tenha essa impressão quando se observam seus tecidos com base em uma mesma magnitude óptica.

6.2.4 Microscopia de luz da glândula sublingual

Os estudos realizados com a glândula sublingual dos animais pesquisados, permitiram observar que o estroma dessa glândula compõe-se de dois tipos de ácinos serosos e mucosos dispostos em lóbulos irregulares, separados por conjuntivo frouxo, que delimitava grupos acinares de modo menos organizado do que o verificado para as parótidas, mandibulares e zigomáticas.

Amano et al. (2012) descrevem as glândulas sublinguais de roedores como estruturas localizadas junto com as glândulas mandibulares na porção mais cranial do pescoço, entre os linfonodos mandibulares e o esterno, sendo uma estrutura encapsulada, composta por ácinos mucosos e serosos, esses últimos com semiluas serosas periféricas. Já Shackelford e Schneyer (1964), citam em estudo sobre glândulas salivares maiores de diferentes roedores (*Cricetus auratus*, *Citellus tereticandus*, *Dipodomys deserti*, *Dipodomys merriami*) que as glândulas sublinguais são predominantemente as que produzem secreção mucosa e contêm sistemas de ductos estriados bem desenvolvidos.

Os resultados destes autores corroboram com aqueles encontrados para preás, quanto ao fato de a glândula sublingual ser predominantemente mucosa, bem como com o fato de que nos roedores estudados essas glândulas são encapsuladas, uma vez que nas avaliações em microscopia de luz convencional podem verificar a existência de uma delgada cápsula de conjuntivo delimitando a glândula e seus lóbulos.

Ao desenvolver estudos com as glândulas salivares maiores de *Dasyprocta aguti*, Oliveira Júnior et al. (2016) referem-se aos ácinos das sublinguais como sendo na sua maioria mucosos e com regiões de semiluas serosas. As células que formavam eram grandes, com geometria piramidal, o citoplasma era abundante e cheio de grânulos de secreção. A região basal dessas células corou-se fortemente pela hematoxilina, assim como seus núcleos. Quanto

às células serosas, os autores inferem-nas com características definidas para aquelas que compunham os ácinos mucosos. Em preás, as células acinosas apresentaram a mesma afinidade apontada pelos autores, quando coradas pela técnica de hematoxilina-eosina.

Al-Saffar e Simawy (2014), ao pesquisarem as glândulas salivares maiores do *Oryctolagus cuniculus* descrevem que a glândula sublingual é composta por ácinos mistos, mas seus lóbulos possuem especialmente ácinos mucosos e em menor quantidade apresentavam ácinos seromucosos, o que sugere organização semelhante à sublingual do preá.

6.3 MICROSCOPIA DO SISTEMA DUCTAL DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

Os ductos das glândulas salivares maiores são constituídos por células que variam entre cuboídes/colunares e ainda verifica-se a presença de células mioepiteliais. Esses ductos compreendem um sistema que recolhe os produtos secretados pelas células acinares no interior dos lúmens dos ácinos e são formados por ductos do tipo intercalares, granulosos, estriados e excretores, sendo os granulosos comumente relatados para a glândula mandibular de alguns roedores.

Tamarin e Sreebny (1965), em experimento com glândulas mandibulares de ratos, descrevem que os ductos intercalados consistem em células cuboídes, e em poucas ocasiões, se estendem para a extremidade dos ductos estriado ou granular. Já os ductos granulares consistem de células colunares, enquanto os ductos estriados consistem em células colunares altas. Além disso, descreve o ducto excretor como sendo uma estrutura com células colunares altas, vesiculadas, e ainda que diante da presença de capilares ao redor dessas células e as dobraduras basais, sugere que este segmento ductal está principalmente envolvido com o transporte de água.

Desse modo, verifica-se que os resultados descritos por Tamarin e Sreebny (1965) são concordantes com os referenciados para o preá, conforme comentado no parágrafo anterior, assim como se assemelham aos relatados definidos por Silvia et al. (2005) no *Zaedyus pichiy* ao descrever os ductos intercalados, como sendo compostos de uma única camada de epitélio cuboíde, bem como ao observado para os ductos interlobulares, que foram caracterizados como sendo composto de epitélio colunar pseudoestratificado. Porém, diferem quanto aos resultados citados para os ductos estriados, que possuem uma única camada de epitélio cilíndrico com células contendo núcleos centrais.

Mursal et al. (2016), em trabalho comparativo referente às glândulas mandibular e parótida de camelo, boi, ovelha e cabra, descrevem que nessas haviam ductos intercalados

revestidos por epitélio cuboide, com células contendo núcleos redondos localizados apicalmente, além de ductos estriados com paredes formadas por células colunares altas, núcleos ovais, e ductos interlobulares compostos por epitélio de colunar baixo, os interlobares recobertos por epitélio colunar estratificado e com células caliciformes. Ainda, descreve que as células mioepiteliais foram observadas em torno dos ácinos e dos ductos intercalados. O fato de o autor descrever a presença de ductos lobares nestes animais é resultante da presença de lobos nas duas glândulas estudadas, já que o mesmo é citado como presente nas estruturas glandulares dos quatro animais.

No preá apenas a glândula mandibular apresentou lobação, porém os ductos interlobares não foram descritos. Já quanto aos demais, as características descritas para o epitélio de suas paredes diferem quanto ao fato do autor ter identificado epitélio colunar, uma vez que no preá identificou-se que as paredes dos ductos eram formadas apenas por epitélio cúbico.

6.4 IMUNOHISTOQUÍMICA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

As glândulas salivares maiores de preás foram submetidas a reações histoquímicas utilizando-se três metodologias distintas visando verificar se funcionalmente estas produzem secreções de natureza ácida ou neutras e ainda lecitinas que marcam carboidratos estruturais.

Os resultados obtidos para as glândulas salivares maiores de preás indicaram que a glândula parótida, quando corada pelo Azul de Alcian (AA) pH 2,5, apresenta reação negativa, enquanto a mandibular demonstrou uma reação fraca e as sublinguais e zigomáticas reagiram fortemente. Quanto às reações com o Ácido Periódico de Schiff (PAS), as glândulas parótidas e mandibulares, reagiram fraca e moderadamente, respectivamente, e as zigomáticas e sublinguais reagiram fortemente.

Todavia, em relação à associação AA + PAS, observou-se que a glândula parótida reagiu fracamente à associação e que a mandibular apresentou reação moderada apenas ao AA. As sublinguais, por conseguinte, reagiram moderadamente a apenas ao PAS. Já a zigomática apresentou forte reação à associação (AA- PAS), permitindo inclusive que se verifique a presença acentuada de ácinos serosos e mucosos no estroma da mesma.

Al-Saffar e Simawy (2014), em trabalho com coelhos (*Oryctolagus cuniculus*), referem-se aos ácinos da parótida como sendo serosos e afirmam que outras espécies podem apresentar ácinos mucosos e serosos nessas glândulas. Em seguida relatam que as seções da glândula parótida do coelho utilizado em sua pesquisa, quando coradas com PAS, revelam reações acinares positivas, juntamente com os ductos estriados, e consideram, também, que não há

reação com AA, nem com AA combinado PAS. Quanto à glândula mandibular, os autores afirmam que muitos ácinos tiveram reação positiva ao AA, e com AA combinado PAS, indicando que eles produzem mucina neutra e ácida ao mesmo tempo.

Zhou et al. (2010) realizaram análise histoquímica nas glândulas salivares maiores do mini porco e também utilizaram as técnicas AA (pH 2,5), PAS e AA (pH 2,5) combinado com PAS, visando identificar a natureza das substâncias sintetizadas e segregadas pelas células acinares das glândulas salivares maiores durante o desenvolvimento embrionário (embriões de 40, 60, 80, 95 dias e filhotes com 0 dia de pós-natal) destes animais. Os autores observaram que tanto a parótida como a mandibular tiveram reação positiva quando submetida às técnicas, porém verificou que essas reações estavam para umas células e outras não, sugerindo que as glândulas possuíam ácinos mucosos e ácinos serosos, que produzem secreções ácidas e substâncias neutras, respectivamente. Além disso, coloca que as reações foram mais fortes na mandibular.

Onwuaso et al. (2015) pesquisando as glândulas salivares maiores de dois tipos de roedores (*Cricetomys gambianus* e *Thryonomys swinderianus*), com base em técnicas histológicas e histoquímicas descrevem a presença de ácinos mucosos, semiluas seroras e ductos distintos nas glândulas das duas espécies e verificam que os ácinos mucosos e serosos da parótida das duas espécies reagem fortemente ao PAS, enquanto os das sublinguais reagem moderadamente ao AA. Verificam ainda, que os ductos mandibulares apresentaram reação negativa ao PAS e ao AA. Os resultados dos pesquisadores sugerem que dentro de um mesmo grupo de roedores existem especificidades associadas aos hábitos alimentares das espécies, pois dentre indivíduos de mesma ordem as glândulas portam-se funcionalmente diferentes.

Quando comparados os achados para o preá aos resultados referenciados anteriormente, o que se percebe é que uma mesma glândula pode ter a mesma funcionalidade, mas produzir quantidades distintas de glicoproteínas de natureza ácida, básica ou neutra, influenciadas pela disponibilidade alimentar para o animal ou mesmo por adaptações fisiológicas a que estão sujeitos os diversos grupos de mamíferos.

Os resultados encontrados com base nessas técnicas sugerem que as células acinares das parótidas secretam especialmente glicoproteínas neutras, enquanto as mandibulares, zigomáticas e sublinguais parecem produzir glicoproteínas ácidas e neutras. Tais resultados permitem que se presuma que os produtos de secreção dessas estruturas sejam ricos em glicoproteínas do tipo mucinas, substâncias cujas funções no organismo animal estão relacionadas à lubrificação, sinalização, entre outros, como é o caso da saliva.

Quanto às glândulas salivares maiores apresentarem seus parênquimas com organização similar, esse fato já é basicamente consensual, no entanto, infere-se aqui que funcionalmente elas assumem importância diferente na composição da saliva, já que uma mesma glândula mostra em espécies diferentes reações distintas à presença de marcadores histoquímicos com afinidade para substâncias ácidas ou neutras. Esses aspectos podem ser constatados não só quando se observam o interstício celular, mas também quando se analisam as secreções nos lúmens dos ácinos ou dos ductos.

As lecitinas foram utilizadas nessa pesquisa com o intuito de marcar carboidratos de membrana de células constituintes das paredes dos ductos. Os resultados demonstraram que as paredes do conjunto de ductos das quatro glândulas pesquisadas foram marcadas fortemente pela *Canavalia ensiformis* (Con-A), enquanto a *Arachis hypogaea* (PNA) marcou fracamente as paredes dos ductos das quatro glândulas. Já a lecitina *Bandeiraea simplicifolia* (BSA-I-B₄) marcou fracamente os ductos das glândulas zigomática e sublingual, assim como a *Triticum vulgare* (WGA) marcou fracamente as paredes do sistema ductal da parótida, mandibular e zigomática e de forma moderada a sublingual.

Schulte e Spicer (1983), trabalhando com glândulas salivares maiores de camundongos, citam que as células serosas na glândula parótida evidenciaram coloração moderada a forte com a PNA (*Arachis hypogaea*). As células de ácinos variaram em afinidade para BSA-I-B₄ (*Bandeiraea simplicifolia*), variando na intensidade de coloração de 0-4B. Afirmam ainda que as células serosas com maior afinidade para BSA-I-B₄ (*Bandeiraea simplicifolia*) tendem a ser localizadas na periferia de lóbulos.

Descrevem os autores que a glândula mandibular apresentou todas as células dos ductos granulares com coloração moderada a forte para a PNA (*Arachis hypogaea*) e que uma porcentagem variável de células na região basal dos ductos interlobulares teve reatividade intensa com BSA-I-B₄ (*Bandeiraea simplicifolia*) marcando até o citoplasma. Consideram ainda que um pequeno número de células que se assemelhava a corpos mucosos nos ductos estriados e o segmento proximal dos ductos interlobulares foram marcadas pela PNA (*Arachis hypogaea*) e que as células basais nos ductos interlobulares tiveram marcação similar à observada na glândula mandibular.

Takai et al. (1986) investigando o comportamento de diferentes lecitinas em glândulas salivares maiores de ratos Wistar adultos, frente à ação de diferentes fixadores nos tecidos, verificaram diferentes padrões de marcação e associam isso aos tipos de ligações que as lecitinas fazem a cada tipo de fixador. Foram utilizadas as lecitinas: Con-A (*Canavalia ensiformis*), PNA (*Arachis hypogaea*) e WGA (*Triticum vulgare*).

Esses estudiosos verificaram os padrões de ligação e intensidades de colorações obtidas com diferentes fixadores, incluindo células acinares, células dos ductos estriados e dos túbulos granulares alveolares, e constataram reações distintas, em uma mesma glândula, em função do tipo da lecitina em associação com os diferentes tipos de fixadores utilizados.

Verificaram, por exemplo, que as células acinares da parótida tiveram uma forte reação com a Con-A (*Canavalia ensiformis*) e bastante fraca para estas células na mandibular e sublingual. As células acinares mucosas da sublingual em geral não apresentaram reação a Con-A (*Canavalia ensiformis*), para a maioria dos fixadores, enquanto as acinares da mandibular eram negativas nas seções fixadas com soluções de Bouin, Zamboni ou formalina, enquanto que as células dos túbulos granulares alveolares dessa glândula apresentaram maior reação nas seções fixadas com Carnoy, Helly ou Bouin, mas não reagiram ou tiveram uma fraca reação com os fixadores Orth, Zamboni, formalina, álcool, acetona ou periodato de lisina + paraformaldeído.

Esses resultados são importantes para que se avaliem os resultados obtidos por diferentes marcadores em relação ao fixador utilizado, uma vez que esse poderia estar modificando as estruturas dos tecidos e, por sua vez, alterando a intensidade das reações dos marcadores aos tecidos.

Çinar et al. (2016) pesquisando a glândula salivar parótida de *Ovis aries* utilizou quatro tipos de lecitinas como marcadores de carboidrato de membrana e verificaram uma reação moderada à lecitina Con-A (*Canavalia ensiformis*) nas superfícies apicais das células epiteliais glandulares dos corpos serosos da glândula e fracamente o citoplasma destas células. Também foi verificado que essa lecitina marcou fracamente as células epiteliais dos ductos e de moderada a fortemente nas superfícies luminais dos ductos. Para lecitina BSA-I-B₄ (*Bandeiraea simplicifolia*) observou-se uma reação moderada para as superfícies apicais das células epiteliais glandulares na glândula serosa e fraca para a região basal das células epiteliais glandulares, e uma reação muito forte nos ductos e na superfície apical das células epiteliais dos ductos.

Os estudiosos relatam ainda que ocorre uma forte reação para as superfícies das células epiteliais ductais para PNA (*Arachis hypogaea*) e que as células epiteliais glandulares dos corpos serosos da glândula não reagiram a presença dessa lecitina. Além disso, perceberam que as células epiteliais glandulares dos corpos serosos da glândula reagiram de fraco a forte com WGA (*Triticum vulgare*), assim como verificaram uma marcação muito forte para as superfícies das células epiteliais ductais e uma reação fraca nas células epiteliais dos ductos.

Comparando os resultados relatados pelos pesquisadores referenciados, quanto à metodologia empregando lecitinas, infere-se que, embora tenham a mesma origem embriológica, as glândulas salivares maiores assumem funcionalidade distintas em relação ao já inferido anteriormente, o que poderia estar associado a mudanças estruturais que se estabelecem a nível de membranas celulares em consequência de condições ambientais a que o animal está sujeito, tais como disponibilidade de água e de alimentos ou mesmo do tipo de alimento integrante da dieta do animal, especialmente quando se compara animais de vida livre com animais de cativeiro.

Outro aspecto a ser considerado com base no que relatam os pesquisadores, bem como dos resultantes deste estudo, é que a natureza dos fixadores utilizados pode influenciar o grau de marcação das estruturas glandulares, uma vez que eles poderiam promover modificações na estrutura dos tecidos e, por sua vez, alterar a intensidade das reações dos marcadores aos tecidos.

6.5 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE TRANSMISSÃO DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

A glândula parótida do preá apresentou células acinares piramidais com núcleos esféricos em posição basal da célula. O citoplasma continha retículo endoplasmático rugoso e mitocôndrias abundante e possuía muitas vesículas eletroluscente na porção mais basal da célula. Os núcleos apresentavam cromatina dispersa, indicando elevada atividade celular. As glândulas zigomáticas e sublinguais apresentaram as mesmas características observadas para a parótida, porém seus núcleos das células acinares da zigomática pareciam estar comprimidos na região basal da célula. De modo adicional, coloca-se ainda que apenas na glândula sublingual foi observada a presença de grânulos de secreção eletrolucentes contendo pontos elétron-densos em seu interior.

Jacob e Poddar (1987) estudaram a glândula parótida do *Mustela putorius furo* e referem-se às células acinares como sendo piramidais com núcleos basais e com as mesmas similaridades das glândulas salivares maiores em outras espécies. A superfície apical de cada célula possuía microvilos que se projetavam no lúmen acinar. As células acinares apresentaram complexos de Golgi, retículo endoplasmático e ribossomos livres em grande quantidade. O citoplasma continha grânulos secretores elétron-densos. Células mioepiteliais com miofilamentos e retículo endoplasmático rugoso foram observados em torno das células acinares. Essa glândula também continha um elaborado sistema de ductos intercalados

próximos dos ácinos com lúmen pequeno e com muitos microvilos. As células que formavam estes ductos eram granuladas e com grânulos menores do que os das células acinares.

As células dos ductos estriados e intralobulares eram colunares, tinham forma cilíndrica ou retangular e podiam ser preenchidas com grânulos moderadamente elétron-densos de diferentes formas e tamanhos. Possuíam vesículas apicais e poucos microvilos nos limites do lúmen e ainda continham mitocôndrias, complexo de Golgi, ribossomos livres e alguns lisossomos. A estrutura dos ductos excretores ou interlobulares se assemelhava à dos ductos estriados intralobulares com células predominantemente granuladas. O aspecto dos grânulos se assemelhava ao das células do ducto intralobular. Ao redor dos ductos excretores foram observados vasos sanguíneos e colágeno (JACOB; PODDAR, 1987).

Meisel et al. (1988) acerca da glândula parótida dos camundongos com idades diferentes, comentam que as células acinares eram preenchidas por grânulos secretores, seus núcleos situavam-se na periferia e com cromatina menos condensada em animais mais novos, além de que apresentavam um padrão menos regular nessa disposição dos núcleos e da cromatina condensada com relação aos animais mais velhos. Além disso, citam que as células continham muitos vacúolos e retículo endoplasmático rugoso, maior quantidade de mitocôndrias e poucos grânulos de secreção nos animais senescentes. Alguns grânulos secretores pareciam malformados ou incompletos quando comparados aos grânulos dos camundongos jovens.

Para a glândula mandibular, os mesmos autores relatam que não perceberam alterações perceptíveis na morfologia e ultraestrutura dos ductos entre os grupos etários examinados. Porém, observaram que nos animais com maior faixa etária, as células acinares e os túbulos granulares pareciam conter uma quantidade crescente de retículo endoplasmático rugoso, lisossomos e grânulos de lipofuscina.

Quanto aos resultados apresentados pelos pesquisadores, verifica-se que as características apontadas para as glândulas parótidas e mandibulares de preás assemelham aos mesmos, exceto quanto à presença de cromatina condensada, pois não foi observada no material avaliado. É preciso esclarecer também que os estudos realizados com preás foram feitos em animais adultos com idades entre quatro e seis meses de idade.

Oliveira Júnior et al. (2016) ao exporem os resultados obtidos por meio de microscopia de eletrônica de transmissão, em estudo com glândulas salivares maiores de *Dasyprocta leporina*, fizeram referência aos ácinos serosos das glândulas parótidas como estruturas com grande quantidade de retículo endoplasmático rugoso na região basal, dispostos ao redor do núcleo celular, enquanto na região apical havia abundantes grânulos de secreção elétron-densos.

Observaram ainda que as mandibulares possuíam células mucosas piramidais e grande parte do citoplasma era preenchido por grânulos de secreção distribuídos por todo o citoplasma. Já na glândula zigomática, os autores verificaram que as células acinares eram cúbicas ou piramidais, o citoplasma era preenchido por grânulos de secreção, com muitas mitocôndrias e o retículo endoplasmático rugoso bastante desenvolvido. As células acinares sublinguais, por sua vez, a exemplo do observado para os demais ácinos glandulares, eram delimitadas por septos de conjuntivo e apresentavam formas cúbicas ou piramidais com grânulos mucosos distribuídos apicalmente.

A caracterização feita pelos autores para *Dasyprocta leporina* são concordantes com os descritos para o preá, tanto em relação ao formato que as células possuem, como em relação às organelas citoplasmática observadas, com exceção do fato de estes terem observados células com forma cuboide nas glândulas zigomáticas e sublinguais.

Jeong e Jeong (2017), em publicação recente sobre glândulas salivares maiores de um roedor asiático (*Apodemos agrarius*), relatam a presença de grânulos de secreções nos ácinos serosos e mucosos da mandibular, o retículo endoplasmático rugoso e complexo de Golgi muito desenvolvidos, além de muitas mitocôndrias alongadas. Para a parótida citam apenas a presença de ácinos serosos com as mesmas características da mandibular, mas com mitocôndrias arredondadas.

Se relacionarmos estes achados aos obtidos para o preá, o que se percebe é uma diferença apenas no formato das mitocôndrias descritas pelos autores, pois nos preás elas tinham forma alongada. Há que se destacar que o fato dos pesquisadores observarem mitocôndrias de forma arredondada podem estar associadas ao plano de corte das secções.

6.6 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES

Visando avaliar o conjunto de glândulas salivares maiores do preá, de maneira a ter uma ideia bidimensional das estruturas que integram seu parênquima e de forma a complementar a descrição feita com base nas técnicas de dissecação e de microscopia de luz, foram realizadas técnicas de microscopia eletrônica de varredura, cujos resultados são apresentados a seguir.

As análises realizadas no microscópio eletrônico de varredura permitiram que se verificasse, em fragmentos glandulares submetidos à criofratura, que os ácinos possuem tamanhos distintos e forma variando entre ovoide, poligonal e irregular, semelhante ao que se

observa na microscopia de luz. Percebe-se ainda, entre esses ácinos, cordões de tecido conjuntivo compondo o interstício. Essa técnica permitiu também verificar o arranjo dos ductos ao se ramificarem para garantir a condução da secreção acinar. Esses se originam como estruturas de pequeno diâmetro que vão aumentando seu calibre até formar os ductos principais das secreções que vão compor a saliva.

Redman (1994), desenvolvendo pesquisa sobre as células mioepiteliais de glândulas salivares maiores de ratos e de humanos, afirma que, quando avaliadas por meio de microscópio eletrônico de varredura após tratamento enzimático e remoção mecânica para retirada de parte do estroma e da lâmina basal, as células mioepiteliais estão incorporadas às superfícies basais das células acinares. Neste estudo, as células mioepiteliais foram observadas apenas quando o material foi avaliado em microscópio de luz e microscópio eletrônico de transmissão.

A ultraestrutura dos componentes das células acinares e ductos nas glândulas salivares parótidas e mandibulares do rato foram descritas por Watanabe et al. (1996) com base em microscopia eletrônica de transmissão, microscopia eletrônica de varredura e microscopia eletrônica de varredura de alta resolução. Os pesquisadores asseguram que o estroma das glândulas é formado por uma rede de tecido conjuntivo denso que lembra favos de mel, enquanto os lóbulos eram demarcados por uma densa rede de fibras colágenas que se continuava com o conjuntivo do estroma. Observaram ainda que os ductos excretores maiores continham uma delgada camada de tecido conjuntivo que separava os ductos dos ácinos. O material avaliado das glândulas salivares maiores de preás demonstrou essas mesmas características, o que permite que se infira os achados descritos para ratos corroboram com os relatados nessa pesquisa.

D'Avola et al. (2006), tratando das características tridimensionais da glândula mandibular de ratos com idade avançada por meio de microscópio eletrônico de varredura de alta resolução, comentam que, quando avaliado o estroma celular, os ácinos e ductos da glândula estão delimitados por tecido conjuntivo, e confirmam isso com base na técnica de microscopia eletrônica de varredura. Comentam ainda que fibras de conjuntivo delimitavam os lóbulos. Tais resultados também foram observados para as glândulas salivares do preá, tanto nos ácinos como nos ductos.

Os resultados estabelecidos para os mamíferos aqui pesquisados e ainda os especificados na literatura referenciada permitem afirmar que estruturalmente as glândulas salivares maiores possuem organização bidimensional semelhante, sejam em roedores ou humanos. Uma vez que a microscopia eletrônica de varredura permite observar que a capsula, os lóbulos, ductos, e os ácinos possuem o mesmo padrão de interação e forma dentro de um

mesmo lóbulo glandular, quando analisados de forma geral, apesar de não ter sido analisado dados morfométricos.

Conclusão

7 - CONCLUSÃO

I - O preá silvestre possui quatro pares de glândulas salivares maiores representadas pelas parótidas, mandibulares, zigomáticas e sublinguais;

II – As glândulas salivares maiores do preá são revestidas por uma cápsula de tecido conjuntivo, que emite septos, conferindo a elas a característica de lobulação;

III – Microscopicamente, as glândulas salivares maiores compõem-se ácinos mucosos e serosos, sendo que as mandibulares são constituídas em sua maioria por ácinos serosos;

IV – O sistema ductal das glândulas salivares maiores é constituído por ductos intercalares, estriados e excretorios. Dentre os quatro pares de glândulas salivares maiores, apenas as mandibulares contêm adicionalmente ductos granulosos;

V – Histoquimicamente, os ácinos mucosos e serosos das quatro glândulas secretam mucinas de natureza ácidas e neutras;

VI - A *Canavalia ensiformis* (Con-A) foi, entre o conjunto de lecitinas utilizadas, a que melhor marcou a parede do sistema de ductos do conjunto de glândulas.

Referências

REFERÊNCIAS

- AL-GAILANI, M.; ASKING, B.; EMMELIN, N.; GARRETT, J. R.; Functional and structural studies concerning the control of activity in zygomatic glands of cats. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v.3, n. 1, p. 71-86, 1981.
- ALMEIDA, J. M. **Embriologia veterinária comparada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 192p.
- AL-SAFFAR, F. J.; SIMAWY, M. S. H. Histomorphological and histochemical study of the major salivary glands of adult local rabbits. **International Journal of Advanced Research**, v. 2, n. 11, p. 378-402, 2014.
- AMANO, O.; MIZOBE, K.; BANDO, Y.; SAKIYAMA, K. Anatomy and histology of rodent and human major salivary glands: overview of the Japan salivary gland society. **Acta histochemica et cytochemica**, v.45, p.241-250. 2012.
- ARAÚJO, V. C. D.; SOUSA, S. C. O. M. D.; SOUZA, L. B. D.; ARAÚJO, N. S. D. Estudo histopatológico e imunohistoquímico do mioepitelioma de glândula salivar. **Rev. odontol. Univ. São Paulo**, v. 4, n.1, p.62-66, 1990.
- ASSIS, G. F. D.; SOTTOVIA F. D.; STIPP, A. C. M.; TAGA, R. Estudo morfométrico ultra-estrutural do dimorfismo sexual em células de ductos granulosos de glândulas mandibulares de camundongos. **Rev. bras. biol**, v. 54, n. 1, p. 21-29, 1994.
- BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2ª ed. Manole, São Paulo, 1991, 654p.
- BARBOSA, D. B.; TAGA, R. Estudo estereológico dos diferentes componentes estruturais de glândulas submandibulares de ratos machos e fêmeas. **Rev. Fac. Odontol. Bauru**, v. 5, n. 3-4, p. 51-57, 1997.
- BAZAN, E.; WATANABE, I.; IYOMASA, M. M.; MIZUSAKI, C. I.; SALA, M.; LOPES, R. A.; Morphology of the submandibular gland of the gerbil *Meriones unguiculatus*: a macroscopic and light microscopy study. **Rev. chil. anat**, v. 19, n. 1, p. 61-66, 2001.
- BEHMER, O.A., TOLOSA, E.M.C., FREITAS NETO, A.G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo. 1976. 241p.
- BERKOVITZ, B. K. B.; HOLLAND, G. R.; MOXHAM, B. J. **A Colour Atlas and Textbook of Oral Anatomy Histology and Embryology**, ed. 2. Wolfe Publishing Ltd. 1992.
- BEZERRA, F. V. F. A subplacenta do preá *Galea spixii* Wagler, **Dissertação de Mestrado em Ciência Animal**. Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 150f, 2014.
- BHASKAR, S.N. Glandulas salivares. In: **Histologia e embriologia oral**. 8a ed. São Paulo: Artes Medicas; 1978.

BLOMFIELD, J.; RUSH, A. R.; ALLARS, H. M.; BROWN, J. M. Parotid gland function in children with cystic fibrosis and child control subjects. **Pediatric research**, v. 10, n. 6, p. 574-578, 1976.

BONVICINO, C. R.; OLIVEIRA, J. A.; D'ANDREA, P. S. **Guia dos roedores do Brasil, com chaves para gêneros baseadas em caracteres externos**. Rio de Janeiro: Centro Pan-Americano de Febre Aftosa-OPAS/OMS, p. 120, 2008.

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de controle de roedores**. Brasília: Ministério da Saúde, Fundação Nacional de Saúde, 132p. 2002.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Espécies Ameaçadas - Lista 2014**. Brasília: ICMBio, 2014. Disponível em: <<http://www.icmbio.gov.br/portal/faunabrasileira/lista-de-especies>>. Acesso em: 13 Jul. 2016.

CARAMIA, F.; Ultrastructure of mouse submaxillary gland. I. Sexual differences. **Journal of ultrastructure research**, v. 16, n. 5-6, p. 505-523, 1966.

CARLETON, M.D.; MUSSER, G.G. Order Rodentia. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal species of the world a taxonomic and geographic reference**. 3. ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 2005. p.745-752.

CARLSON, G. W. The salivary glands: embryology, anatomy, and surgical applications. **Surgical Clinics**, v. 80, n. 1, p. 261-273, 2000.

CASTRO, T. F.; DUMMER, R. J.; RICKES, E. M.; PEREIRA, M. A. M. Aspectos morfológicos, morfométricos e topográficos do aparelho digestório de *Chinchilla lanigera*. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 1, p. 86-94, 2010.

CHITTURI, R. T.; VEERAVARMAL, V.; NIRMAL, R. M.; REDDY, B. V. Myoepithelial Cells (MEC) of the Salivary Glands in Health and Tumours. **Journal of clinical and diagnostic research: JCDR**. Mar; v. 9, n.3, p.14-18. 2015.

ÇINAR, K.; ÖZTOP, M.; ÖZKARASU, B. Glycoconjugate composition of ovine parotid glands elucidated by lectins. **J. Morphol**, v. 33, n. 1, p. 8-13, 2016.

COSTA, H. S.; OLIVEIRA, R. E. M.; BEZERRA, F. V. F.; OLIVEIRA, G. B.; OLIVEIRA, M. F. Vascularização arterial da base do encéfalo de preá (*Galea spixii*). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.45, p.1-7, 2017.

CUTLER, L. S. The role of extracellular matrix in the morphogenesis and differentiation of salivary glands. **Advances in dental research**, v. 4, n. 1, p. 27-33, 1990.

D'AVOLA, T. E.; OGAWA, K.; SILVA, M. R. M. A.; MOTOYAMA, A. A.; INÁCIO, E.; JUNIOR, B. K.; WATANABE, I. S. Three-dimensional characteristics of submandibular salivary gland of ageing rats: an HRSEM study. **Annals of Anatomy-Anatomischer Anzeiger**, v. 188, n. 5, p. 431-438, 2006.

DARDICK, I. **Color Atlas/Text of Salivary Gland Pathology**. New York: Igaku-Shoin Medical Publishers, 1996, 274 p.

DWEK, R. A. Glycobiology: toward understanding the function of sugars. **Chemical reviews**, v. 96, n. 2, p. 683-720, 1996.

DYCE, K. M.; SACK, M. O.; WENSING, C. J. Z.; **Tratado de anatomia veterinária**. Rio de Janeiro, Elsevier. 3º Ed. 2004. 813 p.

EMMELIN, N.; GJÖRSTRUP, P. On the function of myoepithelial cells in salivary glands. **The Journal of physiology**, v. 230, n. 1, p. 185-198, 1973.

EVESON, J. W.; AUCLAIR, P.; GNEPP, D. R.; EL-NAGGAR, A. K. **Tumors of the salivary gland: introduction**. In: BARNES, L.; EVESON, J.W.; REICHART, P.; SIDRANSKY, D. (editors). Pathology and genetics, head and neck Tumours. Lyon: IARC Press, p.212-15, 2005.

FÁTIMA, Â. D.; BAPTISTELLA, L. H. B.; PILLI, R. A.; MODOLO, L. V. Ácidos siálicos: da compreensão do seu envolvimento em processos biológicos ao desenvolvimento de fármacos contra o agente etiológico da gripe. **Química Nova**, v. 28, n. 2, p.306-316, 2005.

FERRARIS, M. E.; MUNÕZ, A.C. Histologia e Embriologia Bucodental: **Bases Estruturais da Patologia, diagnóstico, tratamento e prevenção odontológica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2006. p. 245-86.

FOSSATI, A. C. M.; SALGADO, F. L.; GAIO, E. J.; BENDER, A. D. S. Estudo da morfo e citodiferenciação da glândula submandibular remanescente de ratos após excisão parcial de um de seus lobos. **Revista brasileira de otorrinolaringologia**. Rio de Janeiro. Vol. 70, n. 3 (maio/jun. 2004), p. 323-329, 2004.

FOSSUM, T.W. **Cirurgia de pequenos animais**. 4. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. 1640p.

FRANDSON, R. D., WILKE, W. L., FAILS, A. D. **Anatomia e fisiologia dos animais de fazenda**. 7.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 413p.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Histologia essencial**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. 342 p.

GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. **Histologia Comparada**. 2 ed. São Paulo: Roca, 1998. 298 p.

GOMES, J. A. P.; ALVES, M. R. **Superfície ocular**. São Paulo: Cultura Médica, 391p., 2006.

GRECO, G. M.; BAGETTI-FILHO, H. J. S.; BABINSKI, M. A.; CHAGAS, M. A.; PEREIRA SAMPAIO, M. A. Anatomia da glândula parótida em coelhos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.30, p.129-131, 2008.

GRESIK, E. W. The granular convoluted tubule (GCT) cell of rodent submandibular glands. **Microscopy research and technique**, v. 27, n. 1, p. 1-24, 1994.

GUDJONSSON, T.; RØNNOV-JESSEN, L.; VILLADSEN, R.; RANK, F.; BISSELL, M. J.; PETERSEN, O. W. Normal and tumor-derived myoepithelial cells differ in their ability to interact with luminal breast epithelial cells for polarity and basement membrane deposition. **Journal of cell science**, v. 115, n. 1, p. 39-50, 2002.

HAND, A.R. Salivary glands. In: PROVENZA, D.V., SEIBEL, W. **Oral histology: inheritance and development**. 2nd ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1986.

HAND, A. R.; PATHMANATHAN, D.; FIELD, R. B. Morphological features of the minor salivary glands. **Archs Oral Biol**, v. 44, sup.1, p. S3-S10, May. 1999.

HARDY, G.; KRAMER, B. The myoepithelium of human major salivary glands revisited. **SADJ: journal of the South African Dental Association= tydskrif van die Suid-Afrikaanse Tandheelkundige Vereniging**, v. 53, n. 7, p. 371-375, 1998.

HYTTEL, P.; SINOWATZ, F.; VEJLSTED, M. **Embriologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. 455p.

IANEZ, R. F.; BUIM, M. E.; COUTINHO-CAMILLO, C. M.; SCHULTZ, R.; SOARES, F. A.; LOURENÇO, S. V. Human salivary gland morphogenesis: myoepithelial cell maturation assessed by immunohistochemical markers. **Histopathology**, v. 57, n. 3, p. 410-417, 2010.

IKPEGBU, E.; NLEBEDUM, U. C.; NNADOZIE, O.; AGBAKWURU, I.O. Mandibular salivary gland of the adult African giant pouched rat (*Cricetomys gambianus* Waterhouse, 1840). **Iranian Journal of Veterinary Medicine**, v.7, p.117-122, 2013.

IUCN 2017. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2017.3. <<http://www.iucnredlist.org/details/8825/0>>. Acesso em: 27/06/2017.

JACOB, S.; PODDAR, S. Ultrastructure of the ferret parotid gland. **Journal of anatomy**, v. 152, p. 37, 1987.

JAEGER, R. G.; FREITAS, V. M. Histologia das Glândulas Salivares. In: **Sistema Digestório: Integração Básico-Clínica**. São Paulo: Blucher, 2016. p. 227-246.

JENSEN, S. B.; PEDERSEN, A. M.; REIBEL, B.; NAUNTOFTE, B. Xerostomia and hyposalivation of the salivary glands in cancer therapy. **Support Care Cancer**; v. 11, p. 207-225, 2003.

JEONG, S. J., JEONG, M. J. Ultrastructure of Acinar Secretory Granules of Submandibular and Parotid Salivary Gland in the Korean Striped Field Mouse, *Apodemus agrarius* (Rodentia, Murinae). **Applied Microscopy**, v. 47, n. 1, p. 8-12, 2017.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. Livraria Editora Santos, São Paulo, 1983. 122p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica–Texto**. Atlas 11ª edição Guanabara Koogan, 2008.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica: texto & atlas**. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

KASHIMATA, M.; GRESIK, E. W. Contemporary approaches to the study of salivary gland morphogenesis. **European journal of morphology**, v. 34, n. 3, p. 143-147, 1996.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. Glândulas salivares. **Histologia e Embriologia Oral**. São Paulo: Panamericana, Cap. 5, p. 119-150, 1999.

KATCHBURIAN, E.; ARANA, V. **Histologia e Embriologia Oral** - Texto, Atlas e Correlações Clínicas. 3ªed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2014.

KAUFMAN, E.; LAMSTER, I. B. The diagnostic applications of saliva—a review. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, v. 13, n. 2, p. 197-212, 2002.

KHOJASTEH, S. M. B.; DELASHOUB, M. Microscopic anatomy of the parotid and submandibular salivary glands in European hamster (*Cricetus cricetus*). **International Research Journal of Applied and Basic Sciences**. v. 3, n. 7, p. 1544-1548, 2012.

KIERSZENBAUM, A. L.; TRES, L. **Histologia e Biologia Celular**, 3ªed. 2012.

KLEIN, R.M. **Development, structure and function of salivary glands**. In: AVERY, J.K., editor. Oral Development and Histology. 2nd edn. New York: Thieme; 1994. p. 352–379.

KÖNIG H.E.; LIEBICH H.G. **Anatomia dos animais domésticos - Texto e atlas colorido**. 4ª ed., Artmed, Porto Alegre, 787p. 2011.

LEESON, C. R. **Structure of salivary glands**. In: HANDBOOK of physiology. Washington, American Physiological Society, v. 2, p. 463-95, 1967.

LEIRIÃO-RIVA, F.P. Anatomia dos tecidos moles e glândulas salivares do sistema estomatognático de cães e gatos: enfoque anátomo-cirúrgico. **Dissertação de Mestrado em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP**. 110p. 2005.

LEWINSOHN, T. M.; PRADO, P. I. Síntese do conhecimento atual da biodiversidade brasileira. **Avaliação do estado do conhecimento da biodiversidade brasileira**, v. 1, p. 21-109, 2006.

LIENER, I. E., SHARON, N., GOLDSTEIN, I. J. **The lectins: properties, functions, and applications in biology and medicine**. Orland: Academic Press, 618 p. 1986.

LOBO, L. M.; SANTOS, A. C.; ROSA, R. A.; AMBROSIO, C. E.; BRIANE, D. C.; COSTA, G. M.; CARVALHO, A.F.; MANÇANARES, C. A. F. Estudo macroscópico do aparelho digestório de *Gracilinanus microtarsus* (Wagner, 1842)(Mammalia: Didelphidae). **Biotemas**, v. 27, n. 1, p. 109-120, 2014.

MALKI, L. T. **Morfologia e função das células acinares em cultura primária de glândula lacrimal**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 80f, 2012.

MANDEL, I. D.; KUTSCHER, A.; DENNING, C. R.; THOMPSON, R. H.; ZEGARELLI, E. V. Salivary studies in cystic fibrosis. **American Journal of Diseases of Children**, v. 113, n. 4, p. 431-438, 1967.

MANGOS, J. A.; DONNELLY, W. H. Isolated parotid acinar cells from patients with cystic fibrosis. Morphology and composition. **Journal of dental research**, v. 60, n. 1, p. 19-25, 1981.

MARTINEZ-MADRIGAL, F.; MICHEAU, C. Histology of the major salivary glands. **The American journal of surgical pathology**, v. 13, n. 10, p. 879-899, 1989.

MARTUCCI, M.; MALEK, C.; AMBRÓSIO, C. E.; CARVALHO, A. F.; MIGLINO, M. A. Caracterização das Glândulas Salivares Maiores do Gambá (*Didelphis sp.*). **Anais do 5º Encontro de Produção Acadêmica**. n. 5. Centro universitário da Fundação de Ensino Octávio Bastos. São João da Boa Vista, 219 p. 2004.

MATA, R. A. **Fauna e Flora**. Em: <<http://www.riodoceterra.com.br/index.php/fauna-e-flora/86-prea-ou-piria>>. Acesso em: 04 de novembro de 2016.

MEISEL, D. L.; SKOBE, Z.; PROSTAK, K. S.; SHKLAR, G. A light and electron microscope study of aging parotid and submandibular salivary glands of Swiss-Webster mice. **Experimental gerontology**, v. 23, n. 3, p. 197-210, 1988.

MIGUEL, M. C. C. **Expressão imuno-histoquímica da calponina em glândula parótida de rato após obstrução do ducto excretor principal**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 107f. 2006.

MOGHADDAM, F. Y.; DARVISH, J.; SHARI, N. M.; ABDULAMIR, A. S.; MOUSAVI, S.; DAUD, S. K.; Comparative Histological and Histochemical Inter-Species Investigation of Mammalian Sub Mandibular Salivary Glands. **Research Journal of Applied Sciences**. v. 04, p. 50 – 56, 2009.

MOHAMMADPOUR, A. A.; Anatomical and histological study of molar salivary gland in domestic cat.; **Iranian Journal of Veterinary Research**, Shiraz University, Vol. 11, N°. 2, Ser. N°. 31, 2010.

MOOJEN, J. **Os roedores do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério de Educação e Saúde, Instituto Nacional do Livro, 1952. 214p.

MOORE, K. L.; PERSAUD, T. V. N.; TORCHIA, M. G. **Embriologia básica**. 8. ed. Rio de Janeiro, RJ: Elsevier, 2012, 347 p.

MURSAL, N. J. M.; ALI, H. A.; IBRAHIM, Z. H. Comparative Morphological, Histometric and Histochemical studies of Parotid and Mandibular Salivary Glands of Camel, Ox, Sheep and Goat. **Sudan University of Science and Technology**, v. 17, n. 2, p. 1-11, 2016.

NOGUEIRA-FILHO, S. L. G.; NOGUEIRA, S. S. C. Criação comercial de animais silvestres: produção e comercialização da carne e de subprodutos na região sudeste do Brasil. **Revista Econômica do Nordeste**, v. 31, n. 2, p. 188-195, 2000.

INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. **Nomina Anatomica Veterinaria**. 6. ed. Knoxville: World Association of Veterinary Anatomists, 2017. 178 p.

NORBERG, L.; DARDICK, I.; BURFORD-MASON, A. P. Differentiating myoepithelial and acinar cells in rat neonatal parotid gland and histogenetic concepts for salivary gland tumors. **J Oral Pathol Med**, v. 25, p. 474-480, 1996.

OGAWA, Y.; WAN, F.; TOYOSAWA, S.; IJUHIN, N. Induction of adenocarcinoma containing myoepithelial cells in rat submandibular gland by 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene. **Virchows Archiv**, v. 437, n. 3, p. 314-324, 2000.

OGAWA, Y.; YAMAUCHI, S.; OHNISHI, A.; ITO, R.; IJUHIN, N. Immunohistochemistry of the myoepithelial cells during development of the rat salivary glands. **Anat Embryol**. Aug; v. 200, n. 2, p.215-28, 1999.

OLIVEIRA JÚNIOR, C. M.; BEZERRA, F. V. F.; CÂMARA, F. V.; VALE, A. M.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, A. R.; AMBRÓSIO, C. E.; OLIVEIRA, M. F. Morfologia das glândulas salivares maiores em cutias (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1766). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, p.227-236, 2016.

OLIVEIRA, A. S.; FERREIRA, J. R.; BLUMENSCHNEIN, A. R. Estudo anatômico do modelo arterial de vasos responsáveis pelo aporte sanguíneo da glândula submandibular de primatas neotropicais [*Cebus apella*, Linnaeus, 1766]. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 22, p. 573-579, 2008.

OLIVEIRA, G. B.; RODRIGUES, M. N.; SOUSA, E. S.; ALBUQUERQUE, J. F. G.; MOURA, C. E. B.; AMBRÓSIO, C. E.; MIGLINO, M.A.; OLIVEIRA, M. F. Origem e distribuição dos nervos isquiáticos do preá. **Ciência Rural**. v. 40, p.1741-1745, 2010.

OLIVEIRA, M. F. Placentação em mocós, *Kerodon rupestris* Wied, 1820. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 1, 2005.

OLIVEIRA, M. F.; MESS, A.; AMBRÓSIO, C. E.; DANTAS, C. A.; FAVARON, P. O.; MIGLINO, M. A. Chorioallantoic placentation in *Galea spixii* (Rodentia, Caviomorpha, Caviidae). **Reproductive Biology and Endocrinology**, v.6, p.1-8, 2008.

ONWUASO, I. C.; NEBA, C. P.; BELLO, U. M. Comparative histology and histochemistry of the major salivary glands in the giant pouched-rats (*Cricetomys gambianus*) and greater cane rats (*Thryonomys swinderianus*). **Indian Journal of Animal Research**, v.49, p.451-460, 2015.

PEREIRA, K., F. *Procyon cancrivorus* (Mão Pelada): aspectos morfológicos das glândulas salivares e distribuição do nervo isquiático. Tese de Doutorado, Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás, Goiânia. 43p. 2012.

PHILLIPS, C. J.; TANDLER, B. Mammalian evolution at the cellular level. **Current Mammal**. v.1, p.1-66, 1987.

PINHEIRO, M. J. P.; ANDRADE, S. A.; CUNHA, J. N. Preservação e exploração de animais silvestres nativos: preá, cutia e moco. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 6, p. 28-49, 1989.

PINHEIRO, M. J. P.; ANDRADE, S. A.; CUNHA, J. N. Preservação e exploração de animais silvestres nativos: preá, cutia e mocó. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 6, p. 28-49, 2002.

PINKSTAFF, C. A. **The cytology of salivary glands**. In: International review of cytology. Academic Press, v.63, p.141-161, 1980.

PROCTOR, G. B.; CARPENTER, G. H. Regulation of salivary gland function by autonomic nerves. **Autonomic Neuroscience: basic and clinical**, v. 133, n. 1, p. 3-18, 2007.

RAUBENHEIMER, E. J.; NIEKERK, J. P.; HAUMAN, C. H. J. Salivary myoepithelium: distribution, structure, functions and pathologic proliferations. **J. Dent. Assoc. South Africa**, v. 42, p. 631-637, 1987.

REDMAN, R. S. Myoepithelium of salivary glands. **Microscopy research and technique**, v. 27, n. 1, p. 25-45, 1994.

RIBEIRO, D. A.; ASSIS, F. G.; FILHO, D. S.; TAGA, R. Postnatal development of zygomatic glands from guinea pig: a morphological and morphometric analyses. **Journal of Cell and Animal Biology**, v.3, p.58-61, 2007.

SAMUELSON, D. A. **Tratado de histologia veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 527p.

SANTOS, A. C.; BERTASSOLI, B. M.; OLIVEIRA, V. C.; CARVALHO, A. F.; ROSA, R. A.; MANÇANARES, C. A. F. Morfologia dos músculos do ombro, braço e antebraço do quati (*Nasua nasua*, Linnaeus, 1758). **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 23, n. 3, p. 167-173, 2010.

SANTOS, A. C.; BERTASSOLI, B. M.; OLIVEIRA, V. C.; ROSA, R. A.; CARVALHO, A.F.; MANÇANARES, C.A.F. Caracterização morfológica das glândulas salivares mandibulares dos quatis (*Nasua nasua* Linnaeus, 1758). **Revista da Faculdade de Zootecnia, Veterinária e Agronomia**, Uruguaiana, v. 17, p.276-286. 2010.

SANTOS, A.C.; BERTASSOLI, B. M.; OLIVEIRA, F. D.; OLIVEIRA, D. M.; OLIVEIRA, V. C.; VASCONCELOS, B. G.; CARVALHO, A. F.; MANÇANARES, C.A. F.; ASSIS-NETO, A.C. Estrutura macro e microscópica das glândulas salivares parótidas em duas espécies de procionídeos: mão-pelada (*Procyon cancrivorus* G. Cuvier, 1798) e quati (*Nasua nasua* Linnaeus, 1766). **Biotemas**, v. 25, n. 1, p. 93-101, 2012.

SANTOS, A. C.; OLIVEIRA, V. C.; VIANA, D. C.; LOBO, L. M.; AMBRÓSIO, C. E.; ASSIS NETO, A. C.; CARVALHO, A. F.; MANÇANARES, C. A. Análise microscópica e ultraestrutural das glândulas salivares mandibulares de *Procyon cancrivorus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 33, p. 39-44, 2013.

SATO, A.; MIYOSHI, S. Cells in the duct system of the rat submandibular gland. **European journal of morphology**, v. 36, p. 61-66, 1998.

SCHULTE, B.A.; SPICER, S.S. Light microscopic detection of sugar residues in glycoconjugates of salivary glands and the pancreas with lectin-horseradish peroxidase conjugates. I. Mouse. **The Histochemical Journal**, v. 15, n. 12, p. 1217-1238, 1983.

SHACKLEFORD, J. M.; SCHNEYER, C. A. Structural and functional aspects of rodent salivary glands including two desert species. **Developmental Dynamics**, v. 115, n. 2, p. 279-307, 1964.

- SHEAR, M.; The structure and function of myoepithelial cell in salivary glands. **Archives of oral biology**. v.11, p.769, 1966.
- SILVIA, E.; STELLA, M. C.; CASANAVE, E. B. Histological study of the salivary glands in *Zaedyus pichiy*. Mammalia, Xenarthra, Dasypodidae). **Int J Morphol**, v. 23, n. 1, p. 19-24, 2005.
- SIMSON, J. V. Discharge and Restitution of Secretory Material in the Rat Parotid Gland in Response to Isoproterenol, **Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie**, Viena, v. 101, n. 2, p. 175-191, 1969.
- SUZUKI, S.; MIFUNE, H.; KAMIMURA, R.; YABUKI, A.; OBARA, T.; MATSUMOTO, M.; TSUCHIYA, K. Fine structure of the parotid and mandibular glands of the cotton rat (*Sigmodon hispidus*). **Experimental animals**, v. 52, n. 5, p. 441-444, 2003.
- SUZUKI, S.; AGO A.; MIFUNE H.; MOHRI, S.; NISHIDA T. Fine structure of the parotid gland in the pika and the volcano rabbit. **Experimental Animals**, v. 36, n. 4, p. 399-407, 1987.
- TAGA, R.; SESSO, A. Cell population growth in the rat parotid gland during postnatal development. **Archs Oral Biol**, v.46, p.909-918, 2001.
- TAGA, R.; SESSO, A. Ultrastructure of the rat sublingual gland during period of high proliferative activity in postnatal development. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v.19, p.55-62, 2002.
- TAKAI, Y.; MURASE, N.; HOSAKA, M.; SUMITOMO, S.; NODA, Y.; MORI, M. Comparison of lectin binding patterns in salivary glands of mice and rats with special reference to different fixatives used. **Acta histochemica**, v. 78, n. 1, p. 31-47, 1986.
- TAMARIN, A.; SREEBNY, L. M.; The rat submaxillary gland. A correlative study by light and electron microscopy. **Journal of Morphology**. v. 117, p.295-352, 1965.
- TEN CATE, A. R. **Histologia Oral: desenvolvimento, estrutura e função**. 8ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.
- TEN CATE, A. R.; Glândulas salivares. In: **Histologia bucal: desenvolvimento estrutura e função**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koongan, Cap. 15. p. 296-322 e 439, 2001.
- TIRAPELLI, L. F.; PETRONI, S.; DOMINGUES, R. J.; TÁMEGA, O. J. Morphologic study of submandibular gland in monkey (*Cebus apella*). **Revista chilena de anatomía**, v. 16, n. 1, p. 59-66, 1998.
- TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHEMER, O. A.; FREITAS-NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. 241p.
- TREUTING, P. M.; DINTZIS, S. M.; Salivary glands. In: TREUTING, P. M.; DINTZIS, S. M.; FREVERT, C. W.; LIGGITT D. **Comparative Anatomy and histology a mouse and human atlas**. Ed ELSEVIER. 1º ed., 2012. p. 111-119.

TUCKER, A. S. Salivary gland development. **Semin Cell Dev Biol.** Apr; v.18, p.237-244. 2007.

TUCKER, A. S.; MILETITCH, I. **Salivary glands: Development, adaptations and disease.** London: Karger, 2010. 150p.

VIEIRA, B. S.; SCHUINGUES, C. O.; LIMA, M. G. D.; MARTINS, D. S.; COSTA, G. M. Morphology of salivary glands of the *Glironia venusta*, Thomas, 1912 (Didelphimorphia). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.35, p.199-207, 2015.

VIEIRA, M. B. M.; PEREIRA, R. A.; SANTOS, J. R. N. B.; PINTO, R.V. Ressecção subcapsular da glândula submandibular. **Revista Brasileira, Otorrinolaringologista.** v. 67, n. 6, p.825-828, 2001.

WATANABE, I.; SEGUCHI, H.; OKADA, T.; KOBAYASHI, T.; JIN, Q. S.; JIANG, X. D. Fine structure of the acinar and duct cell components in the parotid and submandibular salivary glands of the rat: a TEM, SEM and HRSEM study. **Histology and histopathology**, v. 11, n. 1, p. 103-110, 1996.

WOLFF, M. S.; MIRELS, L.; LAGNER, J.; HAND, A. R. Development of the rat sublingual gland: a light and electron microscopic immunocytochemical study. **The Anatomical Record**, v. 266, n. 1, p. 30-42, 2002.

WONG, D. Salivary diagnostics. Ames: Wiley-Blackwell, **Journal of Dental Education**, v.73, n.12, p.1424, 2008.

XIN, Z.; JUN, L.; XIAO-YONG, L.; YI-LIN, S.; CHUN-MEI, Z.; SONG-LING, W. Morphological characteristics of submandibular glands of miniature pig. **Chinese Medical Journal**, v.118, p.1368-1373, 2005.

YOUNG, B.; LOWE, J. S.; STEVENS, A.; HEATH, J. W. **Wheater histologia funcional: texto e atlas em cores.** 5ª ed. Elsevier Brasil, 2007. 436 p.

ZHOU, J.; WANG, H.; YANG, G.; WANG, X.; SUN, Y.; SONG, T.; ZHANG, C.; WANG, S.; Histological and ultrastructural characterization of developing miniature pig salivary glands. **The anatomical record**, v. 293, n. 7, p. 1227-1239, 2010.

ANEXOS A - COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS - CEUA

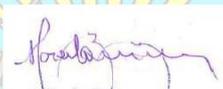

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
 COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

Mossoró, 19 de dezembro de 2016.


 CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “**MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM PREÁS (*Galea spixii* Wagler, 1831)**”, protocolo n. 23091.012294/2016-11 sob a responsabilidade de Moacir Franco de Oliveira – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da lei 11794 de 8 de outubro de 2009 e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido –UFERSA em reunião de 09/12/2016

Vigência do projeto	Fevereiro a dezembro de 2016
Espécie/linhagem	<i>Galea spixii</i>
N. de Animais	12
Peso/idade	Até 6 meses
Sexo	Machos (n=6)/Fêmeas (n=6)
Origem	CEMAS


 Presidente CEUA-UFERSA

BR 110 – Km 47 – Bairro Pres. Costa e Silva
 CEP 59625-900 – Mossoró – RN – (84) 3317-8360
<http://www2.ufersa.edu.br/portal/comissoes/ceua>

ANEXO B - AUTORIZAÇÃO PARA ATIVIDADES COM FINALIDADE CIENTÍFICA (ICMBio)



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54608-2	Data da Emissão: 20/07/2017 14:49	Data para Revalidação*: 19/08/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Carlos Eduardo Vale Rebouças	CPF: 023.946.104-50
Título do Projeto: MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM PRÉAS (<i>Galea spixii</i> WAGLER, 1831)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO	CNPJ: 24.529.265/0001-40

Cronograma de atividades

#	Descrição da atividade	Início (mês/ano)	Fim (mês/ano)
1	Revisão de literatura	06/2016	12/2016
2	Coleta de material para a microscopia de luz, eletrônica de transmissão e de varredura	08/2016	12/2016
3	Coleta de material para microscopia	08/2016	12/2016
4	Análise e documentação da microscopia	12/2016	02/2017
5	Processamento de material para microscopia de luz, eletrônica de transmissão e de varredura	02/2017	06/2017
6	Análise e documentação da microscopia de luz, eletrônica de transmissão e de varredura	06/2017	09/2017
7	Redação da dissertação de mestrado	09/2017	12/2017
8	Redação e submissão de artigos científicos	12/2017	02/2018
9	Defesa da dissertação	02/2018	02/2018

Observações e ressalvas

1	As atividades de campo exercidas por pessoa natural ou jurídica estrangeira, em todo o território nacional, que impliquem o deslocamento de recursos humanos e materiais, tendo por objeto coletar dados, materiais, espécimes biológicos e minerais, peças integrantes da cultura nativa e cultura popular, presente e passada, obtidos por meio de recursos e técnicas que se destinem ao estudo, à difusão ou à pesquisa, estão sujeitas a autorização do Ministério de Ciência e Tecnologia.
2	Esta autorização NÃO exime o pesquisador titular e os membros de sua equipe da necessidade de obter as anuências previstas em outros instrumentos legais, bem como do consentimento do responsável pela área, pública ou privada, onde será realizada a atividade, inclusive do órgão gestor de terra indígena (FUNAI), da unidade de conservação estadual, distrital ou municipal, ou do proprietário, arrendatário, posseiro ou morador de área dentro dos limites de unidade de conservação federal cujo processo de regularização fundiária encontra-se em curso.
3	Este documento somente poderá ser utilizado para os fins previstos na Instrução Normativa ICMBio nº 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio nº 10/2010, no que especifica esta Autorização, não podendo ser utilizado para fins comerciais, industriais ou esportivos. O material biológico coletado deverá ser utilizado para atividades científicas ou didáticas no âmbito do ensino superior.
4	A autorização para envio ao exterior de material biológico não consignado deverá ser requerida por meio do endereço eletrônico www.ibama.gov.br (Serviços on-line - Licença para importação ou exportação de flora e fauna - CITES e não CITES).
5	O titular de licença ou autorização e os membros da sua equipe deverão optar por métodos de coleta e instrumentos de captura direcionados, sempre que possível, ao grupo taxonômico de interesse, evitando a morte ou dano significativo a outros grupos; e empregar esforço de coleta ou captura que não comprometa a viabilidade de populações do grupo taxonômico de interesse em condição in situ.
6	O titular de autorização ou de licença permanente, assim como os membros de sua equipe, quando da violação da legislação vigente, ou quando da inadequação, omissão ou falsa descrição de informações relevantes que subsidiaram a expedição do ato, poderá, mediante decisão motivada, ter a autorização ou licença suspensa ou revogada pelo ICMBio, nos termos da legislação brasileira em vigor.
7	Este documento não dispensa o cumprimento da legislação que dispõe sobre acesso a componente do patrimônio genético existente no território nacional, na plataforma continental e na zona econômica exclusiva, ou ao conhecimento tradicional associado ao patrimônio genético, para fins de pesquisa científica, bioprospeção e desenvolvimento tecnológico. Veja maiores informações em www.mma.gov.br/cgen .
8	Em caso de pesquisa em UNIDADE DE CONSERVAÇÃO, o pesquisador titular desta autorização deverá contactar a administração da unidade a fim de CONFIRMAR AS DATAS das expedições, as condições para realização das coletas e de uso da infra-estrutura da unidade.

Equipe

#	Nome	Função	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade
1	HERSON DA SILVA COSTA	Colaborador	014.109.504-09	002447756 SSP-RN	Brasileira

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Município	UF	Descrição do local	Tipo
1	MOSSORO	RN	Centro de Multiplicação de Animais Silvestres	Fora de UC Federal

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 95656683



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54608-2	Data da Emissão: 20/07/2017 14:49	Data para Revalidação*: 19/08/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Carlos Eduardo Vale Rebouças	CPF: 023.946.104-50
Título do Projeto: MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM PRÉAS (<i>Galea spixii</i> WAGLER, 1831)	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO	CNPJ: 24.529.265/0001-40

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	<i>Galea spixii</i>

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Fragmento de tecido/órgão
2	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Outros métodos de captura/coleta(Manual)
3	Método de marcação (Outros mamíferos)	Colar

Destino do material biológico coletado

#	Nome local destino	Tipo Destino
1	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO	criadouro científico

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 95656683



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
 Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
 Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Autorização para atividades com finalidade científica

Número: 54608-2	Data da Emissão: 20/07/2017 14:49	Data para Revalidação*: 19/08/2018
* De acordo com o art. 28 da IN 03/2014, esta autorização tem prazo de validade equivalente ao previsto no cronograma de atividades do projeto, mas deverá ser revalidada anualmente mediante a apresentação do relatório de atividades a ser enviado por meio do Sisbio no prazo de até 30 dias a contar da data do aniversário de sua emissão.		

Dados do titular

Nome: Carlos Eduardo Vale Rebouças	CPF: 023.946.104-50
Título do Projeto: MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM PRÉAS (<i>Galea spixii</i> WAGLER, 1831)	
Nome da Instituição : UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO	CNPJ: 24.529.265/0001-40

Registro de coleta imprevista de material biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014, a coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta, devendo esta coleta imprevista ser comunicada por meio do relatório de atividades. O transporte do material biológico ou do substrato deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação. O material biológico coletado de forma imprevista, deverá ser destinado à instituição científica e, depositado, preferencialmente, em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO).

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

* Identificar o espécime no nível taxonômico possível.

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa nº 03/2014. Através do código de autenticação abaixo, qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Sisbio/ICMBio na Internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 95656683



Página 3/3