



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM
CATETOS (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758)**

CARLOS MAGNO OLIVEIRA JÚNIOR
Médico Veterinário

MOSSORÓ–RN
2018



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

**MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM
CATETOS (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758)**

CARLOS MAGNO OLIVEIRA JÚNIOR
Médico Veterinário

Tese apresentada à Universidade Federal Rural do
Semi-Árido – UFERSA, como parte das
exigências para a obtenção do título de Doutor
em Ciência Animal.

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

MOSSORÓ–RN
2018



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, 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 tomar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de 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.

J95m Júnior, Carlos Magno Oliveira.
Morfologia das glândulas salivares maiores em
catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). / Carlos
Magno Oliveira Júnior. - 2018.
124 f. : il.

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

1. Imunohistoquímica. 2. Desenvolvimento pós-
natal. 3. Animais silvestres. 4. Taiassuídeos. I.
Oliveira, Moacir Franco de, orient. II. Título.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

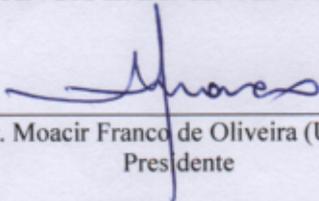
CARLOS MAGNO OLIVEIRA JÚNIOR

MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM CATETOS
(Pecari tajacu Linnaeus, 1758)

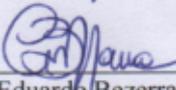
Tese apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, como parte das exigências para a obtenção do título de Doutor em Ciência Animal.

APROVADA EM: 26/02/2018

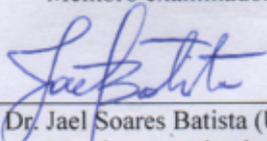
BANCA EXAMINADORA



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



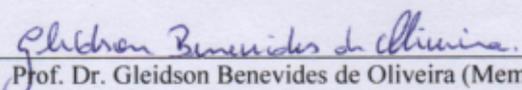
Prof. Dr. Carlos Eduardo Bezerra Moura (UFERSA)
Membro examinador



Prof. Dr. Jael Soares Batista (UFERSA)
Membro examinador



Prof. Dr. Ricardo Romão Guerra (UFPB)
Membro examinador



Prof. Dr. Gleidson Benevides de Oliveira (Membro externo)
Membro examinador



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Ao Sr. Carlos Magno Sobrinho (*In memorian*), meu estimado pai, por sempre vibrar com cada conquista minha, porque todas as minhas vitórias são mais suas do que minhas, por sempre me incentivar em tudo e nunca me deixar desistir. Porque o senhor sempre foi meu herói e grandes heróis sempre deixarão grandes saudades.

Dedico



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

AGRADECIMENTOS

Primeiro lugar quero agradecer ao Sr. Carlos Magno Sobrinho (*In memoriam*) meu estimado pai, infelizmente não poderá ver, fisicamente, mais essa vitória, mas esteja onde estiver, saiba que sempre te amarei, que o senhor sempre foi meu exemplo de perseverança, de amor incondicional e de amar de uma forma que eu nunca compreenderei.

Ao meu esposo Efraim de Alcântara Matos, meu melhor amigo, meu companheiro de todas as horas, quem me incentivou, esteve comigo por toda a minha vida acadêmica, passou noites acordados comigo, chorou e vibrou junto comigo as minhas conquistas. “Frodo não teria chegado onde chegou sem a ajuda do Sam”.

À minha mãe Gercina Dalva, por me incentivar a alçar voos mais altos, não importando o quão longe esse voo poderia ser. As saudades que sentimos é apenas o tempero que nos uni nos momentos em que estamos pertos um do outro.

Ao meu irmão Cícero Renato Gomes de Oliveira obrigado por cuidar de nossa mãe enquanto estou distante, te admiro demais você será sempre um orgulho para mim e para papai.

Ao meu orientador e também amigo, Moacir Franco de Oliveira, que acreditou em mim, viu potencial e investiu tempo e esforço no meu crescimento profissional e acadêmico nesses seis anos de convivência, meu muito obrigado, o senhor fez toda a diferença na minha pós-graduação e graças ao senhor saio muito maior do que quando entrei.

Ao meu filho peludo e de quatro patas Odin (Gio) sua companhia tornaram meus dias de trabalho menos cansativos.

Aos meus sogros José Rogério Matos e Aucilene Oliveira de Alcântara Matos por estarem presentes por toda essa caminhada e sempre me tratarem como um filho. Aos meus estimados cunhados Abraão de Alcântara Matos e Bruno Samuel de Alcântara Matos pelas mensagens de apoio.

Aos meus companheiros de laboratório Carlos Eduardo Vale, Felipe Venceslau Câmara,



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Ferdinando Vinicius Fernandes Bezerra, Gleidson Benevides de Oliveira, Hélio Noberto de Araújo Júnior e Herson da Silva Costa pois esta vitória também é de vocês, obrigado pelo companheirismo, risadas, trabalhos divididos e incentivos.

À minha tia Ivete Florêncio (*In memorian*), exemplo de mulher batalhadora, amorosa e dedicada, sinto sua falta todos os dias, essa vitória também é sua.

À minha grande amiga Diva Barreto, presente sempre nas horas mais difíceis e também nas melhores.

Aos funcionários que fizeram e fazem parte do CEMAS, em especial a Antônio Almeida dos Santos, Francisco Nazareno e Manoel Messias dos Santos (Cuscuz). Muito obrigado pela colaboração.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Não devemos nos questionar porque
algumas coisas nos acontecem e sim
o que poderemos fazer com o tempo
que nos é dado.

(TOLKIEN, J. R. R.)



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM CATETOS (*Pecari tajacu* LINNAEUS, 1758). OLIVEIRA JÚNIOR, C. M. Morfologia das glândulas salivares maiores em catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). 2018. 124f. Tese. (Doutorado em Sanidade e Produção Animal Morfofisiologia e Biotecnologia Animal) Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, Brasil, 2018.

RESUMO: Os porcos selvagens americanos são endêmicos das Américas e desempenham importante papel ecológico e alimentar, no entanto, as características morfológicas de suas glândulas salivares maiores não foram elucidadas, sabendo dessa lacuna, esse trabalho objetivou estudar as glândulas salivares maiores em catetos. As glândulas foram analisadas macroscopicamente, morfometricamente (peso, comprimento, espessura e largura) e por meio de microscopia de luz e eletrônica. A microscopia de luz seguiu metodologia para caracterização histoquímica dos grânulos de secreção e também de técnicas de imunohistoquímica para caracterização dos carboidratos de membrana. A avaliação metodológica foi feita em machos e fêmeas, em animais com idades variadas. Macroscopicamente, os catetos possuem três pares de glândulas salivares maiores, a parótida, mandibular e a sublingual, essa última dividida em duas porções, a polistomática e a monostomática. A parótida é a maior das glândulas observadas, enquanto a porção monostomática da glândula sublingual é a menor. A parótida está localizada próxima a orelha, recobre toda a mandibular e possui forma triangular. Os parâmetros morfométricos da parótida aumentaram conforme o animal envelhecia. A mandibular é oval e está no ângulo da mandíbula. O peso da glândula mandibular diminuiu ao longo do avanço da idade do animal, enquanto os demais parâmetros morfométricos aumentaram. A sublingual polistomática está no assoalho da cavidade oral, enquanto a monostomática está na porção ventral da glândula mandibular. Morfometricamente as sublinguais aumentaram conforme o animal envelhecia. A parótida é uma glândula serosa, no entanto, animais jovens sintetizaram mucinas neutras em pequenas quantidades, essa atividade cessa em animais adultos. As mandibulares são mucosas e sintetizam mucinas neutras e ácidas em pequenas quantidades. As sublinguais são mucosas e sintetizam mucinas ácidas e neutras em grandes quantidades. A microscopia eletrônica revelou que os ácinos eram globosos, dispostos em forma de cacho de uvas, aderidos uns aos outros por meio de uma malha de fibras colágenas. Os ductos estavam em íntima relação com os ácinos. A ultraestrutura da glândula parótida revelou a presença de ácinos estritamente serosos. Os grânulos sintetizados por essas células são muito eletrondensos. As glândulas mandibulares são mucosas. Suas células apresentam inúmeros grânulos eletronalucentes. A glândula sublingual é estritamente mucosas, com grânulos, em sua maioria, eletronalucentes.

Palavras-chaves: Imunohistoquímica, desenvolvimento pós-natal, animais silvestres, taiassuídeos.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

MORPHOLOGY OF THE LARGEST SALIVARY GLANDS IN COLLARED PECCARIES (*Pecari tajacu* LINNAEUS, 1758). OLIVEIRA JÚNIOR, C. M. Morphology of the largest salivary glands in collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). 2018. 124f. Thesis. (Doctorate Degree in Health and Morphology Production Animal and Biotechnology Animal) Graduate Program in Science Animal, Federal Rural Semi-Arid University (UFERSA), Mossoró-RN, Brazil, 2018.

ABSTRACT: The American's wild pigs are endemics to the Americas and execution an important ecological and nutritional role; however, the morphological characteristics of their large salivary glands have not been elucidated, knowing this gap, this work aimed to study the large salivary glands in collared peccaries. The glands were analyzed macroscopically, morphometrically (weight, length, thickness and width) and through light and electron microscopy. The microscopy light followed a methodology for the histochemical characterization of the secretion granules and also immunohistochemical techniques to the membrane carbohydrate's characterization. The methodological assesment was done in males and females and in animals of different ages. Macroscopically, the collared peccaries have three pairs of larger salivary glands, the parotid, mandibular and sublingual, the last one is divided into two portions, the polistomatic and monostomatic. The parotid is the largest of the glands observed, while the monostomatic portion of the sublingual gland is the smallest. The parotid is located near the ear, covers the entire mandibular and has a triangular shape. The parotid's morphometric parameters increased as the animal aged. The mandibular is oval and it is on the angle of the mandible. The weight of the mandibular gland decreased along the advancement of the animal's age, while the other morphometric parameters augmented. The polysomntic sublingual is on the floor of the oral cavity, while the monostomatic is in the ventral portion of the mandibular gland. Morphometrically the sublinguals augmented as the animal aged. The parotid is a serous gland, however, young animals synthesized neutral mucins in small amounts, this activity stops in adult animals. The mandibles are mucous and synthesize neutral and acidic mucins in small amounts. The sublinguals are mucous and synthesize acidic and neutral mucins in large quantities. Electron microscopy revealed that the acini were globose, arranged in grape's cluster shape, adhered to each other through of a mesh of collagen fibers. The ducts were closely related to the acini. The parotid gland ultrastructure revealed the presence of strictly serous acini. The synthesized granules by these cells are very electron-dense. The mandibular glands are mucous. Their cells have numerous electron-forming granules. The sublingual gland is strictly mucosa, with granules, mostly, electrons.

Keywords: Immunohistochemistry, postnatal development, wild animals, taiassuids.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Lecitinas e concentrações utilizadas para imunohistoquímica das glândulas salivares maiores de catetos (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758).....	57
Tabela 2 -Medidas morfométricas e peso das glândulas parótidas do cateto (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758).	61
Tabela 3 - Lecitinas e concentrações utilizadas para imunohistoquímica das glândulas salivares maiores de catetos (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758).....	82
Tabela 4 - Medidas morfométricas e peso das glândulas mandibulares do cateto (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758).	86
Tabela 5 - Lecitinas e concentrações utilizadas para imunohistoquímica das glândulas salivares maiores de catetos (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758).....	104
Tabela 6 - Medidas morfométricas e peso das glândulas sublinguais polistomática do cateto (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758).	107
Tabela 7 - Medidas morfométricas e peso das glândulas sublinguais monostomática do cateto (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758).	108



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Fonte: Arquivo pessoal..... 30

Figura 2 - Fotomicrografias da glândula parótida do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J verifica-se que os lóbulos basofílicos são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K o tecido conjuntivo (setas pretas) delimita os ácinos e os ductos (setas amarelas), os núcleos são esféricos e coram-se fortemente por hematoxilina (setas vermelhas). Em C, F, I e L verifica-se que os lóbulos estão individualizados por fibras colágenas (setas pretas) A, B, D, E, G, H J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L Coloração Tricrômico de Gomori. 63

Figura 3 - Fotomicrografias da glândula parótida do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a fraca positividade da parótida ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, demonstram uma fraca positividade ao Ácido Periódico de Schiff aos quatro e cinco meses, respectivamente, enquanto J e N demonstram negatividade ao método Ácido Periódico de Schiff aos seis e sete meses, respectivamente. As imagens C, D, G e H demonstram que os ácinos tem fraca positividade pelo método Ácido Periódico de Schiff associado ao Alcian Blue (pH 2,5) aos quatro e cinco meses respectivamente (setas vermelhas para ácinos PAS-positivos) (setas amarelas para Alcian Blue-positivos), enquanto as imagens K, L, O e P demonstram positividade apenas ao método Alcian Blue (pH 2,5) (setas amarelas). . 65

Figura 4 - Fotomicrografias da glândula parótida do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A não houve reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B não houve reação para lecitina PNA aos sete meses. Em C fraca reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D fraca positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E moderada positividade a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F moderada positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G fraca reação a



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

lecitina WGA aos quatro meses. Em H fraca positividade para lecitina WGA aos sete meses. 66

Figura 5 - Eletromicrografias da glândula parótida de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Células acinares produzem grânulos de secreção eletrondensos (setas vermelhas) e estas se dirigem ao ápice celular. A base celular estava voltada para o tecido conjuntivo enquanto o ápice celular formava o lúmen do ácino (L). O núcleo (N) celular apresentou-se esférico, com um nucléolo proeminente e estava localizado na base celular. Próximo aos núcleos foi observado retículo endoplasmático rugoso (setas azuis) e mitocôndrias (setas amarelas). Em torno dos ácinos pode-se observar a presença de células mioepiteliais (M). 68

Figura 6 - Fotomicrografias dos ductos salivares do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A observa-se a disposição dos ductos intercalares, há uma íntima relação entre este ducto e os ácinos. Em B nota-se que o ducto é constituído por uma única camada de células epiteliais cúbicas e seu núcleo é esférico, basofílico e localizado no centro celular. Em C nota-se a delimitação do ducto por uma fina camada de fibra colágena. Em D tem-se o ducto estriado, este ducto era maior que o ducto intercalar. Em E observa-se que as células eram colunares e os núcleos eram esféricos e posicionados no centro da célula, atenta-se que a base celular é mais eosinofílica que o ápice celular. Em F nota-se q uma fina camada de fibra colágena delimitando o ducto. Em G observa-se o ducto excretor, este ducto tinha muito tecido conjuntivo ao seu redor (*) e estava na região interlobular. Em H nota-se que o ducto excretor continha mais de uma camada de células epiteliais, sendo a mais basal cúbica e a mais externa colunar. Em I nota-se uma densa rede de fibras colágenas envolvendo o ducto excretor. A, B, D, E, G e H coloração Hematoxilina-Eosina. C, F e I coloração Tricrômico de Gomori. 71

Figura 7 - Eletromicrografias das células ductais de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Em A e B temos células do ducto intercalar. Observa-se que os núcleos (N) são esféricos e localizados basalmente, há algumas mitocôndrias dispersas pelo citoplasma (setas amarelas). Ao redor dos ductos observam-se células mioepiteliais (M). Em C e D observa-se o ducto estriado. Estes ductos



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

apresentaram células colunares e seus núcleos (N) estavam localizados no centro. Ao redor dos ductos estriados também foi possível observar células mioepiteliais (M) 72

Figura 8 – Imagem fotografada da macroscopia das glândulas salivares maiores do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Glândula mandibular (seta vermelha), parte da glândula parótida (seta azul), ramo bucal do nervo facial (seta preta), ducto parotídeo (seta amarela), veia linguofacial (seta verde), timo (asterisco), músculo esternocleidomastoideo (ME). 86

Figura 9 - Fotomicrografias da glândula mandibular do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J verifica-se que os lóbulos basofílicos são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K o tecido conjuntivo (setas pretas) delimita os ácinos. As células acinares organizam-se de modo a formar o lúmen acinar (setas azuis), os núcleos dessas células são esféricos e coram-se fortemente por hematoxilina (setas vermelhas). Em C, F, I e L os ductos (*) estão individualizados por fibras colágenas (setas pretas). A, B, D, E, G, H J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L coloração Tricrômico de Gomori. 88

Figura 10 - Fotomicrografias da glândula mandibular do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a forte positividade da mandibular ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, J e N demonstram uma forte positividade ao método Ácido Periódico de Schiff. As imagens C, D, G, H, K, L, O e P demonstram uma maior atividade secretora de polissacarídeos ácidos, visto que há sobreposição do Alcian Blue (pH 2,5) sobre a positividade ao Ácido Periódico de Schiff. 90

Figura 11 - Fotomicrografias da glândula mandibular do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A forte reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B moderada positividade para lecitina PNA aos sete meses. Em C forte reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D moderada positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E forte reação a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F moderada positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G não houve reação a lecitina WGA aos quatro meses. Em H fraca positividade para lecitina WGA aos sete meses.



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

- 91
- Figura 12** - Eletromicrografias da glândula mandibular de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Células acinares produzem grânulos de secreção eletrólucos (setas vermelhas) e estas se dirigem ao ápice celular, alguns grânulos continham um ponto eletrólucos em seu interior (setas amarelas). A base celular estava voltada para o tecido conjuntivo (setas verdes) enquanto o ápice celular formava o lúmen do ácino (L). O núcleo celular (N) apresentou-se esférico, com um nucléolo proeminente e estava localizado na base celular. Próximo aos núcleos foi observado retículo endoplasmático rugoso (setas azuis). 93
- Figura 13** - Fotomicrografias da glândula sublingual polistomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J Os ácinos e ductos (setas amarelas) são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K Os ácinos e ductos (setas amarelas) são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). As células acinares organizam-se de modo a formar o lúmen acinar (setas azuis), os núcleos dessas células são esféricos e coram-se fortemente por hematoxilina (setas vermelhas). Em C, F, I e L o tecido conjuntivo (setas pretas) delimitava os ácinos e os ductos (*). A, B, D, E, G, H, J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L coloração Tricrômico de Gomori..... 109
- Figura 14** - Fotomicrografias da glândula sublingual monostomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J Os ácinos e ductos (setas amarelas) são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K tecido conjuntivo (setas pretas) delimitam os ácinos e os ductos (setas amarelas), os núcleos são achatados, coram-se fortemente por hematoxilina e estão na região basal (setas vermelhas) As células acinares estão com seu ápice voltado ao lúmen acinar (setas azuis). C, F, I e L os ácinos e ductos estão individualizados por malhas de fibras colágenas. A, B, D, E, G, H, J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L coloração Tricrômico de Gomori. 110
- Figura 15** - Fotomicrografias da glândula sublingual polistomática do cateto (*Pecari tajacu*



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a forte positividade da sublingual ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, J e N demonstram uma forte positividade ao método Ácido Periódico de Schiff. As imagens C, D, G, H, K, L, O e P demonstram uma maior atividade secretora de polissacarídeos ácidos, visto que há sobreposição do Alcian Blue (pH 2,5) sobre a positividade ao Ácido Periódico de Schiff..... 112

Figura 16 - Fotomicrografias da glândula sublingual monostomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a forte positividade da sublingual ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, J e N demonstram uma forte positividade ao método Ácido Periódico de Schiff. As imagens C, D, G, H, K, L, O e P demonstram uma maior atividade secretora de polissacarídeos ácidos, visto que há sobreposição do Alcian Blue (pH 2,5) sobre a positividade ao Ácido Periódico de Schiff..... 113

Figura 17 - Fotomicrografias da glândula sublingual polistomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A moderada reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B moderada positividade para lecitina PNA aos sete meses. Em C moderada reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D moderada positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E moderada reação a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F moderada positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G fraca reação a lecitina WGA aos quatro meses. Em H moderada positividade para lecitina WGA aos sete meses. 115

Figura 18 - Fotomicrografias da glândula sublingual monostomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A moderada reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B forte positividade para lecitina PNA aos sete meses. Em C moderada reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D moderada positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E forte reação a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F forte positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G moderada reação a lecitina WGA aos quatro meses. Em H fraca positividade para lecitina WGA aos sete meses. 117



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

Figura 19 - Eletromicrografias da glândula sublingual polistomática de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Células acinares produzem grânulos de secreção de variadas eletrondensidades (setas vermelhas) e estas se dirigem ao ápice celular. A base celular estava voltada para o tecido conjuntivo (setas verdes) enquanto o ápice celular formava o lúmen do ácino (L). O núcleo (N) celular apresentou-se esférico, com um nucléolo proeminente e estava localizado na base celular. Próximo aos núcleos foi observado retículo endoplasmático rugoso (setas azuis). No entorno dos ácinos foi possível observar células mioepiteliais (M). Em contato íntimo com os ácinos, observou-se ductos intercalares (seta amarela). 119



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
MET	Microscópio Eletrônico de Transmissão
MEVAR	Microscópio Eletrônico de Varredura de Alta Resolução
RER	Retículo Endoplasmático Rugoso
PAS	Ácido Periódico de Schiff



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	26
2.1 OBJETIVO GERAL	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	28
3.1 FAMÍLIA TAYASSUIDAE	28
3.2 GENERALIDADES SOBRE AS GLÂNDULAS SALIVARES	30
3.2.1 Desenvolvimento das glândulas salivares.....	30
3.2.2 Glândula parótida	33
3.2.3 Glândula mandibular.....	35
3.2.4 Glândula sublingual	40
3.2.5 Ductos e células mioepiteliais	41
3.3 LECITINAS	42
REFERÊNCIAS	44
4 CAPÍTULO 1 - MORFOLOGIA DA GLÂNDULA PARÓTIDA EM CATETOS (<i>Pecari Tajacu</i> LINNAEUS, 1758).....	51
4.1 RESUMO.....	51
4.2 INTRODUÇÃO	52
4.3 MATERIAIS E MÉTODOS	54
4.3.1 Protocolo de eutanásia	54



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

4.3.2 Procedimento de macroscopia e coleta de material	55
4.3.3 Medição morfométrica e de volume glandular	55
4.3.4 Procedimento para microscopia de luz	55
4.3.5 Procedimento para imunohistoquímica	56
4.3.6 Procedimento de material para microscopia eletrônica de transmissão	57
4.3.7 Procedimento de material para microscopia eletrônica de varredura	58
4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.4.1 Ductos e células mioepiteliais	69
4.5 CONCLUSÃO	73
REFERÊNCIAS	74
5 CAPÍTULO 2 - MORFOLOGIA DA GLÂNDULA MANDIBULAR EM CATETOS (<i>Pecari Tajacu</i> LINNAEUS, 1758)	76
5.1 RESUMO	76
5.2 INTRODUÇÃO	77
5.3 MATERIAIS E MÉTODOS	79
5.3.1 Protocolo de eutanásia	79
5.3.2 Procedimento de macroscopia e coleta de material	80
5.3.3 Medição morfométrica e de volume glandular	80
5.3.4 Procedimento para microscopia de luz	80
5.3.5 Procedimento para imunohistoquímica	81
5.3.6 Procedimento de material para microscopia eletrônica de transmissão	82
5.3.7 Procedimento de material para microscopia eletrônica de varredura	83



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	85
5.5 CONCLUSÃO	95
REFERÊNCIAS	96
6 CAPÍTULO 3 - MORFOLOGIA DA GLÂNDULA SUBLINGUAL EM CATETOS (<i>Pecari Tajacu</i> LINNAEUS, 1758).....	98
6.1 RESUMO	98
6.2 INTRODUÇÃO	99
6.3 MATERIAIS E MÉTODOS	101
6.3.1 Protocolo de eutanásia	101
6.3.2 Procedimento de macroscopia e coleta de material	102
6.3.3 Medição morfométrica e de volume glandular	102
6.3.4 Procedimento para microscopia de luz	102
6.3.5 Procedimento para imunohistoquímica	103
6.3.6 Procedimento de material para microscopia eletrônica de transmissão	104
6.3.7 Procedimento de material para microscopia eletrônica de varredura	105
6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	107
6.5 CONCLUSÃO	120
REFERÊNCIAS	121
ANEXOS	123



1 INTRODUÇÃO

Os animais silvestres ainda são alvo de poucos estudos científicos, todavia, alguns pesquisadores passaram a estudá-los com mais afinco na área de morfofisiologia com intuito de conhecer melhor a sua forma de alimentação, seus modos de vida, e como está disposta sua conformação orgânica (CARVALHO, et al., 2003). Como não há literatura específica acerca da morfologia das glândulas salivares de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758), as informações utilizadas para essas estruturas, nesses animais, advêm do conhecimento em outras espécies.

As glândulas salivares são órgãos responsáveis pela produção de saliva e estão divididas em maiores e menores. A saliva produzida será secretada na cavidade oral geralmente durante a mastigação, de modo a facilitar a deglutição de alimento, além disso, a saliva possui enzimas que controlam o PH do alimento ingerido e livram a boca da proliferação microbiana (NAGLER, 2002). A secreção salivar é indispensável para a homeostase bucal. Humanos que sofrem com xerostomia desenvolvem uma série de efeitos deletérios na cavidade oral, acarretando uma diminuição na resposta dos tecidos bucais às injúrias, alterando a microbiota oral, aumentando o índice de cáries, a incidência de candidíase, além de dificultar a deglutição, mastigação e fala (TAKAGI, 2003).

Sabe-se que as glândulas salivares, na maioria dos animais, estão divididas em maiores: parótida, mandibular e sublingual e em glândulas salivares menores, essas últimas são numerosas, independentes e são encontradas em toda a cavidade oral, nas tonsilas palatinas, na faringe e na laringe. Cada glândula possui ducto secretor próprio que se abre na cavidade oral. Tanto as glândulas salivares maiores, quanto as menores são compostas por células acinares (serosas ou mucosas), células ductais, células mioepiteliais e basais (MELVIN et al., 2005).

As glândulas salivares estão constantemente produzindo e secretando saliva, mantendo sempre úmida a cavidade oral, evitando a proliferação de bactérias nocivas e aumentando a produção salivar quando estimuladas. A saliva é sintetizada por células especializadas, denominadas de células acinares, células estas que podem ser mucosas, quando secretam substâncias ricas em mucinas, ou serosas, quando secretam substâncias ricas em proteínas e grânulos de zimogênio. As células acinares sofrem influência da alimentação do animal para a síntese de seus produtos, fabricando e secretando uma saliva mais serosa ou mucosa dependendo do tipo de alimento ingerido (MELVIN et al., 2005). Alimentos aquosos, como frutas, induzem a produção de uma saliva serosa, enquanto que alimentos pouco aquosos, como

sementes, induzem a uma síntese de saliva mucosa, este fator está ligado às adaptações que os mamíferos adquiriram ao habitar as mais diferentes latitudes.

Os trabalhos com morfologia animal permitem preencher lacunas de conhecimentos e facilitam abordagens científicas para preservação e exploração racional de animais silvestres. Como não há trabalhos envolvendo a descrição anatômica e microscópica das glândulas salivares maiores de catetos, e acreditando que estas glândulas fornecem embasamento que poderão nortear de melhor forma o manejo nestes animais, este trabalho objetiva estudar as glândulas salivares maiores em catetos, de modo a poder fornecer informações que possam ser de interesse para a clínica, cirurgia, patologia e nutrição animal.



2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar morfológica e estruturalmente as glândulas salivares maiores em catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Identificar as glândulas salivares maiores presentes em catetos;
- b) Descrever topograficamente as glândulas salivares maiores;
- c) Caracterizar os aspectos morfométricos (peso, comprimento, largura e espessura) das glândulas salivares maiores;
- d) Descrever macroscopicamente as glândulas salivares maiores;
- e) Identificar e caracterizar os tipos celulares encontrados nas glândulas salivares maiores;
- f) Classificar as glândulas salivares maiores quanto à composição histoquímica e imunohistoquímica.



3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 FAMÍLIA TAYASSUIDAE

Os porcos selvagens americanos, não pertencem à mesma família dos porcos domésticos (*Sus scrofa* Linnaeus, 1758), apesar de se assemelharem. Os porcos domésticos pertencem à Ordem Artiodactyla, à Subordem Suiforme e à família Suidae, e são oriundos do velho mundo, sendo a sua distribuição cosmopolita atribuída à domesticação e colonização humana em todos os continentes (SOUZA, 2014). As espécies de porcos selvagens americanos, também chamados de porcos-do-mato, estão inseridas na família Tayassuidae, seus principais exemplares brasileiros são o *Tayassu pecari* Link 1795 (Queixada), o *Catagonus wagneri* Rusconi 1930 (Taguá) (WILSON e REEDER, 2005) e o *Pecari tajacu* Linnaeus 1758 (Cateto), este último sendo mais difundido em território brasileiro (FILHO, 1996).

As principais características da família dos Tayassuídeos são em relação aos dentes caninos superiores, eles são grandes e dirigidos para baixo, não formam presas e nem tem crescimento contínuo (TOSCHI, 1974), seu estômago divide-se, parcialmente, em quatro câmaras gástricas, enquanto os suínos apresentam um estômago simples. Segundo SOWLS (1997), geralmente são onívoros e alimentam-se de folhas, sementes, raízes, frutos, flores, insetos, ovos de pássaros, lagartos e pequenos mamíferos. Seus hábitos são noturnos, apresentam um bom olfato, facilitando durante a noite encontrar alimentos escondidos sob a vegetação, além disso, utilizam seu focinho e presas para cavar e cortar raízes.

Dentro do gênero *Pecari*, os catetos são os menores, com um peso corpóreo médio de 30 kg e comprimento de 90 cm quando adultos (SOWLS, 1984). Tem pelos longos, ásperos e espessos, geralmente pretos com anéis brancos em toda sua extensão que conferem à pelagem do animal uma tonalidade entre preto e cinza. Apresenta um pré-estômago que lhe permite consumir os mais diversos tipos de alimentos, incluindo alimentos fibrosos, raízes, legumes, frutos, pequenos vertebrados e insetos (CAVALCANTE FILHO et al., 1998).

Os catetos são animais societários, vivendo em grupos de cinco a quinze indivíduos (NOWAK, 1991), constituídos por animais jovens e adultos de ambos os sexos (ELLISON e HARWELL, 1969), além disso, são rústicos, seu couro e sua carne são muito apreciados graças à sua qualidade. Membros da família Tayassuidae, os catetos se separaram da família Suidae

há dezenas de milhões de anos (BENIRSHCHKE, 1974). Mesmo separando-se dos Suídeos há milhões de anos, ainda assemelham-se aos javalis e porcos domésticos. Os animais pertencentes a Família Tayassuidae são encontrados exclusivamente no continente americano (GIANNONI, 1979), podendo ser observados, naturalmente, numa ampla faixa geográfica, desde o sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina (CABRERA e YEPES, 1940). Graças a sua boa distribuição pelo território americano, o cateto acaba por dividir esse espaço com outros membros da família Tayassuidae, em determinados locais da América do Sul, dividem um habitat comum o taguá, o queixada e o cateto (SOWLS, 1997).

Vários trabalhos abordaram aspectos morfológicos do cateto, tais como a sua espermatogênese (COSTA, HENRY e PAULA, 2004), determinação do seu ciclo estral (ARAÚJO-GUIMARÃES, 2011), origem do plexo braquial (MOURA et al., 2014), os trabalhos abordando seu trato gastrointestinal são escassos, resumindo-se aos seus hábitos alimentares (OLMOS, 1993) e a passagem de partículas sólidas pelo aparelho digestório (SCHWARM et al., 2009). As glândulas salivares foram muito importantes para as adaptações alimentares pelas quais os mamíferos passaram ao habitar uma vasta área geográfica, entretanto, não há informações na literatura acerca das glândulas salivares dos catetos, o que se sabe destas estruturas advém de seus parentes próximos, os suínos domésticos. Nos porcos domésticos sabe-se que existem três grandes grupos de glândulas salivares maiores, a parótida, a mandibular e a sublingual (ŠTEMBÍREK et al., 2012), responsáveis pela maior parte de saliva produzida.

De acordo com Gongora et al. (2011) o cateto (Fig. 01) pode ser classificado taxonomicamente como espécie pertencente ao:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Classe: Mammalia

Ordem: Artiodactyla

Subordem: Suiforme

Família: Tayassuidae

Gênero: Pecari

Espécie: *Pecari tajacu*



Figura 1 - Cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Fonte: Arquivo pessoal.

3.2 GENERALIDADES SOBRE AS GLÂNDULAS SALIVARES

3.2.1 Desenvolvimento das glândulas salivares

O desenvolvimento das glândulas salivares maiores difere de espécie para espécie (NORBERG, DARDICK, BURFORD-MASON, 1996), mas, de modo geral As glândulas salivares originam-se do crescimento de tecido epitelial em direção ao tecido conjuntivo subjacente. Ao tocar o tecido conjuntivo, o tecido epitelial sofre diferenciação e desenvolve uma lâmina basal própria a partir do tecido conjuntivo circundante (CUTLER e GRENSKI, 1991). Durante o processo embrionário as glândulas salivares passam por importantes modificações morfológicas e químicas. A morfogênese glandular exige um complexo desenvolvimento que envolve a proliferação celular coordenada, diferenciação, migração, apoptose e interações recíprocas entre as células epiteliais, mesenquimais, neuronais e endoteliais (KNOX e HOFFMAN, 2008). As modificações morfológicas que as glândulas

passam, iniciam na vida embrionária e finalizam na idade adulta. A glândula parótida, quando madura, é basicamente uma glândula serosa na maioria das espécies de mamíferos. No entanto, durante a sua formação embriológica e logo após o nascimento, ela é constituída por ácinos mucosos que com o avançar da idade do animal, vão sofrendo uma diminuição na quantidade de células, e em algumas espécies de animais podem sumir definitivamente segundo descreve Pinkstaff (1975) que estudou as glândulas mandibular e sublingual do gambá.

Em ratos, segundo descreve Norberg, Dardick e Burford (1996) a glândula parótida permanece em estágio embrionário logo após o nascimento, amadurecendo mais tardiamente que as glândulas mandibulares e sublinguais, que amadurecem antes do nascimento. Isso decorre porque durante a vida pré-natal a morfogênese da glândula parótida é mais lenta do que das glândulas mandibular e sublingual, sendo que a atividade proliferativa varia de glândula para glândula (BALL, 1974). Assim, a proliferação celular menos intensa na parótida é responsável, ao nascimento, pelo seu aspecto de indiferenciação (REDMAN e SREEBNY, 1971) quando comparada com a mandibular e sublingual (JACOBY e LEESON, 1959).

O desenvolvimento das glândulas mandibular e parótida inclui uma prolongada citodiferenciação pós-parto (SIVAKUMAR et al., 1998). Na glândula mandibular, a célula proacinar (tipo III), produz e secreta a proteína de secreção da glândula mandibular neonatal B (SMGB), proteína de secreção da parótida (PSP), proteína salivar comum -1 (CSP-1) e proteína da glândula mandibular D (SMGD). As células proacinares (tipo III) surgem a partir do décimo nono dia de gestação e sua diferenciação em células adultas ocorre após três ou quatro semanas pós-parto segundo descreve Ball et al. (1993), Moreira et al. (1991) e Girard et al. (1993). Em estudos com ratos, durante a diferenciação para a forma celular adulta, as células do tipo III passam por uma forma celular intermediária, que é a célula do tipo IIIP. Esta é caracterizada pela presença de grânulos heterogêneos, morfologicamente distintos que contêm tanto proteínas neonatais quanto proteínas adultas (MOREIRA et al., 1990).

Com o envelhecimento do animal essas estruturas e o seu funcionamento glandular são alterados. Vários pesquisadores têm relatado mudanças relacionadas à idade na morfologia (KIM, 1981), na histologia (SASHIMA, 1986), na ultraestrutura (BOGART, 1970) e na bioquímica (KIM e ARISUMI, 1985) das glândulas salivares.

Na glândula adulta os vasos e nervos penetram nas glândulas através do hilo e gradualmente se ramificam até os lóbulos. Um rico plexo vascular e nervoso circundam os componentes secretores e ductais de cada lóbulo. As glândulas salivares são ricamente innervadas pelos nervos parassimpático e simpático. Os nervos parassimpáticos liberam

acetilcolina, que ativa os receptores mecânicos para estimular a secreção de fluidos (LEE et al., 2012). Os nervos simpáticos controlam a salivação através da ativação dos receptores α e β -adrenoreceptores, esses receptores ativam a liberação de saliva aquosa ou proteica, respectivamente (IAZZO, 2013).

Microscopicamente as glândulas salivares são glândulas do tipo exócrina, ou seja, secretam seu conteúdo através de ductos, e apesar das glândulas salivares maiores secretarem aproximadamente 90% da saliva, são as glândulas salivares menores as responsáveis pela a liberação de cerca de 70% do muco secretado na mucosa oral (WATANABE et al, 1996). As glândulas salivares maiores são tubulosacinosas e caracterizam-se pela associação de inúmeras unidades secretoras. Além das unidades secretoras há um complexo sistema ductal que carrega a saliva secretada pelos ácinos até a cavidade oral, toda esta estrutura glandular é separada por septos de tecido conjuntivo oriundos da cápsula (MARTINEZ-MADRIGAL e MICHEAU, 1989).

As glândulas salivares menores estão em maior quantidade do que as glândulas salivares maiores, sua distribuição ocorre por toda a cavidade oral, predominam as células acinares mucosas, podendo apresentar ácinos serosos ou seromucosos. O sistema ductal não apresenta um ducto excretor principal, no entanto, podem apresentar ductos excretores de menor calibre e também ductos intercalares. Células mioepiteliais são observadas em porções secretoras e também e nos diminutos ductos pequenos destas glândulas. Essas células apresentam filamentos de actina e miosina, inferindo-se que participam secreção de saliva no lúmen ductal. Em ácinos mucosos, devido a secreção mucinogênica, a presença de células mioepiteliais é mais marcante o que reflete a maior força requerida para expelir a saliva do tipo mucosa, pois esse tipo salivar é mais viscoso e necessita uma expulsão mais ativa. As glândulas salivares menores secretam mucinas altamente glicosiladas, várias proteínas antimicrobianas e imunoglobulinas, que promovem a lubrificação dos tecidos e a agregação bacteriana (HAND, PATHMANATHAN e FIELD, 1999).

3.2.2 Glândula parótida

Em ratos, a parótida surge por volta do 16º dia de gestação, parecendo um bastão de epitélio. Este bastão se estende dorsalmente a partir da parte lateral da cavidade oral. Até o 17º dia o futuro ducto coletor aumenta gradativamente postero-ventralmente ao ouvido externo para debaixo da orelha externa em relação à linha média. O epitélio é rodeado por mesênquima formando uma cápsula bem definida. A reflexão do futuro ducto coletor principal garante que a glândula parótida continue a crescer entre a orelha externa e a parte proximal da glândula mandibular. O padrão de ramificação das gemas terminais é mais difundido e se desenvolve em um ritmo mais lento do que as glândulas mandibular e sublingual (LAWSON, 1970).

Durante o desenvolvimento glandular observam-se quatro estágios diferentes. No estágio I do seu desenvolvimento, os botões terminais da árvore epitelial ramificam-se difusamente. Estas estruturas consistem em células com grandes núcleos centrais e citoplasma basofílico, este estágio dura desde o aparecimento do rudimento não ramificado inicial até o termo. No segundo estágio, material densamente PAS-positivo pode ser encontrado nas células dos brotos terminais em alguns fetos a termo e em recém-nascidos. No estágio III o material PAS-positivo é maior e mais abundante, o núcleo é visto na posição basal da célula e a porção apical da célula é eosinofílica, este estágio ocorre em ratos entre 2 e 3 dias. No último estágio, a jovem célula acinar é obviamente polarizada e com núcleo basal, citoplasma apical eosinofílico, com aparência granular; os grânulos são PAS-positivos. A atividade da amilase na glândula parótida permanece em um nível muito baixo até o nascimento, após isso, a atividade aumenta significativamente entre a segunda e o terceiro dia pós-parto continuando a crescer, o nível máximo de atividade é atingido no momento do desmame (LAWSON, 1970).

A glândula parótida no porco adulto é caracterizada por ser uma estrutura grande e distintamente triangular coberta por tecido adiposo. O ducto parótido perfura o músculo bucinador ao nível do quarto pré-molar superior ao primeiro dente molar e se abre para o vestíbulo na papila parotídea (ŠTEMBÍREK et al., 2012). Em chinchilas adultas (*Chinchilla lanígera*) a glândula salivar parótida é observada bem desenvolvida, com aproximadamente 1,3 cm, com formato elipsóide irregular e posicionada lateralmente ao músculo masseter, desde a porção ventral da orelha externa até a região mandibular. Seu ducto salivar cursa lateralmente o músculo masseter e adentra a cavidade oral próximo ao diastema (CASTRO et al., 2010).

A glândula parótida é do tipo acinosa composta, sua porção secretora é constituída

exclusivamente por células serosas, contendo grânulos de secreção ricos em proteínas e elevada atividade da amilase salivar. A superfície dos ácinos parotídeos e mandibulares apresentam uma superfície externa caracterizado por uma delicada rede tridimensional de fibras do tecido conjuntivo ao redor de cada ácino. Além disso, há feixes de fibras colágenas atravessando o espaço interacinar e ligando ácinos vizinhos (WATANABE et al, 1996).

As parótidas de bovinos domésticos apresentaram células acinares de forma cilíndrica a colunar baixa. O lúmen acinar era mais aberto do que os lúmens de espécies não-ruminantes (SHACKLEFORD e WILBORN, 1968), embora o grau de abertura variasse consideravelmente. O lúmen acinar coincidia com o lúmen dos ductos intercalares. A glândula exibe pouca ou nenhuma reação de coloração para mucossacarídeos ácidos, exceto nos ductos coletores maiores, que muitas vezes contêm células caliciformes secretoras mucosas (SHACKLEFORD e KLAPPER, 1962).

A parótida dos camelos (*Camelus dromedarius*) era constituída por ácinos, ductos intercalares, ductos estriados e ductos excretores. Os ácinos são alongados, tubulares e ramificados, seu lúmen era tortuoso relativamente grande. As células de acinares variaram de cúbicas para colunar baixo e, devido a essa variação de altura, o lúmen aparecia com uma forma de fenda. Os núcleos são de forma redonda ou oval, muitas vezes com nucléolos proeminentes. As células secretoras apresentavam mitocôndrias abundantes e numerosos microvilos se estendiam das células para o lúmen e também para o ducto intercelular (MANSOURI e ATRI, 1994).

No gambá de rabo curto cinza (*Monodelphis domestica*), as células da parótida são piramidais e seus núcleos estão na região basal. O RER nessas células está na região perinuclear, enquanto as mitocôndrias estão distribuídas aleatoriamente pelo citoplasma. Os grânulos secretórios são observados na porção luminal da célula, estes grânulos são homogêneos e de alta eletrondensidade. Os ductos estriados são constituídos por células colunares. O epitélio estriado continha infiltrações basais associadas com mitocôndrias. As células mioepiteliais são planas e são encontradas na membrana basal. Os ductos intercalares são curtos segmentos lineares, constituídos de células cuboides (KANNO et al., 2015).

Mansouri e Atri (1994) observaram a ultraestrutura das células acinares da parótida de camelos (*Camelus dromedarius*) e observaram dois tipos de grânulos secretórios dentro do citoplasma, embora a identificação deles fosse difícil em alguns casos. O tipo 1 continha uma membrana limitante. O tipo 2 continha material de eletrondensidade moderada, não havia membrana delimitante e seu número era comparativamente menor. Os dois tipos de grânulos

podiam ser observados em íntima associação com mitocôndrias e são menos numerosos em fêmeas. Além dos grânulos de secreção, também são observados RER, localizado no entorno do núcleo, complexo de Golgi era escasso. Na porção apical das células acinares havia zonas de oclusão unindo células secretoras adjacentes e na membrana lateral foi observado desmosomos.

Jeong e Jeong (2017) pesquisando sobre a ultraestrutura das glândulas salivares parótidas do rato de campo listrado coreano (*Apodemus agrarius*) observaram que as células acinares serosas são preenchidas com numerosos grânulos secretores redondos com limites definidos. Havia muitos grânulos em estágios diferentes de maturação distribuídos pelo citoplasma celular. Além disso, o citoplasma continha RER bem desenvolvido, um proeminente complexo de Golgi e muitas mitocôndrias redondas. Os grânulos secretores maduros tem conteúdos fracamente densos e uniformizados e os grânulos imaturos tem um conteúdo palidamente denso.

Para Tandler e Erlandson (1976) os ductos intercalares das glândulas parótidas do babuíno de oliveira (*Papio anubis*) são pequenos e compostos por epitélio simples cúbico em torno de um lúmen bastante grande cujo conteúdo era bastante eletrondenso. Nos locais de junção entre ácinos e ductos intercalares, as células ductais apresentaram grânulos de secreção semelhantes aos dos ácinos, já as células ductais mais distais contêm grânulos com subestrutura incomum.

Os ductos estriados sucedem os ductos intercalares, esses possuem o lúmen maior, mais microvilosidades e os grânulos tornam-se menores e menos numerosos do que nos ductos intercalares (JACOB e PODDAR, 1987). Em babuínos de oliveira (*Papio anubis*) os ductos estriados são bastante abundantes e estão sempre rodeados por inúmeros vasos sanguíneos orientados longitudinalmente. As paredes do ducto são constituídas principalmente por células epiteliais colunares altas, e algumas pequenas poucas células piramidais situadas adjacentes à lâmina basal (TANDLER e ERLANDSON, 1976).

3.2.3 Glândula mandibular

A glândula mandibular em porcos domésticos é coberta pela glândula parótida. O duto segue o espaço intermandibular sob o músculo milohioideo e abre-se para a cavidade oral no

frênulo lingual ou na carúncula sublingual (ŠTEMBÍREK et al., 2012). Para Santos et al. (2013), as glândulas salivares mandibulares do mão-pelada (*Procyon cancrivorus*), são lobuladas com formato ovalado, e posicionadas entre a fossa atlantis e o osso hióide. Seu ducto se estendia pela face occipitomandibular do músculo digástrico e do músculo estiloglosso e se abria próximo ao frênulo da língua. Estava parcialmente coberta pela parte mais ventral da glândula parótida. Possuíam em média 2,93 cm de comprimento, 1,65 cm de largura e 0,8 cm de espessura.

Krause (2010) inferiu que as glândulas mandibulares do coala (*Phascolarctos cinereus*) estão localizadas profundamente na mandíbula, posicionadas imediatamente na região lateral do músculo digástrico e medial ao músculo esterno-mastóide. Sua composição era singular, com uma cor vermelho escura, forma, em geral, oval, com uma média de cerca de 4,0 cm de comprimento e 2,5 cm na sua maior largura.

A vascularização da glândula mandibular é feita pela artéria e veia linguofacial na maioria das espécies. Em primatas neotropicais o aporte sanguíneo desta glândula é feito através de um ramo da artéria carótida, a artéria facial (HILL, 1970). Hill (1970) relatou que em *Cebus atys* a artéria facial origina-se em tronco comum com as artérias tireóidea inferior, lingual e faríngea ascendente. Quanto à inervação, esta é realizada pelo nervo facial (VIII) por intermédio do nervo cordado tímpano que se une ao ramo lingual do nervo trigêmeo (V). A mandibular é a glândula salivar que produz a maior quantidade de saliva (FAUSTINO e STIPP, 2003), sendo que um processo de atrofia nesta glândula pode causar xerostomia. Na região ventral do corpo da mandíbula de chinchilas (*Chinchilla lanígera*) evidenciou-se a presença da glândula salivar mandibular, cujo formato é ovóide e com tamanho aproximado de 0,8 cm (CASTRO et al., 2010).

Microscopicamente é uma glândula tubuloacínosa composta, sua porção secretora contém tanto células mucosas quanto serosas (WATANABE et al, 1996). Em mão-pelada (*Procyon cancrivorus*) as glândulas salivares mandibulares estão revestidas por uma cápsula de tecido conjuntivo denso não modelado composto por colágeno do tipo I. Esta cápsula adentrava a glândula através de septos, dividindo-a em lóbulos. Nos septos de tecido conjuntivo estão presentes vasos sanguíneos e nervos, além de ductos interlobulares excretores. Dentro dos lóbulos das glândulas salivares mandibulares, são encontrados ductos do tipo estriado e intercalar, além do predomínio de ácinos do tipo mucoso, porém também são encontrados ácinos do tipo misto. O epitélio que reveste os ductos intralobulares estriados é do tipo prismático e os ductos intercalares, do tipo cúbico simples. Já na conexão entre os ductos

intercalares e os ductos interlobulares foi encontrado epitélio do tipo cúbico com camada dupla (SANTOS et al., 2013).

Krause (2010) em exame histológico das glândulas mandibulares de coala (*Phascolarctos cinereus*) revelou que uma cápsula grossa e fibrosa circundava as glândulas. Da cápsula partiam septos de tecido conjuntivo se estendendo até o interior e subdividiu o parênquima da glândula em inúmeros lóbulos. Um estroma delicado do tecido conjuntivo circundou as unidades secretoras e o sistema de ductos, e continha numerosos capilares sanguíneos. Esta glândula era do tipo tubuloacinar composta, sendo as unidades secretoras (ácinos e túbulos) constituídas apenas de células serosas.

As células serosas das glândulas mandibulares do coala (*Phascolarctos cinereus*) são caracterizadas por núcleos ovais posicionados basalmente, um citoplasma levemente corado e numerosos grânulos secretores supranucleares e apicais. Estas células em forma piramidal tem uma forma relativamente uniforme e com uma média de 15 µm de altura e 13 µm de largura na base. As unidades secretoras estão envolvidas por células mioepiteliais. O exame cuidadoso revelou numerosos pequenos ductos, canalículos intercelulares, entre células serosas. Os grânulos secretores não se coraram seguindo o procedimento de coloração com PAS e também não se marcam com Alcian Blue em pH 2,5 (KRAUSE, 2010).

Okada et al. (2014) estudando as glândulas mandibulares do gambá de rabo curto cinza (*Monodelphis domestica*), verificaram que as glândulas mandibulares são compostas de muitos lóbulos separados por finos septos fibrosos. As extremidades secretoras são seromucosa. As células mioepiteliais com formato difuso são frequentemente reconhecidas em torno das extremidades secretoras. Os ductos estriados revelaram estriações e os ductos intercalados também são observados. As células serosas possuem núcleo esférico localizado no centro ou na base das células. O citoplasma das células acinares serosas é basofílico com numerosos grânulos de secreção e parcialmente corado com PAS. As células acinares mucosas contém núcleo achatado ou oval localizado na base das células. O seu citoplasma cora-se com Alcian blue e/ou PAS e Mucicarmim e pouco com hematoxilina. Alguns ductos e microvasos são observados no parênquima glandular.

Lentle et al. (2002) estudando 4 espécies de marsupias do gênero Macropodiae observaram que na histologia das glândulas mandibulares as extremidades secretoras são seromucosas, constituídas por células mucosas PAS-positivas, com núcleos esféricos e localizados basalmente. As células serosas têm um citoplasma corável em azul e um núcleo localizado centralmente, estas células apresentaram-se na forma de semiluas. Ductos

intercalados e estriados são abundantes. Os ductos excretores são observados em grupos conspicuos centralmente localizados nas áreas extralobulares no tecido conjuntivo. As células seromucosas PAS-positivas são menos evidentes nas glândulas mandibulares de wallabies do pântano (*Wallabia bicolor*). Relativamente poucas células mioepiteliais são observadas em comparação ao tecido parotídeo.

Técnicas de coloração como Alcian Blue e PAS marcam mucopolissacarídeos. Segundo Myers, Fredenburgh e Grizzle (2008) mucopolissacarídeos podem ser definidas como uma associação entre proteínas e carboidratos, esta associação é o principal componente do muco. Os monossacarídeos presentes na secreção mucosa variam de composição e isso afeta a classificação das mucinas, podendo ser neutras e conter subtipos ácidos: não-sulfatados (sialomucinas) e sulfatados (sulfomucinas). As mucinas neutras contêm monossacarídeos de manose, galactose e galactosamina. As sialomucinas compõem um grupo que contém diversos monossacarídeos, compostos de nove carbonos, e na posição C1 há um grupo carboxilato, que está sempre ionizado a um pH fisiológico. As mucinas sulfatadas apresentam-se mais ácidas do que as não-sulfatadas.

Kanno et al. (2015) estudando as glândulas salivares do gambá do rabo curto cinza (*Monodelphis domestica*), observaram que as unidades secretoras das glândulas mucosas são compostas por células mucosas e serosas indicando que estas glândulas são seromucosas. Um núcleo irregular foi encontrado na porção distal das células acinares. Um certo número de mitocôndrias e RER existiu em todas as células acinares. São observados grânulos dentro do lúmen celular. Quando observado pelo MET constatou-se que algumas células serosas apresentaram quatro tipos de grânulos secretores: i) O tipo altamente eletrondenso e o tipo de grânulo bifásico, ii) O tipo com o núcleo altamente eletrondenso, iii) núcleo de baixa eletrondensidade e iv) tipo anel anual. Os grânulos secretores das células mucosas são homogêneos e de baixa eletrondensidade. Os ductos intercalados são pequenos e constituídos por células cubóides. As células mioepiteliais são planas e apresentavam abundantes miofilamentos.

Através da técnica de microscopia eletrônica de varredura foi possível observar, que nas glândulas salivares mandibulares do mão-pelada (*Procyon cancrivorus*), os septos de tecido conjuntivo, oriundos da cápsula, dividiam a glândula em lóbulos, ácinos e ductos. Os ductos intralobulares são de menor calibre e ductos interlobulares excretores de maior calibre. Além disso, podem-se observar malhas de fibras colágenas em porções onde estava exposta (SANTOS et al., 2013).

Pícoli et al. (2011) analisando a ultraestrutura da glândula mandibular de camundongos observou que esta tratava-se de uma glândula seromucosa. Os ductos e os ácinos serosos são numerosos e claramente identificáveis, os ácinos mucosos são pequenos. Os ductos poderiam ser vistos após a criofratura e as formações acinares estão cercadas por capilares. Quando observados em uma baixa ampliação no MEV, são observados vários grânulos, em um maior aumento, esses grânulos mostram-se de tamanhos diferentes, variando entre 0,3 - 1,4 μm de diâmetro e são claramente observados revelando a disposição real no citoplasma. Nos espécimes macerados por 48 horas, observou-se que os núcleos não estão presentes, o RER estava na base citoplasmática, numerosos pequenos grânulos de ribossomos estão anexados às lamelas do RER. Os grânulos ribossomais estão anexados na superfície de cisternas, e eles apresentam um diâmetro de 20 - 25 nm. São identificadas nas células acinares algumas mitocôndrias misturadas entre o RER, com aproximadamente 0,3 μm de diâmetro. Essas estruturas estão claramente visíveis em imagens tridimensionais no MEV.

A glândula mandibular de camundongos quando vista no MET revelou grânulos de secreção serosos de variados tamanhos espalhados por todo o citoplasma celular, além disso, são extremamente eletrólucos. Os grânulos de secreção mucosos são observados, com frequência, em contato com o RER. Desossomos são observados na região apical das células acinares. Sob alta ampliação, é observado RER adjacente ao complexo de Golgi. O RER estava na região basal, próximo ao núcleo, já as mitocôndrias estão distribuídas aleatoriamente (PÍCOLI et al., 2011).

Jeong et al. (2012) descreveram a ultraestrutura da mandibular em musaranho aranha coreano (*Sorex caecutiens*). Nessa espécie, a mandibular é mista, apresentando tanto ácinos serosos, quanto mucosos, as células mucosas são piramidais, dispostas uma ao lado da outra formando os ácinos. A atividade sintetizadora das células mucosas é identificada pelos proeminentes e numerosos RER, localizados sempre próximos ao núcleo. As mitocôndrias estão espalhadas entre o RER e os grânulos de secreção.

A ultraestrutura das glândulas salivares mandibulares do rato de campo listrado coreano (*Apodemus agraius*), nessa espécie, as células serosas e mucosas estão preenchidas de grânulos de secreção. Os grânulos serosos são uniformemente finos, eletrondensos, redondos e com limites bem definidos, já os grânulos mucosos contêm densidade moderada. As células acinares serosas apresentam RER bem desenvolvido, um proeminente complexo de Golgi e mitocôndrias redondas distribuídas por todo o citoplasma. As células acinares mucosas também apresentam RER bem desenvolvido e um proeminente complexo de Golgi (JEONG e JEONG, 2017).

3.2.4 Glândula sublingual

A ultraestrutura da glândula sublingual de rato aos 18 dias de vida intrauterina revelou brotos terminais sem lúmen e consistindo de células indiferenciadas. Estas células normalmente possuíam um abundante RER e um proeminente aparelho de Golgi, mas não contém grânulos de secreção. Apesar de alguns brotos terminais não possuírem luz, a extremidade apical apresenta alguns pequenos grânulos de secreção de aparência variável. Alguns grânulos possuem conteúdo eletrondenso, outros eletronucentes, e alguns um conteúdo misto, com um núcleo denso e uma região periférica pálida (WOFF et al., 2002).

Aos 19 dias de vida intrauterina, um número maior de grânulos estão presentes nas células dos brotos terminais. As células que continham grânulos eletronucentes e as células que continham grânulos serosos eletrondensos estão em torno de um lúmen comum. As células com grânulos eletronucentes, normalmente, apresentavam membranas indistintas, e em muitas vezes estão fundidas. O tamanho e eletrondensidade entre os grânulos variaram, embora, individualmente o teor dos grânulos fosse geralmente de densidade uniforme. Foi observado também o aumento no número de grânulos contendo um ponto eletrondenso central (WOFF et al., 2002).

A partir do vigésimo dia intrauterino até o nascimento, a proporção de células serosas localizadas na periferia dos brotos terminais aumentou, resultando na configuração típica dos ácinos mucosos e das semiluas serosas. O tamanho das células mucosas e o número de grânulos aumentou durante o final do período fetal e o início do período pós-natal. As células que continham grânulos mistos apresentaram decréscimo a partir dos 5 dias de idade. Os grânulos mistos tinha uma densidade variável e alguns continham um núcleo denso localizado perifericamente ou centralmente dentro do grânulo. Estas células também frequentemente continham grânulos eletronucentes de aparência típica. A partir dos 9 dias as células contendo grânulos mistos raramente são observadas e a morfologia dos grânulos eletronucentes foi semelhante ao observado nas glândulas adultas (WOFF et al., 2002).

Štembírek et al. (2012) relataram a existência de duas glândulas salivares sublinguais no porco doméstico. A glândula sublingual monostomática forma vários ductos que se unem ao ducto principal, que se abre na cavidade oral na mesma abertura que o ducto mandibular. A glândula sublingual polimática é muito maior e transmite secreções através de pequenas aberturas.

As glândulas salivares sublinguais são constituídas por células secretoras que formam os ácinos mucosos e por células serosas dispostas na forma de semiluas serosas, fenômeno este observado tanto em roedores quanto em seres humanos (YOUNG e VAN LENNEP, 1978). Na glândula adulta, estes dois tipos celulares são facilmente visualizados por causa de suas características distintas. As células mucosas contêm grânulos eletrólucos, que preenchem todo o citoplasma apical e comprimem o núcleo contra a membrana celular, contrastando com isso, as células serosas são esféricas, seu citoplasma continha abundante RER, poucos grânulos eletrondensos, localizados próximos aos canalículos intercelulares e transportam as secreções celulares para o lúmen acinar (YAMASHINA, TAMAKI e KATSUMATA, 1999).

As glândulas sublinguais de quatro espécies de Macropodidae consistiam, quase inteiramente, em células mucosas que coravam-se intensamente por Alcian Blue. As células estão dispostas nas extremidades secretoras, contêm citoplasma "espumoso" e núcleos situados basalmente. Cada terminal de secreção foi rodeado por uma camada fina de células mioepiteliais. Infrequentes grupos de semiluas serosas e poucos ductos intercalares são vistos. (LENTLE et al., 2002) As glândulas sublinguais do tammar wallabie (*Macropus eugenii*) contêm grupos ocasionalmente púrpuras e fracamente PAS-positivas.

3.2.5 Ductos e células mioepiteliais

Os ductos intercalados das glândulas mandibulares são o segmento inicial do sistema ductal intralobular e especialmente proeminentes na glândula mandibular do coala (*Phascolarctos cinereus*). Esses se caracterizaram por células epiteliais pavimentosas simples, diferenciando-se em células epiteliais cubóides baixas antes da união com os ductos estriados. As células epiteliais que revestem a porção intercalada do sistema de ductos intralobular têm uma média de 7 μm de altura, 15 μm de comprimento e 10 μm de largura (KRAUSE, 2010).

Boshell e Wilborn (1978) descreveram que em porcos domésticos as células do ducto intercalado estão próximas às unidades secretoras, contêm epitélio cúbico e depois assumem a forma colunar baixa. As células ductais não contêm grânulos de secreção e as organelas são escassas.

Os ductos estriados de coalas (*Phascolarctos cinereus*) se posicionaram centralmente dentro dos lóbulos e se caracterizaram por estrias basais bem desenvolvidas e um citoplasma

eosinofílico granular. Os núcleos celulares dos ductos estriados usualmente ocupavam o centro ou o ápice do citoplasma. A porção estriada do ducto intralobular estava intimamente relacionada com uma rede densa de capilares circundantes (KRAUSE, 2010). Pícoli et al. (2011) observaram que ao redor das células ductais das glândulas mandibulares de camundongos haviam células mioepiteliais separadas da membrana basal por uma faixa contínua de tecido conjuntivo.

3.3 LECITINAS

Uma das primeiras lecitinas descobertas foi a Concavilin-A e o método de purificação foi estabelecido por Sumner e Howell (1936). Landsteiner elaborou a hipótese que lecitinas vegetais possuíam alta afinidade por carboidratos contidos em eritrócitos, afirmando que as lecitinas eram um tipo de hemaglutininas vegetais com reações análogas aos anticorpos, no entanto, elas não desempenham ações catalíticas nem imunes e dificilmente poderiam ser considerados como anticorpos. As lectinas podem ser definidas como proteínas de ligação específica de carboidratos estruturais e não possuem origem imune. Muitas lectinas contêm dois ou mais locais de ligação ao açúcar e podem aglutinar as células e / ou precipitar conjugados complexos de carboidratos (DAMJANOV e BLACK, 1987).

As células dos vertebrados possuem um envoltório externo a membrana plasmática chamado de glicocálix. Esse revestimento é constituído por carboidratos associados a outras moléculas, formando glicoproteínas, glicolipídios e glicosaminoglicanos, referidos como glicoconjugados. Esses glicoconjugados codificam um grande repertório de reações citológicas (SCHAUER et al., 1988). A descoberta mais importante e valiosa sobre as lecitinas é que elas podem especificamente e reversivelmente reconhecer e ligar os carboidratos. Esta propriedade confere às lectinas um enorme potencial e valor no estudo das glicoproteínas e facilita a compreensão de mecanismos de muitos processos fisiológicos e patológicos. Logo, utilizar as lecitinas para descrever os glicoconjugados de membrana pode facilitar o entendimento de como microrganismos iniciam uma infecção ou quando a célula perde a conformação original e torna-se maligna.



REFERÊNCIAS

- ARAÚJO GUIMARÃES, D. A.; GARCIA, S. C. G.; LE-PENDU, Y.; ALBUQUERQUE, N. I. Determinação do ciclo estral em catetos *Pecari tajacu*: aspectos colpocitológicos e clínicos. **Acta Amazonica**, 41(4):583-588, 2011.
- BALL, W. D.; Development of the rat salivary glands.1/ I. Mesenchymalspecificit in the morphogenesis of the embryonic submaxillary and sublingual glands of the rat. **Journal of Experimental Zoology**, 188:277-88, 1974.
- BALL, W. D.; HAND, A. R.; MOREIRA, J. E.; IVERSEN, J. M.; ROBINOVITCH, M. R.; The B1-immunoreactive proteins of the perinatal rat submandibular gland. Similarity to the major parotid gland protein rPSP. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, 4:517-524, 1993.
- BENIRSHCHKE, K. Quest for the giant peccary: the chaco revisited. **Zoonosis**, 25:364-372, 1974.
- BOGART, B. I.; The effect of aging on the rat submandibular gland: An ultra structural cytochemical and biochemical study. **Journal of Morphology**, 130: 337 – 352, 1970.
- BOSHELL, J. L.; WILBORN, W. H. Histology and ultrastructure of the pig parotid gland. **The American Journal Anatomy**, 152: 447-466, 1978.
- CABRERA, A.; YEPES, J. **Historia natural ediar: mamiferos sud-americanos**. Buenos Aires: Cia. Argentina de Editores, p.370, 1940.
- CARVALHO, A. A. M.; ALMEIDA, M.M.; CAVALCANTE-FILHO, M. F.; MIGLINO, M. A.; MENEZES, D. J. A.; Estudo morfológico e morfométrico do ovário de cutias (*Dasyprocta aguti*, Linnaeus, 1766). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 40:55-62, 2003.
- CASTRO, T. F.; DUMMER, R. J.; RICKES, E. M.; PEREIRA, M. A. M.; Aspectos morfológicos, morfométricos e topográficos do aparelho digestório de *Chinchilla lanígera*. **Brazilian Journal Veterinary Research and Animal Science**, 47(1):86-94, 2010.
- CAVALCANTE FILHO, M. F.; MIGLINO, M. A.; MACHADO, G. V.; BEVILACQUA, E.; NEVES, W. C. Estudo comparativo sobre o suprimento arterial do estômago do queixada (*Tayassu pecari*) e do cateto (*Tayassu tajacu*) [Linnaeus, 1789]. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 35(1):20-24, 1998.
- COSTA, D. S.; HENRY, M. R. G. M.; PAULA, T. A. R. Espermatogênese de catetos (*Tayassu tajacu*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 56(1):46-51, 2004.
- CUTLER, L. S., GREMSKI, W.; Epithelial-mesenchymal interactions in the development of salivary glands. **Critical Reviews in Oral Biology and Medicine**, 2:1-12, 1991.

DAMJANOV, I.; BLACK, P. Lectin binding sites on the luminal surface of ependymal cells of the rat spinal cord. **Neurosurgery**, 20(5):722-725, 1987.

ELLISON, J. E.; HARWELL, F. Mobility and home range of collared peccary in southern texas. **The Journal of Wildlife Management**, 33:425-427, 1969.

FAUSTINO, S. E. S.; STIPP, A. C. M. Efeitos do alcoolismo crônico e da desintoxicação alcoólica sobre a glândula submandibular de ratos. Estudo morfométrico. **Journal of Applied Oral Science**, 11(1):21- 26, 2003.

FILHO, M. F. C. **Morfologia dos estômagos do queixada (*Tayassu pecari*) e do cateto (*Tayassu tajacu*) (Linnaeus, 1789)**. 1996. 233 p. Dissertação (Mestrado em Anatomia dos animais domésticos e silvestres) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1996.

GIANNONI, M. A. **Evolução cariotípica na família suidae**. 1979. 226 p. Tese (Livre-Docência) - Jaboticabal: Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", 1979.

GIRARD, L.; CASTLE, A. M.; HAND, A. R.; CASTLE, J. D.; MIRELS, L.; Characterization of common salivary protein 1, a product of rat submandibular, sublingual and parotid glands. **The Journal of Biological Chemistry**, 268:26592-26601, 1993.

GONGORA, J.; REYNA-HURTADO, R.; BECK, H.; TABER, A.; ALTRICHTER, M. KEUROGHLIAN, A. *Pecari tajacu*. **The IUCN Red List of Threatened Species**, <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T41777A10562361.en>, 2011.

HAND, A. R.; PATHMANATHAN, D.; FIELD, R. B. Morphological features of the minor salivary gland. **Archives Oral Biology**, 44(1):3-10, 1999.

HILL, W. C. O. **Primates, comparative anatomy and taxonomy VII: *Cerco cebus*, *Macaca*, *Cynopithecus*. *Cynopithecina***. Edimburgh: University Press, 1970.

IAIZZO, P. A. **Introduction to neurophysiology**. In: He B, editor. Neural engineering. New York: Springer Link; 2013.

JACOBY, F.; LEESON, C. R. The postnatal development of the rat submaxillary gland. **Journal of Anatomy**, 93:201-216, 1959.

JEONG, S. J.; BAE, C. S.; LEE, H. Y.; CHOI, B. D.; YOON, M. H.; JEONG, M. J. Comparative ultrastructure of secretory granules of the submandibular gland in the Korean Spider Shrew, *Sorex caecutiens*, the Lesser White-toothed Shrew, *Crocidura suaveolens* and the Big White-toothed Shrew, *Crocidura lasiura*. **Applied Microscopy**; 42(4):186-193, 2012.

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**, 47(1):8-12, 2017.

KANNO, T.; SUZUKI, K.; KONO, T.; TAMAMURA, R.; KUWADA-KUSUNOSE, T.; SAKAE, T.; OKADA, H. Ultrastructure of the Salivary Glands in the Gray Short-Tailed

Opossum (*Monodelphis domestica*). **Internacional Journal of Oral-Medical Sciences**, 14(2):61-66, 2015.

KIM, S. K.; Age related changes in the cellular level of amylase and protein synthesis in rat parotid gland. **Journal of Dental Research**, 60(3): 738 – 747, 1981.

KIM, S. K.; ARISUMI, P. P.; The synthesis of amylase in parotid gland of young and old rats. **Mechanisms of Ageing and Development**, 31(3): 257 – 266, 1985.

KNOX, S. M.; HOFFMAN, M. P. **Salivary gland development and regeneration**. In: WONG, D. T, editor. Saliva diagnostics. AMES, I. A: Black-Well Publications, p. 3–13, 2008.

KRAUSE, W. J. Microscopy of the Koala mandibular (submandibular) glands. **Anatomia Histologia Embryologia**, 39:503–508, 2010.

LANDSTEINER, K. **The specificity of serological reactions**. New York: Dover Publications; 330 p. 1962.

LAWSON, K. A.; Morphogenesis and functional differentiation of the rat parotid gland *in vivo* and *in vitro*. **Journal of Embryology & Experimental Morphology**, 24:411-424, 1970.

LEE, M. G.; OHANA, E.; PARK, H.W.; YANG, D.; MUALLEM, S. Molecular mechanism of pancreatic and salivary gland fluid and HCO₃ secretion. **Physiological Reviews - American Journal of Physiology**, 92:39–74, 2012.

LENTLE, R. G.; HUME, I. D.; KENNEDY, M. S.; STAFFORD, K. J.; POTTER, M. A.; SPRINGETT, B. P.; HASLETT, S. The histology and morphometrics of the major salivary glands of four species of wallabies (Marsupialia: Macropodidae) from Kawau Island, New Zealand. **Journal Zoology London**, 257, 403-410, 2002.

MANSOURI, S. H.; ATRI, A. Ultrastructure of parotid and mandibular glands of camel (*Camelus dromedarius*). **Journal of Applied Animal Research**, 62:131-141, 1994.

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

MELVIN, J. E.; YULE, D.; SHUTTLEWORTH, T.; BEGENISICH, T. Regulation of fluid and electrolyte secretion in salivary gland acinar cells. **Annual Review of Physiology**, 67:445–469, 2005.

MOREIRA, J. E.; HAND, A. R.; BALL, W. D.; Localization of neonatal secretory proteins in different cell types of the rat submandibular gland from embryogenesis to adulthood. **Developmental Biology**, 139:370–382, 1990.

MOREIRA, J. E.; BALL, W. D.; MIRELS, L.; HAND, A. R.; Accumulation and localization of two adult acinar cell secretory proteins during development of the rat submandibular gland. **The American Journal of Anatomy**, 191:167–184, 1991.

MOURA, C. E. B.; ALBUQUERQUE, J. F. G.; MAGALHÃES, M. S.; SILVA, N. B.;

OLIVEIRA, M. F.; PAPA, P. C. Análise comparativa da origem do plexo branquial de catetos (*Tayassu tajacu*). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 27(9):357-362, 2014.

MYERS, B. M.; FREDENBURGH, J. L.; GRIZZLE, W. E. **Theory and practice of histological techniques**. In: BANCROFT, J. D.; GAMBLE, M. (Eds), Carbohydrates. 6 ed. Elsevier, Philadelphia, Cap.11, p.161-187, 2008.

NAGLER, R. M; The enigmatic mechanism of irradiation-induced damage to the major salivary glands. **Oral Diseases**, 8:141-146, 2002.

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. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, 25:474-480, 1996.

NOWAK, R. M. **Walker's mammals of the world**. 5.ed. London: Johns Hopkin Univ. Press, 1991.

OKADA, H.; KANNO, T.; TAMAMURA, R.; NAKADA, H.; SASAKI, Y.; KANEDA, T.; ENDOH, M.; WAKAMATSU, Y.; SUZUKI, K. Histological features of the submandibular glands in the gray short-tailed opossum (*Monodelphis domestica*). **Journal of Hard Tissue Biology**, 23(3):357-362, 2014.

OLMOS, F. Diet of sympatric Brazilian caatinga peccaries (*Tayassu tajacu* and *T. pecari*). **Journal of Tropical Ecology**, 9(2):255-258, 1993.

PINKSTAFF, C. A. Carbohydrate histochemistry of the opossum submandibular and major sublingual glands. **The American Journal Anatomy**, 143:501-512, 1975.

PÍCOLI, L. C.; DIAS, F. J.; ISSA, J. P. M.; OGAWA, K.; CIENA, A.; IYOMASA, M. M.; LOPES, R. A.; WATANABE, I.; Ultrastructure of submandibular salivary glands of mouse: TEM and HRSEM observations. **Microscopy Research and Technique**, 74:1154-1160, 2011.

REDMAN, R. S.; SREEBNY, L. M. Morphologic and biochemical observation on the development of the rat parotid gland. **Developmental Biology**, 25:248-79, 1971.

RIBEIRO, D. A.; ASSIS, G. F.; FILHO, D. S.; TAGA, R.; Postnatal development of zygomatic glands from guinea pig: a morphological and morphometric analyses. **Journal of Cell and Animal Biology**, 1:58-61, 2007.

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. F. Análise microscópica e ultraestrutural das glândulas salivares mandibulares de *Procyon cancrivorus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33:39-44, 2013.

SASHIMA, M.; Age related changes of rat submandibular gland a morphometric and ultrastructural study. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, 13(10): 507 – 512, 1986.

SCHAUER, R.; FISCHER, C.; LEE, H.; RUTH, B.; KELM, S. **Sialic acids as regulators of molecular and cellular interactions**. In Lectins and Glycoconjugates in Oncology. Eds., GABIUS, H. J. e NAGEL, G. A. New York: Springer-Verlag, pp. 5-24, 1988.

SCHWARM, A.; ORTMANN, S.; WOLF, C.; STREICH, W. J.; CLAUSS, M. Passage marker excretion in red kangaroo (*Macropus rufus*), collared peccary (*Pecari tajacu*) and colobine monkeys (*Colobus angolensis*, *C. polykomos*, *Trachypithecus johnii*). **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, 311:647-661, 2009.

SHACKLEFORD, J. M., KLAPPER, C. E. Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands. **The American Journal Anatomy**, 111:25-48, 1962.

SHACKLEFORD, J. M., WILBORN, W. H. Ultrastructure of Bovine Parotid Glands. **Journal of Morphology**, 127:453-474, 1968.

SIVAKUMAR, S.; MIRELS, L.; MIRANDA, A. J.; HAND, A. R. Secretory protein expression patterns during rat parotid gland development. **The Anatomical Record**, 252:485-497, 1998.

SOUZA, H. C. Helminhos intestinais de tayassuidae e suidae (mammalia: artiodactyla) no Pantanal: um estudo sobre a circulação de espécies na Reserva Particular do Patrimônio Nacional SESC Pantanal e seu entorno, Barão de Melgaço, Mato Grosso, Brasil, 109 f. **Tese**. 2014.

SOWLS, L. K. **The peccaries**. Tucson: University of Arizona Press, 1984.

SOWLS, L. K. **Javelinas and other peccaries: their biology, management, and use**. 2nd ed. College Station: Texas A&M University Press; 325 p., 1997.

ŠTEMBÍREK, J.; KYLLAR, M.; PUTNOVÁ, I.; STEHLÍK, L.; BUCHTOVÁ, M. The pig as an experimental model for clinical craniofacial research. **Laboratory Animals**, 46: 269-279, 2012.

SUMNER, J. B.; HOWELL, S. F. Identification of hemagglutinin of jack bean with concanavalin A. **Journal of Bacteriology**, 32(2):227-237, 1936.

TAKAGI, K.; YAMAGUCHI, K.; SAKURAI, T.; ASARI, T.; HASHIMOTO, K.; TERAKAWA, S.; Secretion of saliva in X irradiated rat submandibular glands. **Journal of Radiation Research**, 159: 351-360, 2003.

TANDLER, B.; ERLANDSON, R. A. Ultrastructure of baboon parotid gland. **The Anatomical Record**, 184(1):115-31, 1976.

TOSCHI, A. **Tayassu tajacu**. In: Enciclopedia Monográfica de Ciencias Naturales, 1ª ed. Madrid-España: Editorial Aguilar. 5:370-371, 1974.

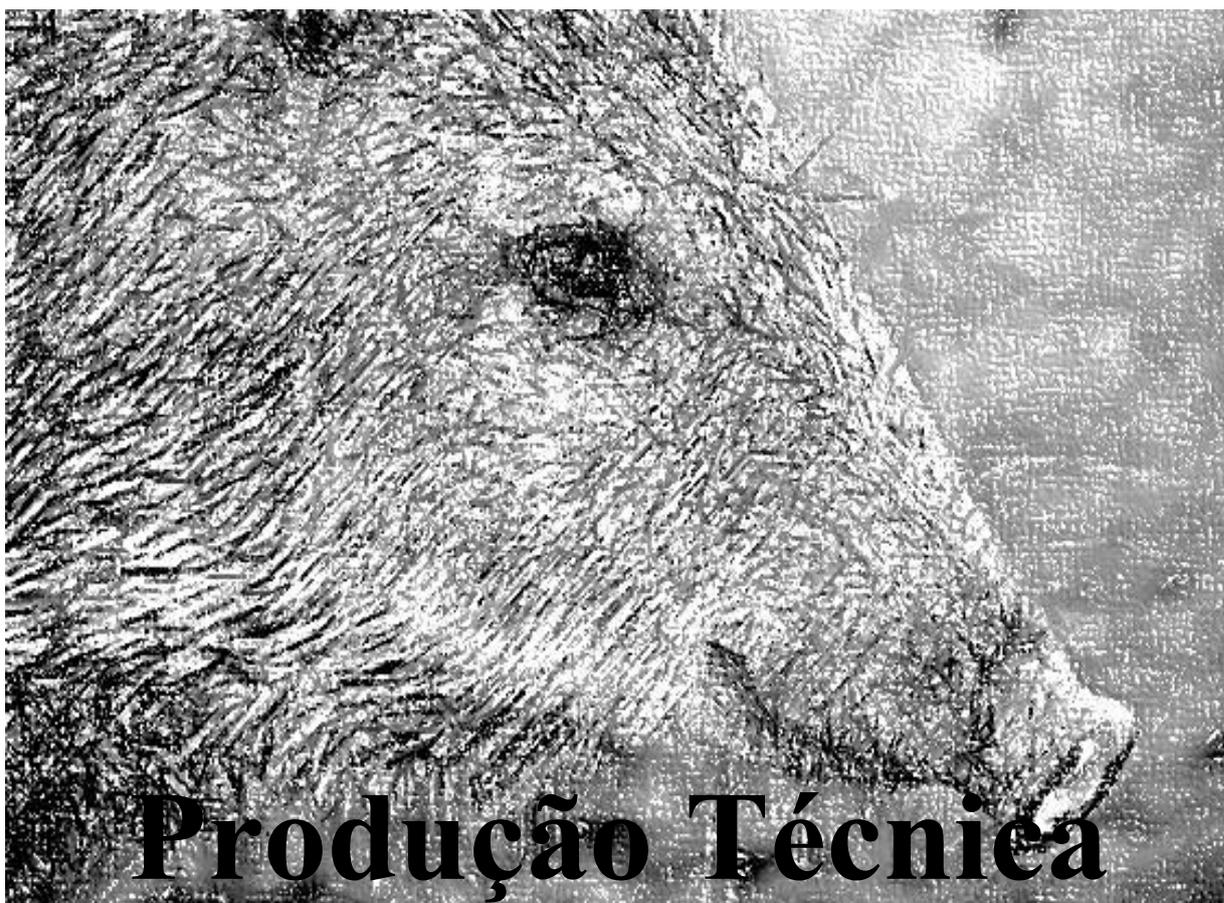
WATANABE, I.; SEGUCHI, H.; OKADA, T.; KOBAYASHI, T.; JIN, Q.S.; JIANG, X. D. Fine structure of the acinar and duct cell components in the parotid and submandibular salivary glands of the rat: a TEM, SEM, and HRSEM study. **Histology and Histopathology**, 11:103-110, 1996.

WILSON, D. E.; REEDER, D. M. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. 3rd ed. Johns Hopkins University Press; 2 p. Baltimore, 2005.

WOFF, 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**, 266:30–42, 2002.

YAMASHINA, S.; TAMAKI, H.; KATSUMATA, O. The serous demilune of rat sublingual gland is an artificial structure produced by conventional fixation. **Archives of Histology and Cytology**, 62:347-354, 1999.

YOUNG, J. A.; VAN LENNEP, E. W.; **The morphology of salivary glands**. London, Academic Press. p.129-130, 1978.



4 CAPÍTULO 1 - MORFOLOGIA DA GLÂNDULA PARÓTIDA EM CATETOS (*Pecari Tajacu* LINNAEUS, 1758)

4.1 RESUMO

A homeostasia da cavidade oral é mantida graças a síntese e secreção da saliva pelas glândulas salivares. A saliva é um líquido aquoso rico em íons, enzimas e imunoglobulinas. Esse trabalho objetiva estudar as glândulas parótidas de cateto no decorrer do crescimento do animal, de modo a poder fornecer informações que possam ser de interesse para a clínica, cirurgia e patologia, entre outras. As glândulas foram analisadas por meio de descrição macroscópica e também por microscopia de luz e eletrônica. A microscopia de luz seguiu metodologia para caracterização histoquímica dos grânulos de secreção e também de técnicas de imunohistoquímica para caracterização dos carboidratos de membrana. Seguindo a metodologia constatou-se que a parótida está localizada sob o músculo parotidoauricular, tem formato piramidal e é a maior glândula salivar. O peso, comprimento, largura e espessura dessa glândula aumentou ao longo do crescimento do animal. Microscopicamente são glândulas serosas, no entanto, em animais jovens constatou-se a síntese mucinas neutras e ácidas, além disso, demonstraram positividade para algumas lecitinas. A ultraestrutura glandular revelou que os ácinos são globosos, dispostos em forma de cacho de uvas, aderidos uns aos outros por meio de uma malha de fibras colágenas. Os ductos estão em íntima relação com os ácinos. A ultraestrutura demonstrou que as glândulas são revestidas por uma cápsula de tecido conjuntivo e dessa cápsula partem septos que dividem a glândula em lóbulos. As células acinares serosos são piramidais e apresentam inúmeros grânulos de secreção de forte eletrondensidade.

Palavras-chaves: Lecitinas, varredura, animais silvestres, ultraestrutura.

4.2 INTRODUÇÃO

As glândulas salivares são responsáveis pela síntese e secreção da saliva diretamente na cavidade oral. São divididas pelo tamanho, em maiores e menores. As principais glândulas salivares maiores encontradas nos animais são a parótida, a mandibular, a sublingual, além dessas, é relatada a presença da zigomática em carnívoros e, mais recentemente, essa também foi relatada em cutias da espécie *Dasyprocta leporina* (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2016) e ainda as molares, verificadas geralmente em felinos (MOHAMMADPOUR, 2010). Essas glândulas também podem ser definidas de acordo com o tipo de secreção liberada por seus ácinos em serosas, mucosas ou seromucosas. A glândula parótida, na maioria das espécies domésticas, é serosa, enquanto que as demais glândulas são seromucosas ou somente mucosas, dependendo da espécie.

A saliva é um líquido aquoso, contendo minerais, enzimas e imunoglobulinas, esse líquido é responsável por facilitar a deglutição, mastigação, vocalização e regulação do pH oral. A saliva recém-produzida pelos ácinos recebe a denominação de saliva primária, ao passar pelos ductos salivares, ela sofre modificações iônicas e na quantidade de água antes de sua secreção na cavidade oral (PEDERSEN et al., 2002). As unidades secretoras, junto com seus ductos, constituem o parênquima da glândula enquanto que o estroma da glândula é formado pelos elementos do tecido conjuntivo que invadem e sustentam o parênquima (CUTLER e GRENSKI, 1991).

A origem embrionária das glândulas salivares são os epitélios de revestimento cujas células proliferam e invadem o tecido conjuntivo subjacente, sofrendo diferenciação e desenvolvendo uma lâmina basal própria a partir do tecido conjuntivo circundante. Esse processo dá-se durante a vida fetal (CUTLER e GRENSKI, 1991). As glândulas salivares, a exemplo de outros órgãos, precisam de uma interação célula-célula para desenvolverem uma estreita relação entre epitélio e mesênquima. Essas interações ocorrem por meio de mediadores como hormônios, fatores de crescimento e citocininas (ICHIKAWA e ICHIKAWA, 1977), por esses motivos as glândulas salivares, principalmente a mandibular, podem ser consideradas ótimos modelos para estudar o crescimento e diferenciação de células epiteliais (DENNY et al., 1997)

Yamamoto et al. (2016) observaram que em camundongos, logo após o nascimento, os ácinos ainda estão passando por alterações morfológicas iniciadas no período embrionário, os

ácinos rudimentares, ainda em processo de transformação, recebem a denominação de túbulo terminal, além disso, todo o sistema de ductos continua indiferenciado. Os túbulos terminais são compostos por células do ducto intercalar granular e também de células pró-acinares. As células do ducto intercalar granular irão se diferenciar em ductos e ácinos, enquanto que as células pró-acinares darão origem aos ácinos maduros, essas diferenciações ocorrem por meio de interações celulares.

Essas modificações morfológicas nas glândulas no pós-nascimento ocorrem não só nos ácinos, os ductos também sofrem diferenciações. Para Yamamoto et al. (2016) as células do ducto intercalar granular darão origem a rede de ductos que irão escoar a produção de saliva da glândula adulta. Em camundongos essas células são a gênese dos ductos intercalar, estriado e excretor, além disso, os ductos durante a fase embrionária não possuem grandes lúmens, esses se formam na fase final da gestação e aumentam nos dias seguintes ao nascimento (TUCKER, 2007; PATEL, REBUSTINI e HOFFMAN, 2006).

Levando-se em consideração a importância das glândulas salivares para digestão, e que os trabalhos abordando a morfologia de tayassuídeos não envolvem informações acerca da morfologia das glândulas parótidas, este trabalho visa preencher a lacuna de informações sobre glândulas parótidas de catetos, de maneira a produzir conhecimentos clínico, cirúrgico e zootécnico de modo facilitar o manejo e a preservação desta espécie.

4.3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho utilizou oito catetos de idades diferentes, de ambos os sexos, obtidos do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres – CEMAS/UFERSA, criadouro científico, registrado junto ao IBAMA com o número 1478912. Ocupa uma área de 20 ha, está aproximadamente 16 metros acima do nível do mar e suas medidas de georreferenciamento estão entre as coordenadas geográficas 5° 11' S e 37° 20' W Gr. Os animais eram mantidos em piquetes, alimentados com ração e frutas, e a água era *ad libitum*.

4.3.1 Protocolo de eutanásia

A metodologia utilizada no projeto foi aprovada pelo SISBIO (Parecer nº 47439-2) e também pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA (Parecer nº 23091.007472/2016-24). Todos os procedimentos foram realizados nas dependências da UFERSA, no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada do Departamento de Ciências Animais.

Os animais foram primeiramente submetidos a pré-anestesia com a utilização de xilazina¹ e cetamina² aplicadas no músculo semimembranoso. A indução anestésica era feita pela via intravenosa (veia cefálica) com administração de tiopental³. Em seguida, uma solução de cloreto de potássio⁴ era infundida, pelo mesmo acesso venoso.

¹ Xilazina a 10%, na dose de 1mg/kg.

² Cetamina 5%, na dose de 10mg/kg.

³ Tiopental 1g na dose de 25mg/kg.

⁴ Cloreto de potássio a 19,1% na dose de 1mL/kg.

4.3.2 Procedimento de macroscopia e coleta de material

Os animais após a eutanásia eram dissecados. Previamente era realizada uma incisão ventral, sentido craniocaudal, até a porção cervical do músculo esterno-hióideo. Novas incisões eram feitas no contorno dos olhos e das orelhas para, só então, ser feito o rebatimento do tecido cutâneo, tela subcutânea e do músculo parotidoauricular, para que dessa forma as glândulas salivares maiores pudessem ser exteriorizadas, analisadas, fotografadas e avaliadas quanto à topografia, textura, coloração, forma e cor. Para documentação macroscópica foi utilizada uma câmera fotográfica (Nikon D7200).

4.3.3 Medição morfométrica e de volume glandular

As glândulas foram pesadas utilizando uma balança de precisão (AL200C, Marte, Brasil, 200g – 0,001g), seguindo a metodologia de Scherle (1970). Pesava-se um frasco contendo solução fisiológica e em seguida mergulhava-se a glândula e obtinha-se nova pesagem. A diferença entre as pesagens correspondia ao peso glandular, que é igual ao seu volume em milímetros cúbicos. Por convenção 1g equivale a 1000 mm³. Para a avaliação de comprimento, largura e espessura as glândulas foram medidas por meio de um paquímetro digital (Digimatic Caliper, Mitutoyo, 150 mm - 6 Pol). O comprimento era medido tomando por base a maior extensão da glândula e a largura por sua menor extensão. Como a glândula parótida possuía uma superfície irregular, na medição da largura e espessura, três locais eram medidos e fazia-se uma média aritmética dos três locais para inferir a medição da glândula.

4.3.4 Procedimento para microscopia de luz

Para diminuir os vieses e possíveis interferências, os espécimes passaram por um processo de isotropização, ou seja, passaram por um processo para que todas as regiões da amostra tivessem a mesma oportunidade de serem vistas ao microscópio. As secções foram

feitas de forma aleatória. Fragmentos de tecido com cerca de 0,5 cm, eram retirados e acondicionados em frascos contendo solução dos fixadores Bouin ou paraformaldeído a 4% tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4° C.

Após fixação, o material era lavado em água corrente para retirada do excesso de fixador e submetido à metodologia adaptada de Tolosa et al. (2003) para obtenção das lâminas. As lâminas eram submetidas à coloração por Hematoxilina-Eosina (HE); Ácido Periódico de Schiff (PAS) para detecção de mucinas neutras e sialomucinas lábeis, Alcian Blue (pH 2,5) para detecção de sialomucinas e sulfomucinas; PAS associado com Alcian Blue (pH 2,5) para detecção de ácinos sintetizadores de determinadas mucinas e Tricrômico de Gomori para marcação de fibras colágenas. Para a metodologia de PAS e Alcian Blue (pH 2,5) foi utilizado um grupo controle sabidamente positivo para estas colorações.

Finalizada a coloração, era realizada a montagem das lâminas. A análise das mesmas era realizada em microscópio de luz (LEICA ICC50W) em objetivas com aumento variando entre 10X a 100X (objetiva de imersão). As lâminas mais representativas eram fotomicrografadas em um aparelho da marca Leica, modelo ICC50W.

4.3.5 Procedimento para imunohistoquímica

Para esta etapa, foi seguido o protocolo adaptado de Çinar, Öztop e Özkarasu (2016). Cortes de 5 µm de espécimes com quatro e sete meses, foram aderidos em lâminas silanizadas, desparafinizados em xilol (dois banhos de 5 minutos), reidratados em concentrações decrescentes de etanol (100%, 95% e 70%) por 5 minutos, imersos em peróxido de hidrogênio a 3% por 30 minutos, lavados em 3 imersões de 5 minutos em água destilada e depois 3 imersões de 5 minutos em PBS 01 mM em cada lavagem.

A exposição antigênica dos tecidos foi realizada em tampão citrato (10 mM, pH 6,0), acondicionamento em aparelho de micro-ondas (60°C por 15 minutos), seguida por três lavagens em PBS. Na etapa seguinte foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena e das reações inespecíficas utilizando o Kit DAKO em câmara úmida por 30 minutos, seguido de 3 lavagens de 5 minutos em PBS e prosseguindo-se com a incubação dos espécimes com as lecitinas em câmara úmida. Foram utilizadas quatro lecitinas *Canavalia ensiformis* – Con-A (Referência: C2272, Sigma-Aldrich®), *Bandeiraea simplicifolia* – BSA-I-B4 (Referência:

L2140, Sigma- Aldrich[®]), *Triticum vulgare* – WGA (Referência: L5142, Sigma- Aldrich[®]), *Arachis hypogaea* – PNA (Referência: L6135, Sigma- Aldrich[®]). O controle negativo foi feito utilizando PBS em câmara úmida ao invés das lecitinas.

Tabela 1 - Lecitinas e concentrações utilizadas para imunohistoquímica das glândulas salivares maiores de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

Lecitina	Abreviatura	Ligação de carboidratos especificidade ^{a, b}	Concentração (mg/mL) ^c
<i>Canavalia ensiformis</i>	Con-A	α Man> α Glc> α GlcNAc	0,29 mg/mL
<i>Bandeiraea simplicifolia</i>	BSA-I-B ₄	α Gal> α GalNAc	0,5 mg/mL
<i>Triticum vulgare</i>	WGA	GlcNAc(β 1,4GlcNAc) ₁₋₂ > β GlcNAc >Neu5Ac	0,1 mg/mL
<i>Arachis hypogaea</i>	PNA	Gal β 1,3GalNAc> α and β Gal	0,1 mg/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; GalNAc, N-acetilgalactosamina; Neu5Ac, Ácido 5-acetilneuraminico; Neu5Ac, ácido 5-acetilneuraminico; NeuNAc, Ácido N-acetilneuraminico.

c – Tabela modificada de acordo com Çinar, Öztop e Özkarasu (2016).

Após uma incubação de aproximadamente 8 horas, procedeu-se a retirada das lecitinas em 3 lavagens de 5 minutos com PBS, seguido de sua incubação 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 (Scytek DAB Substrate Cromogen - Bioscience[®]) diluído em substrato específico (Scytek DAB Substrate - Bioscience[®]). As lâminas foram montadas com uso de Permout[®] (Fisher Scientific), analisadas e fotografadas (LEICA ICC50W).

4.3.6 Procedimento de material para microscopia eletrônica de transmissão

Porções distintas das glândulas salivares eram coletadas com dimensão de cerca de 0,5 mm² e 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. Após fixação, eram feitas lavagens das amostras

em solução tampão fosfato de sódio e em seguida pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% e em sequência contrastadas com acetato de uranila a 3%. Posteriormente, o material era desidratado em concentrações crescentes de álcool etílico, lavados com óxido de propileno, óxido de propileno-resina e resina Spurr. A polimerização da resina era completada quando o material era levado à estufa a 60°C por 72 horas. Após isso, os blocos eram cortados com o auxílio de um ultramicrotomo (Ultracut R, Leica Microsystems, Germany) e em seguida, 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) e as regiões mais representativas eram eletromicrografadas. As análises através da microscopia eletrônica foram realizadas no Laboratório de Histologia do setor de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo.

4.3.7 Procedimento de material para microscopia eletrônica de varredura

Após a coleta, os espécimes selecionados para a análise eram fragmentados ou criofraturados com nitrogênio líquido e obtinha-se fragmentos com cerca de 0,5 a 1 cm, em seguida, o material era fixado em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4°C. Completada a fixação os fragmentos eram lavados 3 vezes, de 5 minutos cada, em água destilada e em seguida eram pós-fixados com tetróxido de ósmio a 0,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4, por 40 minutos. Concluída a pós-fixação lavava-se o material, 3 vezes de 10 minutos cada, em água destilada. Em seguida procedia-se a desidratação do material imergindo-os em concentrações diferentes e ascendentes de álcool, (7,5% por 10 minutos, 15% por 10 minutos, 30% por 10 minutos, 50% por 10 minutos, 70% por 15 minutos, 90% por 15 minutos e 100% por 10 minutos) em cada concentração as amostras eram imersas 2 vezes.

Completada a desidratação o material era seco em aparelho de ponto crítico (Quorum K 850) utilizando gás carbônico (CO₂), afixado em suporte do ponto de amostra (Stub) e metalizado com ouro por “sputtering” (Quorum Q 150R ES), para observação e obtenção de imagens em microscópio eletrônico de varredura (TESCAN VEGA 3 LMU), pertencente ao Laboratório de Microscopia Eletrônica do Centro de Pesquisas Vegetais do Semi-Árido

(CPVSA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

4.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com uma dissecação superficial e a retirada do músculo parotidoauricular foi possível observar a glândula parótida. Essa é a maior glândula salivar, recobre totalmente a glândula mandibular, sua forma é triangular, possui macrolobação, cor vermelho pálido, está bem aderida ao tecido conjuntivo adjacente e está em uma depressão próxima à orelha (Fig. 03), semelhante ao observado no queixada (*Tayassu pecari*) (SCHWARM et al., 2009), porco doméstico e em seres humanos (ŠTEMBÍREK et al., 2012). O ramo bucal do nervo facial passava ventralmente à glândula parótida. Sua vascularização era feita por ramos da artéria e da veia maxilar. A parótida dos catetos se assemelhava em alguns aspectos à parótida do porco doméstico (BOSHELL e WILBORN, 1978).

A parótida é uma glândula par, seus pares estão localizados sobre o ramo maxilar inferior, abaixo e a frente da orelha externa. Encontram-se envoltos por uma cápsula fibroadiposa numa depressão cujo limite anterior é o músculo masseter, seu limite superior é o arco zigomático e seu limite inferior é a borda anterior do músculo esternocleidomastoideo. O parênquima está organizado em lóbulos separados por tecido conjuntivo denso, linfa, nódulos e gordura, essa descrição macroscópica é semelhante à parótida do porco doméstico (BOSHELL e WILBORN, 1978).

O ducto parotídeo dos catetos surgia na porção profunda da glândula e em seu percurso passava medialmente ao ângulo da mandíbula, rostralmente contornando o músculo masseter e imergindo em sua margem rostral. Junto ao ducto parotídeo era possível verificar a presença da veia facial. O ducto parotídeo se abria na maxila, entre os dentes molares.

O peso e o tamanho da glândula aumentaram com o passar da idade dos animais. Observa-se o aumento da largura, espessura e comprimento da glândula parótida com o avançar da idade do animal (Tab. 2).

Tabela 2 -Medidas morfométricas e peso das glândulas parótidas do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

Meses	Parótida							
	Antímero direito				Antímero esquerdo			
	C	L	E	P	C	L	E	P
4F	45,95	9,70	2,84	3,2396	45,01	10,30	2,77	2,8311
4F	46,11	16,37	2,19	3,6318	45,16	16,54	2,67	3,6437
5F	41,43	18,67	3,08	5,7121	42,97	13,70	3,48	5,0375
5M	43,03	16,97	5,75	5,7953	43,65	15,86	3,85	5,1178
6F	46,24	18,95	7,80	5,6066	47,93	16,70	6,24	5,4242
6M	53,22	14,79	6,32	5,1561	48,70	21,07	6,53	5,2172
7F	55,82	15,76	6,47	6,1577	48,70	21,07	6,53	5,8981
7M	56,95	12,52	9,53	6,1032	58,01	10,30	9,77	6,2119

C: comprimento (mm); L: largura (mm); E: espessura (mm) e P: peso (gramas). Fêmea (F) e macho (M).

A glândula parótida apresenta uma cápsula de tecido conjuntivo denso não-modelado e dele partem septos que delimitam a glândula em lobos e lóbulos (Fig. 04). Esta é a glândula que mais apresenta tecido conjuntivo, possuía um bom arcabouço sanguíneo e ductal. É uma glândula estritamente serosa, constituída por células, em sua maioria, piramidais, com ápice orientado ao lúmen acinar, enquanto sua base estava voltada ao estroma conjuntivo. Numerosos grânulos de secreção dispunham-se no ápice das células acinares, originam-se em processos de síntese celular e são secretados nos ductos intercalares. Esses grânulos de secreção eram acidófilos, demonstrado pela alta afinidade pela eosina (Fig. 04). O citoplasma celular era mais comprimido se comparado aos das células mucosas. Seus núcleos são muito basofílicos, corando-se fortemente pela hematoxilina, são esféricos, localizam-se na região basal da célula e diferiam dos núcleos das células ductais pela forte afinidade a hematoxilina.

Ao longo do desenvolvimento glandular, ela continuava serosa, contendo sempre ácinos serosos rodeados por ductos e delimitados por tecido conjuntivo denso não-modelado (Fig. 04). Seu estroma era mais complexo que nas demais glândulas salivares. A descrição glandular nos catetos assemelhou-se a descrição em porcos domésticos feita por Boshell e Wilborn (1978), pois nestes animais os componentes parenquimatosos, também são compostos por ácinos, ductos intercalares, ductos estriados e ductos excretorios, dispostos nessa ordem para conduzir a saliva para a cavidade oral. Os ácinos são alongados e ramificados, com lúmens pequenos e tortuosos. As células variavam de forma piramidal a retangular, com seu ápice coincidindo com

lúmen acinar. Grânulos secretores pálidos preenchem quase todo o citoplasma e davam à célula acinar uma aparência vacuolada. Os núcleos, localizados na região basal, são redondos e frequentemente comprimidos por grânulos secretórios. Os agrupamentos de cromatina são distribuídos uniformemente e um único nucléolo era geralmente visível dentro de cada núcleo.

A descrição obtida para a glândula parótida em catetos também se assemelhou ao descrito por Lentle et al. (2002) estudando 4 espécies de marsupiais do gênero *Macropodidae* no que diz respeito a não observação de células mucosas e a presença de citoplasma vacuolado, indicando a presença de material solúvel em água ou em álcool e os grânulos secretores dispersos irregularmente nas extremidades das células secretoras, além disso, nos marsupiais, ductos intercalares e um número de ductos estriados intralobulares são evidentes. Grupos de ductos excretores são observados em áreas de tecido conjuntivo extralobular (LENTLE et al., 2002) disposição ductal cõngenere aos catetos. Já em relação às células verificaram-se diferenças quanto a forma esférica das células e o posicionamento central dos núcleos.

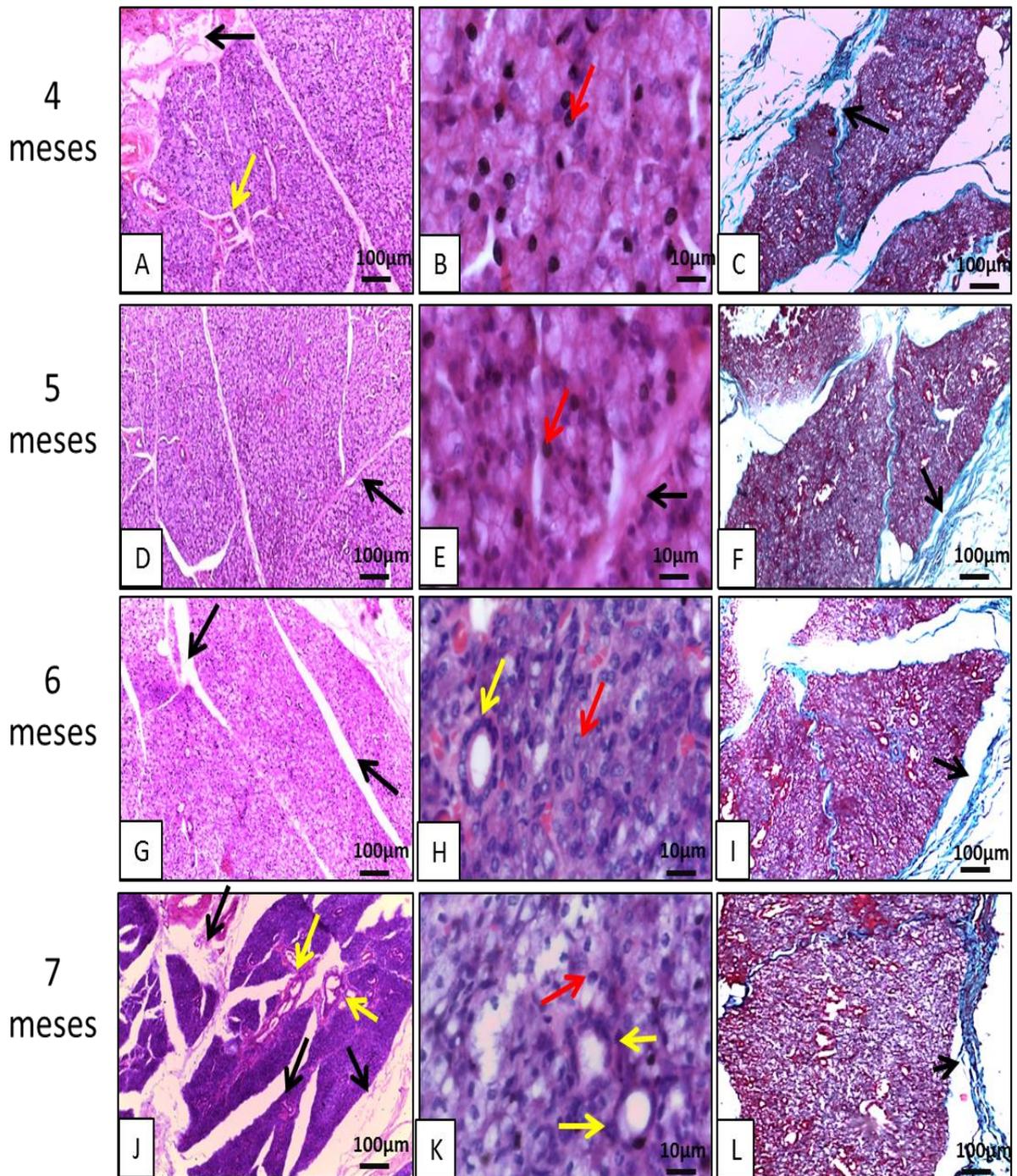


Figura 2 - Fotomicrografias da glândula parótida do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J verifica-se que os lóbulos basofílicos são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K o tecido conjuntivo (setas pretas) delimita os ácinos e os ductos (setas amarelas), os núcleos são esféricos e coram-se fortemente por hematoxilina (setas vermelhas). Em C, F, I e L verifica-se que os lóbulos estão individualizados por fibras colágenas (setas pretas) A, B, D, E, G, H J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L Coloração Tricrômico de Gomori.

A glândula parótida, apesar de não apresentar células mucosas, corou-se levemente por meio de Alcian Blue (pH 2,5), corou-se levemente pelo método PAS nos espécimes com 4 e 5 meses, a partir dos 6 meses observou-se uma transição, onde alguns espécimes coravam e outros não e, a partir dos 7 meses, a parótida não corava-se pelo procedimento PAS. Na associação Alcian Blue (pH 2,5) e PAS, as parótidas revelaram uma fraca positividade para o Alcian Blue (pH 2,5), sendo imperceptível positividade ao PAS (Fig. 05). A fraca positividade histoquímica da parótida demonstra que há uma discreta atividade secretora de mucinas ácidas, assemelhando-se aos marsupiais (LENTLE et al., 2002) e diferindo dos bovinos domésticos (SHACKLEFORD e KLAPPER, 1962). Estes resultados também diferiram ao observado por Boshell e Wilborn (1978) em porcos domésticos, enquanto nessa espécie a maioria das células acinares variou de PAS-negativo a levemente PAS-positivo, em catetos acima dos sete meses de idade a parótida sempre era PAS-negativa. Além disso, porcos domésticos contêm as células acinares Alcian Blue (pH 2,6 ou 0,5) negativas, diferindo, portanto do Alcian Blue (pH 2,5) positivo dos catetos.

A técnica de imunohistoquímica demonstrou reações positivas de variadas intensidades para diferentes glicoconjugados na glândula parótida do cateto, de acordo com a lecitina utilizada. Estas reações também variaram de acordo com a idade dos animais. Não houve positividade da glândula parótida para glicoconjugados marcados pela lecitina PNA tanto para animais com quatro meses, quanto para animais com sete meses de idade. Houve leve positividade da parótida para BSA I-B₄ e WGA tanto para animais com quatro meses, quanto para animais com sete meses de idade. Houve moderada positividade para Con-A tanto para animais com quatro meses, quanto para animais com sete meses de idade (Fig. 07). Com exceção da Con-A que é moderadamente positiva, os demais resultados diferem do observado por Çinar, Öztop e Özkarasu (2016) estudando ovelhas, pois nesta espécie as lecitinas BSA I-B₄, WGA e PNA são moderadamente positivas.

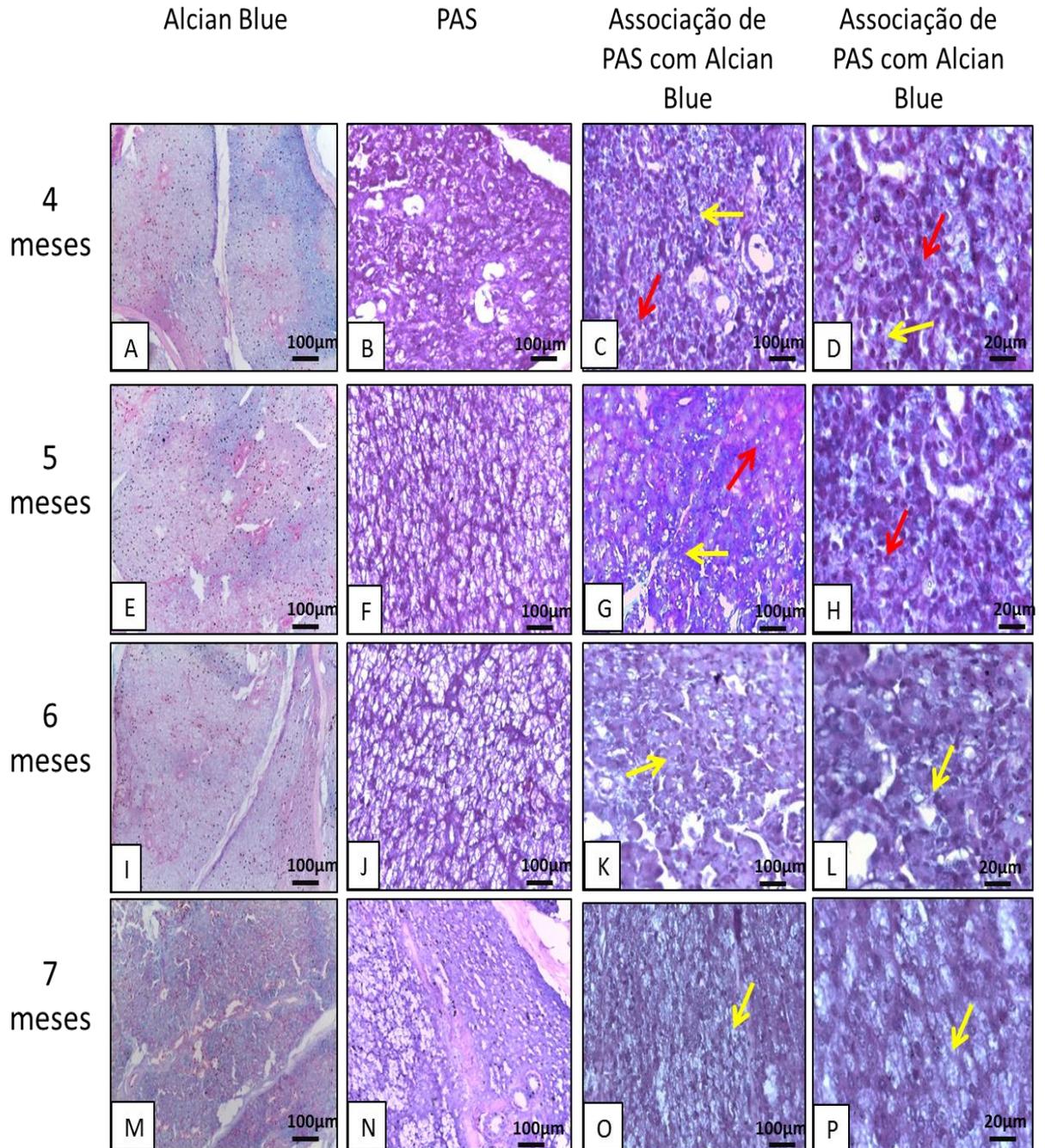


Figura 3 - Fotomicrografias da glândula parótida do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a fraca positividade da parótida ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, demonstram uma fraca positividade ao Ácido Periódico de Schiff aos quatro e cinco meses, respectivamente, enquanto J e N demonstram negatividade ao método Ácido Periódico de Schiff aos seis e sete meses, respectivamente. As imagens C, D, G e H demonstram que os ácinos tem fraca positividade pelo método Ácido Periódico de Schiff associado ao Alcian Blue (pH 2,5) aos quatro e cinco meses respectivamente (setas vermelhas para ácinos PAS-positivos) (setas amarelas para Alcian Blue-positivos), enquanto as imagens K, L, O e P demonstram positividade apenas ao método Alcian Blue (pH 2,5) (setas amarelas).

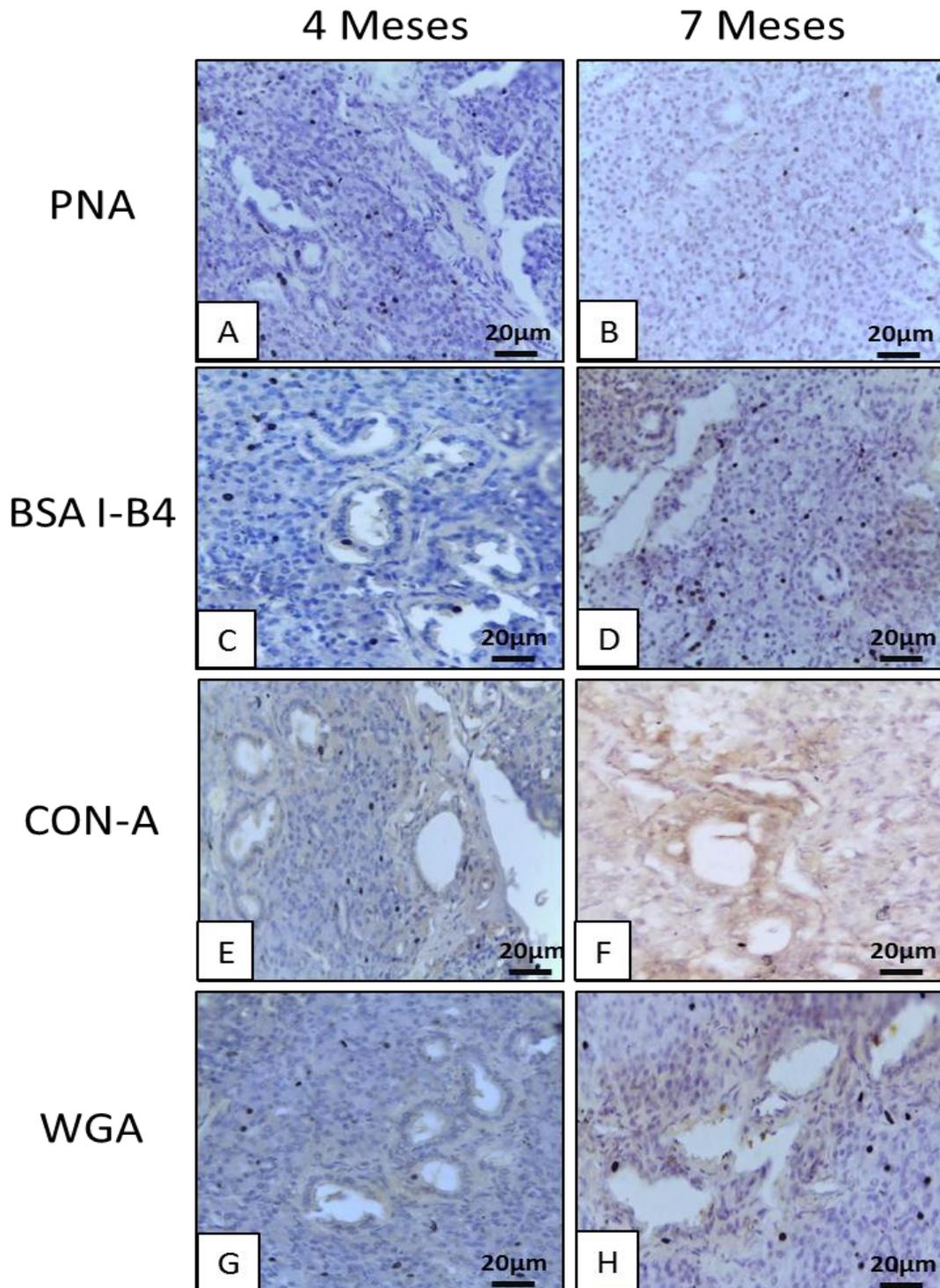


Figura 4 - Fotomicrografias da glândula parótida do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A não houve reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B não houve reação para lecitina PNA aos sete meses. Em C fraca reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D fraca positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E moderada positividade a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F moderada positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G fraca reação a lecitina WGA aos quatro meses. Em H fraca positividade para lecitina WGA aos sete meses.

A ultraestrutura da parótida revelou uma glândula com unidades secretoras, ductos e vasos sanguíneos. O parênquima da parótida de catetos era semelhante ao observado em camelos (*Camelus dromedarius*) (MANSOURI e ATRI, 1994). O formato da célula acinar é semelhante a uma pirâmide, porém, esse formato nem sempre era observado (Fig. 05), diferindo das células acinares em camelos (*Camelus dromedarius*) (MANSOURI e ATRI, 1994) e assemelhando-se as células acinares de porcos doméstico (BOSHELL e WILBORN, 1978). As células das unidades secretoras são repletas de grânulos de secreção de tamanhos diversos, bastante eletrondensos e crescem conforme se afastavam do núcleo, diferindo dos grânulos eletrólucos dos camundongos (PÍCOLI et al., 2011) e dos porcos doméstico (BOSHELL e WILBORN, 1978). Os grânulos secretores maduros estão próximos à borda da membrana celular, sua eletrondensidade e tamanho são maiores que nos grânulos imaturos.

O núcleo celular dos ácinos das parótidas de cateto era esférico, localizado na base celular e continha um nucléolo proeminente. No entorno do núcleo são observadas mitocôndrias e RER, demonstrando intensa atividade de síntese proteica. As células acinares sintetizavam e secretavam grânulos de secreção nos ductos intercalares. Com exceção dos microvilos, não observados em catetos, a forma e a disposição dos núcleos era semelhante ao observado em camelos (*Camelus dromedarius*) por Mansouri e Atri (1994).

A disposição de organelas celulares em catetos estava organizada basicamente na região basal. O RER em uma quantidade moderada está localizado principalmente basal e lateral ao núcleo, o RER também poderia ser visto de forma aleatória entre os grânulos secretores. Outras organelas observáveis são ribossomos livres, algumas mitocôndrias distribuídas aleatoriamente com cristas achatadas e escasso complexo de Golgi, essas organelas estavam em uma disposição semelhante aos descrito em porcos domésticos (BOSHELL e WILBORN, 1978).

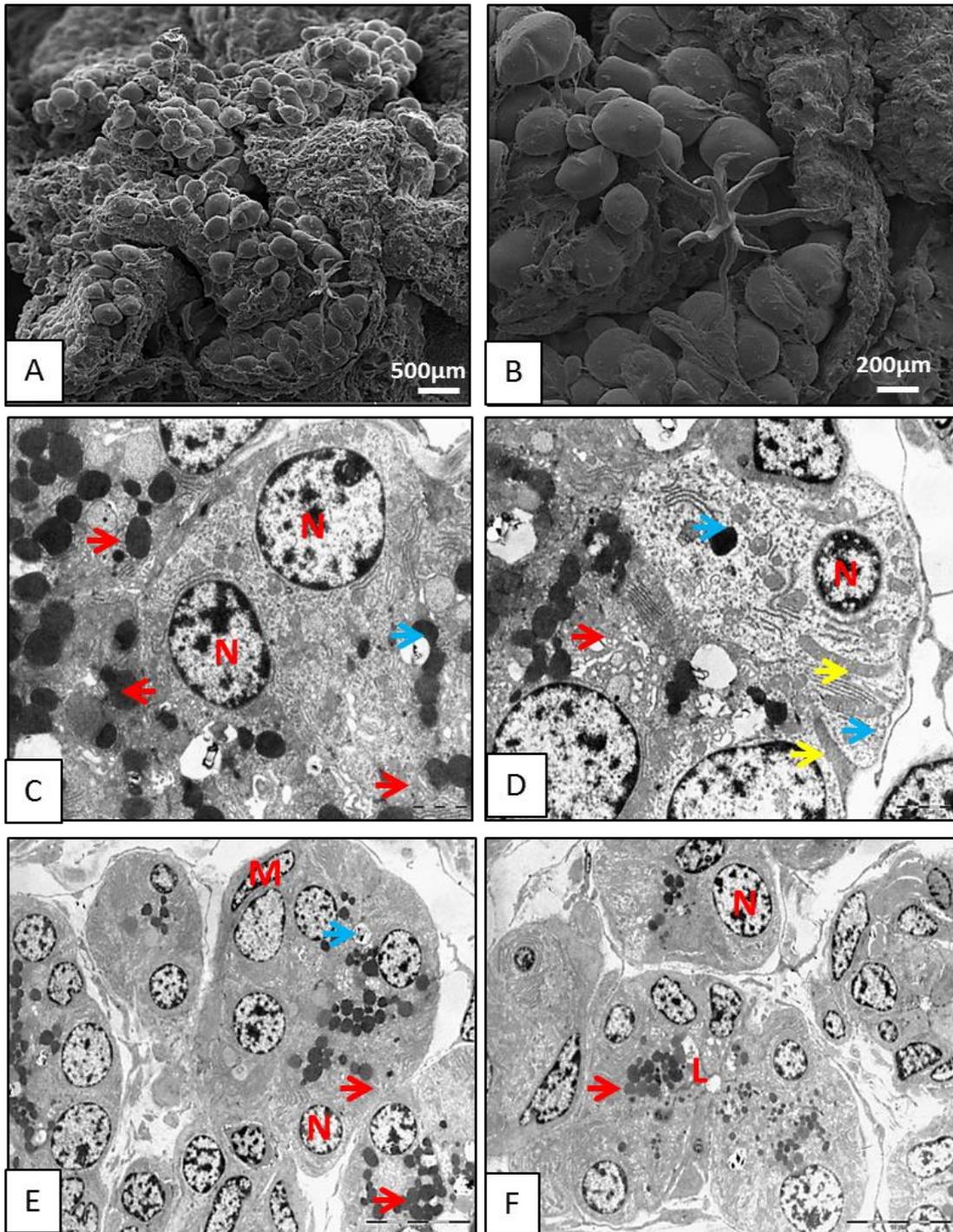


Figura 5 - Eletromicrografias da glândula parótida de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Células acinares produzem grânulos de secreção eletrondensos (setas vermelhas) e estas se dirigem ao ápice celular. A base celular estava voltada para o tecido conjuntivo enquanto o ápice celular formava o lúmen do ácino (L). O núcleo (N) celular apresentou-se esférico, com um nucléolo proeminente e estava localizado na base celular. Próximo aos núcleos foi observado retículo endoplasmático rugoso (setas azuis) e mitocôndrias (setas amarelas). Em torno dos ácinos pode-se observar a presença de células mioepiteliais (M).

4.4.1 Ductos e células mioepiteliais

As glândulas salivares possuíam em seu parênquima, além dos ácinos, inúmeros ductos que começavam bem pequenos permeando os ácinos e iam crescendo e ramificando-se. Os menores ductos eram os intercalares, logo em seguida vinham os ductos estriados e destes surgiam os ductos excretores que desembocavam cavidade oral.

Os ductos intercalares eram os menores ductos e nem sempre era possível visualizá-los na microscopia de luz, esses ductos permeavam os ácinos e recebiam os grânulos de secreção das células acinosas. As células dos ductos intercalares variavam de pavimentosas simples a cúbicas simples com núcleos basofílicos localizados centralmente, seu citoplasma era escasso e eosinofílico. A sua luz estava em continuidade com a unidade secretora terminal dos ácinos (Fig. 06). Essa disposição morfológica estava semelhante ao descrito por Krause (2010) em coalas (*Phascolarctos cinereus*), ao descrito por Mansouri e Atri, (1994) em camelos (*Camelus dromedarius*) e ao descrito por Boshell e Wilborn (1978) em porcos domésticos. Tanto em cateto quanto nestas espécies, o ducto intercalar estava em íntima relação com o lúmen acinar.

Os ductos intercalares convergiam nos ductos estriados. Esses continham mitocôndrias na sua região basal e poderiam apresentar uma simples camada ou duas camadas celulares. Existia uma camada de células colunares simples com grânulos de secreção na porção apical. Seus núcleos eram basofílicos e basais. A camada basal era cúbica com núcleo basofílico central. A camada superior era colunar, com núcleos centrais e basofílicos. Os ductos estriados recebem essa denominação devido a presença de estriações na sua região basal. Essas estrias são mitocôndrias alongadas, sugerindo intensa atividade celular (Fig. 06). Os ductos estriados de catetos assemelharam-se aos ductos estriados descritos por Krause (2010) em coalas (*Phascolarctos cinereus*), pois nessa espécie os ductos estriados se posicionaram centralmente dentro dos lóbulos e se caracterizaram por estrias basais bem desenvolvidas e um citoplasma eosinofílico granular.

Os ductos intercalares e estriados eram encontrados dentro dos lóbulos, pois permeavam os lóbulos glandulares e desembocavam em ductos excretores, esses últimos continham porções intralobulares e interlobulares.

O ducto excretor era oriundo dos ductos estriados e era revestido por epitélio pseudoestratificado, era observado entre os lóbulos glandulares. Quanto mais se afastava dos ácinos, mais complexo tornava-se e maior tornava-se a sua luz ductal. O epitélio

pseudoestratificado perdia essa característica e assumia uma forma estratificada, tendo várias camadas de células epiteliais, tornando-se cada vez mais complexo, culminando no ducto principal que carreará a saliva a cavidade oral. Células caliciformes eram observadas nos ductos excretores. Descrição semelhante quanto a morfologia e localização dos ductos excretores foi feita por Boshell e Wilborn (1978) em porcos domésticos e por Lentle et al. (2002) estudando quatro espécies de wallabies (Marsupialia: Macropodidae).

Em torno dos ácinos e também dos ductos, entre as células epiteliais e a lâmina basal, havia as células mioepiteliais. As células mioepiteliais eram difíceis de serem observadas na microscopia de luz, mas estavam presentes em todas as glândulas, eram observadas nas porções finais dos ácinos e ao redor dos ductos. Eram células pavimentosas com um núcleo achatado. A posição das células mioepiteliais de catetos era semelhante ao descrito por Pícoli et al. (2011), estudando camundongos e ao descrito por Lentle et al. (2002) estudando quatro espécies de wallabies (Marsupialia: Macropodidae).

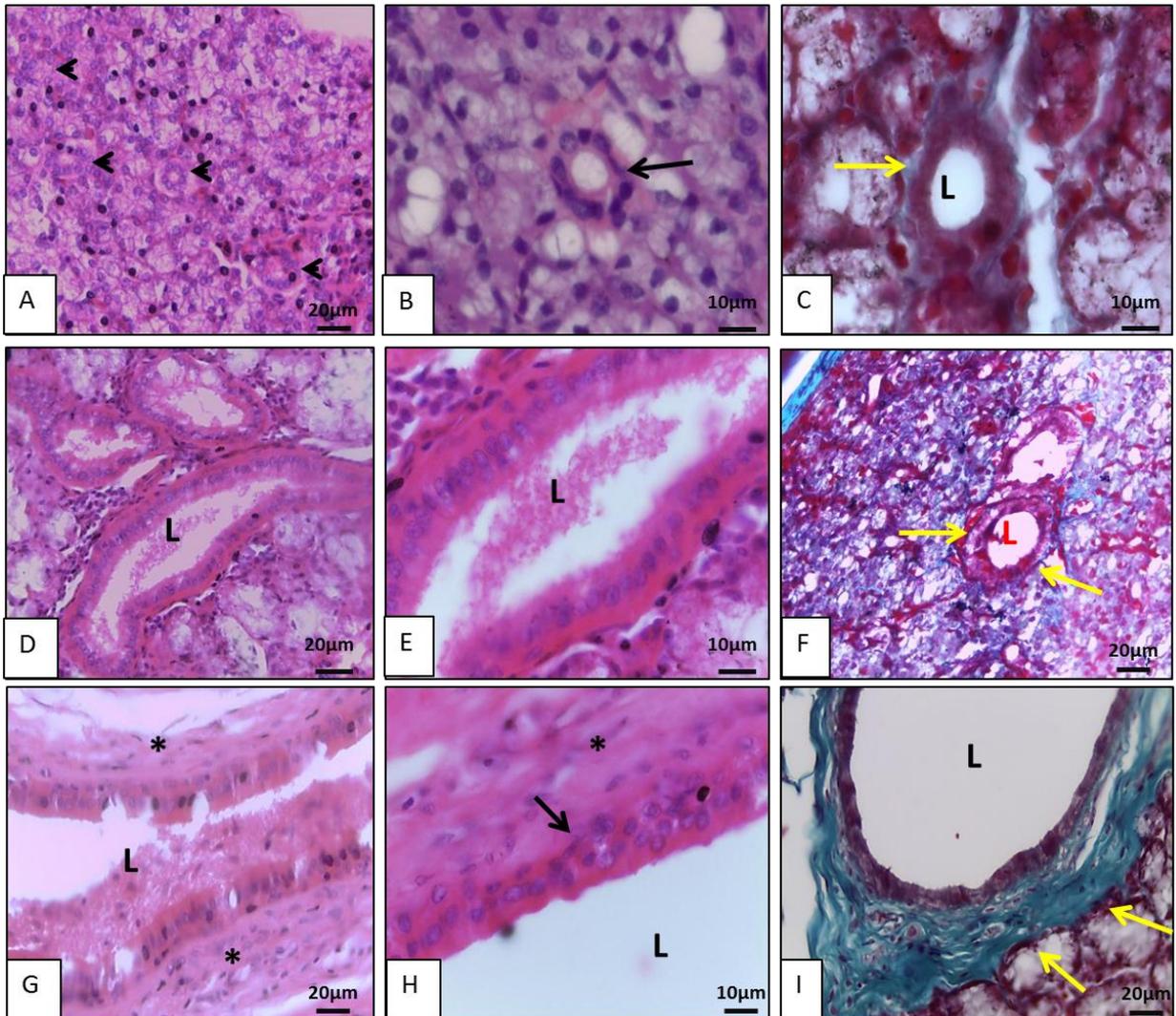


Figura 6 - Fotomicrografias dos ductos salivares do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A observa-se a disposição dos ductos intercalares, há uma íntima relação entre este ducto e os ácinos. Em B nota-se que o ducto é constituído por uma única camada de células epiteliais cúbicas e seu núcleo é esférico, basofílico e localizado no centro celular. Em C nota-se a delimitação do ducto por uma fina camada de fibra colágena. Em D tem-se o ducto estriado, este ducto era maior que o ducto intercalar. Em E observa-se que as células eram colunares e os núcleos eram esféricos e posicionados no centro da célula, atenta-se que a base celular é mais eosinofílica que o ápice celular. Em F nota-se q uma fina camada de fibra colágena delimitando o ducto. Em G observa-se o ducto excretor, este ducto tinha muito tecido conjuntivo ao seu redor (*) e estava na região interlobular. Em H nota-se que o ducto excretor continha mais de uma camada de células epiteliais, sendo a mais basal cúbica e a mais externa colunar. Em I nota-se uma densa rede de fibras colágenas envolvendo o ducto excretor. A, B, D, E, G e H coloração Hematoxilina-Eosina. C, F e I coloração Tricrômico de Gomori.

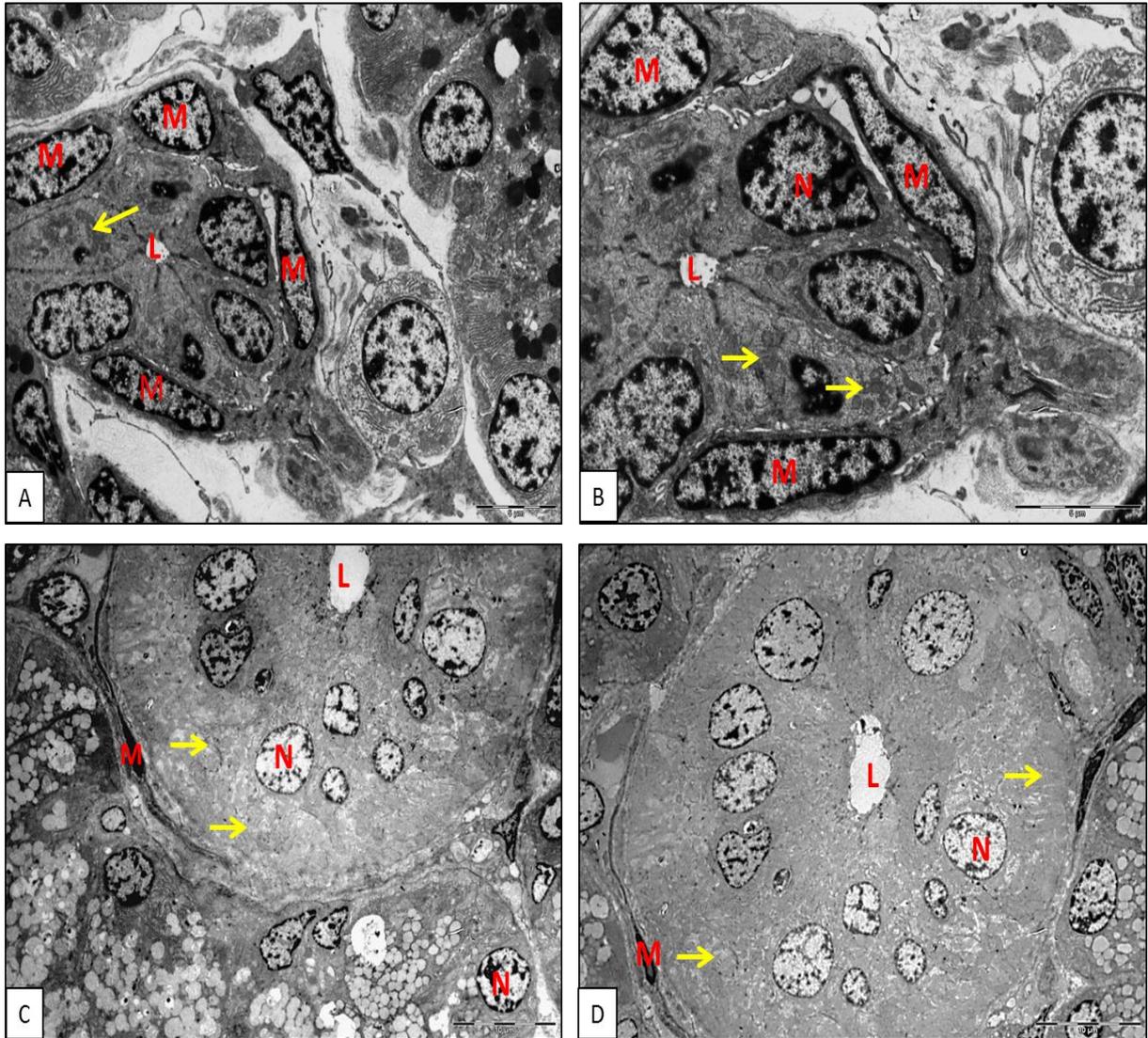


Figura 7 - Eletromicrografias das células ductais de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Em A e B temos células do ducto intercalado. Observa-se que os núcleos (N) são esféricos e localizados basalmente, há algumas mitocôndrias dispersas pelo citoplasma (setas amarelas). Ao redor dos ductos observam-se células mioepiteliais (M). Em C e D observa-se o ducto estriado. Estes ductos apresentaram células colunares e seus núcleos (N) estavam localizados no centro. Ao redor dos ductos estriados também foi possível observar células mioepiteliais (M).

4.5 CONCLUSÃO

Os catetos apresentam um par de glândulas parótidas. Essas glândulas seguem o mesmo padrão estrutural das glândulas de outras espécies de mamíferos. A parótida é a maior das glândulas salivares, possui forma piramidal, está localizada próxima a orelha externa, sob o músculo parotidoauricular. A parótida é uma glândula serosa, no entanto, em animais mais jovens há a síntese de mucinas neutras. Síntese que cessa em animais adultos. O seu peso, comprimento, largura e espessura aumentaram com o avançar da idade do animal, revelando sua importância na vida adulta do animal.

O seu parênquima é constituído por ácinos e ductos. Os ácinos são globosos e estão dispostos em forma de cacho de uvas. Os ácinos estão aderidos uns aos outros por meio de uma malha de fibras colágenas. Os ductos estão em íntima relação com os ácinos. A sua ultraestrutura da revelou a presença de ácinos estritamente serosos, em intensa atividade de síntese e secreção de material para a luz ductal. Os grânulos sintetizados por estas células são muito eletrondensos.

REFERÊNCIAS

- BOSHELL, J. L.; WILBORN, W. H. Histology and ultrastructure of the pig parotid gland. **The American Journal Anatomy**, 152: 447-466, 1978.
- ÇINAR, K.; ÖZTOP, M.; ÖZKARASU, B. Glycoconjugate composition of ovine parotid glands elucidated by lectins. **Journal of Morphological Science**, v. 33, n. 1, p. 8-13, 2016.
- CUTLER, L. S.; GREMSKI, W. Epithelial-mesenchymal interactions in the development of salivary glands. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, 2(1):1-12, 1991.
- DENNY, P. C.; BALL, W. D.; REDMAN, R. S. Salivary glands: a paradigm for diversity of gland development. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, 8:51-75, 1997.
- ICHIKAWA, M.; ICHIKAWA, A.; Light and electron microscopic histochemistry of the serous secretory granules in the salivary glandular cells of the Mongolian gerbil (Mongolian meridianus) and rhesus monkey (Macacairus). **Anatomy Research**, 189:125-140, 1977.
- KRAUSE, W. J. Microscopy of the koala mandibular (Submandibular) glands. **Anatomia Histologia Embryologia**, 39, 503-508, 2010.
- LENTLE, R. G.; HUME, I. D.; KENNEDY, M. S.; STAFFORD, K. J.; POTTER, M. A.; SPRINGETT, B. P.; HASLETT, S. The histology and morphometrics of the major salivary glands of four species of wallabies (Marsupialia: Macropodidae) from Kawau Island, New Zealand. **Journal Zoology London**, 257, 403-410, 2002.
- MANSOURI, S. H.; ATRI, A. Ultrastructure of parotid and mandibular glands of camel (*Camelus dromedarius*). **Journal of Applied Animal Research**, 6(2):131-141, 1994.
- MOHAMMADPOUR, A. A. Anatomical and histological study of molar salivary gland in domestic cat. **Iranian Journal of Veterinary Research**, 11:2, 31, 2010.
- OLIVEIRA JÚNIOR, C. M.; BEZERRA, F. V. F.; CÂMARA, F. V.; VALE, A. M.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, A. R.; AMBROSIO, C. E.; OLIVEIRA, M. F. Morfologia das glândulas salivares maiores em cutias (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1766). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(3):227-236, 2016.
- OKADA, H.; KANNO, T.; TAMAMURA, R.; NAKADA, H.; SASAKI, Y.; KANEDA, T.; ENDOH, M.; WAKAMATSU, Y.; SUZUKI, K. Histological features of the submandibular glands in the gray short-tailed opossum (*Monodelphis domestica*). **Journal of Hard Tissue Biology**, 23(3): 357-362, 2014.
- PATEL, V. N.; REBUSTINI, I. T.; HOFFMAN, M. P. Salivary gland branching morphogenesis. **Differentiation**, 74(7):349-64, 2006.
- PEDERSEN, A. M.; BARDOW, A.; JENSEN, S. B.; NAUNTOFTE, B. Saliva and gastrointestinal functions of taste, mastication, swallowing and digestion. **Oral Diseases**, 8:117-129, 2002.

PÍCOLI, L. C.; DIAS, F. J.; ISSA, J. P. M.; OGAWA, K.; CIENA, A.; IYOMASA, M. M.; LOPES, R. A.; WATANABE, I. Ultrastructure of submandibular salivary glands of mouse: TEM and HRSEM observations. **Microscopy Research and Technique**, 74:1154-1160, 2011.

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. F. Análise microscópica e ultraestrutural das glândulas salivares mandibulares de *Procyon cancrivorus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33(1):39-44, 2013.

SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, 26(1):57-60, 1970.

SCHWARM, A.; ORTMANN, S.; WOLF, C.; STREICH, W. J.; CLAUSS, M. Passage marker excretion in red kangaroo (*Macropus rufus*), collared peccary (*Pecari tajacu*) and colobine monkeys (*Colobus angolensis*, *C. polykomos*, *Trachypithecus johnii*). **Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology**, 311(9):647-661, 2009.

SHACKLEFORD, J. M., KLAPPER, C. E. Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands. **The American Journal Anatomy**, 11(1):25-48, 1962.

ŠTEMBÍREK, J.; KYLLAR, M.; PUTNOVÁ, I.; STEHLÍK, L.; BUCHTOVÁ, M. The pig as an experimental model for clinical craniofacial research. **Laboratory Animals**, 46: 269–279, 2012.

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, p.241, 2003.

TUCKER, A. S. Salivary gland development. **Seminars in Cell and Developmental Biology**, 18(2):237–44, 2007.

YAMAMOTO, M.; NAKATA, H.; KUMCHANTUEK, T.; SAKULSAK, N.; ISEKI, S. Immunohistochemical localization of keratin 5 in the submandibular gland in adult and postnatal developing mice. **Histochemistry and cell biology**, 145(3):327-339, 2016.

5 CAPÍTULO 2 - MORFOLOGIA DA GLÂNDULA MANDIBULAR EM CATETOS (*Pecari Tajacu* LINNAEUS, 1758)

5.1 RESUMO

As glândulas salivares maiores são as responsáveis pela síntese de saliva e por atuar para a perfeita manutenção da homeostase oral. Esse trabalho objetiva estudar as glândulas mandibulares de cateto ao longo do desenvolvimento etário do animal, de modo a poder fornecer informações sobre a morfologia dessas glândulas. As glândulas foram analisadas por meio de descrição macroscópica e também por microscopia de luz e eletrônica. A microscopia de luz seguiu metodologia para caracterização histoquímica dos grânulos de secreção e também de técnicas de imunohistoquímica para caracterização dos carboidratos de membrana. Seguindo a metodologia constatou-se que a mandibular localiza-se sob a glândula parótida, próximo ao ângulo da mandíbula. O peso da glândula mandibular diminuiu ao longo do crescimento do animal, enquanto suas medidas morfométricas aumentaram. Microscopicamente é uma glândula mucosa, sintetizando mucinas neutras e ácidas, além disso, demonstrou positividade para as lecitinas. A ultraestrutura glandular revelou que os ácinos são globosos, dispostos em forma de cacho de uvas, aderidos uns aos outros por meio de uma malha de fibras colágenas. Os ductos estavam em íntima relação com os ácinos. A ultraestrutura expôs que as glândulas são revestidas por uma cápsula de tecido conjuntivo e dessa cápsula partem septos que dividem a glândula em lóbulos. Suas células mucosas apresentam inúmeros grânulos de secreção em variadas eletrondensidades e tamanhos, além disso, contêm um ponto muito eletrondenso no interior de alguns grânulos.

Palavras-chaves: Glicoconjugados, desenvolvimento extra-uterino, animais selvagens, taiassuídeos.

5.2 INTRODUÇÃO

As glândulas salivares mandibulares são descritas em várias espécies como o canguru vermelho (*Macros rufus*) por Forbes e Tribe (1969), em furão (*Mustela putorius furo*) por Jacob e Poddar (1987), em porcos miniaturas por Zhou et al. (2010) e em cutias (*Dasyprocta leporina*) por Oliveira Júnior et al. (2016). O parênquima das glândulas salivares é constituído por unidades sintetizadoras e secretoras de saliva, os ácinos; por unidades carreadoras e modificadoras dessa saliva, os ductos e células que auxiliam nestes processos, as células mioepiteliais. As glândulas salivares maiores são as responsáveis por atuar para a perfeita manutenção da fisiologia oral. Juntamente com as glândulas salivares menores, sintetizam e secretam a saliva, responsável por umidificar os alimentos e iniciar a digestão de carboidratos.

Phillips e Tandler (1987) apontam que as glândulas salivares podem ter desempenhado papel fundamental na dominação terrestre dos mamíferos, contribuindo para a evolução, em decorrência de se modificar para facilitar a digestão dos mais diversos alimentos, glândulas salivares facilitaram o domínio dos mamíferos em vários nichos (PHILLIPS, TANDLER e NAGATO, 1993). Essas modificações se devem às estruturas acinares, constituídas por células mucosas e serosas, cada uma sintetizando e secretando um grânulo diferente. Os grânulos de secreção das células acinares são liberados na mucosa oral por meio dos ductos. Esses grânulos podem diferir mesmo entre espécies próximas (JEONG et al., 2012), quanto em estágios diferentes de maturação (JEONG e JEONG, 2017).

A ultraestrutura das glândulas salivares mostra que as células acinares são piramidais, medem entre 50-60 μm de diâmetro e estão dispostas uma ao lado da outra de modo a formar um lúmen central. As células acinares possuem inúmeros microvilos estendidos até o lúmen acinar a uma distância de aproximadamente 1,5 μm . Em secção longitudinal, os microvilos são vistos de forma ramificada, lembrando a aparência de cactos. As estruturas filamentosas se estendem da base para a extremidade distal de cada microvilos. As células acinares contêm uma grande quantidade de grânulos de secreção de vários tamanhos variando entre 0,6 μm a 3 μm . Em algumas espécies os grânulos de secreção podem conter um ponto muito eletrondenso em seu interior (TANDLER e ERLANDSON, 1976; SHACKLEFORD e WILBORN, 1968).

As células acinares apresentaram RER na região basal, próximo ao núcleo, em quantidade moderada, possuindo ribossomos aderidos às suas paredes, já as mitocôndrias são pequenas, numerosas e distribuídas pelo citoplasma. O complexo de Golgi bem desenvolvido

foi observado apenas na porção apical do núcleo celular. Os núcleos são de forma oval ou altamente irregular e podiam conter de um a dois nucléolos bem desenvolvidos. Os grânulos secretores são de eletrondensidade moderada e desenvolviam-se em estreita associação com o aparelho de Golgi (SHACKLEFORD e WILBORN, 1968).

As glândulas salivares apresentam células acinares e também ductos em variados tamanhos. Os ductos intercalares estão em íntima relação com o lúmen acinar. A luz do ducto é pequena e pode conter algumas poucas microvilosidades. No citoplasma das células ductais são observados alguns grânulos eletrondensos próximos ao ápice, entretanto, a quantidade de grânulos é menor que nos ácinos (JACOB e PODDAR, 1987). Além dos ductos intercalares de pequeno calibre, também são observados células mioepiteliais circundando os ácinos (TANDLER e ERLANDSO, 1976)

Os estudos com morfologia são a base do conhecimento para outras áreas do conhecimento e considerando a importância das glândulas salivares para a homeostasia do animal, este trabalho visa descrever a morfologia da glândula mandibular de catetos.

5.3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho utilizou oito catetos de idades diferentes, de ambos os sexos, obtidos do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres – CEMAS/UFERSA, criadouro científico, registrado junto ao IBAMA com o número 1478912. Ocupa uma área de 20 ha, está aproximadamente 16 metros acima do nível do mar e suas medidas de georreferenciamento estão entre as coordenadas geográficas 5° 11' S e 37° 20' W Gr. Os animais eram mantidos em piquetes, alimentados com ração e frutas, e a água era *ad libitum*.

5.3.1 Protocolo de eutanásia

A metodologia utilizada no projeto foi aprovada pelo SISBIO (Parecer nº 47439-2) e também pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA (Parecer nº 23091.007472/2016-24). Todos os procedimentos foram realizados nas dependências da UFERSA, no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada do Departamento de Ciências Animais.

Os animais foram primeiramente submetidos a pré-anestesia com a utilização de xilazina⁵ e cetamina⁶ aplicadas no músculo semimembranoso. A indução anestésica era feita pela via intravenosa (veia cefálica) com administração de tiopental⁷. Em seguida, uma solução de cloreto de potássio⁸ era infundida, pelo mesmo acesso venoso.

⁵ Xilazina a 10%, na dose de 1mg/kg.

⁶ Cetamina 5%, na dose de 10mg/kg.

⁷ Tiopental 1g na dose de 25mg/kg.

⁸ Cloreto de potássio a 19,1% na dose de 1mL/kg.

5.3.2 Procedimento de macroscopia e coleta de material

Os animais após a eutanásia eram dissecados. Previamente era realizada uma incisão ventral, sentido craniocaudal, até a porção cervical do músculo esterno-hióideo. Novas incisões eram feitas no contorno dos olhos e das orelhas para, só então, ser feito o rebatimento do tecido cutâneo, tela subcutânea e do músculo parotidoauricular, para que dessa forma as glândulas salivares maiores pudessem ser exteriorizadas, analisadas, fotografadas e avaliadas quanto à topografia, textura, coloração, forma e cor. Para documentação macroscópica foi utilizada uma câmera fotográfica (Nikon D7200).

5.3.3 Medição morfométrica e de volume glandular

As glândulas foram pesadas utilizando uma balança de precisão (AL200C, Marte, Brasil, 200g – 0,001g), seguindo a metodologia de Scherle (1970). Pesava-se um frasco contendo solução fisiológica e em seguida mergulhava-se a glândula e obtinha-se nova pesagem. A diferença entre as pesagens correspondia ao peso glandular, que é igual ao seu volume em milímetros cúbicos. Por convenção 1g equivale a 1000 mm³. Para a avaliação de comprimento, largura e espessura as glândulas foram medidas por meio de um paquímetro digital (Digimatic Caliper, Mitutoyo, 150 mm - 6 Pol). O comprimento era medido tomando por base a maior extensão da glândula e a largura por sua menor extensão. Como a glândula parótida possuía uma superfície irregular, na medição da largura e espessura, três locais eram medidos e fazia-se uma média aritmética dos três locais para inferir a medição da glândula (Fig. 02).

5.3.4 Procedimento para microscopia de luz

Para diminuir os vieses e possíveis interferências, os espécimes passaram por um processo de isotropização, ou seja, passaram por um processo para que todas as regiões da

amostra tivessem a mesma oportunidade de serem vistas ao microscópio. As secções foram feitas de forma aleatória. Fragmentos de tecido com cerca de 0,5 cm, eram retirados e acondicionados em frascos contendo solução dos fixadores Bouin ou paraformaldeído a 4% tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4° C.

Após fixação, o material era lavado em água corrente para retirada do excesso de fixador e submetido à metodologia adaptada de Tolosa et al. (2003) para obtenção das lâminas. As lâminas eram submetidas à coloração por Hematoxilina-Eosina (HE); Ácido Periódico de Schiff (PAS) para detecção de mucinas neutras e sialomucinas lábeis, Alcian Blue (pH 2,5) para detecção de sialomucinas e sulfomucinas; PAS associado com Alcian Blue (pH 2,5) para detecção de ácinos sintetizadores de determinadas mucinas e Tricrômico de Gomori para marcação de fibras colágenas. Para a metodologia de PAS e Alcian Blue (pH 2,5) foi utilizado um grupo controle sabidamente positivo para estas colorações.

Finalizada a coloração, era realizada a montagem das lâminas. A análise das mesmas era realizada em microscópio de luz (LEICA ICC50W) em objetivas com aumento variando entre 10X a 100X (objetiva de imersão). As lâminas mais representativas eram fotomicrografadas em um aparelho da marca Leica, modelo ICC50W.

5.3.5 Procedimento para imunohistoquímica

Para esta etapa, foi seguido o protocolo adaptado de Çinar, Öztıp e Özkarasu (2016). Cortes de 5 µm de espécimes com quatro e sete meses, foram aderidos em lâminas silanizadas, desparafinizados em xilol (dois banhos de 5 minutos), reidratados em concentrações decrescentes de etanol (100%, 95% e 70%) por 5 minutos, imersos em peróxido de hidrogênio a 3% por 30 minutos, lavados em 3 imersões de 5 minutos em água destilada e depois 3 imersões de 5 minutos em PBS 01 mM em cada lavagem.

A exposição antigênica dos tecidos foi realizada em tampão citrato (10 mM, pH 6,0), acondicionamento em aparelho de micro-ondas (60°C por 15 minutos), seguida por três lavagens em PBS. Na etapa seguinte foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena e das reações inespecíficas utilizando o Kit DAKO em câmara úmida por 30 minutos, seguido de 3 lavagens de 5 minutos em PBS e prosseguindo-se com a incubação dos espécimes com as lecitinas em câmara úmida. Foram utilizadas quatro lecitinas *Canavalia ensiformis* – Con-A

(Referência: C2272, Sigma-Aldrich®), *Bandeiraea simplicifolia* – BSA-I-B4 (Referência: L2140, Sigma- Aldrich®), *Triticum vulgare* – WGA (Referência: L5142, Sigma- Aldrich®), *Arachis hypogaea* – PNA (Referência: L6135, Sigma- Aldrich®). O controle negativo foi feito utilizando PBS em câmara úmida ao invés das lecitinas.

Tabela 3 - Licitinas e concentrações utilizadas para imunohistoquímica das glândulas salivares maiores de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

Lecitina	Abreviatura	Ligação de carboidratos especificidade ^{a, b}	Concentração (mg/mL) ^c
<i>Canavalia ensiformis</i>	Con-A	α Man> α Glc> α GlcNAc	0,29 mg/mL
<i>Bandeiraea simplicifolia</i>	BSA-I-B4	α Gal> α GalNAc	0,5 mg/mL
<i>Triticum vulgare</i>	WGA	GlcNAc(β 1,4GlcNAc) ₁₋₂ > β GlcNAc >Neu5Ac	0,1 mg/mL
<i>Arachis hypogaea</i>	PNA	Gal β 1,3GalNAc> α and β Gal	0,1 mg/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; GalNAc, N-acetilgalactosamina; Neu5Ac, Ácido 5-acetilneuraminico; Neu5Ac, ácido 5-acetilneuraminico; NeuNAc, Ácido N-acetilneuraminico.

c – Tabela modificada de acordo com Çinar, Öztop e Özkarasu (2016).

Após uma incubação de aproximadamente 8 horas, procedeu-se a retirada das lecitinas em 3 lavagens de 5 minutos com PBS, seguido de sua incubação 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 (Scytek DAB Substrate Cromogen - Bioscience®) diluído em substrato específico (Scytek DAB Substrate - Bioscience®). As lâminas foram montadas com uso de Permout® (Fisher Scientific), analisadas e fotografadas (LEICA ICC50W).

5.3.6 Procedimento de material para microscopia eletrônica de transmissão

Porções distintas das glândulas salivares eram coletadas com dimensão de cerca de 0,5 mm² e 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. Após fixação, eram feitas lavagens das amostras em solução tampão fosfato de sódio e em seguida pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% e em sequência contrastadas com acetato de uranila a 3%. Posteriormente, o material era desidratado em concentrações crescentes de álcool etílico, lavados com óxido de propileno, óxido de propileno-resina e resina Spurr. A polimerização da resina era completada quando o material era levado à estufa a 60°C por 72 horas. Após isso, os blocos eram cortados com o auxílio de um ultramicrótomo (Ultracut R, Leica Microsystems, Germany) e em seguida, 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) e as regiões mais representativas eram eletromicrografadas. As análises através da microscopia eletrônica foram realizadas no Laboratório de Histologia do setor de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo.

5.3.7 Procedimento de material para microscopia eletrônica de varredura

Após a coleta, os espécimes selecionados para a análise eram fragmentados ou criofaturados com nitrogênio líquido e obtinha-se fragmentos com cerca de 0,5 a 1 cm, em seguida, o material era fixado em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4°C. Completada a fixação os fragmentos eram lavados 3 vezes, de 5 minutos cada, em água destilada e em seguida eram pós-fixados com tetróxido de ósmio a 0,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4, por 40 minutos. Concluída a pós-fixação lavava-se o material, 3 vezes de 10 minutos cada, em água destilada. Em seguida procedia-se a desidratação do material imergindo-os em concentrações diferentes e ascendentes de álcool, (7,5% por 10 minutos, 15% por 10 minutos, 30% por 10 minutos, 50% por 10 minutos, 70% por 15 minutos, 90% por 15 minutos e 100% por 10 minutos) em cada concentração as amostras eram imersas 2 vezes.

Completada a desidratação o material era seco em aparelho de ponto crítico (Quorum K 850) utilizando gás carbônico (CO₂), afixado em suporte do ponto de amostra (Stub) e metalizado com ouro por “sputtering” (Quorum Q 150R ES), para observação e obtenção de imagens em microscópio eletrônico de varredura (TESCAN VEGA 3 LMU), pertencente ao

Laboratório de Microscopia Eletrônica do Centro de Pesquisas Vegetais do Semi-Árido (CPVSA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A glândula mandibular estava localizada próxima ao ângulo da mandíbula. A mandibular relaciona-se rostralmente com os linfonodos mandibulares, a glândula sublingual e os músculos masseter e digástrico; medialmente, o digástrico, a artéria carótida externa e o linfonodo retrofaríngeo medial; caudalmente, ao músculo gênio-hioideo. Sua cápsula continua rostralmente com a porção monostomática da glândula sublingual com a qual é firmemente fusionada. Sua forma é ovóide, compacta e apresenta cor vermelha pouco intensa. Essa glândula está completamente recoberta pela glândula parótida e de sua porção mais profunda parte o seu ducto, esse seguia em direção a cavidade oral até abrir na base da língua, durante este percurso, o ducto passa entre as glândulas sublinguais monostomática e polistomática. A artéria e a veia linguofacial forneciam o seu suprimento sanguíneo (Fig. 08). Essa descrição assemelha-se às mandibulares do coala (*Phascolarctos cinereus*) (KRAUSE, 2010).

O ducto mandibular do cateto seguia a mesma direção do ducto do mão-pelada (*Procyon cancrivorus*). Além disso, a mandibular tanto no cateto quanto no mão-pelada assemelham-se em questões como a forma oval, lobulação e posição anatômica, diferindo com relação a cobertura da parótida, no cateto a parótida recobre toda a mandibular enquanto que no mão-pelada a mandibular está parcialmente coberta pela parte mais ventral da glândula parótida (SANTOS et al., 2013).

Quanto às análises na variação do peso da glândula mandibular verificou-se que o mesmo diminuiu conforme o animal crescia, enquanto que a largura, espessura e comprimento da glândula aumentou com o avançar da idade do animal (Tab. 4).

Tabela 4 - Medidas morfométricas e peso das glândulas mandibulares do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

Meses	Mandibular							
	Antímero direito				Antímero esquerdo			
	C	L	E	P	C	L	E	P
4F	16,85	23,60	7,12	3,6871	17,22	20,13	6,77	3,2964
4F	14,24	25,72	8,38	3,8879	17,90	23,70	6,02	3,9315
5F	15,10	24,25	7,01	2,7472	15,47	26,46	7,21	2,8340
5M	14,76	21,29	6,74	3,0371	17,12	22,99	7,60	3,1759
6F	25,46	17,22	6,67	2,4162	24,90	16,44	8,48	2,3522
6M	20,34	27,02	8,85	2,8896	18,09	23,38	8,11	3,3432
7F	22,53	29,21	9,85	2,5533	20,28	27,27	9,30	2,0701
7M	20,17	27,02	8,85	2,7839	18,09	23,38	8,46	2,9218

C: comprimento (mm); L: largura (mm); E: espessura (mm) e P: peso (gramas). Fêmea (F) e macho (M).

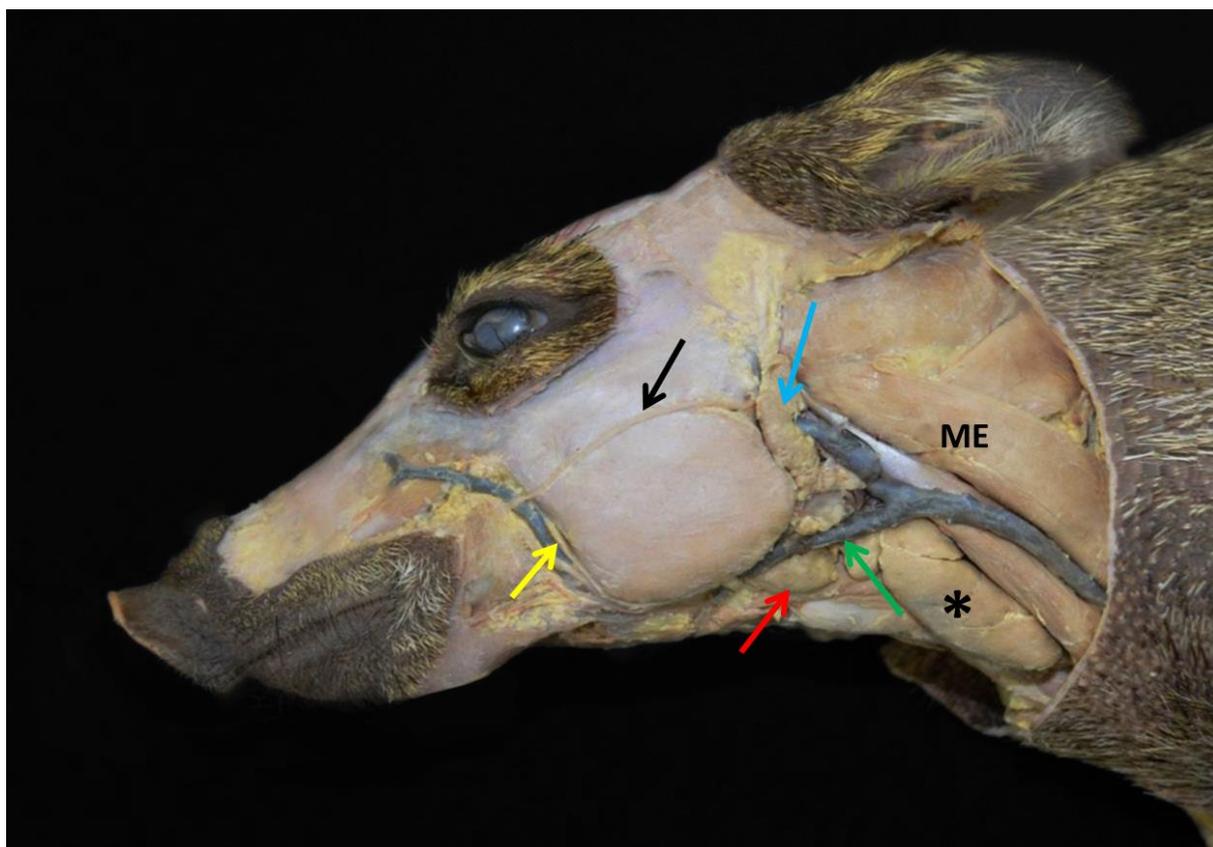


Figura 8 – Imagem fotografada da macroscopia das glândulas salivares maiores do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Glândula mandibular (seta vermelha), parte da glândula parótida (seta azul), ramo bucal do nervo facial (seta preta), ducto parotídeo (seta amarela), veia linguofacial (seta verde), timo (asterisco), músculo esternocleidomastoideo (ME).

Os animais não apresentaram alterações morfológicas perceptíveis ao longo do desenvolvimento glandular. Todas são envoltas por uma cápsula de tecido conjuntivo denso não-modelado. Da cápsula partiam septos de tecido conjuntivo se estendendo até o interior e subdividindo o parênquima glandular em inúmeros lóbulos, em uma conformação semelhante à glândula mandibular do gambá de rabo curto cinza (*Monodelphis domestica*) segundo Okada et al. (2014), do mão-pelada (*Procyon cancrivorus*) segundo Santos et al. (2013) e também do coala (*Phascolarctos cinereus*) segundo Krause (2010). Além disso, em catetos, o tecido conjuntivo, rico em colágeno, delimitava os ácinos e os ductos (Fig. 09). Nos septos de tecido conjuntivo estão presentes vasos sanguíneos e nervos, além de ductos interlobulares excretórios.

As mandibulares são de natureza mucosas, diferindo assim das glândulas mandibulares dos coalas que de acordo com Krause (2010), são estritamente serosas. As células mucosas caracterizaram-se por conter em seu citoplasma uma grande quantidade de grânulos de secreção que não se coravam por meio de técnicas histológicas de rotina, no entanto, coravam-se com técnicas histoquímicas do tipo PAS e Alcian Blue, revelando positividade para síntese de mucinas. A grande produção de grânulos secretórios dilatava o citoplasma, comprimia o núcleo e as organelas dessas células na região basal. Seus núcleos são achatados. As células serosas são idênticas, morfológicamente, às células serosas descritas na glândula parótida, exceto por se apresentarem na forma de semilua serosa. Esta disposição morfológica para as células acinares estava de acordo com o verificado em gambá de rabo curto cinza (*Monodelphis domestica*) (OKADA et al., 2014), às espécies de marsupiais (LENTLE et al., 2002) e de coala (*Phascolarctos cinereus*) (KRAUSE, 2010).

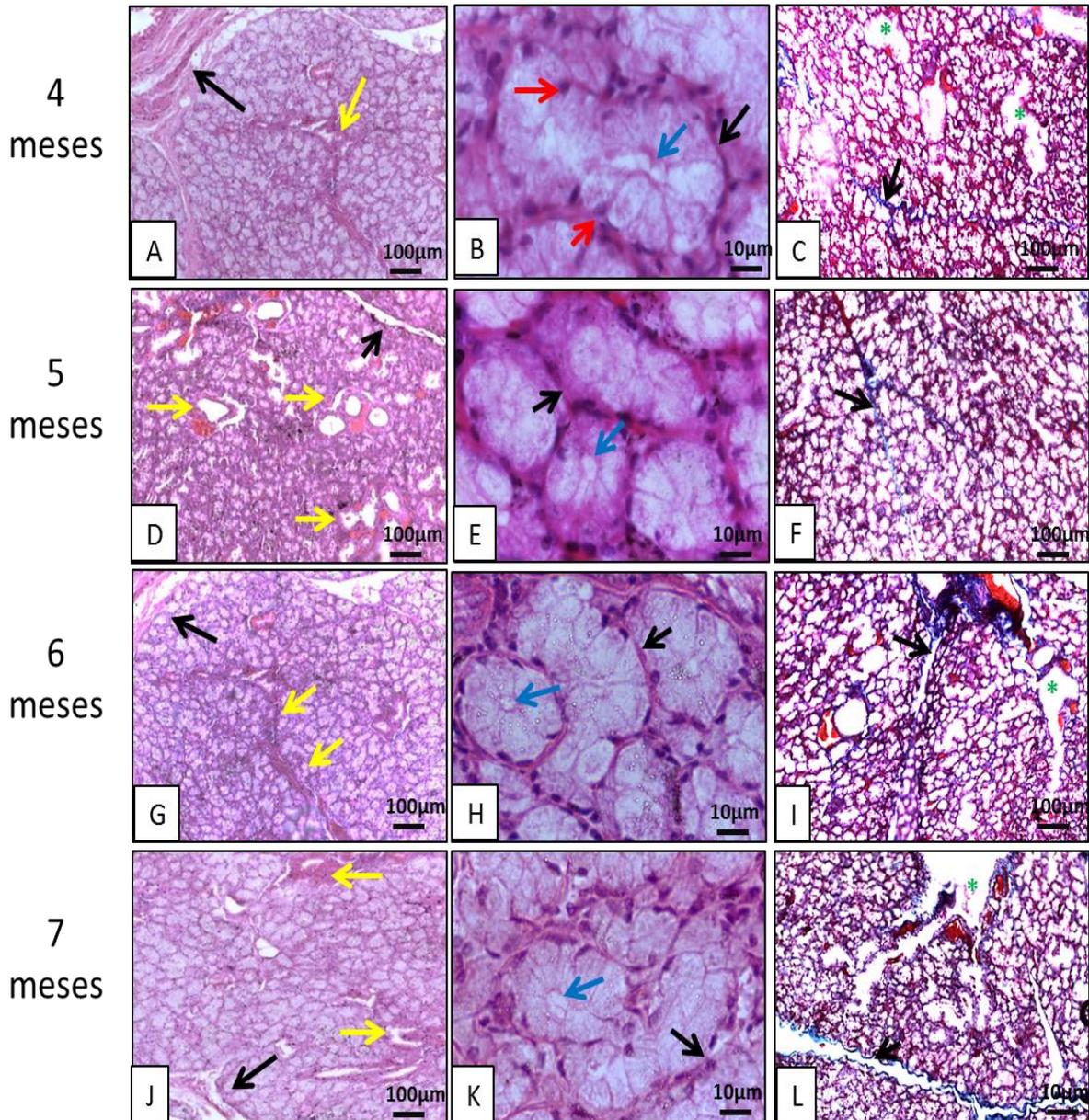


Figura 9 - Fotomicrografias da glândula mandibular do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J verifica-se que os lóbulos basofílicos são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K o tecido conjuntivo (setas pretas) delimita os ácinos. As células acinares organizam-se de modo a formar o lúmen acinar (setas azuis), os núcleos dessas células são esféricos e coram-se fortemente por hematoxilina (setas vermelhas). Em C, F, I e L os ductos (*) estão individualizados por fibras colágenas (setas pretas). A, B, D, E, G, H J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L coloração Tricrômico de Gomori.

Histoquimicamente estas glândulas coram-se com o Alcian Blue (pH 2,5) mais fortemente que a parótida e com o método PAS e na associação PAS e Alcian Blue (pH 2,5) (Fig. 10). Podendo-se inferir que as mucinas sintetizadas são neutras e também ácidas. A

positividade ao método PAS foi semelhante ao descrito por Lentle et al. (2002), nestas espécies, na histologia das glândulas mandibulares as extremidades secretoras são seromucosas, constituídas por células mucosas PAS-positivas diferindo histoquimicamente das células serosas dos marsupiais e também das células seromucosas das glândulas mandibulares do wallabies do pântano (*Wallabia bicolor*). As primeiras coraram-se de azul enquanto as segundas são menos evidentes (LENTLE et al., 2002) e assemelhando-se às células serosas da mandibular de coalas (KRAUSE, 2010).

A técnica imunohistoquímica por meio de lecitinas demonstrou reações positivas de variadas intensidades para diferentes glicoconjugados na glândula mandibular do cateto. Estas reações também variaram de acordo com a idade dos animais. Aos quatro meses a mandibular foi fortemente positiva para PNA, BSA I-B₄ e Con-A, no entanto, aos sete meses essa positividade sofre alterações, passando de forte para moderada nas lecitinas PNA e Con-A e fraca para a lecitina BSA I-B₄. A lecitina WGA variou de negativa, aos quatro meses para fracamente positividade aos sete meses (Fig. 11).

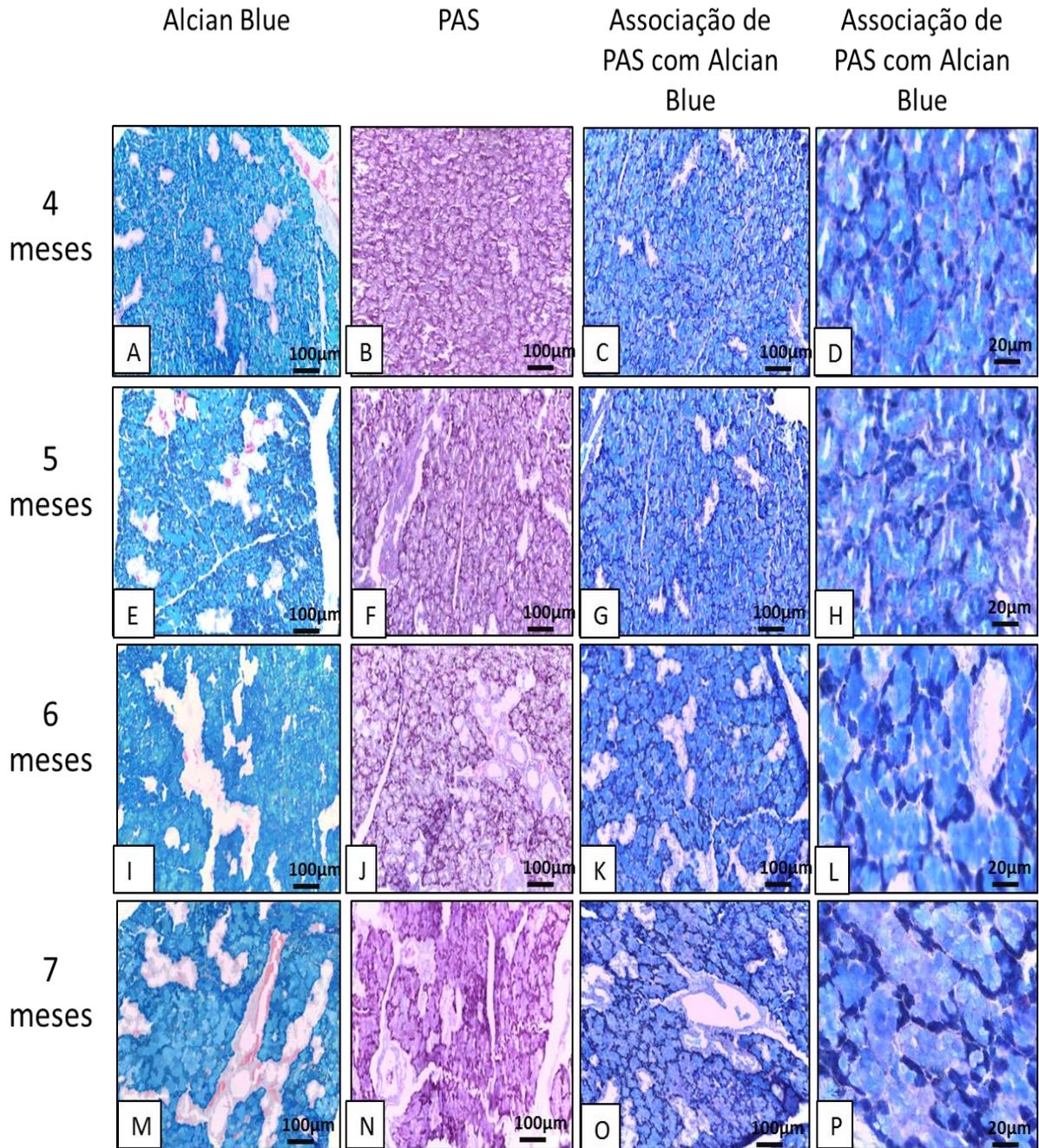


Figura 10 - Fotomicrografias da glândula mandibular do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a forte positividade da mandibular ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, J e N demonstram uma forte positividade ao método Ácido Periódico de Schiff. As imagens C, D, G, H, K, L, O e P demonstram uma maior atividade secretora de polissacarídeos ácidos, visto que há sobreposição do Alcian Blue (pH 2,5) sobre a positividade ao Ácido Periódico de Schiff.

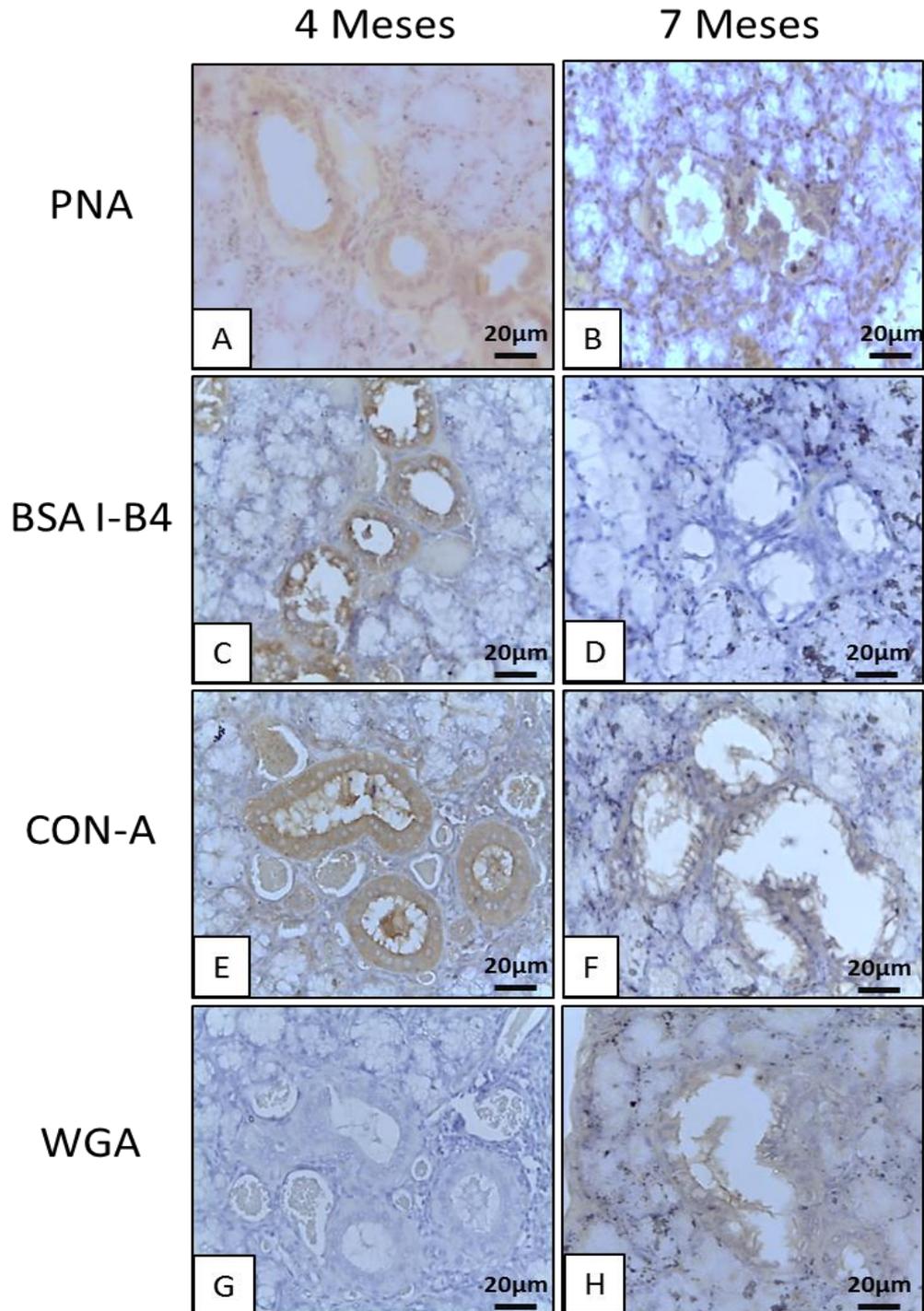


Figura 11 - Fotomicrografias da glândula mandibular do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A forte reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B moderada positividade para lecitina PNA aos sete meses. Em C forte reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D moderada positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E forte reação a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F moderada positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G não houve reação a lecitina WGA aos quatro meses. Em H fraca positividade para lecitina WGA aos sete meses.

A ultraestrutura do parênquima glandular da glândula mandibular está dividido em lóbulos por tecido conjuntivo (Fig. 12). Em catetos os septos de tecido conjuntivo, oriundos da cápsula, dividiam a glândula em lóbulos, ácinos, ductos intralobulares de menor calibre e ductos interlobulares excretores de maior calibre. Além disso, podia-se observar malhas de fibras colágenas em porções onde esta estava exposta. Esta conformação está em equivalência ao observado, em glândulas salivares mandibulares do mão-pelada (*Procyon cancrivorus*), por Santos et al. (2013).

A glândula mandibular de cateto possui apenas ácinos mucosos. As células mucosas não apresentam um formato fixo, variando de cúbica a piramidal. Em seu citoplasma é observado inúmeros grânulos de secreção com tamanhos e eletrondensidades diferentes. A eletrondensidade dos grânulos variou de pouco a moderadamente eletrondenso e alguns grânulos apresentaram um ponto muito eletrondenso em seu interior. As células mucosas, em seu citoplasma, possuem RER, um protuberante complexo de Golgi e algumas poucas mitocôndrias, todas localizadas basalmente. Isso decorre da grande quantidade de grânulos de secreção, distribuídos por todo o citoplasma. O núcleo destas células é esférico, está localizado na região basal da célula e possui um nucléolo proeminente (Fig. 12). Essa descrição diferiu das glândulas mandibulares mistas de camundongos (PÍCOLI et al. (2011), do rato de campo listrado coreano (*Apodemus agraius*) (JEONG e JEONG, 2017) e do musaranho aranha coreano (*Sorex caecutiens*) (JEONG et al., 2012).

Com relação a eletrondensidade dos grânulos, enquanto em catetos eles são, eletronucentes, em rato de campo listrado coreano (*Apodemus agraius*) e em musaranho aranha coreano (*Sorex caecutiens*) eles são eletrondensos. No entanto, a disposição das organelas é semelhante entre essas espécies (JEONG et al., 2012; JEONG e JEONG, 2017).

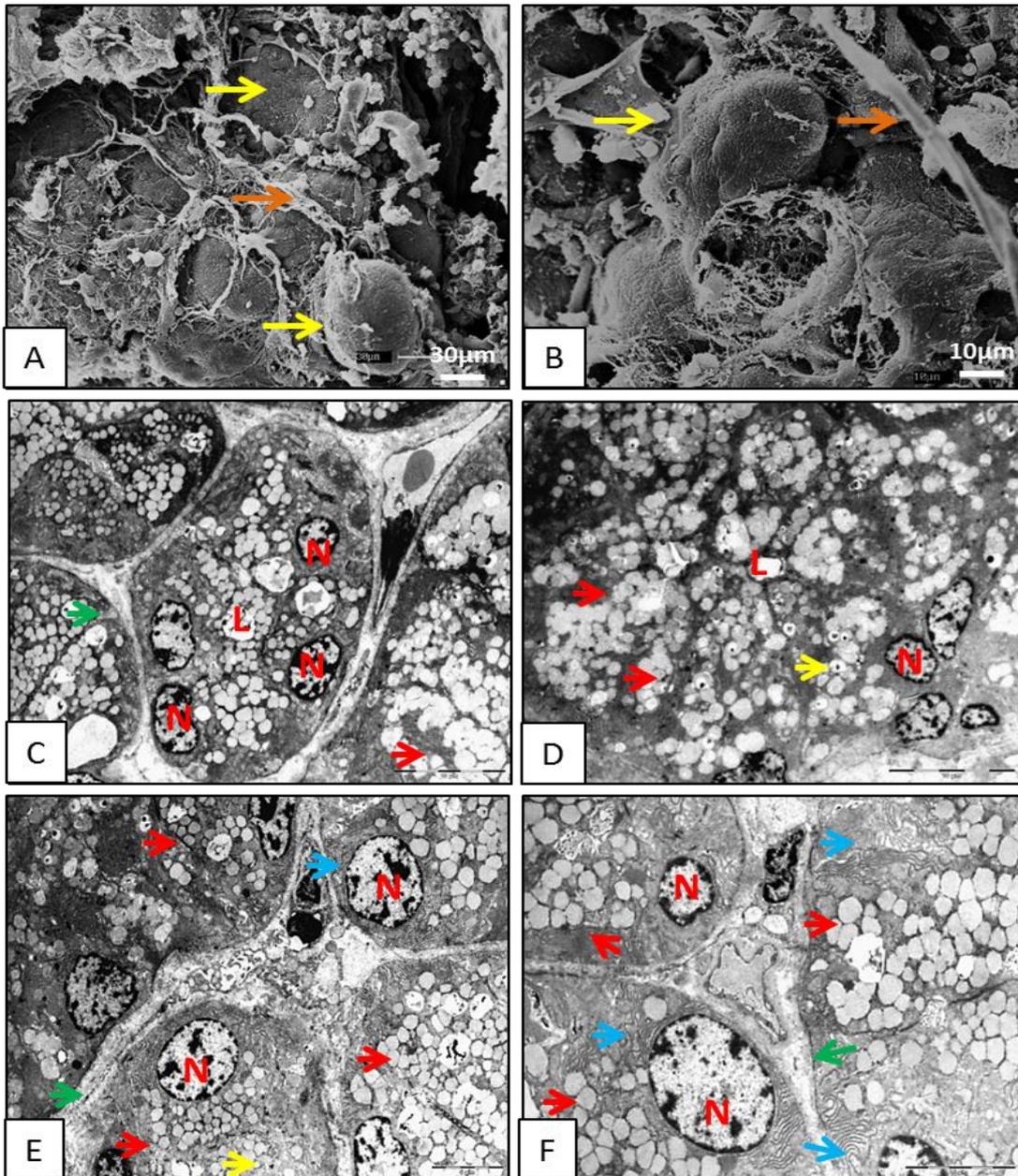


Figura 12 - Eletromicrografias da glândula mandibular de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Células acinares produzem grânulos de secreção eletrólucos (setas vermelhas) e estas se dirigem ao ápice celular, alguns grânulos continham um ponto eletrondenso em seu interior (setas amarelas). A base celular estava voltada para o tecido conjuntivo (setas verdes) enquanto o ápice celular formava o lúmen do ácino (L). O núcleo celular (N) apresentou-se esférico, com um nucléolo proeminente e estava localizado na base celular. Próximo aos núcleos foi observado retículo endoplasmático rugoso (setas azuis).

Semelhança observada entre catetos e camundongos diz respeito a eletrondensidade dos grânulos. Além disso, catetos, camundongos e camelos (*Camelus dromedarius*) se assemelharam com relação à disposição de suas organelas, pois sob alta ampliação era observado RER adjacente ao complexo de Golgi. O RER estava na região basal, próximo ao núcleo, já as mitocôndrias estão distribuídas aleatoriamente (MANSOURI e ATRI, 1994; PÍCOLI et al., 2011).

5.5 CONCLUSÃO

Os catetos apresentam um par de glândulas mandibulares. Essas glândulas seguem o mesmo padrão estrutural das glândulas de outras espécies de mamíferos. A mandibular possui forma oval, está localizada próxima ao ângulo da mandíbula, sob a parótida. A mandibular é uma glândula mucosa, sintetizando mucinas ácidas e neutras ao longo do desenvolvimento do animal. O seu peso diminuiu com o avançar da idade do cateto, enquanto seu comprimento, largura e espessura aumentaram. Podendo-se inferir que a mandibular possui uma grande importância na vida uterina dos catetos.

O seu parênquima é constituído por ácinos e ductos. Os ácinos são globosos e estão dispostos em forma de cacho de uvas. Os ácinos estão aderidos uns aos outros por meio de uma malha de fibras colágenas. Os ductos estão em íntima relação com os ácinos. A sua ultraestrutura revelou a presença de ácinos estritamente mucosos, em intensa atividade de síntese e secreção de material para a luz ductal. Os grânulos sintetizados por estas células são eletrólucos e alguns destes grânulos possuem um ponto eletrondenso em seu interior.

REFERÊNCIAS

- ÇINAR, K.; ÖZTOP, M.; ÖZKARASU, B. Glycoconjugate composition of ovine parotid glands elucidated by lectins. **Journal of Morphological Science**, 33(1):8-13, 2016.
- KRAUSE, W. J. Microscopy of the koala mandibular (Submandibular) glands. **Anatomia Histologia Embryologia**. 39, 503–508, 2010.
- JEONG, S. J.; BAE, C. S.; LEE, H. Y.; CHOI, B. D.; YOON, M. H.; JEONG, M. J. Comparative ultrastructure of secretory granules of the submandibular gland in the Korean Spider Shrew, *Sorex caecutiens*, the Lesser White-toothed Shrew, *Crocidura suaveolens* and the Big White-toothed Shrew, *Crocidura lasiura*. **Applied Microscopy**; 42(4):186-193, 2012.
- 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**, 47(1):8-12, 2017.
- LENTLE, R. G.; HUME, I. D.; KENNEDY, M. S.; STAFFORD, K. J.; POTTER, M. A.; SPRINGETT, B. P.; HASLETT, S. The histology and morphometrics of the major salivary glands of four species of wallabies (Marsupialia: Macropodidae) from Kawau Island, New Zealand. **Journal Zoology London**. 257, 403-410, 2002.
- MANSOURI, S. H.; ATRI, A. Ultrastructure of parotid and mandibular glands of camel (*Camelus dromedarius*). **Journal of Applied Animal Research**, 6(2):131-141, 1994.
- OLIVEIRA JÚNIOR, C. M.; BEZERRA, F. V. F.; CÂMARA, F. V.; VALE, A. M.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, A. R.; AMBROSIO, C. E.; OLIVEIRA, M. F. Morfologia das glândulas salivares maiores em cutias (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1766). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(3):227-236, 2016.
- OKADA, H.; KANNO, T.; TAMAMURA, R.; NAKADA, H.; SASAKI, Y.; KANEDA, T.; ENDOH, M.; WAKAMATSU, Y.; SUZUKI, K. Histological features of the submandibular glands in the gray short-tailed opossum (*Monodelphis domestica*). **Journal of Hard Tissue Biology**, 23(3): 357-362, 2014.
- PHILLIPS, C. J.; TANDLER, B. **Mammalian evolution at the cellular level**. In: Current Mammalogy, ed. GENOWAYS, H. H. (Plenum Press, New York), pp. 38-53, 1987.
- PHILLIPS, C. J.; TANDLER, B. NAGATO, T. **Evolutionary divergence of salivary gland acinar cells: A format for understanding molecular evolution**. In: DOBROSIELSKI-VERGONA, K. (ed.). Biology of the salivary glands, Boca Raton. CRS Press, pp.39-80, 1993.
- PÍCOLI, L. C.; DIAS, F. J.; ISSA, J. P. M.; OGAWA, K.; CIENA, A.; IYOMASA, M. M.; LOPES, R. A.; WATANABE, I.; Ultrastructure of submandibular salivary glands of mouse: TEM and HRSEM observations. **Microscopy Research and Technique**, 74:1154-1160, 2011.
- 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. F. Análise microscópica e

ultraestrutural das glândulas salivares mandibulares de *Procyon cancrivorus*. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 33(1):39-44, 2013.

SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, 26(1):57-60, 1970.

SHACKLEFORD, J. M., KLAPPER, C. E. Structure and carbohydrate histochemistry of mammalian salivary glands. **The American Journal Anatomy**, 11(1):25-48, 1962.

TANDLER, B.; ERLANDSON, R. A. Ultrastructure of baboon parotid gland. **The Anatomical Record**, 184(1):115-31, 1976.

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, p.241, 2003.

6 CAPÍTULO 3 - MORFOLOGIA DA GLÂNDULA SUBLINGUAL EM CATETOS (*Pecari Tajacu* LINNAEUS, 1758).

6.1 RESUMO

A atividade das glândulas salivares maiores consiste na síntese e secreção de saliva na cavidade oral, auxiliando na lubrificação oral, iniciando a digestão de alimentos, no sabor e imunidade. Esse trabalho objetiva estudar as glândulas sublinguais de cateto ao longo do desenvolvimento etário do animal, de modo a poder fornecer informações sobre a morfologia dessas glândulas. As glândulas foram analisadas por meio de descrição macroscópica e também por microscopia de luz e eletrônica. A microscopia de luz seguiu metodologia para caracterização histoquímica dos grânulos de secreção e também de técnicas de imunohistoquímica para caracterização dos carboidratos de membrana. Seguindo a metodologia constatou-se que a sublingual é uma glândula par e possui duas porções, a polistomática e a monostomática. A polistomática localiza-se no assoalho da cavidade oral, enquanto a monostomática localiza-se próxima a mandibular. O peso, comprimento, largura e espessura dessas glândulas aumentou ao longo do crescimento do animal. Microscopicamente são glândulas mucosas, sintetizando mucinas neutras e ácidas em grandes quantidades, além disso, demonstraram positividade para algumas lecitinas. A ultraestrutura glandular revelou que os ácinos são globosos, dispostos em forma de cacho de uvas, aderidos uns aos outros por meio de uma malha de fibras colágenas. Os ductos estão em íntima relação com os ácinos. A ultraestrutura demonstrou que as glândulas são revestidas por uma cápsula de tecido conjuntivo e dessa cápsula partem septos que dividem a glândula em lóbulos. As células acinares mucosas apresentam inúmeros grânulos de secreção em variadas eletrondensidades, mas em sua maioria eletronlucentes.

Palavras-chaves: Carboidratos de membrana, desenvolvimento pós-natal, animais silvestres, taiassuídeos.

6.2 INTRODUÇÃO

A atividade das glândulas salivares maiores consiste na síntese e secreção de saliva na cavidade oral, auxiliando na lubrificação oral, iniciando a digestão de alimentos, no sabor, imunidade e homeostase oral. A saliva é produzida por ácinos, esses são constituídos por células acinares dispostas a formar um lúmen central. São as células acinares as sintetizadores de saliva e por meio da coordenação nervosa aumentam ou diminuem a atividade salivar. As células acinares produzem secreção serosa ou mucosa, que contém água, sais e proteínas, enquanto as células ductais modificam a secreção, principalmente pela reabsorção do sal. Além das células acinares e ductais, há também a presença de células contráteis, as células mioepiteliais. Essas células circundam o lúmen acinar e os ductos intercalares. As células mioepiteliais são células epiteliais com função de contração semelhantes às fibras musculares (MARTINEZ-MADRIGAL e MICHEAU, 1989). As células mioepiteliais são uma parte importante das glândulas salivares. Essas células compartilham recursos de células musculares lisas, estão aderidas à membrana basal por meio de placas basais, seus núcleos são fusiformes e paralelos ao eixo das células. RER e complexo de Golgi são escassos (YOUNG e VAN LENNEP, 1978). Nem todos os cortes favorecem a visualização das células mioepiteliais, secções transversais tornam sua diferenciação das células acinares mais aparentes, pois nestes cortes o perfil nuclear torna-se fusiforme, com o eixo longo paralelo à base do ácino associado (HAN, KIM e CHO, 1976).

Para Denny et al. (2008) a saliva humana evoluiu para desempenhar inúmeras funções, iniciando, ainda na cavidade oral, a digestão de carboidratos e lipídeos, secretando mucinas auxiliares da proteção e cicatrização oral, mucinas tipo MUC5b e MUC7 associadas e proteínas ricas em prolina são responsáveis por formar uma película protetora aos dentes prevenindo a adesão bacteriana ao dente. As células acinares, tanto mucosas quanto serosas, são as responsáveis pela síntese da saliva. A saliva sintetizada permanece na célula armazenada em grânulos de secreção. A secreção salivar ocorre quando a membrana do grânulo de secreção une-se a membrana celular na porção apical da célula acinar, a consequência dessa união resulta na junção da membrana granular à membrana plasmática, enquanto o conteúdo do grânulo é despejado no lúmen acinar (AMSTERDAM, OHAD e SCHRAMM, 1969).

Após a secreção lúmen acinar, a saliva segue em direção ao lúmen do ducto intercalar, o primeiro e menor ducto de uma série de ductos que a saliva irá percorrer antes de finalmente

ser liberada na cavidade oral. Durante esse percurso, a saliva é modificada pelas células ductais, deixando de ser um líquido isotônico e tornando-se hipotônico (TURNER e SUGIYA, 2002).

As glândulas sublinguais, de um modo geral, ainda são pouco estudadas, no entanto, juntamente com a parótida e a mandibular, são responsáveis pela manutenção da saúde bucal e conhecer sua morfologia. Levando-se em consideração a importância das glândulas salivares para digestão, e que os trabalhos abordando a morfologia de tayassuídeos não envolvem informações acerca da morfofisiologia das glândulas salivares, este trabalho objetiva preencher a lacuna existente sobre a morfologia das glândulas sublinguais de cateto.

6.3 MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho utilizou oito catetos de idades diferentes, de ambos os sexos, obtidos do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres – CEMAS/UFERSA, criadouro científico, registrado junto ao IBAMA com o número 1478912. Ocupa uma área de 20 ha, está aproximadamente 16 metros acima do nível do mar e suas medidas de georreferenciamento estão entre as coordenadas geográficas 5° 11' S e 37° 20' W Gr. Os animais eram mantidos em piquetes, alimentados com ração e frutas, e a água era *ad libitum*.

6.3.1 Protocolo de eutanásia

A metodologia utilizada no projeto foi aprovada pelo SISBIO (Parecer nº 47439-2) e também pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFERSA (Parecer nº 23091.007472/2016-24). Todos os procedimentos foram realizados nas dependências da UFERSA, no Laboratório de Morfofisiologia Animal Aplicada do Departamento de Ciências Animais.

Os animais foram primeiramente submetidos a pré-anestesia com a utilização de xilazina⁹ e cetamina¹⁰ aplicadas no músculo semimembranoso. A indução anestésica era feita pela via intravenosa (veia cefálica) com administração de tiopental¹¹. Em seguida, uma solução de cloreto de potássio¹² era infundida, pelo mesmo acesso venoso.

⁹ Xilazina a 10%, na dose de 1mg/kg.

¹⁰ Cetamina 5%, na dose de 10mg/kg.

¹¹ Tiopental 1g na dose de 25mg/kg.

¹² Cloreto de potássio a 19,1% na dose de 1mL/kg.

6.3.2 Procedimento de macroscopia e coleta de material

Os animais após a eutanásia eram dissecados. Previamente era realizada uma incisão ventral, sentido craniocaudal, até a porção cervical do músculo esterno-hióideo. Novas incisões eram feitas no contorno dos olhos e das orelhas para, só então, ser feito o rebatimento do tecido cutâneo, tela subcutânea e do músculo parotidoauricular, para que dessa forma as glândulas salivares maiores pudessem ser exteriorizadas, analisadas, fotografadas e avaliadas quanto à topografia, textura, coloração, forma e cor. Para documentação macroscópica foi utilizada uma câmera fotográfica (Nikon D7200).

6.3.3 Medição morfométrica e de volume glandular

As glândulas foram pesadas utilizando uma balança de precisão (AL200C, Marte, Brasil, 200g – 0,001g), seguindo a metodologia de Scherle (1970). Pesava-se um frasco contendo solução fisiológica e em seguida mergulhava-se a glândula e obtinha-se nova pesagem. A diferença entre as pesagens correspondia ao peso glandular, que é igual ao seu volume em milímetros cúbicos. Por convenção 1g equivale a 1000 mm³. Para a avaliação de comprimento, largura e espessura as glândulas foram medidas por meio de um paquímetro digital (Digimatic Caliper, Mitutoyo, 150 mm - 6 Pol). O comprimento era medido tomando por base a maior extensão da glândula e a largura por sua menor extensão. Como a glândula parótida possuía uma superfície irregular, na medição da largura e espessura, três locais eram medidos e fazia-se uma média aritmética dos três locais para inferir a medição da glândula.

6.3.4 Procedimento para microscopia de luz

Para diminuir os vieses e possíveis interferências, os espécimes passaram por um processo de isotropização, ou seja, passaram por um processo para que todas as regiões da amostra tivessem a mesma oportunidade de serem vistas ao microscópio. As secções foram

feitas de forma aleatória. Fragmentos de tecido com cerca de 0,5 cm, eram retirados e acondicionados em frascos contendo solução dos fixadores Bouin ou paraformaldeído a 4% tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4° C.

Após fixação, o material era lavado em água corrente para retirada do excesso de fixador e submetido à metodologia adaptada de Tolosa et al. (2003) para obtenção das lâminas. As lâminas eram submetidas à coloração por Hematoxilina-Eosina (HE); Ácido Periódico de Schiff (PAS) para detecção de mucinas neutras e sialomucinas lábeis, Alcian Blue (pH 2,5) para detecção de sialomucinas e sulfomucinas; PAS associado com Alcian Blue (pH 2,5) para detecção de ácidos sintetizadores de determinadas mucinas e Tricrômico de Gomori para marcação de fibras colágenas. Para a metodologia de PAS e Alcian Blue (pH 2,5) foi utilizado um grupo controle sabidamente positivo para estas colorações.

Finalizada a coloração, era realizada a montagem das lâminas. A análise das mesmas era realizada em microscópio de luz (LEICA ICC50W) em objetivas com aumento variando entre 10X a 100X (objetiva de imersão). As lâminas mais representativas eram fotomicrografadas em um aparelho da marca Leica, modelo ICC50W.

6.3.5 Procedimento para imunohistoquímica

Para esta etapa, foi seguido o protocolo adaptado de Çinar, Öztöp e Özkarasu (2016). Cortes de 5 µm de espécimes com quatro e sete meses, foram aderidos em lâminas silanizadas, desparafinizados em xilol (dois banhos de 5 minutos), reidratados em concentrações decrescentes de etanol (100%, 95% e 70%) por 5 minutos, imersos em peróxido de hidrogênio a 3% por 30 minutos, lavados em 3 imersões de 5 minutos em água destilada e depois 3 imersões de 5 minutos em PBS 01 mM em cada lavagem.

A exposição antigênica dos tecidos foi realizada em tampão citrato (10 mM, pH 6,0), acondicionamento em aparelho de micro-ondas (60°C por 15 minutos), seguida por três lavagens em PBS. Na etapa seguinte foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena e das reações inespecíficas utilizando o Kit DAKO em câmara úmida por 30 minutos, seguido de 3 lavagens de 5 minutos em PBS e prosseguindo-se com a incubação dos espécimes com as lecitinas em câmara úmida. Foram utilizadas quatro lecitinas *Canavalia ensiformis* – Con-A (Referência: C2272, Sigma-Aldrich®), *Bandeiraea simplicifolia* – BSA-I-B4 (Referência:

L2140, Sigma- Aldrich[®]), *Triticum vulgare* – WGA (Referência: L5142, Sigma- Aldrich[®]), *Arachis hypogaea* – PNA (Referência: L6135, Sigma- Aldrich[®]). O controle negativo foi feito utilizando PBS em câmara úmida ao invés das lecitinas.

Tabela 5 - Licitinas e concentrações utilizadas para imunohistoquímica das glândulas salivares maiores de catetos (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

Lecitina	Abreviatura	Ligação de carboidratos especificidade ^{a, b}	Concentração (mg/mL) ^c
<i>Canavalia ensiformis</i>	Con-A	α Man> α Glc> α GlcNAc	0,29 mg/mL
<i>Bandeiraea simplicifolia</i>	BSA-I-B ₄	α Gal> α GalNAc	0,5 mg/mL
<i>Triticum vulgare</i>	WGA	GlcNAc(β 1,4GlcNAc) ₁₋₂ > β GlcNAc >Neu5Ac	0,1 mg/mL
<i>Arachis hypogaea</i>	PNA	Gal β 1,3GalNAc> α and β Gal	0,1 mg/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; GalNAc, N-acetilgalactosamina; Neu5Ac, Ácido 5-acetilneuraminico; Neu5Ac, ácido 5-acetilneuraminico; NeuNAc, Ácido N-acetilneuraminico.

c – Tabela modificada de acordo com Çinar, Öztop e Özkarasu (2016).

Após uma incubação de aproximadamente 8 horas, procedeu-se a retirada das lecitinas em 3 lavagens de 5 minutos com PBS, seguido de sua incubação 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 (Scytek DAB Substrate Cromogen - Bioscience[®]) diluído em substrato específico (Scytek DAB Substrate - Bioscience[®]). As lâminas foram montadas com uso de Permunt[®] (Fisher Scientific), analisadas e fotografadas (LEICA ICC50W).

6.3.6 Procedimento de material para microscopia eletrônica de transmissão

Porções distintas das glândulas salivares eram coletadas com dimensão de cerca de 0,5 mm² e 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. Após fixação, eram feitas lavagens das amostras em solução tampão fosfato de sódio e em seguida pós-fixadas em tetróxido de ósmio a 2% e em sequência contrastadas com acetato de uranila a 3%. Posteriormente, o material era desidratado em concentrações crescentes de álcool etílico, lavados com óxido de propileno, óxido de propileno-resina e resina Spurr. A polimerização da resina era completada quando o material era levado à estufa a 60°C por 72 horas. Após isso, os blocos eram cortados com o auxílio de um ultramicrótomo (Ultracut R, Leica Microsystems, Germany) e em seguida, 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) e as regiões mais representativas eram eletromicrografadas. As análises através da microscopia eletrônica foram realizadas no Laboratório de Histologia do setor de Anatomia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo.

6.3.7 Procedimento de material para microscopia eletrônica de varredura

Após a coleta, os espécimes selecionados para a análise eram fragmentados ou criofraturados com nitrogênio líquido e obtinha-se fragmentos com cerca de 0,5 a 1 cm, em seguida, o material era fixado em solução de glutaraldeído a 2,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1M, pH 7,4 a 4°C. Completada a fixação os fragmentos eram lavados 3 vezes, de 5 minutos cada, em água destilada e em seguida eram pós-fixados com tetróxido de ósmio a 0,5% tamponado com fosfato de sódio 0,1M e pH 7,4, por 40 minutos. Concluída a pós-fixação lavava-se o material, 3 vezes de 10 minutos cada, em água destilada. Em seguida procedia-se a desidratação do material imergindo-os em concentrações diferentes e ascendentes de álcool, (7,5% por 10 minutos, 15% por 10 minutos, 30% por 10 minutos, 50% por 10 minutos, 70% por 15 minutos, 90% por 15 minutos e 100% por 10 minutos) em cada concentração as amostras eram imersas 2 vezes.

Completada a desidratação o material era seco em aparelho de ponto crítico (Quorum K 850) utilizando gás carbônico (CO₂), afixado em suporte do ponto de amostra (Stub) e metalizado com ouro por “sputtering” (Quorum Q 150R ES), para observação e obtenção de imagens em microscópio eletrônico de varredura (TESCAN VEGA 3 LMU), pertencente ao

Laboratório de Microscopia Eletrônica do Centro de Pesquisas Vegetais do Semi-Árido (CPVSA) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

6.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A glândula sublingual dos catetos está dividida em duas porções, a monostomática e a polistomática. A porção polistomática é maior que a porção monostomática. A porção polistomática da glândula sublingual está localizada no assoalho da cavidade oral, próxima a sínfise da mandíbula. O segmento cranial está próximo ao músculo gênio- hioideo, o dorso da glândula repousa sobre o músculo milo-hióideo e ventralmente a glândula faz sintopia com o músculo hipoglosso, esse aspecto macroscópico é semelhante ao observado em humanos (BRADLEY, 2016). Na porção ventral da glândula passa o ducto principal da glândula mandibular e vários pequenos ductos da glândula sublingual convergem para o ducto mandibular. A irrigação sanguínea e a drenagem venosa ocorrem por ramos da artéria e veia linguais, assim como em humanos (BRADLEY, 2016).

A análise morfométrica da porção polistomática demonstrou que o seu peso, a largura, espessura e comprimento da glândula aumentaram com o avançar da idade do animal, além disso, os antímeros direito e esquerdo apresentavam divergências (Tab. 6).

Tabela 6 - Medidas morfométricas e peso das glândulas sublinguais polistomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

Meses	Sublingual polistomática							
	Antímero direito				Antímero esquerdo			
	C	L	E	P	C	L	E	P
4F	35,08	5,19	2,80	0,8186	32,33	6,44	2,55	0,6738
4F	34,78	7,67	3,26	0,8671	26,82	6,37	2,83	0,9401
5F	34,62	6,33	2,29	0,8056	33,13	6,62	2,48	0,6538
5M	23,90	7,84	2,58	0,8396	22,01	8,52	2,64	0,9265
6F	33,30	7,43	3,74	1,1818	32,88	7,15	3,83	1,0788
6M	28,52	9,04	4,23	0,8511	29,58	10,05	3,65	0,7884
7F	31,52	8,54	4,19	1,5468	32,55	10,11	3,44	1,7033
7M	32,27	9,34	3,97	1,2518	31,44	9,75	3,88	1,3398

C: comprimento (mm); L: largura (mm); E: espessura (mm) e P: peso (gramas). Fêmea (F) e macho (M).

A monostomática é a menor glândula, está localizada rostralmente à glândula mandibular e seu tamanho diminuto faz parecer que esta é uma continuação da glândula mandibular, a diferenciação só é possível por meio da microscopia. Sua forma lembra um feijão e seu ducto converge para o ducto mandibular e deste parte para a cavidade oral.

A análise morfométrica da porção monostomática demonstrou que o seu peso, a largura, espessura e comprimento da glândula aumentaram com o avançar da idade do animal, além disso, os antímeros direito e esquerdo apresentavam divergências (Tab. 7).

Tabela 7 - Medidas morfométricas e peso das glândulas sublinguais monostomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758).

Meses	Sublingual monostomática							
	Antímero direito				Antímero esquerdo			
	C	L	E	P	C	L	E	P
4F	12,30	8,84	2,13	0,4833	12,01	7,47	2,20	0,2764
4F	12,25	4,91	1,27	0,3826	12,40	5,17	1,68	0,2774
5F	16,98	7,60	3,74	0,2685	15,64	8,78	3,54	0,4397
5M	10,62	7,18	3,61	0,4676	11,96	6,45	4,16	0,3986
6F	14,14	7,61	3,06	0,3211	13,40	9,88	3,52	0,5843
6M	17,78	8,45	3,47	0,4725	16,34	8,76	3,11	0,5663
7F	17,96	9,37	3,69	0,9533	17,70	9,78	3,11	0,7434
7M	17,38	9,48	3,47	0,7206	18,36	9,45	3,66	0,6892

C: comprimento (mm); L: largura (mm); E: espessura (mm) e P: peso (gramas). Fêmea (F) e macho (M).

Microscopicamente as glândulas sublinguais assemelharam-se, pois ambas são mucosas, diferindo das glândulas salivares sublinguais de humanos (YOUNG e VAN LENNEP, 1978) e ratos (KIM, NASJLETI e HAN, 1971). Os ácinos apresentaram células produtoras de muco caracterizadas por possuírem citoplasma repleto de grânulos de secreção, o núcleo estava na porção basal das células e sua forma era achatada em decorrência da grande quantidade de grânulos de secreção. Além disso, o parênquima glandular estava dividido por septos de tecido conjuntivo denso não-modelado, oriundos da cápsula (Fig. 13 e 14). No estroma e no parênquima glândula e há também inúmeros ductos, os ductos mais próximos dos ácinos são menores do que os ductos observados na região interlobular.

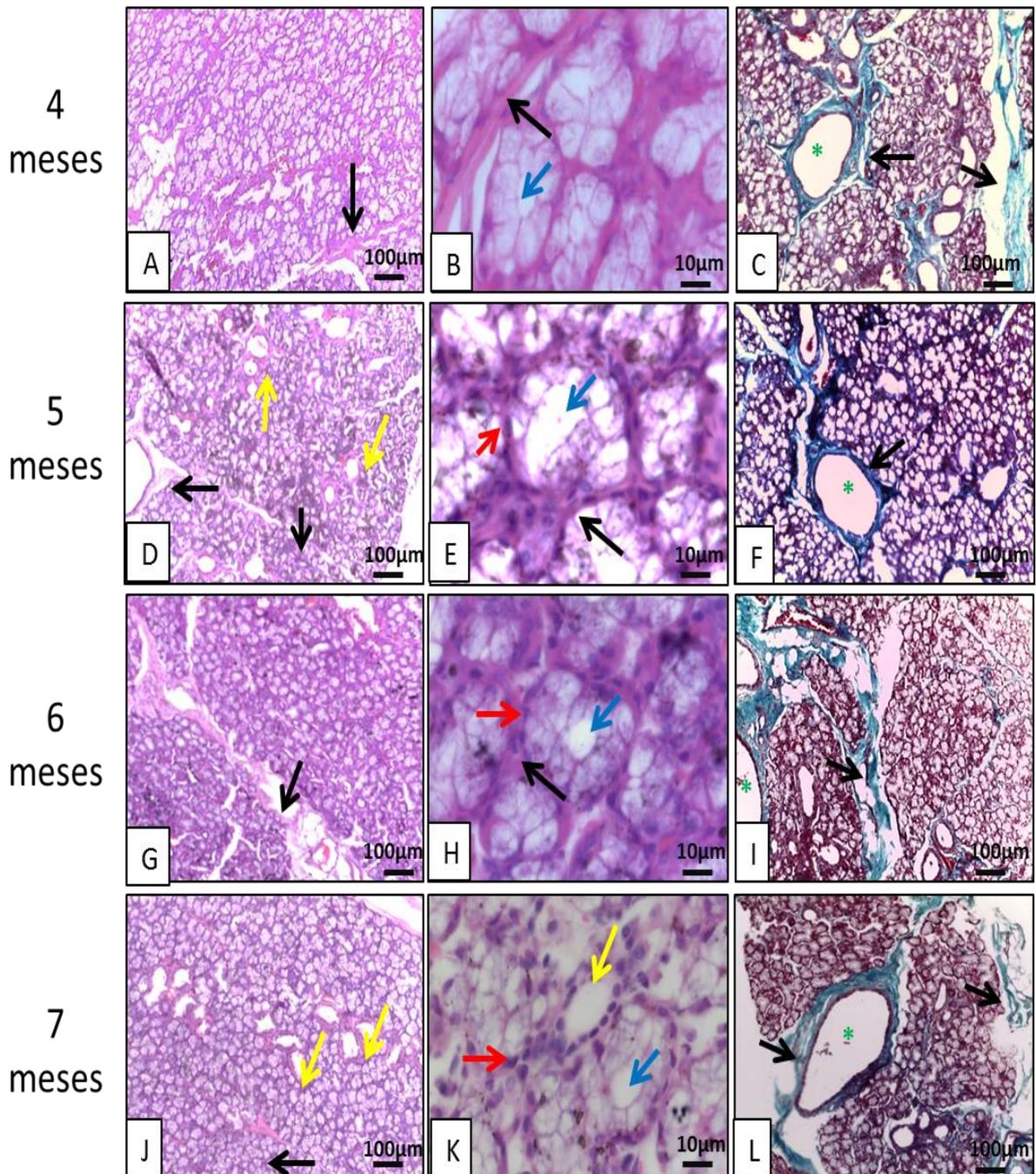


Figura 13 - Fotomicrografias da glândula sublingual polistomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J Os ácinos e ductos (setas amarelas) são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K Os ácinos e ductos (setas amarelas) são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). As células acinares organizam-se de modo a formar o lúmen acinar (setas azuis), os núcleos dessas células são esféricos e coram-se fortemente por hematoxilina (setas vermelhas). Em C, F, I e L o tecido conjuntivo (setas pretas) delimitava os ácinos e os ductos (*). A, B, D, E, G, H, J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L coloração Tricrômico de Gomori.

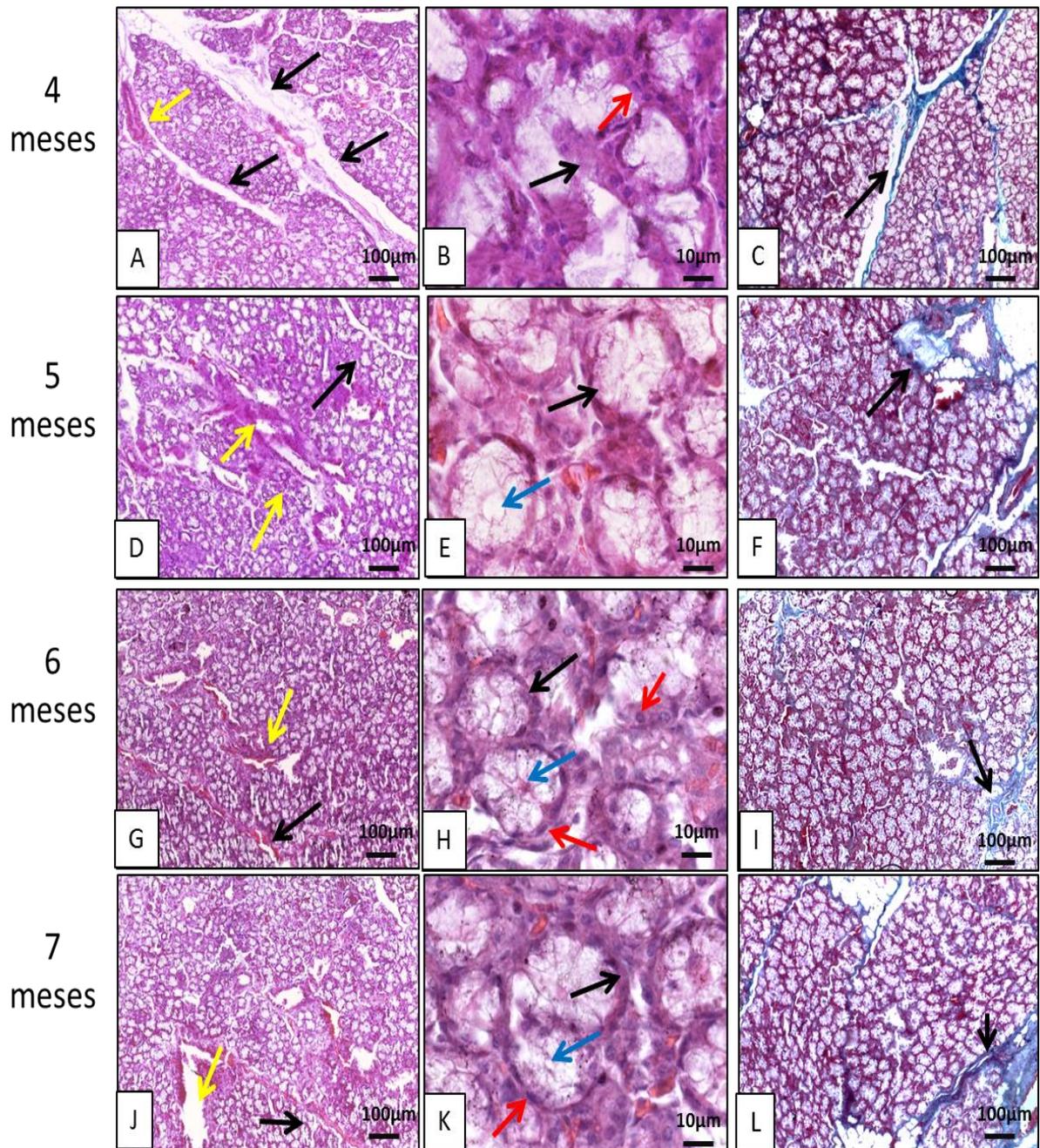


Figura 14 - Fotomicrografias da glândula sublingual monostomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A, D, G e J Os ácinos e ductos (setas amarelas) são individualizados por tecido conjuntivo (setas pretas). Em B, E, H e K tecido conjuntivo (setas pretas) delimitam os ácinos e os ductos (setas amarelas), os núcleos são achatados, coram-se fortemente por hematoxilina e estão na região basal (setas vermelhas) As células acinares estão com seu ápice voltado ao lúmen acinar (setas azuis). C, F, I e L os ácinos e ductos estão individualizados por malhas de fibras colágenas. A, B, D, E, G, H, J, e K coloração Hematoxilina-Eosina; C, F, I e L coloração Tricrômico de Gomori.

Seu estroma era pouco desenvolvido, todavia, seus ácinos são maiores que os ácinos da mandibular e da parótida e fortemente eosinofílicos. Esses achados morfológicos estão em acordo

ao observado em quatro espécies de Macropodidae (LENTLE et al., 2002), diferindo com relação à presença de células serosas. As sublinguais apresentaram maior positividade às colorações PAS, Alcian Blue (pH 2,5) e também na associação PAS e Alcian Blue (pH 2,5) do que as glândulas mandibular e parótida, reforçando a hipótese de que produzem mucopolissacarídeos ácidos e neutros em grande quantidade (Fig. 15 e 16). Esta estrutura histoquímica diferiu das sublinguais do tammar wallabie (*Macropus eugenii*), pois, nessa espécie, os ácinos são fracamente PAS-positivas (LENTLE et al., 2002).

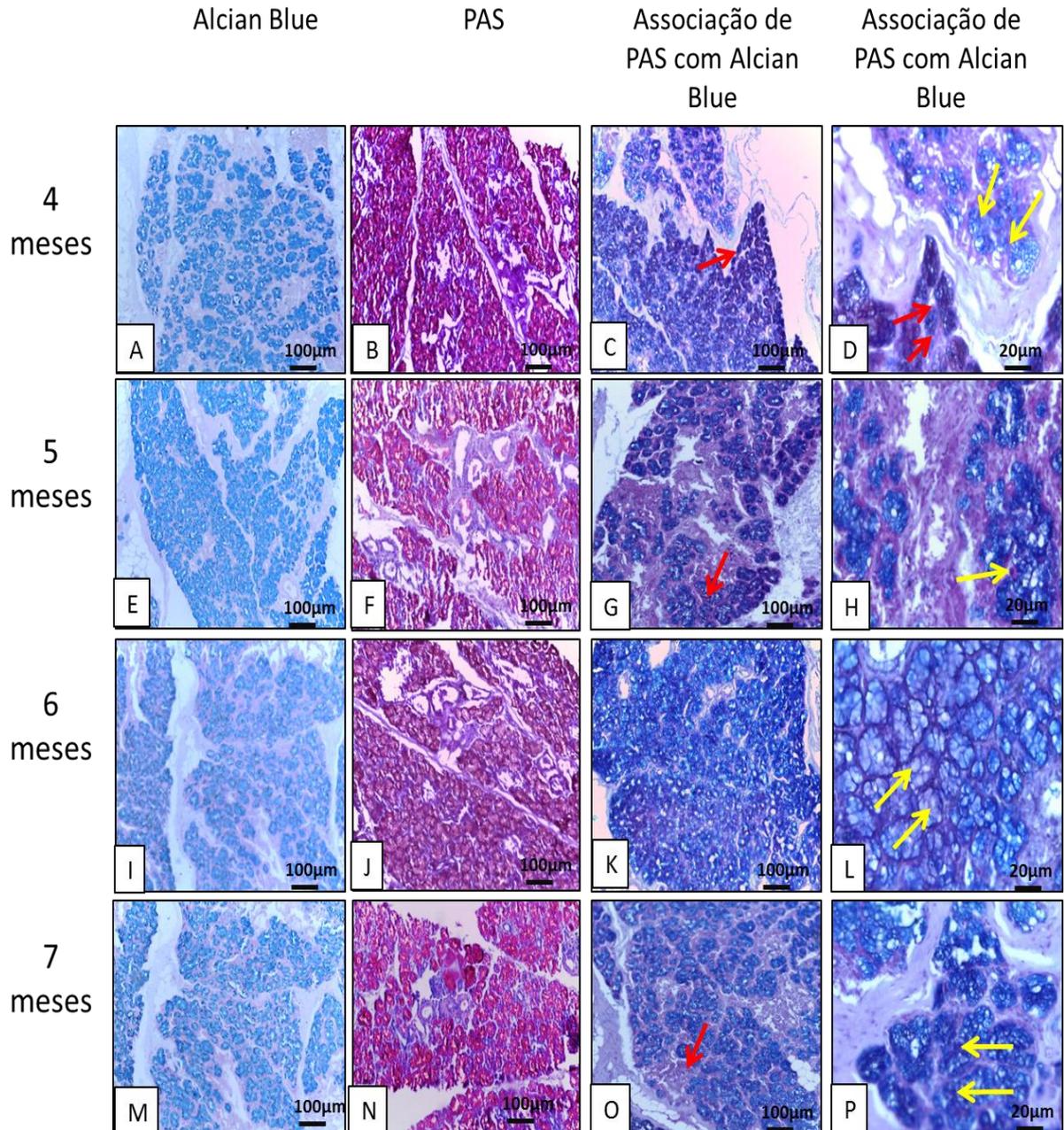


Figura 15 - Fotomicrografias da glândula sublingual polistomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a forte positividade da sublingual ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, J e N demonstram uma forte positividade ao método Ácido Periódico de Schiff. As imagens C, D, G, H, K, L, O e P demonstram uma maior atividade secretora de polissacarídeos ácidos, visto que há sobreposição do Alcian Blue (pH 2,5) sobre a positividade ao Ácido Periódico de Schiff.

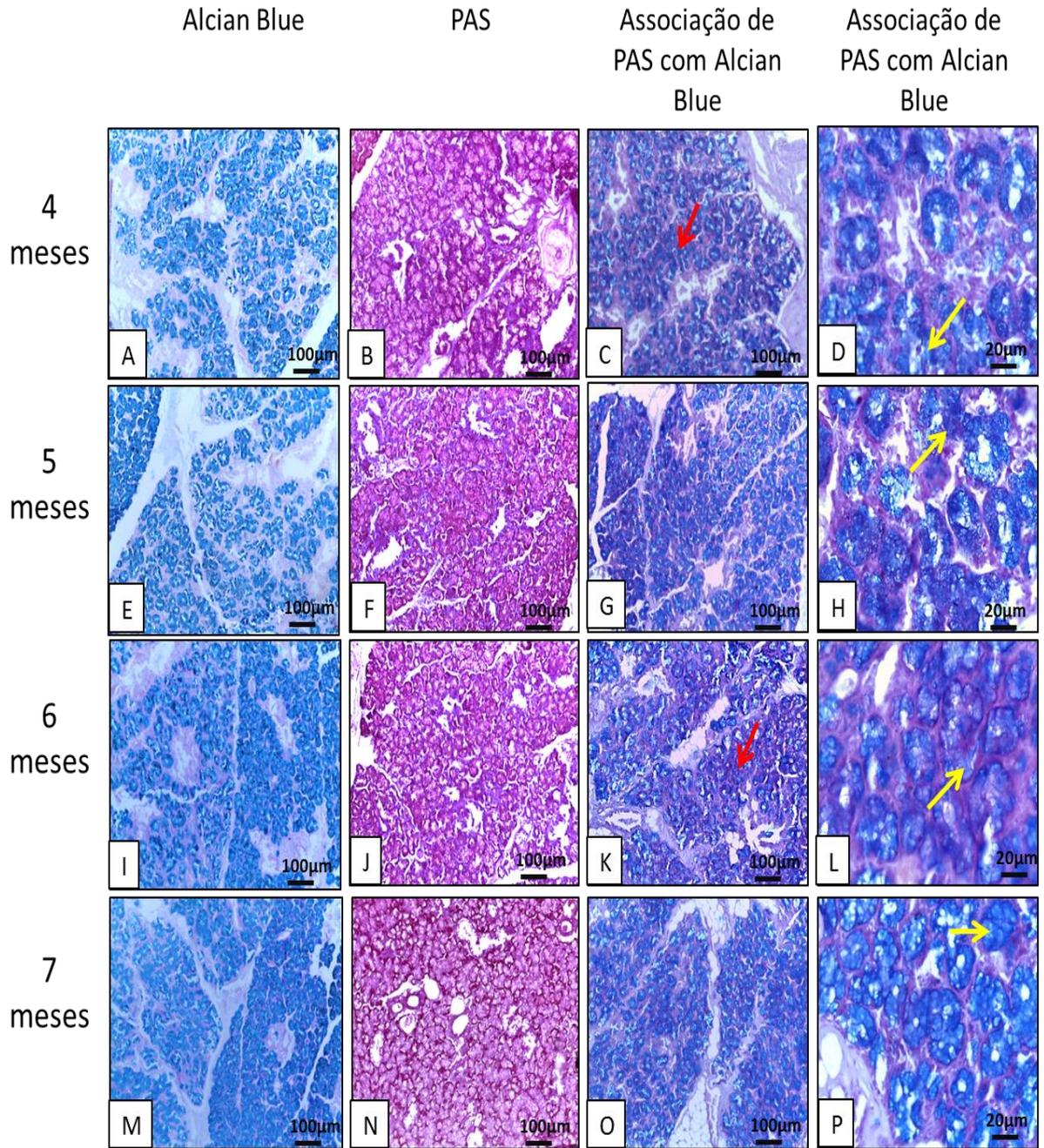


Figura 16 - Fotomicrografias da glândula sublingual monostomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). As imagens A, E, I e M representam a forte positividade da sublingual ao método Alcian Blue (pH 2,5). As imagens B, F, J e N demonstram uma forte positividade ao método Ácido Periódico de Schiff. As imagens C, D, G, H, K, L, O e P demonstram uma maior atividade secretora de polissacarídeos ácidos, visto que há sobreposição do Alcian Blue (pH 2,5) sobre a positividade ao Ácido Periódico de Schiff.

A reação imunohistoquímica por meio de lecitinas demonstrou reações positivas de variadas intensidades para diferentes glicoconjugados nas glândulas sublinguais do cateto. Estas marcações também variaram de acordo com a idade dos animais. Aos quatro meses e sete meses de idade, a sublingual polistomática é moderadamente positiva para PNA, BSA I-B₄ e Con-A. Com relação a lecitina WGA, a sublingual polistomática é fracamente positiva aos quatro meses e moderadamente positiva aos sete meses (Fig. 17).

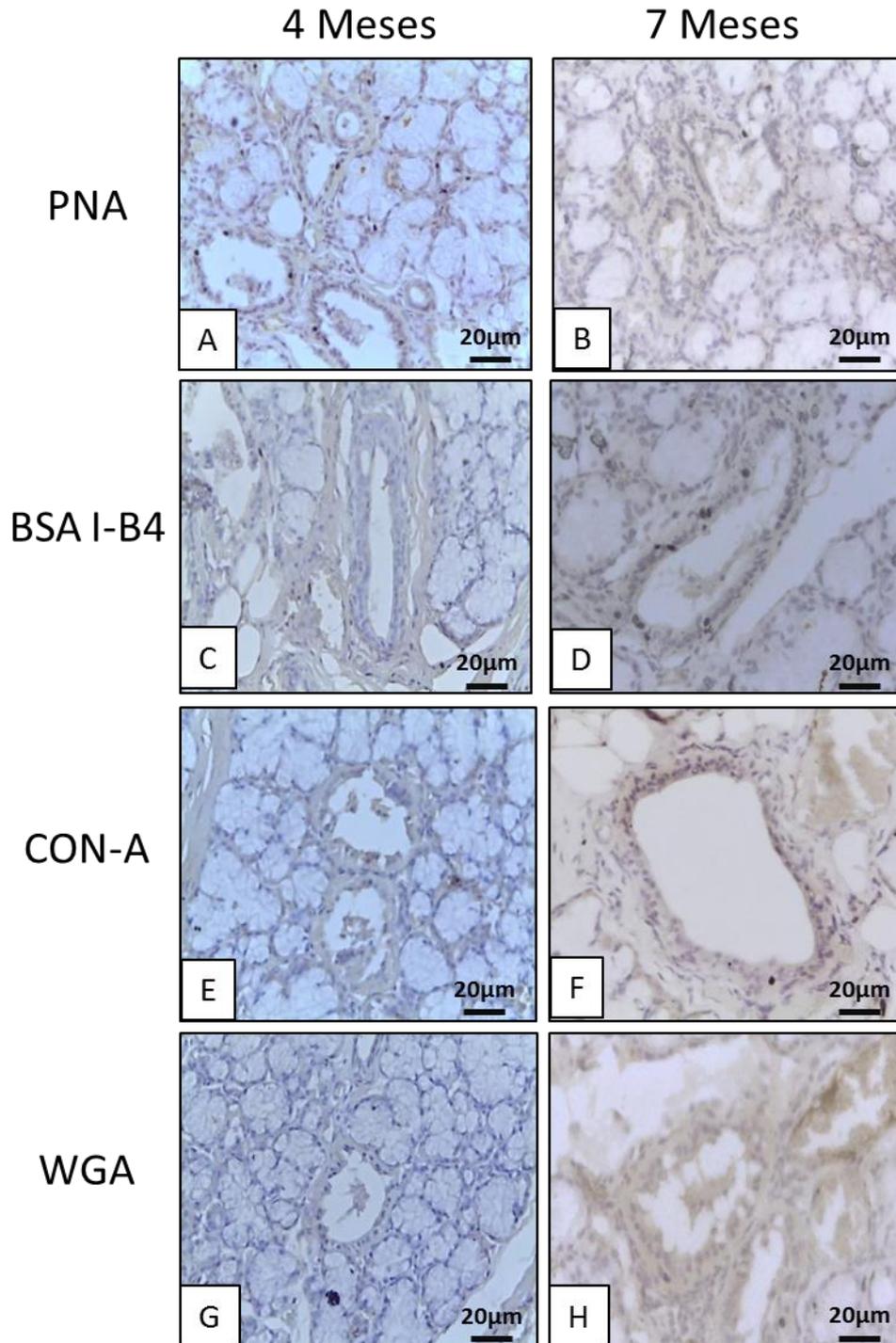


Figura 17 - Fotomicrografias da glândula sublingual polistomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A moderada reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B moderada positividade para lecitina PNA aos sete meses. Em C moderada reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D moderada positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E moderada reação a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F moderada positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G fraca reação a lecitina WGA aos quatro meses. Em H moderada positividade para lecitina WGA aos sete meses.

Com relação a glândula sublingual monostomática houve positividade moderada aos quatro meses para a lecitina PNA e forte aos sete meses. Moderada positividade tanto aos quatro meses quanto aos sete meses para a lecitina BSA I-B₄. Forte positividade para a lecitina Con-A tanto aos quatro meses quanto aos sete meses. Para a lecitina WGA a sublingual foi moderadamente positiva aos quatro meses e fraca aos sete meses (Fig. 18).

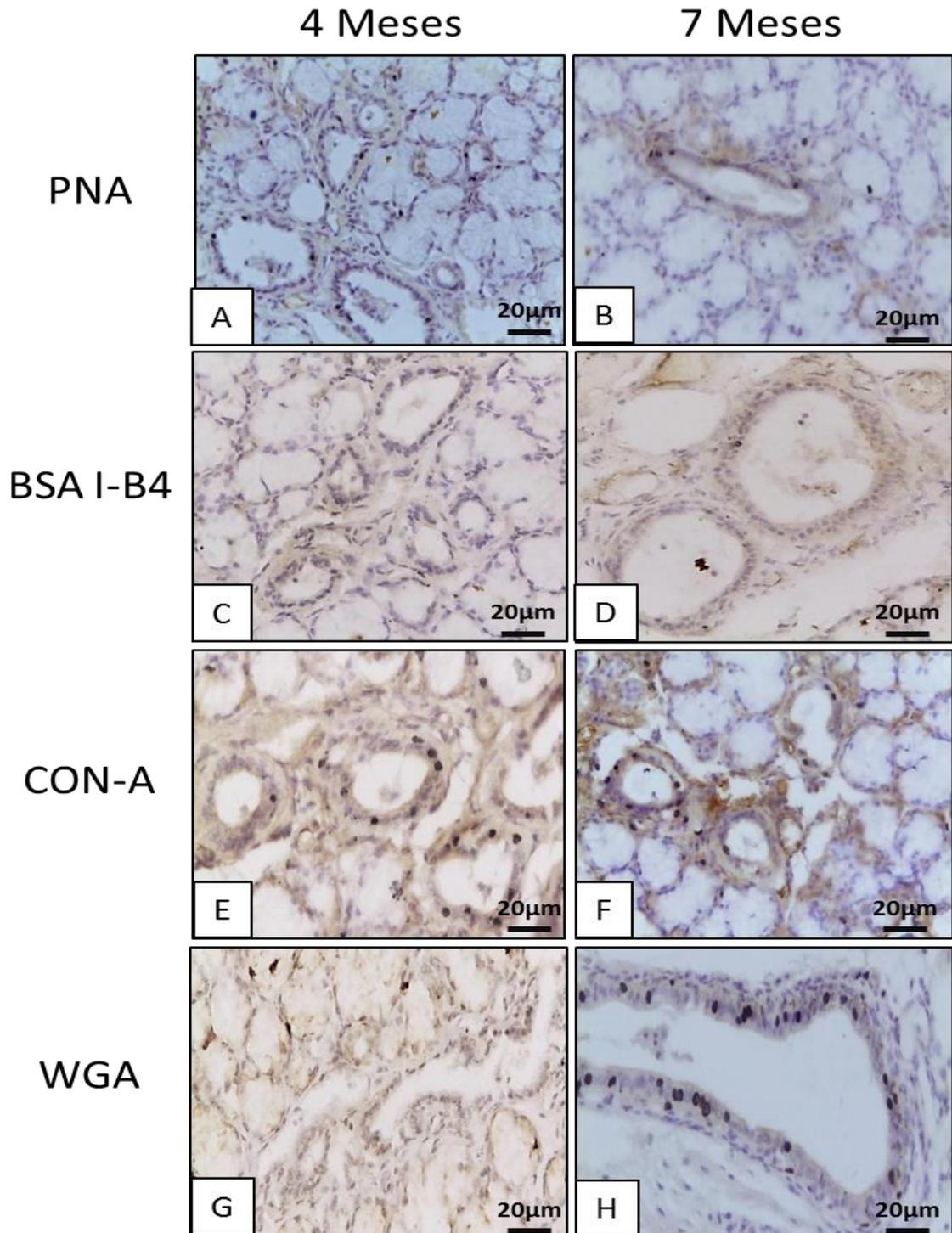


Figura 18 - Fotomicrografias da glândula sublingual monostomática do cateto (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). Em A moderada reação a lecitina PNA aos quatro meses. Em B forte positividade para lecitina PNA aos sete meses. Em C moderada reação a lecitina BSA I-B₄ aos quatro meses. Em D moderada positividade para lecitina BSA I-B₄ aos sete meses. Em E forte reação a lecitina Con-A aos quatro meses. Em F forte positividade para lecitina Con-A aos sete meses. Em G moderada reação a lecitina WGA aos quatro meses. Em H fraca positividade para lecitina WGA aos sete meses.

A sublingual polistomática é uma glândula mucosa, ou seja, seus ácinos são constituídos apenas por células mucosas. As células mucosas da glândula sublingual polistomática se assemelham às células mucosas da mandibular. No citoplasma são encontrados inúmeros grânulos de secreção de baixa a moderada eletrondensidades. Organelas celulares são encontradas na região basal, próximas ao núcleo celular (Fig. 24). A composição estritamente mucosa da glândula sublingual dos catetos diferiu da glândula sublingual adulta de ratos (YAMASHINA, TAMAKI e KATSUMATA, 1999), e também das glândulas sublinguais de cutias (*Dasyprocta leporina*) (OLIVEIRA JÚNIOR et al., 2016), pois nessas espécies são observados dois tipos celulares com características distintas.

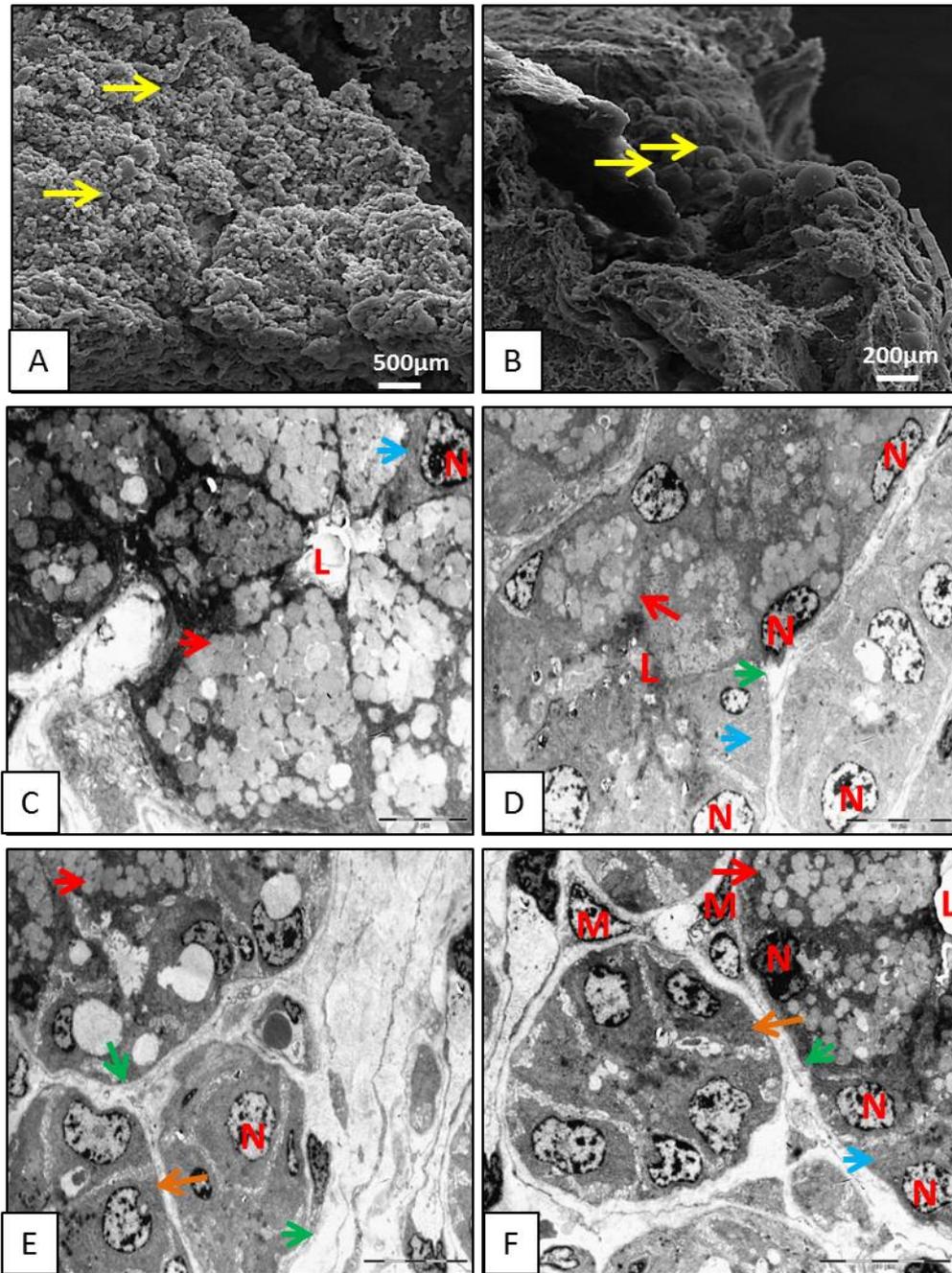


Figura 19 - Eletromicrografias da glândula sublingual polistomática de cateto (*Pecari tajacu*, Linnaeus, 1758). Células acinares produzem grânulos de secreção de variadas eletrondensidades (setas vermelhas) e estas se dirigem ao ápice celular. A base celular estava voltada para o tecido conjuntivo (setas verdes) enquanto o ápice celular formava o lúmen do ácino (L). O núcleo (N) celular apresentou-se esférico, com um nucléolo proeminente e estava localizado na base celular. Próximo aos núcleos foi observado retículo endoplasmático rugoso (setas azuis). No entorno dos ácinos foi possível observar células mioepiteliais (M). Em contato íntimo com os ácinos, observou-se ductos intercalares (seta amarela).

6.5 CONCLUSÃO

Os catetos apresentam um par de glândulas sublinguais divididas em porções, a polistomática e a monostomática. A polistomática é maior que a porção monostomática. A monostomática possui forma que lembra um feijão e está localizada em contato com a glândula mandibular, enquanto a polistomática está localizada no assoalho da cavidade oral. Ambas sintetizam mucinas neutras e ácidas em grandes quantidades.

O parênquima dessas glândulas é constituído por ácinos e ductos. Os ácinos são globosos e estão dispostos em forma de cacho de uvas. Os ácinos estão aderidos uns aos outros por meio de uma malha de fibras colágenas. Os ductos estão em íntima relação com os ácinos. A ultraestrutura dessas glândulas revelou a presença de ácinos estritamente mucosos, em intensa atividade de síntese e secreção de material para a luz ductal. As suas células mucosas possuem inúmeros grânulos de secreção por todo o citoplasma, os maiores grânulos ficam na porção apical das células. Os grânulos sintetizados por estas células são, em sua maioria, eletrólucos.

REFERÊNCIAS

- AMSTERDAM, A.; OHAD, I.; SCHRAMM, M. Y. Dynamic changes in the ultrastructure of the acinar cell of the rat parotid gland during the secretory cycle. **The Journal of Cell Biology**, 41, 753 (1969).
- ÇINAR, K.; ÖZTOP, M.; ÖZKARASU, B. Glycoconjugate composition of ovine parotid glands elucidated by lectins. **Journal of Morphological Science**, 33(1):8-13, 2016.
- BRADLEY, P. J.; FERRIS, R. L. Surgery for Malignant Sublingual and Minor Salivary Gland Neoplasms. **Advances in Oto-Rhino-Laryngology**, 78:113–119, 2016.
- DENNY, P.; HAGEN, F. K.; HARDT, M.; LIAO, L.; YAN, W.; ARELLANNO, M.; BASSILIAN, S.; BEDI, G. S.; BOONTHEUNG, P.; COCIORVA, D.; DELAHUNTY, C. M.; DENNY, T.; DUNSMORE, J.; FAULL, K. F.; GILLIGAN, J.; GONZALEZ-BEGNE, M.; HALGAND, F.; HALL, S. C.; HAN, X.; HENSON, B.; HEWEL, J.; HU, S.; JEFFREY, S.; JIANG, J.; LOO, J. A.; LOO, R. R. O.; MALAMUD, D.; MELVIN, J. E.; MIROSHNYCHENKO, O.; NAVAZESH, M.; NILES, R.; PARK, S. K.; PRAKOBPHOL, A.; RAMACHANDRAN, P.; RICHERT, M.; ROBINSON, S.; SONDEJ, M.; SOUDA, P.; SULLIVAN, M. A.; TAKASHIMA, J.; THAN, S.; WANG, J.; WHITELEGGE, J. P.; WITKOWSKA, H. E.; WOLINSKY, L.; XIE, Y.; XU, T.; YU, W.; YTTERBERG, J.; WONG, D. T.; YATES, J. R.; FISHER, S. J. The proteomes of human parotid and submandibular/sublingual gland salivas collected as the ductal secretions. **Journal of Proteome Research**, 7(5):1994-2006, 2008.
- HAN, S. S.; KIM, S. K.; CHO, M. I. Cytochemical characterization of the myoepithelial cells in palatine glands. **Journal of Anatomy**, 122(3):559-570, 1976.
- LENTLE, R. G.; HUME, I. D.; KENNEDY, M. S.; STAFFORD, K. J.; POTTER, M. A.; SPRINGETT, B. P.; HASLETT, S. The histology and morphometrics of the major salivary glands of four species of wallabies (Marsupialia: Macropodidae) from Kawau Island, New Zealand. **Journal Zoology London**, 257:403-410, 2002.
- KIM, S. K.; NASJLETI, C. E.; HAN, S. S. The Secretion Processes in Mucous and Serous Secretory Cells of the Rat Sublingual Gland. **Journal of Ultrastructure Research**, 38:371-389, 1972.
- MARTINEZ-MADRIGAL, F.; MICHEAU, C. Histology of the major salivary glands. **The American Journal of Surgical Pathology**, 13(10):879-899, 1989.
- OLIVEIRA JÚNIOR, C. M.; BEZERRA, F. V. F.; CÂMARA, F. V.; VALE, A. M.; OLIVEIRA, G. B.; SILVA, A. R.; AMBROSIO, C. E.; OLIVEIRA, M. F. Morfologia das glândulas salivares maiores em cutias (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1766). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 36(3):227-236, 2016.
- SCHERLE, W. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. **Mikroskopie**, 26(1):57-60, 1970.

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, p.241, 2003.

TURNER, R. J.; SUGIYA, H. **Understanding salivary fluid and protein secretion**. Oral Diseases, 8:3-11, 2002.

YAMASHINA, S.; TAMAKI, H.; KATSUMATA, O. The serous demilune of rat sublingual gland is an artificial structure produced by conventional fixation. **Archives of Histology and Cytology**, 62:347-354, 1999.

YOUNG, J. A.; VAN LENNEP, E. W.; **The morphology of salivary glands**. London, Academic Press, p.129-130, 1978.

ANEXOS

ANEXO A – Autorização da CEUA



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

Mossoró, 19 de outubro de 2016.

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado **"MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES DE CATETOS (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758)"**, protocolo n. 23091.007472/2016-24 sob a responsabilidade de **Muacir 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 30/08/2016

Vigência do projeto	Fevereiro a dezembro de 2016
Espécie/Inragem	<i>Pecari tajacu</i>
N. de Animais	17
Peso/idade	Jovens e adultos
Sexo	Machos (n=6)/Fêmeas (n=6)
Origem	CEMAS


Marcelo Barbosa Bezerra
Presidente CEUA-UFERSA

ANEXO B - Autorização do SISBIO



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: 47439-2	Data da Emissão: 06/01/2017 10:39	Data para Revalidação*: 05/02/2018
* 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 Magno Oliveira Júnior	
Título do Projeto: MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM CATETOS (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758)	
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	MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM CATETOS (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758)	06/2016	03/2018

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 n° 03/2014 ou na Instrução Normativa ICMBio n° 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, bioprospecção 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.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

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

Atividades X Táxons

#	Atividade	Táxons
1	Coleta/transporte de amostras biológicas ex situ	<i>Pecari tajacu</i>

Material e métodos

1	Amostras biológicas (Outros mamíferos)	Fragmento de tecido/órgão
2	Método de captura/coleta (Outros mamíferos)	Puçã

Este documento (Autorização para atividades com finalidade científica) foi expedido com base na Instrução Normativa n° 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: 72341984



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: 47439-2	Data da Emissão: 08/01/2017 10:38	Data para Revalidação*: 06/02/2018
* 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 e 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 Magno Oliveira Júnior	
Título do Projeto: MORFOLOGIA DAS GLÂNDULAS SALIVARES MAIORES EM CATETOS (<i>Pecari tajacu</i> Linnaeus, 1758)	
Nome da Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO	CNPJ: 24.529.285/0001-40

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: 72341984



Página 2/3

