KÁTERIN ELENA BOHÓRQUEZ GRONDONA

Morfometria do órgão vomeronasal em ratos adultos

FMVZ - 024155

São Paulo
2005

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
KÁTERIN ELENA BOHÓRQUEZ GRONDONA

DEDALUS - Acervo - FMVZ

11300027825

**Morfometria do órgão vomeronasal em ratos
adultos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato

São Paulo
2005

113 10540

N.º CLASSIFICAÇÃO
T.1212
FmVZ
N.º TOMBO
024155

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

E. B.
BIBLIOTECA VIRGINIE BUFF D'ÁPICE
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
E ZOOTECNIA DA USP
25/11/05

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T.1612
FMVZ

Grondona, Káterin Elena Bohórquez
Morfometria do órgão vomeronasal em ratos adultos / Káterin
Elena Bohórquez Grondona. – São Paulo : K. E. B. Grondona, 2005.
99 f. : il.

Dissertação (mestrado) - Universidade de São Paulo. Faculdade
de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, 2005.

Programa de Pós-graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres.

Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e
Silvestres.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato.

1. Órgão vomeronasal. 2. Dimorfismo. 3. Morfometria.
4. Ratos. I. Título.

Cert
vom
ratos
está
Com
Zoot
refer

(We
in ac
respo
Princ
Facul
and v

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Comissão Bioética

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Morfologia do órgão vomeronasal em ratos adultos", Protocolo nº486/2004, utilizando 20 ratos, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da Comissão de Bioética da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado "ad referendun".

(We certify that the Research "Morfometric study of the vomeronasal organ in adult rats", protocol number 486/2004, utilizing 20 rats, under the responsibility of Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by Bioethic Commission of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechny of University of São Paulo and was approved "ad referendun", meeting.

São Paulo, 03 de setembro de 2004

Profª Drª Júlia Maria Matera
Presidente da Comissão de Bioética
FMVZ/USP

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Nome: GRONDONA, Káterin Elena Bohórquez

Título: Morfometria do órgão vomeronasal em ratos adultos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Data: 14/12/2005

Banca Examinadora

Prof. Dr. Pedro Paulo Barchi Instituição: FMVZ-USP
Assinatura: [assinatura] Julgamento: Aprovado

Prof. Dr. Marcelo Ismael Santana Instituição: PUC MG
Assinatura: [assinatura] Julgamento: Aprovada

Prof. Dr. Juan Carlos Hernandez Blazquez Instituição: FMVZ-USP
Assinatura: [assinatura] Julgamento: aprovada

DEDICATÓRIA

A Deus, pela vida, por iluminar meu caminho e colocar pessoas maravilhosas ao meu lado.

Ao meu pai Germán pelo amor, incentivo, por me ensinar e me ajudar tanto e pelo exemplo maravilhoso de profissional e pesquisador.

A minha mãe Luz Helene pelo amor incondicional, apoio e por me ensinar a sempre correr atrás dos meus sonhos.

As minhas irmãs Karen, Carolina e Graciela pelo amor, paciência e carinho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Primo Romão pelos ensinamentos, confiança, apoio, por me ouvir e me aconselhar e também por fazer com que eu sentisse um pouquinho menos de saudade de casa.

Ao Curso de Pós-graduação do programa de Anatomia dos Animais Domésticos e aos professores desse departamento.

Aos amigos e colegas de pós-graduação pelo apoio e convivência especialmente a Camila Pereira, Oksiane Takemine, Fernando Garbadori, Ricardo Guerra, Thiago Almeida, Vivian Vargas, Hildebrando Benedito, Fernando de Souza, Ana Paula Martins, Ana Paula Vidotti, Laura Albuquerque.

Aos novos amigos que fiz aqui em São Paulo.

Ao coordenador do curso de Medicina Veterinária da UNINCOV, Antônio Carlos Junqueira, pelo apoio, incentivo e confiança.

Aos meus amigos de Três Corações Zé Maurício, Lidiane, Márcia e Lidemils pela força, pelas conversas, pelo amizade e pelos momentos de descontração.

*Aos meus pais e irmãs que são
meu porto seguro, minha alegria
e minha vida.*

*Vocês sempre fizeram tudo para
que eu pudesse realizar meus
sonhos...*

...este é mais um deles..

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela vida, por iluminar meu caminho e colocar pessoas maravilhosas ao meu lado.

Ao meu pai Germán pelo amor, incentivo, por me ensinar e me ajudar tanto e pelo exemplo maravilhoso de profissional e pesquisador.

À minha mãe Luz Helena pelo amor incondicional, apoio e por me ensinar a sempre correr atrás dos meus sonhos.

Às minhas irmãs Karen, Carolina e Graciela pelo amor, paciência e carinho.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro Primo Bombonato pelos ensinamentos, confiança, apoio, por me ouvir e me aconselhar e também por fazer com que eu sentisse um pouquinho menos de saudade de casa.

Ao Curso de Pós-Graduação no programa de Anatomia dos Animais Domésticos e aos professores desse departamento.

Aos amigos e colegas de pós-graduação pelo apoio e convivência especialmente à Camila Pereira, Cristiane Takamine, Fernando Garbelotti, Ricardo Guerra, Thiago Aloia, Vivian Vargas, Hildebrando Benedicto, Fernanda Agreste, Maria Cecília Teixeira, Ana Paula Martins, Ana Paula Vidotti, Laura Artoni, David Iturrizaga e Isaac Albuquerque.

Aos novos amigos que fiz aqui em São Paulo: Angelo, Cacá, Brown e Augusto.

Ao coordenador do curso de Medicina Veterinária da UNINCOR, Antônio Carlos Junqueira, pelo apoio, incentivo e confiança.

Aos meus amigos de Três Corações Zé Maurício, Lidiana, Maíra e Ludimila pela força, pelas conversas, pela amizade e pelos momentos de descontração.

Ao Antonio Aurico, Sr. Aurico, Dona Idinha, Veruza e Lara pelo carinho e por sempre me apoiarem.

À meus amigos de B.H. que mesmo longe sempre continuaram torcendo por mim.

Aos funcionários Diogo, Índio, Jaqueline e Maicon pela convivência e ajuda.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro (processo 04/03313-).

"Para realizar grandes conquistas,

é preciso não apenas agir, mas

também sonhar; não apenas planejar,

mas também acreditar".

(Anaís de Franco)

Resumo

GRONDON, R. E. D. Morfometria do órgão vomeronasal em ratos adultos. [Morphometric study of the vomeronasal organ in adult rats]. 2005. 89f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

O órgão vomeronasal de 10 machos e 10 fêmeas de ratos Wistar adultos, com 120 dias de idade, com pesos entre 210 e 318 gramas, foram utilizados para o presente estudo com objetivo de determinar a estrutura histológica e as diferenças deste órgão para verificar a existência de dimorfismo sexual. Após perfusão, os órgãos foram fixados em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato para fixação, isolado por meio de corte e sopro nasal, lavados em solução de Pereny para descalcificação e, em seguida, corados segundo técnicas clássicas de estudos morfométricos e histológicos. As seções foram colocadas sobre lâminas, coradas com azul de toluidina e analisadas em microscópio de luz. Também foi feita coloração do órgão com posterior coloração com hematoxilina ácido. Foram desenhadas e quantificadas a constituição e distribuição das tecidos que compõem o órgão vomeronasal de ratos machos e fêmeas, machos sexualmente e estabelecidos a área total do vaso, o volume do órgão, a proporção de volume ocupado pelo órgão e a área total do órgão. O órgão é constituído de epitélio, tecido conjuntivo e vasos. Apesar de não existir dimorfismo sexual no órgão vomeronasal entre machos e fêmeas de ratos Wistar adultos, os componentes deste complexo órgão, apresentam notáveis diferenças.

“Para realizar grades conquistas,

devemos não apenas agir, mas

também sonhar; não apenas planejar,

mas também acreditar”.

(Anatole France)

Palavras-chave: Órgão vomeronasal, Dimorfismo, Morfometria, Ratos.

Resumo

GRONDONA, K. E. B. **Morfometria do órgão vomeronasal em ratos adultos.** [Morfometric study of the vomeronasal organ in adult rats]. 2005. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

O órgão vomeronasal de 10 machos e 10 fêmeas de ratos Wistar adultos, com 120 dias de idade, com pesos entre 210 e 318 gramas, foram utilizados para o presente estudo com objetivo de determinar a estrutura histológica e as dimensões deste órgão para verificar a existência de dimorfismo sexual. Após perfusão, os órgãos foram imersos em solução de glutaraldeído 2,5% em tampão fosfato para fixação, isolado juntamente com o septo nasal, imerso em solução de Perenyi para descalcificação e, em seguida cortados segundo técnicas clássicas de estudos morfométricos e estereológicos. As secções foram colocadas sobre lâminas, coradas com azul de toluidina e analisadas em microscopia de luz. Também foi feita diafanização do órgão com posterior coloração com hematoxilina ácida. Foram descritas e quantificadas a constituição e distribuição dos tecidos que compõem o órgão vomeronasal de ratos machos e fêmeas, maduros sexualmente, e estabelecidas a área total de vasos, o volume do órgão, a proporção de volume ocupada pelos vasos no volume total do órgão, área total do lúmen, do epitélio sensorial e não sensorial em ratos que já atingiram a maturidade. Apesar de não existir diferenças significativas no volume do órgão vomeronasal entre machos e fêmeas de ratos Wistar adultos, os componentes deste complexo órgão, apresentam notáveis diferenças.

Palavras-chave: Órgão vomeronasal. Dimorfismo. Morfometria. Ratos.

Abstract

GRONDONA, K. E. B. **Morfometric study of the vomeronasal organ in adult rats.** [Morfometria do órgão vomeronasal em ratos adultos]. 2005. 99f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

The vomeronasal organ of 10 male and 10 female Wistar rats, adults, 120 days weighting between 210 and 318g, were used for this study to determine the histological structure and to verify the existence of sexual dimorphism. After perfusion, the organs were fixed by immersion in 2,5 glutaraldehyde in phosphate-buffered solution; isolated with the nasal septum, immersed in Perenyi solution for decalcification and then sectioned using classic morphometric and stereologic techniques. The sections were placed on slides and stained with toluidine blue and analysed in light microscope. Diafanization of the organ was done and this sample was stained with acid hematoxylin. The constitution and distribution of the VNO tissue of male and female rats, sexually mature were described and quantified. We also established the vessel total area, total volume organ, the volume ratio occupied by the vessels in the total volume organ, total lumen area and total sensorial and no sensorial area. However there are no significative differences in the organ volume between male and female Wistar rats, the structures of this complex organ show remarkable differences.

Key-words: Vomeronasal organ. Dimorphism. Morphometry. Rats.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Região nasal de rato Wistar fêmea com 120 dias de idade, descalcificada no líquido de Perenyi, corada com Hematoxilina ácida de Herlich e diafanizada em glicerina. Órgão vomeronasal (seta), dorsalmente o osso vômer (V) e o septo nasal (SN), ventralmente destaca-se o palato duro (P). Barra = 1mm..... 65
- Figura 2 - Fotomicrografia de secção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar ao próximo ao extremo rostral do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal (A); epitélio do vestíbulo nasal (E); cartilagem hialina (C); cápsula óssea (O) Abertura da parte tubular do OVN (seta). Barra = 150µm..... 65
- Figura 3 - Fotomicrografia de secção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na extremidade rostral, aproximadamente 400µm caudal à desembocadura da porção tubular (T) do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal (A); epitélio do vestíbulo nasal (E); epitélio respiratório(R); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G). Barra = 200µm..... 66
- Figura 4 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na extremidade rostral, aproximadamente 800µm caudal a desembocadura da porção tubular (T) do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal (A); epitélio do vestíbulo nasal (E); epitélio respiratório (R); cápsula óssea (O). Barra = 200µm..... 66
- Figura 5 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na porção média do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal localizada lateralmente (A); lúmen da porção tubular do OVN (L); epitélio respiratório do OVN (R); neuroepitélio (N); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G); pequenos vasos sanguíneos (V). Barra = 250µm..... 67
- Figura 6 - Fotomicrografia com detalhe de seção transversal da porção tubular do OVN de rato Wistar na porção média corado com azul de toluidina borato de sódio, destacando artéria principal localizada lateralmente (A); lúmen da porção tubular do OVN localizado medialmente (L); epitélio respiratório do OVN (R); neuroepitélio (N); cápsula óssea (O). Barra = 1200µm..... 67

Figura 7 -	Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na porção caudal do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Artéria principal localizada dorsalmente (A); lúmen da porção tubular do OVN localizado ventralmente (L); epitélio respiratório do OVN (R); neuroepitélio (N); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G); pequenos vasos sanguíneos (V). Barra = 300µm.....	68
Figura 8 -	Fotomicrografia de seção transversal da região nasal de rato Wistar próximo ao extremo caudal do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Artéria principal localizada dorsalmente (A); lúmen da porção tubular do OVN localizado ventralmente (L); epitélio do OVN (E); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G); pequenos vasos sanguíneos (V). Barra = 150µm.....	68
Figura 9 -	Perfil das alturas em mm das seções do órgão vomeronasal como um todo dos ratos Wistar adultos. As barras representam cortes com 3 µm de espessura com intervalos de 100µm. São Paulo, 2005.....	69
Figura 10 -	Perfil das larguras em mm das seções do órgão vomeronasal como um todo dos ratos Wistar adultos. As barras representam cortes com 3 µm de espessura com intervalos de 100µm. São Paulo, 2005	69
Figura 11 -	Perfil das áreas em µ ² das seções do órgão vomeronasal como um todo dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 µm de espessura com intervalos de 100µm. São Paulo, 2005.....	69
Figura 12 -	Perfil das áreas em µ ² das porções tubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 µm de espessura com intervalos de 100µm. São Paulo, 2005.....	70
Figura 13 -	Perfil das áreas em µ ² do epitélio das porções tubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 µm de espessura com intervalos de 100µm. São Paulo, 2005.....	70
Figura 14 -	Perfil das áreas em µ ² do lúmen das porções tubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 µm de espessura com intervalos de 100µm. São Paulo, 2005.....	70

Figura 15 -	Perfil das áreas em μ^2 da artéria principal e seus ramos que irrigam o órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μm de espessura com intervalos de 100 μm . São Paulo, 2005.....	71
Figura 16 -	Perfil das áreas em μ^2 das veias que drenam o órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μm de espessura com intervalos de 100 μm . São Paulo, 2005.....	71
Figura 17 -	Perfil das áreas em μ^2 dos outros tecidos peritubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μm de espessura com intervalos de 100 μm . São Paulo, 2005.....	71
Figura 18 -	Relações volumétricas dos principais componentes histológicos do órgão vomeronasal entre ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005.....	72
Figura 19 -	Relações volumétricas da porção tubular do órgão vomeronasal e seus componentes entre ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005.....	72
Figura 20 -	Comparação volumétrica dos componentes histológicos do órgão vomeronasal em ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005.....	73
Figura 21 -	Comparação das proporções volumétricas (Vv%) dos componentes histológicos do órgão vomeronasal de ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005.....	73
Figura 22 -	Comparação da altura e largura médias com seus respectivos erros padrões do órgão vomeronasal de ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Relação do peso corporal, comprimento do Órgão vomeronasal e número de cortes obtidos na microtomia de ratos Wistar machos adultos. São Paulo, 2005.....	75
Tabela 2 -	Relação do peso corporal, comprimento do Órgão vomeronasal e número de cortes obtidos na microtomia de ratos Wistar fêmeas adultas. São Paulo, 2005.....	75
Tabela 3 -	Volume do Órgão Vomeronasal e seus componentes expressos em mm ³ provenientes ratos Wistar machos adultos. São Paulo, 2005.....	76
Tabela 4 -	Volume do Órgão Vomeronasal e seus componentes expressos em mm ³ provenientes ratos Wistar fêmeas adultas. São Paulo, 2005.....	76
Tabela 5 -	Medidas estatísticas do órgão vomeronasal de ratos machos. São Paulo, 2005.....	77
Tabela 6 -	Medidas estatísticas do órgão vomeronasal de ratos fêmeas. São Paulo, 2005.....	78

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

°C	graus centígrados
BO	bulbo olfatório
BOA	bulbo olfatório acessório
BOP	Bulbo olfatório principal
g	gramas
kDa	quilodaltons
kg	quilogramas
LH	luteinizing hormone
LHRH	luteinizing hormone releasing hormone
mg	miligramas
mm	milímetros
mm ²	milímetros quadrados
mm ³	milímetros cúbicos
µm	micrômetros
µm ²	micrômetros quadrados
mmHg	milímetros de mercúrio
OVN	órgão vomeronasal
NV	nervo vomeronasal
PAS	periodic acid-Schiff
pH	Potencial hidrogênio iônico
RO	região olfatória
SOA	sistema olfatório acessório

SOP sistema olfatório principal

SVN sistema vomeronasal

TEM transmission eletronic microscope

UI unidades internacionais

Vv% densidade de volume

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO 19

REVISÃO DE LITERATURA 24

DESENVOLVIMENTO DO ÓRGÃO VOMERONASAL 27

2.1.1 Desenvolvimento pré-natal 28

2.1.2 Desenvolvimento pós-natal 34

2.2 DISTRIBUIÇÃO E ESTRUTURA DO ÓRGÃO VOMERONASAL 36

2.2.1 Estruturas superficiais no órgão vomeronasal 38

2.3 FUNÇÕES DO ÓRGÃO VOMERONASAL 39

2.4 DIMORFISMO SEXUAL 42

2.5 VASCULARIZAÇÃO 44

3 MATERIAL E MÉTODO 46

3.1 COLETA E FIXAÇÃO DO ÓRGÃO VOMERONASAL 47

3.2 PROCESSAMENTO 48

3.3 COLORAÇÃO E MENSURAÇÃO 49

3.4 ESTUDO MORFOMÉTRICO 49

3.4.1 Características da grade 50

3.5 ESTUDO ESTEREOLOGICO 50

3.5.1 Volume do espaço de referência ou vascular (V_{ref}) 50

3.5.2 Cálculo da área seccional 51

3.5.3 Estimativa da densidade de volume ($V_v\%$) 51

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA 52

5 RESULTADOS 53

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	19
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	24
2.1	DESENVOLVIMENTO DO ÓRGÃO VOMERONASAL.....	27
2.1.1	Desenvolvimento pré-natal.....	28
2.1.2	Desevolvimento pós-natal.....	34
2.2	DISTRIBUIÇÃO E ESTRUTURA DO ÓRGÃO VOMERONASAL.....	35
2.2.1	Estruturas superficiais no órgão vomeronasal.....	38
2.3	FUNÇÕES DO ÓRGÃO VOMERONASAL.....	39
2.4	DIMORFISMO SEXUAL.....	42
2.5	VASCULARIZAÇÃO.....	44
3	MATERIAL E METÓDO.....	46
3.1	COLETA E FIXAÇÃO DO ÓRGÃO VOMERONASAL.....	47
3.2	PROCESSAMENTO.....	48
3.3	COLORAÇÃO E MENSURAÇÃO.....	49
3.4	ESTUDO MORFOMÉTRICO.....	49
3.4.1	Características da grade.....	50
3.5	ESTUDO ESTEREOLÓGICO.....	50
3.5.1	Volume do espaço de referência ou vascular (Vref).....	50
3.5.2	Cálculo da área seccional.....	51
3.5.3	Estimativa da densidade de volume (Vv%).....	51
3.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	52
4	RESULTADOS.....	53

4.1	RESULTADOS MACROSCÓPICOS.....	54
4.2	RESULTADOS HISTOLÓGICOS.....	55
4.3	RESULTADOS MORFOMÉTRICOS E ESTERIOLOGICOS.....	58
4.3.1	Volume do espaço de referência (Vref).....	59
4.3.2	Área seccional.....	60
4.3.3	Densidade de volume (Vv%).....	62
4.4	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	62
5	DISCUSSÃO.....	79
6	CONCLUSÕES.....	89
	REFERÊNCIAS.....	91

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Os vertebrados possuem dois sistemas olfatórios, que diferem em sua anatomia, fisiologia e função (KEVERNE, 1976). Esse dois sistemas são os sistemas olfatório principal (SOP) e o olfatório acessório (SOA) (MENDOZA, 1983) ou sistema vomeronasal (SVN) (GULLAMON; SEGOVIA, 1997). O sistema olfatório principal é capaz de responder a quase uma infinidade de odores derivados de alimentos, produtos químicos e outros (DULAC; AXEL, 1995; HYBA; TIRINIELLO, 1997). Já o sistema olfatório acessório (vomeronasal) responde a odores específicos, como os feromônios, que são importantes para a comunicação social e reprodutiva (DULAC; AXEL, 1995; HYBA; TIRINIELLO, 1997). A via vomeronasal é ligada ao sistema olfatório principal e ao sistema olfatório acessório, sendo importante para a comunicação social e reprodutiva (DULAC; AXEL, 1995; HYBA; TIRINIELLO, 1997). A via vomeronasal é ligada ao sistema olfatório principal e ao sistema olfatório acessório, sendo importante para a comunicação social e reprodutiva (DULAC; AXEL, 1995; HYBA; TIRINIELLO, 1997).

Introdução

1 INTRODUÇÃO

Os vertebrados possuem dois sistemas olfatórios, que diferem em sua anatomia, projeções centrais, e função (KEVERNE, 1978). Esse dois sistemas são os sistemas olfatório principal (SOP) e o olfatório acessório (SOA) (MENDOZA, 1993) ou sistema vomeronasal (SVN) (GUILLAMÓN; SEGOVIA, 1997). O sistema olfatório principal é capaz de responder a quase uma infinita variedade de odores derivados de ambientes ecológicos e sociais (DULAC; AXEL, 1995; RYBA; TIRINDELLI, 1997). Já os receptores da via olfatória acessória (vomeronasal) são capazes de responder tanto a odores voláteis quanto a não voláteis. A via vomeronasal se liga diretamente com as estruturas límbicas do cérebro que são importantes para o desenvolvimento e expressão de comportamentos primários motivados (comportamentos sexual, agressivo e maternal) e é necessário para a ativação de vias neuroendócrinas envolvidas na reprodução (POWERS; WINANS, 1975).

Enquanto as células sensoriais do sistema olfatório principal estão localizadas em regiões distintas do septo nasal e conchas nasais chamadas de região olfatória (RO) que estão diretamente expostas ao ar inspirado, as células do sistema olfatório acessório (SOA) estão escondidos no órgão vomeronasal (OVN) que por sua vez está localizado na base do septo nasal. Os axônios das células bipolares primárias de ambos os sistemas estão agrupados em pacotes de fibras amielinizadas, que constituem os nervos olfatórios e vomeronasais que atravessam a lâmina crivosa do osso etmóide e fazem sinapse com o bulbo olfatório (BO) para o SOP e bulbo olfatório acessório (BOA) para o SOA. Fibras que se originam dessas regiões correm

separadamente para diferentes áreas do corpo amidalóide (LICHT; MEREDITH, 1987; PRICE ET AL., 1991; SCALIA; WINANS, 1976; WINANS et al., 1982).

Com algumas exceções, todas as ordens de mamíferos que têm sido estudados possuem um sistema olfatório principal (SOP) funcional; somente os cetáceos aquáticos (toninhas, golfinhos, e baleias) e sirenios (peixes-boi) perdem seu sistema olfatório inteiramente ou possuem um sistema respiratório (ALLISON, 1953; CROSBY; HUMPREY, 1939; MCKAY-SIM et al., 1985). Em cetáceos, rudimentos do sistema olfatório se desenvolvem precocemente no período embrionário, somente regredem posteriormente, provavelmente devido ao superdesenvolvimento de outras estruturas nasais especializadas adaptadas para a vida aquática. O bulbo olfatório principal (BOP) mostra uma marcante diversidade de tamanho e diferenciação entre espécies de mamíferos, indicados por volume, desenvolvimento laminar e complexidade (BARON et al., 1983). Por exemplo, insetívoros e carnívoros possuem um BOP extremamente grande e bem laminado; roedores possuem um BOP de tamanho médio que é bem desenvolvido, enquanto primatas possuem bulbos comparativamente pequenos e pobremente desenvolvido. Certamente, o tamanho do BOP é a medida principal pela qual os mamíferos são classificados como macrosmáticos ou microsmáticos (MEISAMI; BHATNAGAR, 1998; NEGUS, 1958).

O bulbo olfatório acessório (BOA) é geralmente encontrado em contigüidade física como bulbo olfatório principal (BOP), embora separados no aspecto nervoso; a proximidade é tão grande que pesquisadores mais antigos consideravam o BOA como uma parte modificada da morfologia cortical do BOP. A localização do BOA em relação ao BOP é normalmente caudal e dorsal ou dorso-medial e menos freqüentemente dorsolateral. Em algumas espécies ele forma uma pequena protuberância sobre a

superfície do BOP aproximadamente na metade rostro-caudal do bulbo (como nos gambás e coelhos), enquanto em outros ele é na maior parte encoberto pelo corpo do BOP (camundongos e morcegos). Em algumas espécies, o BOA é empurrado completamente para trás (cão, porco espinho), mas ele nunca é encontrado na região bulbar rostral, como no caso das cobras. A variação da localização do BOA em relação ao BOP em mamíferos deve refletir a rota e a direção da chegada do nervo vomeronasal (NV), que deve ser do lado lateral do bulbo, ou em suas margens mediais (MEISAMI; BHATNAGAR, 1998).

No início do século passado, o cirurgião dinamarquês Jacobson encontrou uma pequena estrutura no septo nasal dos mamíferos que provavelmente teria função de um órgão olfatório. Essa estrutura se diferenciava da mucosa olfatória e foi nomeado órgão de Jacobson, ou órgão vomeronasal (WYSOCKI, 1979).

A ordem rodentia possui um órgão vomeronasal bem desenvolvido e bem diferenciado (ALLISON, 1953; WYSOCKI, 1979). Segundo Herrick (1924) e McCotter (1912), as fibras OVN, ou o nervo vomeronasal (NV) alcançam o bulbo olfatório acessório, que por sua vez possui fibras que se projetam para a amígdala.

Já se passaram mais de 15 anos desde as últimas revisões compreensíveis da estrutura e função do órgão vomeronasal (OVN). Naquele tempo os maiores interesses eram testar as hipóteses olfatórias, elucidações anatômicas, diferenças comportamentais e fisiológicas entre o sistema olfatório e o sistema vomeronasal, que ainda não estão completamente compreendidas (HALPERN; MARCOS 2003).

Apesar de recentemente terem sido realizados estudos morfo-descritivos utilizando técnicas de microscopia óptica e eletrônica, estudos quantitativos dos diferentes tecidos que compõem o órgão vomeronasal tem sido negligenciados,

principalmente estudos estereológicos da composição vascular do órgão vomeronasal. O estudo quantitativo da vascularização do órgão vomeronasal permitirá fazer inferências da atividade natural ou em condições experimentais deste órgão, uma vez que existem intimas relações entre o suprimento sanguíneo e a resposta funcional do órgão. Por outro lado, funcionalmente, existem respostas imediatas mediadas por inervação autonômica que para serem analisadas exigem um conhecimento morfológico prévio para serem avaliadas.

Desta forma, existe a necessidade de realizar estudos detalhados e quantitativos do sistema vascular do órgão vomeronasal. Estes estudos podem ser realizados utilizando técnicas de estereologia digitalizada, as quais permitem realizar estudos quantitativos com menor esforço, mas com uma excelente acurácia (MANDARIM-DE-LACERDA, 2003).

O presente estudo tem por objetivo principal descrever e quantificar a constituição e distribuição dos tecidos que compõem o órgão vomeronasal de ratos, estabelecer a área e o volume do órgão, do tubo, da parede epitelial, do lúmen, das artérias, das veias e outros tecidos importantes histologicamente e a proporção de volume ocupada por essas estruturas no volume total do órgão em ratos que já atingiram a maturidade, e com a aquisição desses dados, compará-los para a verificação da existência de dimorfismo sexual.

2 REVISÃO DE LITERATURA

No ano de 1813, o anatomista dinamarquês Ludvig Jacobson (1783-1843) descreveu pela primeira vez um órgão localizado na cavidade nasal de mamíferos. Devido ao fato de apresentar abundantes glândulas serosas, este órgão foi denominado *órgão vomeronasal* de Jacobson pela *Dan Anatomische Gesellschaft* em 1835. Naquela época, Jacobson assumiu que o órgão por ele descrito tinha função secretora, porém, suspeitou-se que ele também poderia ter propriedades sensoriais. (JACOBSON, 1989). Foi somente com o advento de novas técnicas histológicas, no século XIX, que se demonstrou a capacidade deste órgão. A função quimioceptora do órgão só se tornou evidente mais tarde, em 1911, quando se demonstrou a semelhança morfológica entre os neurônios presentes na mucosa nasal e do órgão vomeronasal em preparações de Golgi. Estudos feitos com técnicas modernas de coloração de células do sistema nervoso (GWINN, 1997; HICK, 1998).

O órgão vomeronasal está presente na maioria dos tetrápodos (anfíbios, répteis, aves e mamíferos) e em peixes ósteos. Nos outros grupos de peixes e invertebrados, a função do órgão quimioceptor não é conhecida. Este órgão desempenha um papel importante na comunicação química entre indivíduos da mesma espécie (BARONE et al., 1988; KEVENNE, 1999). O órgão vomeronasal também não é encontrado em algumas espécies de peixes (KEVENNE, 1999).

Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

No ano de 1813, o anatomista dinamarquês Ludwig Jacobson (1783-1843) descreveu pela primeira vez um órgão localizado na cavidade nasal de mamíferos. Devido ao fato de apresentar abundantes glândulas serosas, além de dupla inervação assim como um suprimento sanguíneo característico, o recém descoberto órgão foi nomeado órgão vomeronasal de Jacobson, pela Der Anatomische Gesellschaft em 1895. Naquela época, Jacobson assumiu que o órgão por ele descrito tinha função essencialmente secretora, porém, suspeitou-se que ele também poderia ter propriedades sensoriais. (JACOBSON, 1999). Foi somente com o advento de novas técnicas histológicas, no século XIX, que se demonstrou a capacidade sensorial deste órgão. A função quimioceptora do órgão só se tornou evidente quando Retzius, em 1894, demonstrou a semelhança morfológica entre os neurônios receptores da mucosa olfatória e do órgão vomeronasal em preparações de Golgi. Estes estudos foram conduzidos em tecido olfatório de embriões de cobras posteriormente. (DOVING; TROTIER, 1998).

O órgão vomeronasal está presente na maioria dos tetrápodos (anfíbios, répteis e mamíferos) e em peixes coanados. Nos outros grupos de peixes a localização e organização dos órgãos quimioceptores é diferente. Nas aves, nas quais a vida aérea pode deixar a comunicação química menos útil, este órgão regride durante a vida embrionária (BARONE et al., 1966; KEVERNE, 1999; LIMAN et al., 1999; MENCO et al., 2001). O órgão vomeronasal também não é encontrado em algumas espécies de primatas (KEVERNE, 1999).

O órgão vomeronasal consiste de um par de divertículos tubulares, em fundos cegos, revestidos por uma membrana mucosa e situados no assoalho da cavidade nasal em ambos os lados do septo nasal (BARONE et al., 1966; HARE 1986; KEVERNE, 1999). Ele encontra-se relacionando com os processos palatinos do osso incisivo e com o vômer (HARE, 1986). Nos roedores, lagomorfos e humanos, cada órgão vomeronasal abre-se rostralmente no canal nasopalatino enquanto que em carnívoros, ungulados, insetívoros e primatas do novo mundo este órgão desemboca no canal incisivo (KEVERNE, 1999) que por sua vez se abre na cavidade bucal através de um estreito forame (BARONE et al., 1966).

Os túbulos do órgão vomeronasal estão separados do resto da mucosa ofatória por uma cápsula formada por uma cartilagem hialina ou pelo próprio osso vômer (DOVING; TROTIER, 1998; KEVERNE, 1999; LIMAN et al., 1999; MENCO et al., 2001). Por dentro da cápsula, geralmente é encontrado um parênquima preenchido com sangue (BARONE et al., 1966).

Na organização histológica do órgão vomeronasal, os neurônios receptores primários do órgão apresentam axônios longos que após penetrar na cavidade encefálica através dos forames da lâmina crivosa do etmóide, terminam no bulbo olfatório acessório (DOVING; TROTIER, 1998). O lúmen com forma crescente é revestido internamente por neurônios receptores (DOVING; TROTIER, 1998; KEVERNE, 1999) e geralmente encontra-se preenchido por fluidos provenientes das glândulas vomeronasais, as quais encontram-se nas paredes dorsal e ventral do lúmen. Estas glândulas apresentam curtos ductos secretórios. Lateralmente ao lúmen destes túbulos, são encontrados grandes vasos e seios sanguíneos os quais estão inervados por fibras do sistema nervoso autônomo que induz vasodilatação ou vasoconstrição

(KEVERNE, 1999). Na superfície convexa do órgão encontra-se uma fileira de células ciliadas não sensoriais. No tecido abaixo dessa parte do órgão há um tecido cavernoso que foi chamado de "corpo de cogumelo" ou eminência fungiforme (DOVING; TROTIER, 1998).

Os primeiros experimentos já indicavam que órgão vomeronasal exercia um papel preponderante na reprodução dos mamíferos (PLANEL, 1953). Nestes animais, é sabido que o órgão vomeronasal é especializado na recepção de feromônios e está envolvido na comunicação química, particularmente em relação a atração sexual e reprodução (WYSOCKI, 1979; WYSOCKI; MEREDITH, 1987). Em vertebrados inferiores, como répteis e cobras, o órgão vomeronasal está envolvido também em alimentação e respostas de ataque e luta, assim como na perseguição da presa (HALPERN, 1987), no reconhecimento territorial e de seus próprios pais (STEPHAN et al., 1982).

Atualmente o órgão vomeronasal está se tornando um pouco mais conhecido uma vez que estudos recentes e controversos abordam sua existência e funcionalidade em seres humanos. Em animais, tanto domésticos como silvestres e de laboratório, os conhecimentos deste órgão ainda são incipientes, inclusive na área anatômica e especialmente no campo da evolução e da anatomia comparativa.

2.1 DESENVOLVIMENTO DO ÓRGÃO VOMERONASAL

Garrosa et al., 1992 propôs seis estágios de desenvolvimento do órgão vomeronasal (OVN) que caracterizam a ontogenia desse em ratos, sendo este animal um mamífero que possui um notável OVN durante toda sua vida. São constituídos de

três estágios pré-natais que são respectivamente: brotamento, morfogênese inicial, morfogênese avançada, e três pós-natais que são: início da atividade secretória, maturidade citoarquitetural e histogênese completa.

2.1.1 Desenvolvimento pré-natal

Na fase de brotamento pode-se observar o primórdio do órgão vomeronasal que é um par de placódios olfatórios que podem ser diferenciados em um estágio de desenvolvimento embrionário inicial e compõem uma pequena parte do ectoderma situado na face ventrolateral da cabeça (BARBER; RAISMAN, 1978; CUSCHIERI; BANNISTER, 1975; GARROSA; COCA, 1991; GARROSA et al., 1998). Cada placódio subsequentemente se move para baixo da superfície para formar um sulco olfatório (CUSCHIERI; BANNISTER, 1975; GARROSA et al., 1998). Posteriormente eles aumentam de volume em direção ao mesênquima e causam um leve recesso na bolsa olfatória. O botão celular cresce dorsocaudalmente, e em direção a linha média em ambos os lados formando o sulco vomeronasal. A composição celular desse crescimento é variada e inclui células em diferentes estágios de maturação. A maioria das células aparece imatura, com escasso citoplasma perinuclear, abundantes ribossomos livres e nucléolo proeminente. As células que se encontram mais bem desenvolvidas apresentam um alto número de mitocôndrias e algumas cisternas isoladas de retículo endoplasmático rugoso. Outras células apresentam um citoplasma claro, poucas organelas, e núcleo eucromático. Um espaço extracelular notável pode também ser observado. No 12º dia após a fecundação a camada formada invagina-se para formar primeiramente um sulco e posteriormente uma estrutura tubular pela fusão

de seus lábios. Esse tubo se abre “anteriormente” no sulco olfatório. O divertículo formado é limitado por um grosso epitélio similar ao do sulco olfatório (CUSHIERI; BANNISTER, 1975). Do ponto de vista morfológico, nesse estágio não é possível distinguir o futuro neuroepitélio do epitélio não sensorial (GARROSA et al., 1998). Esse estágio é alcançado no rato no 13º dia após a fecundação (CUSCHIERI; BANNISTER, 1975).

No mesênquima que envolve o sulco vomeronasal, uma rica vascularização destaca-se. Ramos septais do grupo dos vasos terminais vêm da artéria olfatória primitiva que irriga a rede capilar do OVN. Essa rede está em continuidade com a rede septal subepitelial e fluxo venoso coletado em tributárias da veia maxilar primitiva (SZABÓ; MENDOZA, 1988). Depois do 13º dia após a fecundação surgem capilares intra-epiteliais que persistem durante toda a vida ao contrário daqueles presentes no epitélio olfatório e que desaparecem logo após o nascimento (CUSCHIERI; BANNISTER, 1975).

No estágio de morfogênese inicial, o OVN adquire uma forma tubular devido ao seu crescimento e fechamento ao longo da base do septo nasal, enquanto preserva a comunicação de seu final rostral com a abertura nasal correspondente, em roedores (GARROSA et al., 1998). Devido a esse crescimento, o OVN se torna uma estrutura distinta na base do septo nasal. No rato esse estágio se estende do 14º ao 16º dias após a fecundação (GARROSA et al., 1998). Durante esse período, os dois epitélios do OVN se desenvolvem e podem ser diferenciados um do outro devido principalmente à diminuição da espessura no precursor do neuroepitélio. Esse epitélio primeiramente ocupa a face dorsal do órgão, mas devido ao crescimento diferencial nesse estágio, posteriormente ocupa a porção dorsomedial e finalmente a posição medial. O epitélio

não sensorial avança para uma posição ventrolateral e depois para uma lateral. A diferença de espessura entre ambos os epitélios torna-se progressivamente maior e por isso no final desse estágio o corte transversal do OVN mostra um formato de rim ao longo da maior parte de seu comprimento, apresentando um lúmen de forma crescente que também é lateralmente côncavo. A concavidade lateral cerca um vaso sanguíneo bem desenvolvido. Do ponto de vista morfológico, nesse estágio não é possível distinguir o futuro neuroepitélio do epitélio não sensorial (GARROSA et al., 1998).

No neuroepitélio, apesar do grande número de células indiferenciadas, alguns neuroblastos podem ser diferenciados de precursores de células de suporte com o uso da microscopia de luz, visto que essa última apresenta núcleo escuro com formato de rosca e um citoplasma apical grande, enquanto neuroblastos possuem pericário escasso em um núcleo redondo claro com nucléolo distinto (GARROSA et al., 1998).

Na superfície luminal, o neuroepitélio parece ter mais microvilos que o epitélio não sensorial. Neuroblastos e células de suporte produzem seu citoplasma perinuclear, células de suporte possuem uma grande área em contato com o lúmen. Nas expansões distais dos neuroblastos, centríolos e corpos precursores de axonemas são observados. Simultaneamente, os núcleos das células de suporte tendem a se alinhar nas camadas nucleares mais apicais, conduzindo ao início de uma faixa brilhante limitando o lúmen neuroepitelial (GARROSA et al., 1998).

O precursor do epitélio não sensorial consiste basicamente de uma população homogênea de células cilíndricas, exibindo abundantes ribossomas livres, algumas cisternas de retículo endoplasmático rugoso e numerosas mitocôndrias em seu citoplasma. Seu núcleo é alongado e apresenta cromatina dispersa (GARROSA et al., 1998).

O nervo vomeronasal aparece como uma estrutura distinta composta por fascículos largos que cruzam o mesênquima e alcançam o bulbo olfatório desenvolvido e o prosencéfalo (áreas septal e pré-óptica) (DAILOKU et al., 1993).

O nervo terminal, outra estrutura derivada do placódio olfatório que se projeta centralmente às áreas septal e pré-óptica, percorrendo junto com o nervo vomeronasal e também oferece caminho para células migrarem do placódio olfatório (GARROSA et al., 1998).

Tecido mesenquimal com capilares supridos medialmente por longos ramos da artéria olfatória são vistos na lâmina própria do OVN. Uma veia bem desenvolvida sobressai-se na cavidade do órgão. Veias do OVN junto com aquelas veias do septo nasal primário passam ao longo do limite da faringe, fundindo-se com ramos laterais, colaborando para a formação da veia maxilar definitiva (SZABÓ; MENDOZA, 1988).

No mesênquima abaixo do epitélio não sensorial, fibras de substância P foram encontradas espaçadamente distribuídas (NAGAHARA et al., 1995). Esses autores também sugeriram que a substância P deve agir como um fator trófico para o desenvolvimento das glândulas vomeronasais e, no adulto, causa vasodilatação no tecido erétil da lâmina própria. O mesênquima da parte mais baixa do septo nasal se condensa para formar a pré-cartilagem da cápsula vomeronasal, que no final desse estágio está presente sob o órgão vomeronasal e na metade basal de sua face medial. Do ponto de vista morfológico, nesse estágio não é possível distinguir o futuro neuroepitélio do epitélio não sensorial (GARROSA et al., 1998).

Durante o estágio de morfogênese avançada, o OVN completa sua morfogênese no sentido que ele adquire a forma adulta, apresentando um sulco longitudinal e a proporção entre as larguras dos dois epitélios similares ao adulto. Entretanto, um longo

período de desenvolvimento pós-natal continua ocorrendo antes da maturidade histológica e o órgão alcança um tamanho maior. O neuroepitélio aumenta em espessura, enquanto o epitélio não sensorial se reduz a uma ou duas fileiras. O comprimento do OVN aumenta rapidamente até o nascimento e a partir desse evento, mais gradualmente (GARROSA et al., 1998). Esse estágio se torna completo no rato do 17º dia após a fecundação ao nascimento (GARROSA et al., 1992).

A área marginal livre de núcleo, do neuroepitélio, também se torna mais evidente, assim como o alinhamento dos núcleos das células de suporte nas fileiras mais altas. Neurônios e células de suporte estão completamente distinguíveis (GARROSA et al., 1998). Atividade mitótica é observada em todo o neuroepitélio, mais frequentemente na zona apical (CUSCHIERI; BANNISTER, 1975; GARROSA et al., 1998) e após o nascimento essa mitose se restringe ao limite do neuroepitélio com o epitélio não sensitivo vizinho (CUSCHIERI; BANNISTER, 1975).

No fim desse estágio, alguns neurônios apresentam uma considerável maturidade, com algumas cisternas de retículo endoplasmático rugoso e um retículo endoplasmático liso bem desenvolvido, enquanto outros pericários de neurônios surgem em diversos níveis de desenvolvimento apresentando abundantes ribossomos e um variado número de organelas (GARROSA et al., 1998). Células de suporte possuem núcleo com formato de rosca, contém uma cromatina mais densa que aquela encontrada nos neurônios, e apresenta citoplasmas mais diferenciados, incluindo algumas cisternas de retículo endoplasmático rugoso e mais aparelhos de Golgi maduros, sendo que suas cisternas são orientadas paralelamente à superfície lateral. Células basais são numerosas, algumas delas parecem estar sofrendo processo de mitose (GARROSA et al., 1998).

Ao final desse estágio, a superfície neuroepitelial possui um alto número de dendritos preenchendo o lúmen do órgão. Abundantes microtúbulos são vistos dentro dos dendritos, correndo paralelamente ao seu eixo longitudinal. Numerosas mitocôndrias, centríolos e corpos densos similares aos precursores de axonemas sobressaem-se da expansão distal dos dendritos neuronais. Microvilos mais abundantes e maiores são observados e a maioria destes apresentam gicocálice evidente, e podem aparecer ramificados (GARROSA et al., 1998).

Capilares sanguíneos penetram na região basal do neuroepitélio (GARROSA et al., 1986). Esses capilares são frenestrados e vêm de ramos da artéria olfatória (MENDOZA; SZABÓ, 1988). Elas estão acompanhadas de tecido conjuntivo perivascular com lâmina basal correspondente separando o endotélio das células de suporte de cada lado (GARROSA et al., 1998).

O epitélio não sensorial apresenta células basais claras e escuras, sendo estas últimas, a maioria. No microscópio de luz pode-se observar um desenvolvimento avançado desse epitélio. Ultraestruturalmente aparelhos de Golgi e retículos endoplasmáticos lisos e rugosos podem ser vistos nas células escuras. Microvilos são mais frequentemente encontrados nesse estágio do que no anterior, contudo, eles continuam curtos (GARROSA et al., 1998).

O nervo vomeronasal aparece como uma coleção de fascículos de fibras pequenas, que partem da base do neuroepitélio e são compostos de axônios amielínicos envoltos por citoplasma celular (GARROSA et al., 1998).

Durante esse estágio, a formação da cavidade nasal definitiva, devido à mudança das rugas palatinas para a posição horizontal, determina o surgimento da veia vomeronasal no fundo cego vomeronasal. Essa veia se funde com a veia da parede

lateral do nariz para formar a veia nasal inferior. Nesse momento, o modelo vascular típico do OVN é estabelecido, sendo esse órgão irrigado por ramos da artéria olfatória que por sua vez é ramo da artéria cerebral (SZABÓ; MENDOZA, 1988). Um pequeno número de glândulas desenvolvidas é encontrado, mas elas ainda não apresentam nenhuma reação PAS-positiva. A cápsula permanece formada por cartilagem (GARROSA et al., 1998).

2.1.2 Desenvolvimento pós-natal

Os estágios histogenéticos apresentados durante a fase pré-natal são seguidos de outros três, que ocorrem na vida pós-natal, antes do completo desenvolvimento. Durante o quarto estágio as glândulas vomeronasais começam a secretar, protusões do neuroepitélio para o lúmen são encontrados menos frequentemente e são restritos às zonas de transição entre o neuroepitélio e o epitélio não sensitivo (GARROSA et al., 1998). Além disso, ocorre a ossificação da cápsula. Um posterior desenvolvimento consiste no completo alinhamento dos núcleos das células de suporte nas camadas nucleares mais altas do neuroepitélio (GARROSA et al., 1992). Além disso, o número de microvilos aumenta nos dendritos e o epitélio não sensorial alcança maturidade também. Posteriormente, no estágio 6, a histogênese é considerada completa, o OVN mostra aparência ultraestrutural adulta com abundantes microvilos nos dendritos. A “capa” celular aumenta até a condição adulta ser alcançada (GARROSA; COCA, 1991). Um crescimento no tamanho do órgão segue até a idade adulta e aí uma queda no número de células sensoriais no OVN é observada (WILSON; RAISMAN, 1980).

2.2 DISTRIBUIÇÃO E ESTRUTURA DO ÓRGÃO VOMERONASAL

Em 1913 Jacobson desenhou a cabeça de um cervo (*Cervus sp*), demonstrando a posição do órgão e os nervos correndo ao longo do septo nasal conduzindo o órgão vomeronasal ao bulbo olfatório. Sua descrição original foi baseada principalmente em animais domésticos (gato, vaca, cão, ovelha, cavalo, porco e cabrito), mas ele também descreveu o órgão em outros animais, como tigre, camelo, búfalo, cervo e leão marinho (DOVING; TROTIER, 1998). A presença desse órgão foi confirmada na maioria dos mamíferos (PEARLMAN, 1934), e também está presente em marsupiais (WOHMANN-REPENNING, 1984). O órgão é bem desenvolvido em alguns primatas, mas é reduzido ou ausente em outros como os macacos catarrinos (JORDAN, 1972; STARK, 1975). Parece que o órgão vomeronasal primeiramente se desenvolveu em anfíbios (EISHTEN, 1992) e está ausente em alguns peixes e em todas as aves. Não é encontrado em crocodilos e camaleões, mas está presente em cobras onde é bem desenvolvido e deve ser maior que o órgão olfatório de outros répteis (DOVING; TROTIER, 1998).

A opinião sobre a presença e funcionalidade do órgão vomeronasal em humanos é controversa (DOVING; TROTIER, 1998). O órgão vomeronasal aparece rudimentarmente em humanos recém-nascidos, como primeiro apontado por Kolliker em 1877 (DOVING; TROTIER, 1998). A funcionalidade do sistema vomeronasal de humanos continua controversa, já que nenhuma conexão entre o órgão vomeronasal presuntivo e o cérebro foi descrita e não há bulbo olfatório acessório em humanos (HALPERN; MARCOS, 2003).

Em 1980, Hedgwing calculou, baseado em numerosas medidas em secções transversais de todas as partes do órgão, que o epitélio sensorial do órgão vomeronasal contém 92×10^3 receptores neuronais/mm². Em ratos, o número total de receptores celulares aumenta entre 1 e 4 meses de idade e depois, entre 4 e 8 meses, esse número cai (WILSON; RAISMAN, 1980).

No rato, a organização do órgão vomeronasal é complexa (vasos sanguíneos, cartilagem e glândulas). O órgão tem formação tubular que mostra diferentes características ao longo de sua linha central. Na porção rostral ele tem uma forma achatada, mas caudalmente, ele adquire uma forma crescente e um tamanho maior. O órgão é rotacionado ao longo do eixo longitudinal, a parede se torna inferior e a lateral, superior. Em sua porção mais caudal o órgão diminui de tamanho e termina em ramos glandulares. Três segmentos histológicos são reconhecidos no órgão vomeronasal. A rostral mostra um epitélio pseudoestratificado envolvendo todo do lúmen. O segmento médio apresenta em uma de suas paredes um epitélio similar e, na outra parede, o epitélio vomeronasal. O segmento mais caudal mostra um epitélio simples colunar, como continuação dele encontram-se os ductos glandulares. A margem do epitélio vomeronasal é formada por três tipos de processos celulares que se misturam, cada uma mostrando características particulares: a) microvilos originados de dendritos de células bipolares; b) microvilos de células de sustentação e c) micro processos de origem indeterminada. A superfície do epitélio vomeronasal mostra uma distribuição irregular e organização desses processos (VACCAREZZA et al., 1981).

Salazar e Sanchez Quinteiro em 1998 estudaram o suprimento sanguíneo e as estruturas osteocartilaginosas de suporte do órgão vomeronasal de ratos e o resultado indicou que o sangue alcança o órgão por um ramo da artéria esfenopalatina e é

drenado para uma veia associada. Acompanhando o órgão, uma veia se destaca por seu tamanho, e essa veia é acompanhada por veias menores, assim como por arteríolas, capilares e vasos linfáticos. Portanto, os achados sobre o suprimento sanguíneo concomitantemente com os achados da cápsula de suporte, levaram à conclusão de que o órgão vomeronasal atua como uma bomba.

O significado preciso das funções do sistema vomeronasal (SVN) não está totalmente entendido, particularmente considerando as funções comuns a todos os grupos de animais. Se enfocarmos os mamíferos, entretanto, há um aumento na evidência que sugere que o VNS tem um papel importante no comportamento reprodutivo e sexual (POWERS; WINANS, 1975; WYSOCKI, 1979), embora isso não descarte a possibilidade de outras funções. Atualmente é aceito que o SVN é especializado na detecção de certos tipos de substância odoríferas, caracterizadas por baixa volatibilidade e peso molecular maior que 66kDa (SALAZAR et al., 1998).

Na análise ultraestrutural, as células bipolares tinham um núcleo claro e arredondado e seus citoplasmas eram ricos em retículo endoplasmático granular. Complexos de Golgi podiam ser vistos na zona perinuclear e alguns corpos densos eram observados. Um dendrito estendido da porção supranuclear da célula acima do lúmen do órgão, cursando entre os corpos das células de suporte adjacentes foi observado. Esses dendritos mostravam um estreitamento próximo ao ápice e distalmente a eles uma expansão por onde se originavam numerosos microvilos que se projetavam para o lúmen do órgão vomeronasal. Próximo à parte mais estreita, um número variável de centríolos, corpos densos e muitas mitocôndrias surgiram. Vesículas e microtúbulos eram vistos mais centralmente. Junções de desmossomas eram observadas entre as células bipolares e de suporte (VACCAREZZA et al., 1981).

As células de suporte mostravam um citoplasma escuro e um núcleo oval contendo cromatina periférica. Cada célula mostrava um prolongamento estreito distal que estavam entre os dendritos das células bipolares e continham mitocôndrias, vesículas, microtúbulos e, excepcionalmente, alguns centríolos. Diferentes microvilos dessas células bipolares, surgiam do ápice desses prolongamentos (VACCAREZZA et al., 1981).

Na maioria dos animais, um número variável de leucócitos foi visto no lúmen vomeronasal espalhados sobre toda a superfície do epitélio vomeronasal (VACCAREZZA et al., 1981).

2.2.1 Estruturas superficiais no órgão vomeronasal

As superfícies do epitélio pseudoestratificado mostraram um aspecto uniforme em toda suas extensão (VACCAREZZA et al., 1981).

O processo apical das células da parede medial formou uma camada superficial de 4 μ m de espessura. O microscópio eletrônico de varredura revelou que essa superfície do órgão não era uniforme; algumas áreas tinham apenas um tipo de microvilo sem nenhuma orientação visível, enquanto outros tinham alguns tipos de processos; o maior era pouco e isolado, o menor e mais fino era colocado junto formando pilhas, e os de tamanhos intermediários também agrupados como os microvilos pequenos. Algumas áreas pareciam ser desprovidas de microvilos (VACCAREZZA et al., 1981).

Essas observações se correlacionaram bem com a informação provida do microscópio eletrônico de transmissão: três diferentes tipos de processos que se misturaram e mostraram secções longitudinais, transversais e oblíquas que podiam se reconhecidas em figuras TEM. Os microvilos das células bipolares eram os mais finos e apareceram na camada adjacente ao corpo celular. Eles se estendiam de 3-4 μm das margens celulares e mostravam uma membrana periférica dupla, filamentos e microtúbulos. Microvilos eram escassos e levemente mais amplos nas células de suporte do que nas bipolares. A estrutura interna desses microvilos não mostra diferença daquele pertencente às células bipolares. Processos maiores, nos quais a origem era impossível de determinar, foram encontrados na margem epitelial, principalmente em sua camada mais superficial. Esses processos têm um centro denso e citoplasma escuro rodeado por duas membranas separadas por uma área clara (VACCAREZZA et al., 1981).

2.3 FUNÇÕES DO ÓRGÃO VOMERONASAL

Antes de 1987, era amplamente aceito que o sistema vomeronasal era importantemente envolvido em efeitos quimiosensoriais mediados por feromônios ou regulação endócrina e comportamento sexual (HALPERN; MARCOS, 2003). Além disso, foi demonstrado em cobras, que o sistema vomeronasal (SVN) era crítico na resposta à substâncias químicas da presa e odores usados na agregação e corte (HALPERN, 1987; WYSOCKI; MEREDITH, 1987). Nos últimos anos, algumas funções adicionais para o sistema vomeronasal têm sido descritas, embora tenham sido

informações importantes nos detalhes dos efeitos, mecanismos do envolvimento do nervo vomeronasal e as bases fisiológicas de alguns desses efeitos (HALPERN; MARCOS, 2003).

As funções dos sistemas vomeronasal e olfatório estão evoluindo no amplo contexto da comunicação química em mamíferos. São cinco os pontos mais importantes. Primeiro, há uma variedade de tipos de sinais químicos, indo desde os feromônios clássicos à qualidade dos sinais de odor, os quais todos são importantes para comunicação. Segundo, o órgão vomeronasal é primariamente responsável pela mediação de respostas de alguns, mas não todos sinais feromônais. Terceiro, os sistemas vomeronasal e olfatório geralmente interagem para mediar respostas de sinais odoríferos (JOHNSTON, 1998).

Johnston em 2000 e posteriormente em 2001 definiu “sinais químicos” como compostos ou misturas liberados por um indivíduo que afeta um segundo indivíduo da mesma espécie, e sugere que esse termo deve ser usado como um termo genérico para odores envolvidos em comunicação. Subcategorias de sinais químicos incluem: 1) feromônios: compostos químicos simples que têm efeitos de sinais químicos; 2) mistura de feromônios: misturas de pequenos números de compostos que são efetivos somente em proporções relativamente precisas; 3) grupos mosaico ou mosaico de odores: misturas de um grande número de compostos que têm efeitos de sinais químicos.

Um número de modelos animais, como hamsters, ratazanas, camundongos, ratos, animais de fazenda e répteis, comprovaram-se especialmente úteis para elucidação de papéis funcionais do sistema vomeronasal. Os hamsters foram os primeiros animais nos quais os déficits do nervo vomeronasal demonstraram afetar o comportamento reprodutivo (POWERS; WINANS, 1975).

Segundo Powers e Winans (1975) e Winans e Powers (1977) uma lesão periférica do sistema vomeronasal produz severos déficits no comportamento sexual em hamsters machos e fêmeas. Esses autores observaram que os efeitos da remoção ou prevenção da função normal do órgão vomeronasal era aguda quando o animal não tinha tido atividade sexual, mas se o animal já tivesse copulado, o efeito da remoção do órgão vomeronasal foi menos dramática. Entretanto, a injeção de LHRH em animais experimentais sem órgão vomeronasal restabeleceu o comportamento sexual. Parece que a cadeia de eventos é a seguinte: para a estimulação do órgão vomeronasal é necessária liberação de LHRH, que promove um aumento no nível de hormônio luteinizante (LH), que induz o comportamento sexual (CLANCY et al., 1988; COQUELIN et al., 1984; MEREDITH; FERNANDEZ-FEWELL, 1994).

Bruce (1959) demonstrou que em ratas com ovos fertilizados tiveram falhas na implantação destes se um macho estranho era trocado pelo macho copulador na gaiola da fêmea dentro de quatro dias após a copulação. Esse efeito é mediado por estímulo químico e é dependente de um órgão vomeronasal funcional (BELLRINGER et al., 1980). O modelo para explicar esse fenômeno inclui a memória do odor do macho copulador. Isso demonstra que a memorização e o reconhecimento do macho copulador se dão no bulbo olfatório acessório e que os receptores de glucamato metabotrópico estão envolvidos no processo (KABA et al., 1994). A subsequente estimulação com feromônios de um macho estranho aumenta a atividade nos neurônios dopaminérgicos, que libera seu transmissor para o plexo portal da eminência mediana. A dopamina atua na glândula pituitária para suprimir a liberação de prolactina. A prolactina, por sua vez, é luteotrópica, portanto o corpo lúteo ovariano não é sustentado por muito tempo, os níveis de progesterona caem e os de estrógeno aumentam. Esse é

o decréscimo do nível de progesterona que permite o nível de LHRH aumentar, e isso sustenta o desenvolvimento folicular e o aumento dos níveis de estrógeno (BRENNAN; KEVERNE, 1997; KEVERNE, 1982).

Wysocki e Lepri em 1991 removeram o OVN em ratos caseiros e ratazanas da pradaria (*M. orchraster*) machos e observaram déficits no aumento de testosterona induzido por odores, vocalização ultra-sônica para fêmeas, comportamento sexual, marcação territorial e agressão entre machos. A remoção do OVN em grupos de fêmeas de ratos caseiros resultou na perda da secreção de substâncias que atrasavam a puberdade. Em fêmeas de ratazanas o a indução da ativação da reprodução pela presença do macho caiu ou foi eliminada pela remoção do OVN. Agressão maternal também foi reduzida em fêmeas de ratos que tiveram o órgão retirado.

2.4 DIMORFISMO SEXUAL

Há alguns anos atrás, Segóvia e Guillamón (1993) hipotetizaram que o sistema vomeronasal (SVN), deveria ser dimórfico sexualmente. Essa hipótese se deve ao fato da existência de receptores de esteróides no sistema; à descrição prévia de dimorfismo sexual em estruturas que recebem informações vomeronasais como a área pré-óptica medial, o núcleo hipotalâmico ventromedial, a região ventral do núcleo pré-mamilar e o núcleo amidalóide medial; e ao dimorfismo sexual encontrado no órgão vomeronasal, que é o órgão receptor do SVN.

Segóvia e Guillamón (1982) observaram que, em neonatos, hormônios gonadais esteróides ocasionam desenvolvimento dimórfico no órgão vomeronasal do rato. Nos grupos controle eles observaram estatisticamente valores maiores do volume do órgão

($t(8) = 6.46$, $P < 0.001$), volume do epitélio sensorial ($t(8) = 3.95$, $P < 0.005$) e população neuronal ($t(8) = 4.22$, $P < 0.005$) para machos em relação às fêmeas. Essas diferenças desapareceram em consequência da orquiectomização no primeiro dia do nascimento. Diferenças significativas não existem entre os grupos controle de machos e o grupo de fêmeas androgenizadas assim como entre os grupos controle de fêmeas e o grupo de machos castrados.

Esteróides gonadais mantém a estrutura do órgão vomeronasal em animais adultos (SEGOVIA et al., 1984a). Em machos e fêmeas gonadectomizados aos 90 dias após o nascimento e sacrificados aos 180 dias, encontra-se um decréscimo na altura do neuroepitélio de ambos os sexos em relação aos grupos controle.

Segóvia e Guillamón (1993) e Guillamón e Segóvia (1997) afirmam também existir diferenças sexuais nas demais estruturas do sistema vomeronasal como no bulbo olfatório acessório, núcleo caudado da estria terminal e o núcleo bed do trato olfatório acessório. Machos possuem um bulbo olfatório acessório maior devido as várias camadas do bulbo (mitral, prexiforme e granular) possuírem um maior volume (SEGÓVIA et al., 1984b).

Dawley (1998) sugere que nenhum desses estudos anteriores considerou o efeito do tamanho corporal no tamanho das estruturas do órgão vomeronasal; machos podem possuir estruturas vomeronasais maiores simplesmente por causa da relação alométrica positiva entre o tamanho corporal total e o tamanho dessas estruturas nesse corpo.

2.5 VASCULARIZAÇÃO

Os vasos sanguíneos encontrados no órgão vomeronasal são importantes porque além de sua função de carrear nutrientes, a dilatação desses vasos confere ereção. Esse processo, assim como a secreção de glândulas no lúmen do órgão, é controlado por mecanismos nervosos. Embora exista uma grande importância dos sistemas de vasos sanguíneos para o funcionamento do OVN, existe pouca pesquisa a respeito, apesar dos recentes estudos sobre o suprimento sanguíneo na cavidade nasal (SALAZAR; QUINTEIRO, 1998). Além disso, (vasos associados ao ducto vomeronasal), é claro que estruturas que envolvem o tecido mole do OVN, que na maioria das espécies é de natureza cartilaginosa, atuam como proteção e participam de modo importante nos mecanismos do processo de bombeamento (SALAZAR et al., 1995).

Salazar e Quinteiro (1998), observaram por microdissecção de cabeças de rato que o sangue alcança o OVN via uma derivação ventromedial dos ramos da artéria esfenopalatina que supre a mucosa da concha nasal. Eles observaram também que o sangue do órgão vomeronasal é drenado por uma grande veia regular. Eletromicrografias de varredura indicam o suprimento arterial formado por uma rede, enquanto o sistema venoso drena de forma mais direta para uma única e maior veia coletora com uma parede regularmente grossa sendo que um grupo de vasos menores rodeiam o OVN, vasos esses que podem ser pequenas veias, vasos linfáticos ou até mesmo sinusóides.

Aos 14 dias e meio após a fecundação, o feto do rato apresenta um grande vaso sanguíneo se desenvolvendo entre o epitélio respiratório e o epitélio livre de receptores do órgão vomeronasal, localizado lateralmente. Vasos semelhantes não são

observados em associação ao neuroepitélio. Aos 18 dias e meio após a fecundação vasos sanguíneos, ocasionalmente com aparência sinusoidal, salientam-se na lâmina basal e penetra na base do neuroepitélio. Com um a cinco dias após o nascimento, os vasos sanguíneos são mais freqüentes na base do neuroepitélio, mas devem penetrar além de sua metade exterior. Ladeados por pequenas lamelas de tecido conjuntivo, os vasos crescem para o interior do neuroepitélio perpendicular à sua base. Numerosas células neuronais podem ser reconhecidas em volta dos vasos sanguíneos invasores. Em ratos adultos uma rica rede vascular é observada ao longo do epitélio livre de receptores. Anexo às lamelas de tecido conjuntivo, ramos desses vasos penetram nas camadas de células pericárias receptoras vomeronasais e eventualmente até alcançam o nível do núcleo das células de suporte. Geralmente, um a cinco vasos intraepiteliais são incluídos em cada secção transversal frontal semifina do órgão. As lamelas de tecido conjuntivo, contendo vasos sanguíneos, são envolvidas por um pacote de pericários neuronais dando ao epitélio uma aparência colunar. Com essas colunas os vasos sanguíneos são cortados em diferentes ângulos. Ramos de vasos maiores ocasionalmente surgem com aparência de grossos esfíncteres projetando para o lúmen. Em estágios anteriores, vasos sanguíneos intraepiteliais não são observados no epitélio livre de receptores (BREIPOHL et al., 1981).

*Material e
Métodos*

3 MATERIAL E MÉTODO

Para a realização do presente trabalho foram utilizados 20 ratos Wistar, com 120 dias de idade, pesando entre 210 e 318 gramas. Deses animais, sete machos e sete fêmeas foram utilizados para as análises morfológicas e histológicas dos órgãos vomeronasais (OVN). Os outros seis animais, três de cada sexo, foram utilizados para realizar análises anatômicas e histológicas destinadas a evidenciar o órgão e sua localização.

3.1 COLETA E FIXAÇÃO DO ÓRGÃO VOMERONASAL

Os ratos anestesiados a etérea foram colocados a esmoer, com o pescoço fixado em uma placa de madeira, e a cabeça inclinada para trás. Através de uma incisão na pele, o órgão vomeronasal foi exposto e lavado com solução fisiológica. Em seguida, o órgão foi colocado em uma solução de fixação de Bouin-Helly, composta por: 10% de ácido picrílico, 10% de ácido crômico e 10% de ácido nítrico. A fixação foi realizada por 24 horas. Após a fixação, o órgão foi lavado com solução fisiológica e colocado em uma solução de álcool 70% para a desidratação. Em seguida, o órgão foi colocado em uma solução de álcool 100% e, finalmente, em uma solução de xilol para a inclusão.

Material e Métodos

Após a inclusão, o órgão foi cortado em seções transversais de 5 µm de espessura, utilizando uma lâmina de vidro. As seções foram coradas com o método de Gomori para a demonstração da atividade da acetilcolinesterase (AChE). Em seguida, as seções foram montadas em lâminas de vidro e cobertas com uma lamina de vidro.

3 MATERIAL E METÓDO

Para a realização do presente trabalho foram utilizados 20 ratos Wistar, com 120 dias de idade, pesando entre 210 e 318 gramas. Destes animais, sete machos e sete fêmeas foram utilizados para as análises morfométricas e histológicas dos órgãos vomeronasais (OVN). Os outros seis animais, três de cada sexo, foram utilizados para realizar técnicas anatômicas e histológicas destinadas a evidenciar o órgão e ilustrações.

3.1 COLETA E FIXAÇÃO DO ÓRGÃO VOMERONASAL

Os ratos destinados a estudos morfométricos do OVN foram inicialmente pesados e, em seguida injetados via intraperitoneal com heparina sódica (Liquemine, Roche®) na concentração de 125 UI por quilograma de peso corporal. Após quinze minutos, estes animais foram injetados também por via endovenosa com tiopental sódico (Thiopentax, Cristália ®) na dose de 50mg por kg de peso corporal. A seguir quando o animal encontrava-se em plano de anestesia profunda, foi feita uma incisão ao longo da linha mediana ventral do corpo e, do tórax, foi retirado o esterno para permitir acesso ao coração. Em seguida a aorta foi canulada através de uma abertura no ápice do ventrículo esquerdo.

Numa primeira etapa, uma lavagem por perfusão do leito vascular foi realizada com solução de Ringer bicarbonato, utilizando bomba peristáltica (Technal®) com pressão de 120mmHg, durante cinco minutos, a 12 ° C.

Imediatamente após este procedimento, os ratos foram perfundidos com solução fixadora de glutaraldeído (Electron Microscopy Sciences) a 2,5% em tampão fosfato (0,1M, pH 7,4-7,6) durante 30 minutos com pressão de 80 mm de Hg. Após esta etapa, a cabeça do animal foi retirada cirurgicamente e colocada para descalcificação em líquido de Perenyi durante sete dias. Após este período, a cabeça foi imersa em solução saturada de tetraborato de sódio durante 6 horas, para neutralizar o ácido da solução descalcificadora.

A seguir, a região nasal do rato foi dissecada com auxílio de microscópio estereoscópico (Nikon®), e retirado o septo nasal. Essa estrutura foi então observada com transiluminação e, com auxílio de régua acoplada ao ocular do estereomicroscópio, com aproximação de 0,01mm, o comprimento do OVN foi mensurado. Os órgãos vomeronasais foram desidratados em séries crescentes de etanol, incluídos em glicol metacrilato (Technovit ®) e orientados na direção do corte para a região rostral do OVN.

3.2 PROCESSAMENTO

Após a inclusão foi realizada microtomia até localizar a região mais rostral do OVN. A partir deste momento, foram feitos cortes de 3 μ m de espessura com intervalos de 100 μ m de cada órgão. Foram desta forma, obtidos em média 64 cortes por órgão. O micrótomo utilizado para este fim foi Miicron modelo Hm335E da Leica®.

3.3 COLORAÇÃO E MENSURAÇÃO

Os cortes obtidos foram corados com Azul de toluidina 5% borato de sódio 1% durante três minutos. Após a secagem das lâminas, estas foram montadas com Entelan New Merck® e fotografadas em microscópio de luz Olympus com 100 diâmetros de magnificação (100 aumentos). As fotografias foram reveladas e o aumento das estruturas em cada foto foi calculado da seguinte maneira: foram medidos dois pontos no negativo (a) e os mesmos dois pontos foram medidos na fotografia (A), dividindo a medida da fotografia pelo aumento do negativo (A/a) se obteve o aumento da fotografia que multiplicado por 100 foi obtido o aumento da estrutura fotografada no microscópio (aumento final= $A/a \times 100$).

3.4 ESTUDO MORFOMÉTRICO

As mensurações foram realizadas diretamente nas fotografias obtidas, com aumento conhecido. Foram registradas as medidas da altura e largura do OVN. Para estimar a área do OVN, porção tubular, epitélio da parede do tubo, luz do tubo, artérias, veias e outros tecidos. Uma grade com 600 interseções desenhada em folha transparente foi colocada sobre a fotografia do OVN e contadas as interseções que coincidiam com cada uma das estruturas histológicas deste órgão. Posteriormente, foram estimadas as proporções de área e volumétricas que cada uma delas representa (WEIBEL, 1979; WEIBEL; KISTLER; SCHERLE, 1966).

3.4.1 Características da grade

A grade utilizada para estimar as proporções de área e volumétricas do OVN é de formato retangular desenhada sobre uma folha transparente A4 com 20 (linhas verticais) X 30 (linhas horizontais) totalizando 600 interseções com uma distância de 7,2 mm entre cada interseção, que corresponde a $5\mu\text{m}$ da estrutura fotografada pelo microscópio com 100X.

A largura da grade corresponde a 14,4 mm de comprimento e 21,6 mm de largura.

Cada milímetro da grade, corresponde a $0,6949\mu\text{m}$ da estrutura fotografada e cada quadrado da grade com $51,84\text{ mm}^2$ corresponde a $25\mu\text{m}^2$.

3.5 ESTUDO ESTEREOLÓGICO

No estudo estereológico foram feitas o volume do espaço de referência ou do órgão e estimativa da densidade de volume da porção tubular, epitélio da parede do tubo, luz do tubo, artérias, veias e outros tecidos.

3.5.1 Volume do espaço de referência ou vascular (V_{ref})

O volume de referência das estruturas analisadas foi obtido através da análise das fotografias de cada secção com intervalos de 100μ de acordo com a metodologia proposta pelo matemático Bonaventura Cavalieri (1598-1647), o qual baseado nos textos gregos antigos demonstrou que o volume pode ser estimado por uma série de

secções paralelas separadas por uma distância conhecida. A estimativa se dá pelo produto da distância entre as secções (d ou k, sendo d a nomenclatura utilizada para cortes macroscópicos e k para cortes microscópicos) e a somatória das áreas (Σa) em secções sistematicamente aleatórias (MANDARIM –DE-LACERDA, 2003).

Com auxílio da grade de 600 intersecções foi calculado o volume de cada estrutura, inclusive dos vasos:

$$\text{Volume} = \Sigma A (B^2)$$

Σ : somatória

A: Número de intersecções que coincidem com a estrutura

B: Distância entre cada intersecção 2 ($5\mu^2$)

3.5.2 Cálculo da área seccional

Para se obter a estimativa do volume referência pelo método de Cavalieri, foi feito o cálculo da área de cada secção. Esta área se dá do produto da área calculada na fotografia por $25 \mu^2$ que corresponde a um milímetro da grade.

3.5.3 Estimativa da densidade de volume (Vv%)

A densidade de volume corresponde à fração de volume total do órgão vomeronasal ocupada por vasos ou outra estrutura representada em porcentagem (BROWNE; HOWARD; HOLLEYS, 1995; HOWARD; REED, 1998).

Também com auxílio da grade foram calculadas as densidades de volume das estruturas (Vv%).

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística dos dados realizada utilizou-se o programa Bio Estat 3.0 por meio do teste de Mann-Whitney que é uma prova não-paramétrica destinada a comparar duas amostras independentes do mesmo tamanho ou desiguais, cujos escores tenham sido mensurados pelo menos a nível ordinal e o teste de regressão linear simples para testar a correlação dos dados obtidos.

Resultados

2 RESULTADOS

A análise comparativa do material estudado macroscopicamente e em microscopia de luz apresentou os seguintes resultados:

2.1 RESULTADOS MACROSCÓPICOS

O peso corporal médio dos ratos machos Wistar com 120 dias de idade foi de $303,25 \pm 16,8$ g, sendo o peso mínimo de 216,0 g e o máximo de 318,0 g. O peso corporal médio dos ratos fêmeas da mesma linhagem e idade que os machos apresentaram peso corporal médio de $253,45 \pm 16,8$ g, sendo o peso mínimo de 210,0 g e o máximo de 318,0 g. Apesar das fêmeas apresentarem peso médio menor que os machos, estes pesos não apresentaram diferença significativa. De forma similar o comprimento médio do OVN foi em machos de $8,85 \pm 0,05$ mm e em fêmeas de $8,77 \pm 0,05$ mm, não apresentando diferença significativa (Tabelas 1 e 2).

O órgão vomer nasal (OVN) dos ratos estudados é uma estrutura de natureza tubular envolta por uma cápsula dura e situada a cada lado base do crânio nasal (Figuras 1 e 2). Este órgão termina caudalmente em um fundo cego e anteriormente comunica-se com a cavidade nasal através de um orifício estreito (Figura 2).

Na parte tubular do órgão vomer nasal e a cápsula dura encontra-se uma camada de tecido conjuntivo a qual constitui a parede do órgão. Nesta parede encontram-se abundantes glândulas mucosas com aspecto de glândulas acinares de mucina. Estas glândulas são particularmente

Resultados

4 RESULTADOS

A análise comparativa do material executada macroscopicamente e em microscopia de luz apresentou os seguintes resultados:

4.1 RESULTADOS MACROSCÓPICOS

O peso corporal médio dos ratos machos Wistar com 120 dias de idade foi de $268,29 \pm 16,8$ g, sendo o peso mínimo de 216,0 g e o máximo de 318,0g. O peso corporal médio dos ratos fêmeas da mesma linhagem e idade que os machos apresentaram peso corporal médio de $253,43 \pm 16,64$ g, sendo o peso mínimo de 210,0 g e o máximo de 310,0g. Apesar das fêmeas apresentarem peso médio menor que os machos, estes pesos não apresentaram diferença significativa. De forma similar o comprimento médio do OVN foi em média de $6,85 \pm 0,05$ mm nos machos e de $6,77 \pm 0,05$ mm nas fêmeas e não apresentou diferença significativa. (Tabelas 1 e 2.)

O órgão vomeronasal (OVN) dos ratos estudados é uma estrutura de conformação tubular, envolta por uma cápsula óssea e situado a cada lado base do septo nasal (Figuras 1 e 2). Este órgão termina caudalmente em um fundo cego enquanto rostralmente comunica-se sem linha de demarcação com a cavidade nasal (Figura 2) através do orifício rostral, estando desta forma separado do ducto incisivo.

Entre a parte tubular do órgão vomeronasal e a cápsula óssea encontra-se uma espessa camada de tecido conjuntivo a qual constitui a lâmina própria do órgão. Nesta lâmina própria encontram-se localizadas abundantes glândulas túbulo-acinosas com aspecto de glândulas secretoras de muco. Estas glândulas são particularmente

abundantes nas regiões medial e caudal do órgão (Figuras 5, 7 e 8). A presença de muco na luz da porção tubular do órgão demonstram que estas glândulas da lâmina própria desembocam nesse lugar.

Na lâmina própria do OVN, também foi identificada a artéria principal (Figuras 2-8) que irriga este órgão. Esta artéria corre próxima e adjacente ao epitélio não sensorial ao longo da porção tubular do OVN. Artérias de menor calibre e abundantes veias também foram identificadas na lâmina própria do órgão (Figuras 5, 7 e 8). A ocorrência de arteríolas e vênulas freqüentemente penetrando no epitélio também foram identificadas.

A organização e distribuição dos diversos tipos de tecido observados varia de acordo com a região do órgão, desta forma, as descrições são feitas discriminando as porções rostral, média e caudal.

4.2 RESULTADOS HISTOLÓGICOS

A porção rostral compreende aproximadamente os primeiros 2,4mm do OVN. Nesta região a porção tubular do OVN desemboca no vestíbulo da cavidade nasal. Nos cortes transversais desta desembocadura, a porção tubular do OVN aparece como um sulco oblíquo contínuo com o epitélio do vestíbulo nasal, do qual esta porção tubular não apresenta diferenças evidentes. O epitélio do vestíbulo nasal é do tipo estratificado pavimentoso não queratinizado, diferente do epitélio da cavidade nasal, o qual é pseudo estratificado ciliado com células caliciformes. Junto à desembocadura da porção tubular do OVN, a artéria principal e suas ramificações assim como as vênulas que drenam o órgão encontram-se em posição lateral. Ainda nesta região a lâmina

própria é estreita e nela não são encontradas glândulas. A cápsula óssea do OVN só é evidente na parede lateral, dorsal e medialmente esta ausente e ventralmente é substituída por uma fina lâmina de cartilagem hialina.

Imediatamente caudal à desembocadura, a porção tubular do OVN adota um formato oval, dispõe-se em posição oblíqua e com lúmen estreito. Neste segmento a parede da porção tubular do OVN é formada por epitélio colunar pseudo-estratificado ciliado não sensorial. Entretanto, nas regiões mais caudais desta porção rostral, o epitélio que reveste medial e internamente o lúmen da porção tubular do OVN continua sendo colunar pseudo-estratificado ciliado não sensorial. Entretanto, na parede ventro-medial desta porção tubular o epitélio de revestimento transforma-se em neuroepitélio, formado por três diferentes camadas de células. Ainda neste nível a artéria principal do OVN situa-se dorsalmente e em volta dela, evidenciam-se glândulas túbulo acinosas mucosas.- (Figuras 2-4).

Nesta porção a cápsula óssea é encontrada circundando o órgão, porém ela abre-se dorso medialmente. Através desta abertura passam vasos sanguíneos. A cartilagem do septo nasal encontra-se junto ao OVN em suas porções medial e ventral, enquanto a porção lateral está em contato com a mucosa nasal (Figuras 2-4).

A porção média do OVN compreende aproximadamente os 2,4mm caudais à parte rostral. Nesta porção, a parte tubular do OVN situa-se próxima ao septo nasal, seu lúmen é amplo com formato de meia lua com concavidade voltada lateralmente. O epitélio colunar pseudo-estratificado ciliado não sensorial continua revestindo a parede latero-dorsal do lúmen do OVN e a parede ventro-medial desta porção tubular também é formada pelo neuroepitélio especializado formado por três diferentes camadas de celulares que são as células de suporte, que são encontradas mais próximas ao lúmen

do órgão, células sensitivas (receptores vomeronasais) e células basais (indiferenciadas). Essas últimas mais distantes do lúmen.

A artéria principal encontra-se dorso-lateral à porção tubular do OVN. No tecido conjuntivo além de abundantes vasos sanguíneos, as glândulas túbulo acinosas mucosas aumentam progressivamente em sentido caudal, especialmente na parte dorsal do OVN.

A cápsula óssea desta porção encontra-se envolvendo todo o órgão e a cartilagem do septo nasal não está mais em contato com o OVN. (Figuras 5 e 6).

A porção caudal compreende aproximadamente os 2,0mm mais caudais do OVN em sua extremidade caudal. A porção tubular termina em fundo cego, local que consideramos a parte caudal final do órgão como um todo. Nesta região, a porção tubular do OVN situa-se ventralmente e o amplo lúmen continua com formato semilunar com concavidade dorsal, exceto no extremo caudal onde adota formato irregular. A constituição histológica da porção tubular é similar a da porção média, somente mudando de posição. O epitélio colunar pseudo-estratificado ciliado não sensorial situa-se dorsalmente e o neuroepitélio ocupa a parte ventral. A artéria principal ocupa o centro do órgão, e os vasos pequenos e as glândulas túbulo acinosas são abundantes.

A cápsula óssea desta porção encontra-se envolvendo o OVN, exceto na parte dorsal onde são evidenciados abundantes agrupamentos das glândulas do órgão (Figuras 7 e 8).

O eixo do órgão gira aproximadamente 90° e o epitélio sensorial passa a ser encontrado no assoalho do órgão enquanto o epitélio não sensorial situa-se dorsalmente.

Com a ocorrência desta rotação que ocorre o lúmen passa a apresentar-se com sua face convexa ventralmente e sua face côncava dorsalmente. Já a artéria principal encontra-se na porção dorsal do órgão.

4.3 RESULTADOS MORFOMÉTRICOS E ESTERIOLOGICOS

A altura e a largura do órgão vomeronasal aumentam em sentido rostro-caudal nos machos, mas diminui 21 no final do terço caudal. Nas fêmeas esse padrão também é seguido, porém esse crescimento ocorre em menor intensidade (Figuras 9 e 10). Como consequência do aumento gradual dessas medidas, observamos também que as áreas das secções também possuem esse comportamento (Figura 11).

As áreas do tubo epitelial e do epitélio do órgão apresentam um aumento em sentido rostro-caudal, com maiores medidas na porção média do OVN e estas diminuem no início da porção caudal, em ambos os sexos (Figuras 12 e 13).

O lúmen do órgão ou ducto vomeronasal segue os padrões do tubo epitelial nos machos, mas nos machos apresenta somente uma pequena variação (Figura 14).

As áreas das artérias em cada secção apresentam um perfil crescente nos machos, sendo as maiores medidas encontradas na porção mais caudal. Já nas fêmeas estas medidas estão no final da porção média. Elas decrescem na porção caudal (Figura 15).

As veias nos machos possuem maior área na porção média do órgão e porções menores nos demais segmentos. As fêmeas apresentam um perfil irregular (Figura 16).

As áreas dos outros tecidos apresentam um perfil semelhante para machos e fêmeas sendo crescente em sentido rostro-caudal (Figura 17).

4.3.1 Volume do espaço de referência (Vref)

Nos machos os volumes dos órgãos variam entre 17,48 e 21,84 mm³ com média de 19,62 mm³. Os volumes do tubo variam entre 4,54 e 5,60 mm³ com média de 4,94 mm³ sendo que os volumes das paredes epiteliais variam entre 3,89 e 4,81 mm³ com média 4,24 mm³; e os volumes dos lúmens variam entre 0,64 e 0,79 mm³ com média 0,70 mm³. Os volumes das artérias variam entre 2,46 e 2,99 mm³ com média de 2,68 mm³. Os volumes das veias variam entre 0,56 e 0,94 mm³ com média de 0,78 mm³ e os volumes dos outros tecidos variam entre 9,85 e 12,36 mm³ com média 11,22 mm³ (Tabela 3).

Considerando 100 gramas de animal os volumes dos órgãos variam entre 6,42 e 8,64 mm³ com média de 7,42 mm³. Os volumes do tubo variam entre 1,51 e 2,25 mm³ com média de 1,88 mm³ sendo que os volumes das paredes epiteliais variam entre 1,29 e 1,94 mm³ com média 1,61 mm³; e os volumes dos lúmens variam entre 0,21 e 0,32 mm³ com média 0,26 mm³. Os volumes das artérias variam entre 0,90 e 1,17 mm³ com média de 1,02 mm³. Os volumes das veias variam entre 0,26 e 0,32 mm³ com média de 0,29 mm³ e os volumes dos outros tecidos variam entre 3,7 e 4,93 mm³ com média 4,24 mm³.

Nas fêmeas os volumes dos órgãos variam entre 15,33 e 21,40 mm³ com média de 18,21 mm³. Os volumes do tubo variam entre 3,78 e 4,61 mm³ com média de 4,15 mm³ sendo que os volumes das paredes epiteliais variam entre 2,41 e 2,96 mm³ com média 2,67 mm³; e os volumes dos lúmens variam entre 1,37 e 1,65 mm³ com média 1,48 mm³. Os volumes das artérias variam entre 2,71 e 3,67 mm³ com média de 3,36

mm³. Os volumes das veias variam entre 0,43 e 0,53 mm³ com média de 0,47 mm³ e os volumes dos outros tecidos variam entre 8,72 e 12,47 mm³ com média 10,22 mm³ (Tabela 4).

Considerando 100 gramas de animal os volumes dos órgãos variam entre 6,68 e 7,79 mm³ com média de 7,24 mm³. Os volumes do tubo variam entre 1,44 e 1,86 mm³ com média de 1,66 mm³ sendo que os volumes das paredes epiteliais variam entre 0,95 e 1,18 mm³ com média 1,06 mm³; e os volumes dos lúmens variam entre 0,49 e 0,67 mm³ com média 0,59 mm³. Os volumes das artérias variam entre 1,09 e 2,00 mm³ com média de 1,35 mm³. Os volumes das veias variam entre 0,15 e 0,21 mm³ com média de 0,19 mm³ e os volumes dos outros tecidos variam entre 3,92 e 4,17 mm³ com média 4,04 mm³ (Figuras 18-20).

4.3.2 Área seccional

Os comprimentos dos órgãos variam entre 216 mm e 318 mm nos machos com média de 268,286 mm e entre 210 mm e 310 mm nas fêmeas com média de 253,43 mm.

Nos machos as alturas dos órgãos vomeronasais variam entre 0,673 mm (porção cranial) e 1,466 mm (porção caudal) com média de 1,065 mm. As larguras variam entre 0,307 mm (porção cranial) e 0,999 mm (porção caudal) com média de 0,726 mm. As áreas dos segmentos variam entre 1750 µm² (porção cranial) e 9350 µm² (porção caudal) com média de 6004,430 µm². As áreas dos tubos variam entre 25 µm² (porção cranial) e 3350 µm² (porção caudal) com média 1520,339 µm². As áreas das paredes epiteliais variam entre 25 µm² (porção cranial) e 2750 µm² (porção caudal) com

média de $1306,013 \mu\text{m}^2$. As áreas dos lúmens variam entre $0 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) e $800 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) com média de $214,926 \mu\text{m}^2$. As áreas das artérias variam entre $25 \mu\text{m}^2$ (porção cranial) e $2025 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) com média de $825,949 \mu\text{m}^2$. As áreas das veias variam entre $50 \mu\text{m}^2$ (porção cranial) e $500 \mu\text{m}^2$ (porção média) com média de $239,662 \mu\text{m}^2$. As áreas dos outros tecidos variam entre $589 \mu\text{m}^2$ (porção cranial) e $5650 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) com média de $3453,222 \mu\text{m}^2$.

Nas fêmeas as altura dos órgãos vomeronasais variam entre $0,666 \text{ mm}$ (porção cranial) e $1,493 \text{ mm}$ (início da porção caudal) com média de $1,061 \text{ mm}$. As larguras variam entre $0,436 \text{ mm}$ (porção cranial) e $0,964 \text{ mm}$ (início da porção caudal) com média de $0,803$. As áreas dos segmentos variam entre $1000 \mu\text{m}^2$ (porção cranial) e $10500 \mu\text{m}^2$ (início da porção caudal) com média de $6487,527 \mu\text{m}^2$. As áreas dos tubos variam entre $50 \mu\text{m}^2$ (fim da porção caudal) e $3125 \mu\text{m}^2$ (início da porção caudal) com média $1964,88 \mu\text{m}^2$. As áreas das paredes epiteliais variam entre $50 \mu\text{m}^2$ (fim da porção caudal) e $1975 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) com média de $1255,03 \mu\text{m}^2$. As áreas dos lúmens variam entre $0 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) e $1400 \mu\text{m}^2$ (início da porção caudal) com média de $709,85 \mu\text{m}^2$. As áreas das artérias variam entre $350 \mu\text{m}^2$ (porção cranial) e $2200 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) com média de $1086,98 \mu\text{m}^2$. As áreas das veias variam entre $50 \mu\text{m}^2$ (porção cranial) e $375 \mu\text{m}^2$ (porção média) com média de $151,86 \mu\text{m}^2$. As áreas dos outros tecidos variam entre $550 \mu\text{m}^2$ (porção cranial) e $6325 \mu\text{m}^2$ (porção caudal) com média de $3283,862 \mu\text{m}^2$ (Figura 22).

4.3.3 Densidade de volume (Vv%)

Nos machos a densidade volumétrica do tubo varia entre 22,289% e 26,316% com média de 25,180%. A Vv da parede epitelial varia entre 19,143% e 22,601% com média de 21,626%. As Vv do lúmen variam entre 3,146% e 3,715% com média de 3,555%. As Vv das artérias variam entre 12,810% e 14,466% com média de 13,676%. As Vv das veias variam entre 3,189% e 4,570% com média de 3,973%. As Vv de outros tecidos variam entre 56,347% e 59,715% com média de 57,171%.

Nas fêmeas a densidade volumétrica do tubo varia entre 20,952% e 24,091% com média de 22,813%. A Vv da parede epitelial varia entre 13,767% e 15,366% com média de 14,677%. As Vv do lúmen variam entre 7,184% e 8,796% com média de 8,136%. As Vv das artérias variam entre 16,327% e 21,279% com média de 18,470%. As Vv das veias variam entre 2,226% e 2,788% com média de 2,580%. As Vv de outros tecidos variam entre 51,999% e 59,248% com média de 56,136% (Figura 21).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Aplicando ao teste de Mann-Whitney para comparar valores de machos e fêmeas encontramos $U = 13$ e $(p) = 0,1417$ para o volume do OVN, $U = 2,5$ e $(p) = 0,0049$ para o volume do tubo, $U = 0,00$ e $(p) = 0,0017$ para o volume da parede epitelial, $U = 0,00$ e $(p) = 0,0017$ para o volume do lúmen, $U = 2$ e $(p) = 0,004$ para o volume das artérias, $U = 0$ e $(p) = 0,0017$ para o volume das veias e $U = 15$ e $(p) = 0,2248$ para o volume das outras estruturas do órgão vomeronasal indicando que existem diferenças significativas entre os volumes do tubo epitelial sendo que é maior nos machos, da parede que é

maior nos machos, do lúmen que é maior nas fêmeas e dos vasos sanguíneos sendo que o volume arterial nas fêmeas é maior e o volume venoso nos machos é maior.

Aplicando ao teste de Mann-Whitney para comparar valores de machos e fêmeas proporcionais a 100 gramas de peso encontramos $U = 23$ e $(p) = 848$ para o volume do OVN, $U = 13$ e $(p) = 0,1417$ para o volume do tubo, $U = 0,00$ e $(p) = 0,0017$ para o volume da parede epitelial, $U = 0,00$ e $(p) = 0,0017$ para o volume do lúmen, $U = 3$ e $(p) = 0,006$ para o volume das artérias, $U = 0$ e $(p) = 0,0017$ para o volume das veias e $U = 21$ e $(p) = 0,6547$ para o volume das outras estruturas do órgão vomeronasal indicando que existem diferenças significativas entre os volumes da parede que é maior nos machos, do lúmen que é maior nas fêmeas e dos vasos sanguíneos sendo que o volume arterial nas fêmeas é maior e o volume venoso nos machos é maior (Tabelas 5 e 6).

Aplicando o teste de regressão linear para comparar valores nos machos encontramos $(p) = 0,0349$ para o volume do epitélio e o volume do órgão vomeronasal, $(p) = 0,0364$ para o volume do lúmen e o volume do OVN, $(p) = 0,0079$ para o volume das artérias e o volume do OVN, $(p) = 0,0055$ para o volume das veias e o volume do OVN, $(p) = 0,055$ para o volume de outros tecidos e o volume do OVN, $(p) = 0,1151$ para o volume das artérias e o volume do epitélio, $(p) = 0,0304$ para o volume do OVN e o peso dos animais e $(p) = 0,0069$ para o volume do OVN e o comprimento dos animais sendo que o volume da artéria e o volume do epitélio apresentando baixa correlação e os demais itens com correlação tendendo à nulidade.

Aplicando o teste de regressão linear para comparar valores nas fêmeas encontramos $(p) = 0,0009$ para o volume do epitélio e o volume do órgão vomeronasal, $(p) = 0,0473$ para o volume do lúmen e o volume do OVN, $(p) = 0,1629$ para o volume das artérias e o volume do OVN, $(p) = 0,0432$ para o volume das veias e o volume do

OVN, $(f) = 76,4135$ e $(p) = 0,0008$ para o volume de outros tecidos e o volume do OVN, $(p) = 0,2416$ para o volume das artérias e o volume do epitélio, $(p) = 0,0006$ para o volume do OVN e o peso dos animais e $(p) = 0,0147$ para o volume do OVN e o comprimento dos animais sendo que o volume da artéria e o volume do epitélio apresentando baixa correlação e os demais itens com correlação com tendência à nulidade.

Figura 1 - Região nasal de rato Wistar fêmea com 120 dias de idade, descalcificada no líquido de Papani, corada com hematoxilina ácida de Mayer e desidratada em glicerol. Ovas vasculares (ova), dorsoalmente o vaso vómer (V) e o septo nasal (SN), ventromente o processo do palato duro (P). Barra = 1mm.

Figura 2 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar, ao próximo ao extremo rostral do OVN corada com azul de toluidina, sendo de: cartilagem (C), septo nasal (S), artéria principal (A), epitélio do vestíbulo nasal (E), cartilagem tubular (T), capsula óssea (O) Abertura da parte tubular do OVN (seta). Barra = 150µm.

Figura 1 - Região nasal de rato Wistar fêmea com 120 dias de idade, descalcificada no líquido de Perenyi, corada com Hematoxilina ácida de Herlich e diafanizada em glicerina. Órgão vomeronasal (seta), dorsalmente o osso vômer (V) e o septo nasal (SN), ventralmente destaca-se o palato duro (P). Barra = 1mm

Figura 2 - Fotomicrografia de secção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar ao próximo ao extremo rostral do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal (A); epitélio do vestíbulo nasal (E); cartilagem hialina (C); cápsula óssea (O) Abertura da parte tubular do OVN (seta). Barra = 150µm

Figura 3 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na extremidade rostral, aproximadamente 400µm caudal à desembocadura da porção tubular (T) do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal (A); epitélio do vestíbulo nasal (E); epitélio respiratório(R); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G). Barra = 200µm

Figura 4 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na extremidade rostral, aproximadamente 800µm caudal a desembocadura da porção tubular (T) do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal (A); epitélio do vestíbulo nasal (E); epitélio respiratório (R); cápsula óssea (O). Barra = 200µm

Figura 5 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na porção média do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Septo nasal (S); artéria principal localizada lateralmente (A); lúmen da porção tubular do OVN (L); epitélio respiratório do OVN (R); neuroepitélio (N); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G); pequenos vasos sanguíneos (V). Barra = 250µm

Figura 6 - Fotomicrografia com detalhe de seção transversal da porção tubular do OVN de rato Wistar na porção média corado com azul de toluidina borato de sódio, destacando artéria principal localizada lateralmente (A); lúmen da porção tubular do OVN localizado medialmente (L); epitélio respiratório do OVN (R); neuroepitélio (N); cápsula óssea (O). Barra = 1200µm

Figura 7 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal esquerda de rato Wistar na porção caudal do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Artéria principal localizada dorsalmente (A); lúmen da porção tubular do OVN localizado ventralmente (L); epitélio respiratório do OVN (R); neuroepitélio (N); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G); pequenos vasos sanguíneos (V). Barra = 300µm

Figura 8 - Fotomicrografia de seção transversal da região nasal de rato Wistar próximo ao extremo caudal do OVN corado com azul de toluidina borato de sódio. Artéria principal localizada dorsalmente (A); lúmen da porção tubular do OVN localizado ventralmente (L); epitélio do OVN (E); cápsula óssea (O); glândulas mucosas (G); pequenos vasos sanguíneos (V). Barra = 150µm

Figura 9 - Perfil das alturas em mm das secções do órgão vomeronasal como um todo dos ratos Wistar adultos. As barras representam cortes com 3 μ m de espessura com intervalos de 100 μ m. São Paulo, 2005

Figura 10 - Perfil das larguras em mm das secções do órgão vomeronasal como um todo dos ratos Wistar adultos. As barras representam cortes com 3 μ m de espessura com intervalos de 100 μ m. São Paulo, 2005

Figura 11 - Perfil das áreas em μ^2 das secções do órgão vomeronasal como um todo dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μ m de espessura com intervalos de 100 μ m. São Paulo, 2005

Figura 12 - Perfil das áreas em μ^2 das porções tubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μ m de espessura com intervalos de 100 μ m. São Paulo, 2005

Figura 13 - Perfil das áreas em μ^2 do epitélio das porções tubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μ m de espessura com intervalos de 100 μ m. São Paulo, 2005

Figura 14 - Perfil das áreas em μ^2 do lúmen das porções tubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μ m de espessura com intervalos de 100 μ m. São Paulo, 2005

Figura 15 - Perfil das áreas em μ^2 da artéria principal e seus ramos que irrigam o órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μm de espessura com intervalos de 100 μm . São Paulo, 2005

Figura 16 - Perfil das áreas em μ^2 das veias que drenam o órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μm de espessura com intervalos de 100 μm . São Paulo, 2005

Figura 17 - Perfil das áreas em μ^2 dos outros tecidos peritubulares do órgão vomeronasal dos ratos Wistar adultos. As barras representam as áreas dos cortes com 3 μm de espessura com intervalos de 100 μm . São Paulo, 2005

Figura 18 - Relações volumétricas dos principais componentes histológicos do órgão vomeronasal entre ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005

Figura 19 - Relações volumétricas da porção tubular do órgão vomeronasal e seus componentes entre ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005

Figura 21 - Comparação das proporções volumétricas (V%) dos componentes histológicos do órgão vomeronasal de ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005

Figura 20 - Comparação volumétrica dos componentes histológicos do órgão vomeronasal em ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005

Figura 21 - Comparação da altura e largura médias com seus respectivos erros padrões do órgão vomeronasal de ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005

Figura 21 - Comparação das proporções volumétricas (Vv%) dos componentes histológicos do órgão vomeronasal de ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005

Figura 22 - Comparação da altura e largura médias com seus respectivos erros padrões do órgão vomeronasal de ratos Wistar adultos machos e fêmeas. São Paulo, 2005

Tabela 2 - Relação do peso corporal, comprimento do Órgão vomeronasal e número de cortes obtidos na microtomia de ratos Wistar fêmeas adultas. São Paulo, 2005

Ratos fêmeas		Órgão vomeronasal	
No	Peso em g	Comprimento em mm	No. de cortes
F1	210,00	6,02	64
F2	200,00	6,08	67
F3	205,00	6,76	65
F4	215,00	6,63	62
F5	216,00	6,72	64
F6	238,00	6,92	67
F7	310,00	6,95	67
x	253,43	6,77	65
s	16,64	0,65	
Média = x		Erro padrão = s	

Tabela 1 - Relação do peso corporal, comprimento do Órgão vomeronasal e número de cortes obtidos na microtomia de ratos Wistar machos adultos. São Paulo, 2005

Órgão	Ratos machos		Órgão vomeronasal	
	No	Peso em g	Comprimento em mm	No de secções
	M1	216,00	6,66	64
	M2	216,00	6,64	64
	M3	294,00	6,90	67
	M4	306,00	6,93	67
	M5	318,00	6,96	68
	M6	294,00	6,92	67
	M7	234,00	6,97	68
	x	268,29	6,85	66
	e	16,80	0,05	
	Média = x		Erro padrão = e	

Tabela 2 - Relação do peso corporal, comprimento do Órgão vomeronasal e número de cortes obtidos na microtomia de ratos Wistar fêmeas adultas. São Paulo, 2005

Órgão	Ratos fêmeas		Órgão vomeronasal	
	No	Peso em g	Comprimento em mm	No de secções
	F1	210,00	6,62	64
	F2	290,00	6,88	67
	F3	235,00	6,76	66
	F4	215,00	6,65	62
	F5	216,00	6,62	64
	F6	238,00	6,92	67
	F7	310,00	6,95	67
	x	253,43	6,77	65
	e	16,64	0,05	
	Média = x		Erro padrão = e	

Tabela 3 - Volume do Órgão Vomer nasal e seus componentes expressos em mm³ provenientes ratos Wistar machos adultos. São Paulo, 2005

Órgão	Porção tubular					Outros tecidos
	Total	Parede	Lúmen	Artérias	Veias	
17,49	4,60	3,95	0,65	2,46	0,57	9,86
17,48	4,54	3,90	0,64	2,53	0,56	9,86
18,87	4,63	3,98	0,65	2,68	0,79	10,77
20,71	4,62	3,96	0,65	2,79	0,94	12,37
21,84	5,60	4,81	0,79	2,99	0,93	12,32
20,76	5,32	4,57	0,75	2,66	0,95	11,83
20,22	5,27	4,53	0,74	2,68	0,73	11,54
19,62	4,94	4,24	0,70	2,68	0,78	11,22
0,56	0,17	0,14	0,02	0,06	0,06	0,41
	Média = x	Erro padrão=e				

Tabela 4 - Volume do Órgão Vomer nasal e seus componentes expressos em mm³ provenientes ratos Wistar fêmeas adultas. São Paulo, 2005

Órgão	Porção tubular					Outros tecidos
	Total	Parede	Lúmen	Artérias	Veias	
15,70	3,78	2,41	1,37	2,71	0,44	8,77
19,37	4,30	2,84	1,46	3,16	0,43	11,48
17,22	4,12	2,64	1,48	3,40	0,47	9,22
16,62	3,92	2,46	1,46	3,47	0,45	8,78
16,76	4,04	2,56	1,47	3,57	0,44	8,72
20,52	4,30	2,83	1,47	3,57	0,53	12,12
21,29	4,61	2,96	1,65	3,67	0,53	12,47
18,21	4,15	2,67	1,48	3,36	0,47	10,22
0,82	0,10	0,08	0,03	0,12	0,02	0,65
	Média = x	Erro padrão=e				

Tabela 5 - Medidas estatísticas do órgão vomeronasal de ratos machos. São Paulo, 2005

Tabela 5 - Medidas estatísticas do órgão vomeronasal de ratos machos. São Paulo, 2005

	OVN		Área da secção	Área do tubo	Área da parede	Área do lumen	Área da artéria	Área das veias	Área outros
	ALTURA	LARGURA							
	mm	mm	µ2	µ2	µ2	µ2	µ2	µ2	µ2
Média	1,065154	0,7260596	6004,43	1520,9388	1306,0127	214,9262	825,9494	239,6624	3453,222
Erro padrão	0,00878	0,0072464	84,93438	41,526171	37,536782	6,31333	12,66184	4,208976	54,23132
Mediana	1,106556	0,79992	6562,5	1425	1175	200	850	250	3625
Modo	1,13322	0,839916	7225	2575	2450	200	950	300	3750
Desvio padrão	0,191157	0,1577651	1849,152	904,08874	817,23359	137,4509	275,6678	91,6359	1180,699
Variância da amostra	0,036541	0,0248898	3419365	817376,44	667870,75	18892,75	75992,75	8397,137	1394051
Curtose	0,954919	0,0434823	-0,41437	1,2897338	1,3891063	1,315684	0,27464	0,505734	0,515791
Assimetria	0,337583	0,9431483	-0,84157	0,0914577	0,1420191	1,064039	0,130958	-0,05825	0,479849
Intervalo	0,793254	0,693264	7600	3325	2725	800	1800	450	5061
Mínimo	0,673266	0,306636	1750	25	25	0	225	50	589
Máximo	1,46652	0,9999	9350	3350	2750	800	2025	500	5650
Soma	504,8828	344,15225	2846100	720925	619050	101875	391500	113600	1636827
Contagem	474	474	474	474	474	474	474	474	474
Nível de confiança (95,0%)	0,017253	0,0142391	166,8953	81,598535	73,759424	12,40563	24,8804	8,270598	106,564

Tabela 6 - Medidas estatísticas do órgão vomeronasal de ratos fêmeas. São Paulo, 2005

	OVN		Área da secção μ^2	Área do tubo μ^2	Área da parede μ^2	Área do lumen μ^2	Área da artéria μ^2	Área das veias μ^2	Área outros μ^2
	ALTURA mm	LARGURA mm							
Média	1,06093	0,8033488	6487,527	1964,8796	1255,0328	709,8468	1086,98	151,86	3303,611
Erro padrão	0,010165	0,0057304	94,64974	40,492747	23,753517	18,10091	21,31868	2,790021	56,42482
Mediana	1,059894	0,8448	6500	2100	1325	750	1000	150	3300
Modo	0,86658	0,93324	7200	2975	1125	1050	700	100	3675
Desvio padrão	0,21731	0,122501	2023,38	865,63607	507,79219	386,9533	455,7414	59,64384	1206,225
Variância da amostra	0,047224	0,0150065	4094068	749325,81	257852,9	149732,9	207700,2	3557,388	1454979
Curtose	1,093794	0,4003474	-0,1721	1,0210915	0,7614646	1,115659	-0,96855	1,860851	1,978073
Assimetria	0,050349	1,1452078	-0,18907	0,4495749	0,5184782	0,349053	0,309932	1,271119	-0,22988
Intervalo	0,826584	0,528	9500	3075	1925	1400	1850	325	9950
Mínimo	0,6666	0,4356	1000	50	50	0	350	50	-3625
Máximo	1,493184	0,9636	10500	3125	1975	1400	2200	375	6325
Soma	484,8448	367,13041	2964800	897950	573550	324400	496750	69400	1509750
Contagem	457	457	457	457	457	457	457	457	457
Nível de confiança (95,0%)	0,019977	0,0112612	186,0039	79,575602	46,679973	35,57158	41,89508	5,482899	110,885

5 DISCUSSÃO

No presente estudo procuramos estudar as possíveis modificações morfológicas existentes no órgão vomeronasal entre machos e fêmeas de ratos Wistar adultos. Estas diferenças não se fizeram evidentes quando comparado o volume deste órgão, entretanto o dimorfismo sexual do OVN dos ratos estudados foi identificado nos constituintes sensoriais e vasculares deste órgão.

O OVN dos ratos Wistar estudados em ambos os sexos é uma estrutura bilateral em forma tubular, situado na base do septo nasal. Este formato e localização do OVN são similares às descrições realizadas por Barone et al. (1986), Hara (1986) e Keverne (1999). Não foi objetivo deste trabalho estudar o órgão vomeronasal de outros mamíferos como fizeram Pearman (1994), invertebrados (WOHMANN-REPENNING, 1984), primatas (JORDAN, 1972; STARK, 1975) ou anfíbios, nos quais esse órgão se desenvolveu primariamente segundo Eichen (1992), entretanto, podemos citar outras diferenças que não trata a localização deste órgão quando comparado a espécie. A estrutura óssea da cápsula do OVN e, somente na porção rostral, uma lâmina fina de cartilagem hialina na região ventral conjuntamente, foi observado por Derdik e Teller (1988), Garasa et al. (1995), Keverne (1999), Liman et al. (1999) e Marzocchi (1999). Entretanto, Garza et al. (1995) afirmam que o OVN é circundado por um tecido conjuntivo e é provável que os animais utilizados por estes autores sejam ainda jovens uma vez que eles não citam a idade dos animais utilizados em seu trabalho. Esta consideração é mais plausível ainda, uma vez que Satoh e Coutinho (1999) indicam que a cápsula óssea que envolve o órgão vomeronasal é formada pelo osso incisivo e um prolongamento do processo palatino do osso incisivo e que em animais

Discussão

5 DISCUSSÃO

No presente estudo procuramos estudar as possíveis modificações morfológicas existentes no órgão vomeronasal entre machos e fêmeas de ratos Wistar adultos. Estas diferenças não se fizeram evidentes quando comparado o volume deste órgão, entretanto o dimorfismo sexual do OVN dos ratos estudados foi identificado nos constituintes sensoriais e vasculares deste órgão.

O OVN dos ratos Wistar estudados em ambos os sexos é uma estrutura bilateral em forma tubular, situado na base do septo nasal. Este formato e localização do OVN são similares às descrições realizadas por Barone et al. (1966), Hare (1986) e Keverne (1999). Não foi objetivo deste trabalho estudar o órgão vomeronasal de outros mamíferos como fizeram Pearlman (1934), marsupiais (WOHMANN-REPENNING, 1984), primatas (JORDAN, 1972; STARK, 1975) ou anfíbios, nos quais esse órgão se desenvolveu primariamente segundo Eishten (1992), entretanto, podemos notar outras diferenças que não forma e localização deste órgão quando considerada a espécie. A estrutura óssea da cápsula do OVN e, somente na porção rostral, uma lâmina fina de cartilagem hialina na região ventral conjuntamente, foi observado por Doving e Trotier (1998), Garrosa et al. (1998), Keverne (1999), Liman et al. (1999) e Menco et al. (2001). Entretanto, Vacarezza et al. (1981) afirmam que o OVN é circundado por uma cápsula cartilaginosa. É provável que os animais utilizados por estes autores sejam ainda jovens uma vez que eles não citam a idade dos animais utilizados em seu trabalho, esta consideração é mais plausível ainda, uma vez que Salazar e Quinteiro (1998) indicam que a cápsula óssea que envolve o órgão vomeronasal é formada pelo osso vômer e um prolongamento do processo palatino do osso incisivo e que em animais

jovens, é freqüente a presença de cartilagem e osso circundando o OVN, simultaneamente. Esses autores citam duas hipóteses para o surgimento da cápsula óssea. Uma delas é a substituição física da cartilagem, encontrada em animais jovens, por osso e a outra é a ocorrência de uma ossificação endocondral da cartilagem existente na cápsula do órgão. Embora os cortes sugiram a existência de ossificação endocondral por conta de alguns aspectos estruturais, não podemos afirmar categoricamente, porquanto nosso material era oriundo apenas de animais adultos.

A porção tubular do OVN de ratos apresenta formato crescente terminando caudalmente em fundo cego e na extremidade rostral comunica-se com a cavidade nasal como visto por Bertmar (1981) e Halpern (1987) diferente de outras espécies, como os bovinos e hipopótamos (WYSOCKI, 1979) e répteis nos quais o OVN se comunica diretamente com a cavidade oral segundo Halpern (1987) e Stephan et al. (1982). Entretanto, Barone et al. (1966) e Keverne (1999) afirmam que nesses animais assim como também em carnívoros, outros ungulados, insetívoros e primatas do novo mundo, o órgão vomeronasal desemboca no canal incisivo que por sua vez abre-se na cavidade bucal, podendo, entretanto estar relacionado ao desenvolvimento filogenético, porém sem que se estabeleça uma conexão linear ou crescente no processo evolutivo, por exemplo, nos répteis e bovídeos que apresentam abertura do OVN na cavidade oral ou em ratos e canídeos que apresentam a abertura diretamente na cavidade nasal.

A presença constante das glândulas tubo-acinosas secretoras de muco, distribuídas principalmente nas regiões média e caudal do OVN, assim como a presença de muco na luz desta porção tubular, mostram que estas secreções devem apresentar um importante papel na lubrificação e limpeza da superfície do epitélio

da porção tubular do OVN como sugeriram Bertmar (1981), Jacobson (1999), Keverne (1999) e Taniguchi e Mochizuki (1983). Entretanto a abundância destas glândulas nos lugares onde o epitélio da porção tubular é mais espesso indica que as secreções destas glândulas não apresentam funções simplesmente mecânicas podendo ser elas muito mais elaboradas contribuindo na percepção de feromônios, como sugerido por Doving e Trotier (1998) e conseqüentemente no papel do órgão vomeronasal na reprodução dos mamíferos, como descrito inicialmente por Planel (1953) e posteriormente por Bellringer et al. (1980); Bruce (1959), Halpern e Marcos (2003), Johnston (1998), Johnston (2000). Johnston (2001), Kaba et al. (1994), Wysocki (1979), Wysocki e Lepri (1991) e Wysocki e Meredith (1987).

Esta função pode ser corroborada pela falta ou diminuição destas glândulas nas porções rostrais da porção tubular do OVN onde o epitélio nervoso é consideravelmente reduzido uma vez que estas glândulas não foram observadas no extremo rostral do OVN. Como sugerido por Nagahara et al. (1995), as glândulas vomeronasais têm desenvolvimento influenciado pela substância P assim como a vasodilatação do tecido erétil da lâmina própria em animais adultos.

A função reprodutiva foi comprovada por Powers e Winans (1975). Em outro trabalho (1977) esses autores afirmam que uma lesão periférica do sistema vomeronasal altera o comportamento sexual em hamsters machos e fêmeas negativamente. Além do órgão vomeronasal íntegro, também é necessária a liberação de LH, que induz o comportamento sexual segundo Brennan e Keverne (1997), Clancy et al. (1988), Coquelin et al. (1984), Keverne (1982) e Meredith e Fernandez-Fewell (1994). Ainda que não tenhamos nos detido ao estudo das relações do OVN relacionado ao comportamento sexual, notamos aspectos

morfológicos de sua constituição que podem sugerir tal fato, como por exemplo, a presença de neuroepitélio em proporções variadas.

O achado de uma artéria principal assim como a presença de capilares intraepiteliais foi observada por Salazar e Quinteiro, (1998), Taniguchi e Mochizuki (1983) e Vacarezza et al. (1981), entretanto, estes autores não destacaram sua posição com relação à porção tubular do OVN, apesar desse vaso ter sido observado desde estágios pré-natais no rato por Szabó e Mendoza (1988), detalhe morfológico importante para entender a organização histológica e fisiológica do órgão além de proporcionar dados para os estudos da anatomia comparada. Em nosso material, em todas as peças, notamos a artéria principal, o que, aliás, foi objeto de mensuração, entretanto, capilares intraepiteliais não foram observados por conta da magnitude do aumento utilizado em nosso estudo. Esta artéria é um importante ramo septal da artéria esfenopalatina, que além da nutrição do OVN participa do mecanismo de bomba erétil do órgão assim como os outros vasos, como discutido por Breipohl et al. (1981), Doving e Trotier (1998), Salazar et al. (1995), Salazar e Sanchez Quinteiro (1998) e Wysocki e Meredith (1987). Entretanto, estes autores não destacaram nem chamam atenção ao fato de existir dimorfismo sexual na irrigação do OVN como as que agora verificamos.

Os capilares sanguíneos penetram na região basal do neuroepitélio no final do desenvolvimento pré-natal como visto por Breipohl et al. (1981) e Garrosa et al. (1996) e são ramos da artéria olfatória segundo Mendoza e Szabó (1998), fato este não verificado em nosso trabalho.

Experiências com estímulo do nervo palatino para induzir uma vasoconstricção das artérias do OVN, as quais juntamente com a contenção realizada pela cápsula, ocasionam redução no volume de sangue no tecido cavernoso do OVN e levam a

uma redução na pressão intraluminal da porção tubular do OVN com a conseqüente diminuição do fluido das glândulas para a luz do tubo foram descritos por Salazar e Sánchez-Quintero (1998). Doving e Trotier (1998) observaram que também existe o processo contrário onde ocorre sucção do fluido do lúmen para o órgão vomeronasal devido à vasoconstrição das paredes do vaso principal que faz com que aumente o volume do lúmen e cria o processo de sucção. Ambos os mecanismos, tanto da saída de fluido do órgão para o lúmen quanto de sucção para dentro do órgão são processos ativos neuromediados. Estas observações proporcionam uma idéia da importância que têm as artérias na fisiologia do OVN e permitem hipotetizar que nas fêmeas estes controles vasculares do fluxo das secreções glandulares são muito acurados e precisos, uma vez que nelas a proporção vascular é significativamente maior, conforme indicam nossos achados.

Os resultados histológicos mostram que o epitélio que reveste a porção tubular do OVN nas partes rostral e média é inicialmente colunar pseudo-estratificado ciliado não sensorial nas faces médio-lateral do órgão. Esse epitélio alcança a maturidade após o nascimento (GARROSA et al., 1992). O neuroepitélio é encontrado, em nosso material, na parede ventro-medial como descrito por Garrosa et al. (1998) e Vacarezza et al. (1981). Esse neuroepitélio surge no rato a partir do décimo terceiro dia após a fecundação segundo Cuschieri e Bannister (1975) e aumenta até o animal alcançar a idade adulta como visto por Garrosa e Coca (1991). Entretanto, Vacarezza et al. (1981) encontraram, na porção caudal, um epitélio colunar simples e não observaram mais a presença de neuroepitélio. Em nosso estudo o epitélio colunar pseudo-estratificado ciliado situa-se dorsalmente e o neuroepitélio ventralmente. Apesar da mudança de posição, o epitélio sensorial continua presente na porção mais caudal do órgão vomeronasal embora haja uma

queda no número de células sensoriais com o aumento da idade do animal (WILSON; RAISMAN, 1980). Não foi possível observarmos essa perda celular porque em nosso estudo somente utilizamos animais adultos com 120 dias de idade. Estes achados vêm demonstrar que o OVN dos ratos apresenta regiões morfo-fisiologicamente diferentes e estudos detalhados, inclusive de mapeamentos de neurônios, são necessários para entender o funcionamento deste órgão e seu papel nas diferentes atividades comportamentais de cada sexo.

As posições relativas da porção tubular do OVN e da artéria principal na mudam ao longo do OVN devido à rotação de aproximadamente 90° do eixo da porção tubular do órgão como visto também por Keverne (1999). Devido a essa rotação a artéria principal também é encontrada em várias posições intermediárias de acordo com o segmento analisado. No segmento cranial identificamos esse vaso e seus ramos em posição medial, já no segmento médio a encontramos dorso-lateralmente enquanto que na porção caudal ela se torna central como observado também por Salazar e Quinteiro (1998). Nenhuma explicação foi encontrada para a modificação espacial destas estruturas, podendo apenas estar relacionado ao balanço estrutural do sistema construtivo do corpo dos animais particularmente o princípio antimérico de construção.

Não observamos o nervo vomeronasal que é uma estrutura distinta composta por fascículos que alcançam as áreas septal e pré-óptica segundo Dailoku et al. (1993) porque não era objetivo de nosso trabalho.

No presente estudo, mensurações dos volumes dos órgãos vomeronasais, da porção tubular, das paredes epiteliais, dos lúmens desta porção, das artérias, das veias e dos outros tecidos foram efetuadas para analisar a existência ou não de

diferenças nessas estruturas entre machos e fêmeas, uma vez que a literatura é pobre neste tipo de abordagem.

Nossos resultados mostram que nos machos o volume da parede da porção tubular do OVN é significativamente maior que nas fêmeas. Isto significa que nos machos existe um número maior de células nervosas que nas fêmeas. Este achado vem contribuir no entendimento do comportamento territorial e reprodutivo dos machos e as hierarquias sociais dos ratos. Sendo menor nas fêmeas estas seriam mais dóceis e mais sociáveis inclusive criando seus filhos em companhia das outras fêmeas, além de seu comportamento durante o ciclo estral.

Esse número maior de neurônios no órgão vomeronasal de machos pode ser explicado pela atuação da testosterona que induz a existência de mais células sensoriais e conseqüentemente um maior volume de estruturas, como visto por Guillamón e Segóvia (1996). Por outro lado o maior volume do lúmen desta porção epitelial do OVN nas fêmeas pode dar a falsa impressão de que nelas esta parte do OVN é maior, o que de fato não é.

Comparando o volume total do tubo de ambos os sexos, observamos também uma diferença significativa, sendo o do macho maior, enquanto que, comparando o mesmo volume em 100g de animal, não encontramos diferença. Isto pode ser justificado pelo maior volume corporal dos machos.

O volume das artérias e veias são estatisticamente diferentes, sendo que as fêmeas apresentam um volume arterial maior e os machos um volume venoso maior. Estes achados podem ser interpretados como de diferentes necessidades de controle do fluxo sanguíneo em ambos os sexos, exigindo aparentemente uma maior eficiência nas fêmeas.

Os volumes das outras estruturas assim como o volume total do órgão não apresentaram diferenças significativas.

O OVN dos ratos estudados é sexualmente dimórfico no que se refere à parede epitelial, lúmen, artérias e veias. Segóvia e Guillamón (1982) observaram uma diferença no volume do órgão vomeronasal entre machos e fêmeas, mas acreditamos que esses autores consideraram o órgão vomeronasal como sendo apenas o conjunto do epitélio não sensorial, o neuroepitélio e o lúmen desconsiderando a cápsula e a lâmina própria com seus fascículos nervosos e glândulas. Esses autores observaram também uma diferença no volume do neuroepitélio e no número de receptores olfatórios (neurônios bipolares) que foi maior nos machos.

Como sugerido por Dawley (1998), realizamos o estudo considerando o efeito do tamanho corporal no tamanho das estruturas do OVN e calculamos os volumes das estruturas proporcionais a 100g de animal. Deste modo, observamos diferenças estatísticas entre os volumes das paredes sendo o dos machos maiores, entre os volumes dos lúmens, sendo maiores nas fêmeas e entre os volumes das artérias e das veias, sendo o volume arterial maior nas fêmeas e o volume venoso maior nos machos.

Guillamón (1993), Guillamón e Segóvia (1997), Segóvia et al. (1984a) e Segóvia et al. (1984b) observaram dimorfismo sexual em outras estruturas do sistema vomeronasal como no bulbo olfatório acessório, núcleo caudado da estria terminal e núcleo bed do trato olfatório acessório. Essas estruturas sofrem diferenciação de acordo como o nível de esteróides sexuais a que estes animais são submetidos tanto na vida uterina quanto na vida pós-natal.

No teste de regressão linear não observamos correlação entre o volume do órgão e o volume das outras estruturas, tampouco entre o volume do OVN e o peso dos animais tanto em machos quanto em fêmeas. O teste apresentou uma baixa correlação entre o volume do epitélio e o volume das artérias em ambos os sexos, indicando que quanto maior o volume do epitélio, maior será o volume arterial, tanto em machos como especialmente em fêmeas.

Conclusão

5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos para os ratos Wistar, julgou-se poder concluir que o órgão vomeronasal apresenta dimorfismo sexual, caracterizado nos seguintes aspectos:

- volume da parede epitelial do OVN onde nos machos é maior que nas fêmeas;
- volume do lúmen da porção epitelial, onde nas fêmeas é maior que nos machos;
- volume total do tubo, que é maior nos machos do que nas fêmeas enquanto o volume total do tubo em 100 gramas de animal não é diferente entre os sexos;
- volume total das antenas que é maior nas fêmeas que nos machos;
- volume total das vias é maior nos machos que nas fêmeas.

Conclusão

6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos para os ratos Wistar, julgou-se poder concluir que o órgão vomeronasal apresenta dimorfismo sexual, caracterizado nos seguintes aspectos:

- volume da parede epitelial do OVN onde nos machos é maior que nas fêmeas;
- volume do lúmen da porção epitelial, onde nas fêmeas é maior que nos machos;
- volume total do tubo, que é maior nos machos do que nas fêmeas enquanto o volume total do tubo em 100 gramas de animal não é diferente entre os sexos;
- volume total das artérias que é maior nas fêmeas que nos machos;
- volume total das vias é maior nos machos que nas fêmeas.

Referências

REFERÊNCIAS

- ALLISON, A. C. The Morphology of the olfactory system in vertebrates. *Biological Reviews*, v. 28, p. 195-244, 1953.
- AYRES, M.; AYLES JR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. Des. In: *DIO Estat 3.0, aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas*. Pará: Sociedade Civil Mamirauá/ MCT – ONPA/ Conservação Internacional, 2003, p.209, p.209.
- BARDER, P. C.; RAISMAN, G. Cell division in the vomeronasal organ of the adult mouse. *Brain Research*, v. 141, p. 57-66, 1978.
- BARON, G.; FRAHM, H. D.; BHATNAGAR, K. P.; STEPHAN, H. Comparison of brains structure volumes in insectivory and primates. III. Main olfactory bulb (MOB). *Journal für Hirnforschung*, v. 24, p. 561-569, 1983.
- BAHONÉ, R.; LOMBARD, M.; MORAND, M. Organe de Jacobson, nerf voméronasal et nerf terminal du chien. *Bulletin de la Société des Sciences Vétérinaires de Lyon*, v. 56, n. 3, p. 257-270, 1953.
- BELLINGER, J. F.; PRATT, H. P.; KEVERNE, E. B. Involvement of the vomeronasal organ and prolactin in pheromonal induction of delayed implantation in mice. *Journal of reproduction and fertility*, v. 50, p. 223-228, 1988.
- BERTMAR, G. Evolution of vomeronasal organs in vertebrates. *Evolution*, v. 34, p. 359-366, 1981.
- BREIPOLH, W.; BHATNAGAR, K. P. Blood vessels in the vomeronasal neuroepithelium. *Journal of Neurocytology*, v. 215, p. 447-461, 1991.
- BRENNAN, P. A.; KEVERNE, E. B. Neural mechanisms of mammalian olfactory learning. *Progress in Neurobiology*, v. 51, p. 457-491, 1997.
- BROWNE, M. A.; HOWARD, C. V.; HOLLEYS, G. D. Principles of stereological. In: WOOTON, R.; SPRINGALL, D. R.; FOLAK, J. M. Image analysis in histology.

Referências

REFERÊNCIAS

- ALLISON, A. C. The Morphology of the olfactory system in vertebrates. **Biological Reviews**, v. 28, p. 195-244, 1953.
- AYRES, M.; AYRES JR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. S. Dos. In: **BIO Estat 3.0, aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Pará: Sociedade Civil Mamirauá/ MCT – CNPa/ Conservation International, 2003, p.209, p.209.
- BARBER, P. C.; RAISMAN, G. Cell division in the vomeronasal organ of the adult mouse. **Brain Research**, v. 141, p. 57-66, 1978.
- BARON, G.; FRAHM, H. D.; BHATNAGAR, K. P.; STEPHAN, H. Comparison of brains structure volumes in insectivore and primates. III. Main olfactory bulb (MOB). **Journal fur Hirnforschung**. v. 24, p. 551-568, 1983.
- BARONE, R.; LOMBARD, M. ; MORAND, M. Organe de Jacobson, nerf vomeronasal et nerf terminal du chien. **Bulletin de la Société des Sciences Vétérinaires de Lyon**, v. 68, n. 3, p. 257-270, 1966.
- BELLRINGER, J. F.; PRATT, H. P.; KEVERNE, E. B. Involvement of the vomeronasal organ and prolactin in pheromonal induction of delayed implantation in mice. **Journal of reproduction and fertility**, v. 59, p. 223-228, 1980.
- BERTMAR, G. Evolution of vomeronasal organs in vertebrates. **Evolution**, v. 35, p. 359-366, 1981.
- BREIPOHL, W.; BHATNAGAR, K. P.; BLANK, M.; MENDOZA, A. S. Intraepithelial blood vessels in the vomeronasal neuroepithelium of the rat. **Cell and tissue research**, v. 215, p. 447-461, 1981.
- BRENNAN, P. A.; KEVERNE, E. B. Neural mechanisms of mammalian olfactory learning. **Progress in Neurobiology**, v. 51, p. 457-481, 1997.
- BROWNE, M. A.; HOWARD, C. V.; HOLLEYS, G. D. Principles of stereological. In: WOOTON, R.; SRINGALL, D. R.; POLAK, J. M. **Image analysis in histology**:

conventional confocal microscopy. London: Cambridge University Press, 1995. p. 96-120.

BRUCE, H. M. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. **Nature**, v. 184, p. 105, 1959.

CLANCY, A. N.; SINGER, A. G.; MACRIDES, F.; BRONSON, F. H.; AGOSTA, W. C. Experiential and endocrine dependence of gonadotropin responses in male mice to conspecific urine. **Biology of Reproduction**, v. 38, p. 183-191, 1988.

COQUELIN, A.; CLANCY, A. N.; MACRIDES, F.; NOBLE, E. P.; GORSKI, R. A. Pheromonally induced release of luteinizing hormone in male mice: involvement of the vomeronasal system. **The Journal of Neuroscience**, v. 4, p. 2230-2236, 1984.

CUSHIERI, A.; BANNISTER, L. H. The development of the olfactory in the mouse: light microscopy. **Journal of Anatomy**, v. 119, p. 277-286, 1975.

DAILOKU, S.; KOIDE, I.; CHIKAMORI-AOYAMA, M.; SHIMOMURA, Y. Migration of LHRH neurons derived from the olfactory placode in rats. **Archives of Histology and Cytology**, v. 56, p. 353-370, 1993.

DAWLEY, E. M. Species, sex, and seasonal differences in the vomeronasal system. **Brain Research Bulletin**, v. 44, p. 377-382, 1997.

DOVING, K. B.; TROTIER, D. Structure and function of the vomeronasal organ. **The Journal of Experimental Biology**, v. 201, p. 2913-2925, 1998.

DULAC, C.; AXEL, R. A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. **Cell**, v. 83, p. 95-206, 1995.

EISTHEN, H. L. Phylogeny of the vomeronasal system and its receptor cell types in the olfactory and vomeronasal epithelia of vertebrates. (Review). **Microscopy Research and Technique**, v. 23, p. 1-21, 1992.

GARRROSA, M.; GAYOSO, M. J.; ESTEBAN, F. J. Prenatal development of the mammalian vomeronasal organ. **Microscopy Research and Technique**, v. 41, p. 456-479, 1998.

GARROSA, M.; COCA, S. Postnatal development of the vomeronasal epithelium in the rat: an ultrastructural study. **Journal of Morphology**, v. 208, p. 257-269, 1991.

GARROSA, M.; COCA, S.; MORA, O. A. Histological development of the vomeronasal complex in the pre and postnatal rat. **Acta Oto-Laryngologica**, v. 102, p. 291-301, 1986.

GARROSA, M.; IÑIGUEZ, C.; FERNÁNDEZ, J. M.; GAYOSO, M. J. Developmental stages of the vomeronasal organ in the rat: a light and electron microscopic study. **Journal fur Hirnforschung**, v. 33, p. 123-132, 1992.

GUILLAMÓN, A.; SEGÓVIA, S. Sexual dimorphism in the CNS and the role of steroids. In: **CNS Neurotransmitters and Neuromodulators: neuroactive steroids**, pp. 127-152. CRC press, Boca Raton: TW stone, 1996.

GUILLAMÓN, A.; SEGÓVIA, S. Sex differences in the vomeronasal system. **Brain Research Bulletin**, v. 44, n. 4, p. 377-382, 1997.

HALPERN, M. The organization and function of the vomeronasal system. **Annual Review of Neuroscience**, v. 10, p. 325-362, 1987.

HALPERN, M.; MARCOS, A. M. Structure and function of the vomeronasal system: an update. **Progress in Neurobiology**, v. 70, n. 3, p. 245-318, 2003.

HARE, W. C. D. Sistema respiratório geral. In: Sisson, S.; Getty, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5 ed., Rio de Janeiro Guanabara, 1986. p. 111-112.

HERRICK, C. J. The nucleus olfactorius anterior of the opossum. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 37, p. 317-359, 1924.

HOWARD, C. V. ; REED, M.G. Three-dimensional measurement in microscopy. In: **Unbiased stereology**. Oxford: Bios Scientific Publishers, 1998, p. 246.

JACOBSON, L. Anatomical description of a new organ in the nose of domesticated animals. **Chemical Senses**, v. 2 (in press), 1999.

JOHNSTON, R. E. Pheromones, the vomeronasal system, and communication. From hormonal responses to individual recognition. **Annals of the New York Academy Science**, v. 855, p. 333-348, 1998.

JOHNSTON, R.E. Chemical communication and pheromones: the types of chemical signals and the role of the vomeronasal system. In: FINGER, T.E., SILVER, W.L., Restrepo, D. (Eds.), **The Neurobiology of taste and smell**, second ed. Wiley, New York, 2000, p. 101-127.

JOHNSTON, R.E. Neural mechanisms of communication: from pheromones to mosaic signals. In: Marchlewska-Koj, A., Lepri, J.J., Müller-Schwarze, D. (Eds.), **Chemical Signals in Vertebrates**, ninth ed. Plenum Press, New York, pp. 61-67, 2001.

JORDAN, J. The vomeronasal organ (of jacobson) in primates. **Folia Morphologica**, v. 31, p. 418-431, 1972.

KABA, H.; HAYASHI, Y.; HIGUCHI, T.; NAKANISHI, S. Induction of an olfactory memory activation of a metabotropic glutamate receptor. **Science**, v. 265, p. 262-264, 1994.

KEVERNE, E. B. Olfaction and taste. Dual systems for sensory processing. **Trends of Neuroscience**, v. 1, p. 32-8, 1978.

KEVERNE, E. B. The accessory olfactory system and its role in pheromonally mediated changes in prolactin. In: **Olfaction and Endocrine Regulation**, London: IRL press, 1982, p. 127-140.

KEVERNE, E. B. The vomeronasal organ. **Science**, v. 286, p. 716-20, 1999.

LICHT, G.; MEREDITH, M. Convergence of main and accessory olfactory pathways onto single neurons in the hamster amygdale. **Experimental Brain Research**, v. 69, p. 7-18, 1987.

LIMAN, E. R.; COREY, D. P.; DULAC, C. TRP2: a candidate transduction channel for mammalian pheromone sensory signaling. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 96, p. 5791-6, 1999.

- MACKAY - SIM, A., DUVALL, D., GRAVES, B. M. The West Indian Manatee (*Trichechus manatus*) lacks a vomeronasal organ. **Brain Behavior and Evolution**, v. 27, p. 186-194, 1985.
- MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Stereological tools in biomedical research. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 75, n. 4, p. 469-86, 2003.
- MC COTTER, R. E. The connection of the vomeronasal nerve with the accessory olfactory bulb in the opossum and other mammals. **Anatomical Records**, v. 6, p. 299-318, 1912.
- MEISAMI, E. Chemoreception. In: *Comparative animal Physiology*. New York: Wiley-Liss, 1991, p. 335-434.
- MEISAMI, E.; BHATNAGAR, K. P. Structure and diversity in mammalian accessory olfactory bulb. **Microscopy Research and Technique**, v. 43, p. 476-499, 1998.
- MENCO, B. Ph. M.; CARR, V.M.; McEZEH, P. I.; LIMAN, E. R.; YANKOVA, M. P. Ultrastructural localization of G-proteins and the channel protein TRP2 to microvilli of rat vomeronasal receptor cells. **The Journal of Comparative Neurology**, v. 438, p. 468-89, 2001.
- MENDOZA, A. S. Morphological studies on the rodent main and accessory olfactory systems: the region olfactoria and vomeronasal organ. **Annals of Anatomy**, v. 175, p. 425-446, 1993.
- MENDOZA, A. S.; SZABÓ, K. Developmental studies on the rat vomeronasal organ: vascular pattern and neuroepithelial differentiation II. Electron microscopy. **Developmental Brain Research**, v. 39, p. 259-268, 1988.
- MEREDITH, M. Chronic recording of the vomeronasal pump activation in awake behaving hamsters. **Physiology & Behavior**, v. 56, p. 345-354, 1994.
- MEREDITH, M.; FERNANDEZ-FEWELL, G. Vomeronasal system, LHRH and sex behaviour. **Psychoneuroendocrinology**, v. 19, p. 657-672, 1994.

NAGAHARA, T.; MATSUDA, H.; KADOTA, T.; KISHIDA, R. Development of substance P immunoreactivity in the mouse vomeronasal organ. **Anatomy and Embriology**, v. 192, p. 107-115, 1995.

NEGUS, V. E. **The comparative Anatomy and Physiology of the nose and Paranasal sinuses**. London: E & S, 1958.

PEARLMAN, S.M. Jacobson's organ (organum vomero-nasale, Jacobsoni): its anatomy, gross, microscopic and comparative, with some observations as well on its function. **The Annals of Otology, Rhinology, and Laryngology**, v. 43, p. 739-768, 1934.

PLANET, H. Etude anatomique et physiologique de l'organe Jacobson. **Archives of Anatomy, Histology and Embryology**, v. 36, p. 199-205, 1953.

POVER, C. M.; COGGESHALL, R. E. Verification of the disector method for counting neurons, with comments on the empirical method. **The Anatomical Record**, v. 231, p. 573-578, 1991.

POWERS, J. B.; WINANS, S. S. Vomeronasal organ: critical role in mediating sexual behavior in the male hamster. **Science**, v. 187, p. 961-963, 1975.

PRICE, J. L.; SLOTNICK, B. M.; REVIAL, M.F. Olfactory projections to the hypothalamus. **The Journal of comparative neurology**, v. 306, p. 447-461, 1991.

RYBA, N. J.; TIRINDELLI, R. A new multigene family of putative pheromone receptors in mammals with a topographically organized and sexually dimorphic distribution. **Cell**, v. 90, p. 763-773, 1997.

SALAZAR, I.; SANCHEZ QUINTEIRO, P. Supporting tissue and vasculature of the mammalian vomeronasal organ: the rat as a model. **Microscopy Research and Technique**, v. 15 n. 41, p. 492-505, 1998.

SALAZAR, I.; QUINTEIRO, P.S.; CIFUENTES, J. M. Comparative anatomy of the vomeronasal cartilage in mammals: mink, cat, dog, pig, cow and horse. **Annals of Anatomy**, v. 177, p. 475-481, 1995.

VACCAREZZA, O. L.; SPEICH, L. N.; TRAMEZZANI, J. H. The vomeronasal organ of the rat. **Journal of Anatomy**, v. 132, p. 167-195, 1991.

SCALIA, F.; WINANS, S. S. The differential projections of the olfactory bulb and accessory olfactory bulb in mammals. **The Journal of comparative Neurology**, v. 161, p. 31-56, 1975.

SEGOVIA, S.; GUILLAMÓN, A. Effects of sex steroids on the development of the VNO in the rat. **Developmental Brain Research**, v. 5, p. 209-212, 1982.

SEGOVIA, S.; GUILLAMÓN, A. Sexual dimorphism in the vomeronasal path way and sex differences in reproductive behaviors. **Brain Research Reviews**, v. 18, p. 51-74, 1993.

SEGOVIA, S.; ORENSANZ, L. M.; VALENCIA, A.; GUILLAMÓN, A. Effects of sex steroids on the development of the accessory olfactory bulb in the rat. A volumetric study. **Developmental Brain Research**, v. 16, p. 312-314, 1984a.

SEGÓVIA, S.; PANIAGUA, R.; NISTAL, M.; GUILLAMÓN, A. Effects of postpuberal gonadectomy on the neurosensorial epithelium of the vomeronasal organ in the rat. **Developmental Brain Research**, v. 14, p. 289-191, 1984b.

STEPHAN, H.; BARON, G.; FRAHM, H. D. Compararison fo brain structure volumes in Insectivora and Primates .II. Acessory olfactory bulb (AOB). **Journal fur Hirnforschung**, v, 23, p.575-591, 1982.

STARK, D. The development of the chondrocranium in primates. In: **Phylogeny of the Primates**, ed. W. P . Luckett and F. S. Szalay. London: Pçenum Press, 1975, p. 127-155

SZABÓ, K.; MENDOZA, A. S. Developmental studies on the rat vomeronasal organ. Vascular pattern and neuroepithelial differentiation. I - Light microscopy. **Developmental Brain Research**, v. 39, p. 253-258, 1988.

TANIGUCHI, K.; MOCHIZUKI, K. Comparative morphological studies on the vomeronasal organ in rats, mice, and rabbits. **Japanese Journal of veterinary science**, v. 45, n. 1, p. 67-76, 1983.

VACCAREZZA, O. L.; SPEICH, L. N.; TRAMEZZANI, J. H. The vomeronasal organ of the rat. **Journal of Anatomy**, v. 132, p. 167-185, 1981.

WEIBEL, E. R. **Stereological methods**: practical methods for biological morphometry. London: Academic Press, 1979.

WILSON, K. C.; RAISMAN, G. Age-related changes in the neurosensory epithelium of the mouse vomeronasal organ: extended period of postnatal growth in size and evidence for rapid cell turnover in the adult. **Brain Research**, v. 185, p. 103-113, 1980.

WINANS, S. S.; POWERS, J. B. Olfactory and vomeronasal deafferentation of male hamsters: histological and behavioral analyses. **Brain Research**, v. 126, p. 325-344, 1977.

WOHRMANN-REPENNING, A. Comparative anatomical studies of the vomeronasal complex and the rostral palae of various mammals. I. **Gegenbaurs morphologisches Jahrbuch**, v. 130, p. 501-530, 1984.

WYSOCKI, C. J. Neurobehavioral evidence for the involvement of the vomeronasal system in mammalian reproduction. **Neuroscience and biobehavioral reviews**, v. 3, p. 301-341, 1979.

WYSOCKI, C. J.; LEPRI, J. J. Consequences of removing the vomeronasal organ. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 39, p. 661-669, 1991.

WYSOCKI, C. J.; MEREDITH, M. The vomeronasal system. In: FINGER, T. E., SILVER, W. L., **Neurobiology of taste and olfaction**, New York: Wiley, p. 125-150, 1987.