LUCIANA PEDROSA IGLESIAS

Morfologia macro e microscópica do pâncreas de tamanduá- bandeira (Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758)

> São Paulo 2014

LUCIANA PEDROSA IGLESIAS

Morfologia macro e microscópica do pâncreas de tamanduá- bandeira (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758)

Tese 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 Doutor em Ciências

Departamento:

Cirurgia

Área de Concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Prof. Dr. Antônio Chaves de Assis Neto

Co-orientador:

Dr. Phelipe Oliveira Favaron

São Paulo 2014 Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO-NA-PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

٦

Г

T.3025 FMVZ	Iglesias, Luciana Pedrosa Morfologia macro e microscópica do pâncreas de tamanduá-bandeira (<i>Myrmecophaga tridactyla</i> , Linnaeus 1758) / Luciana Pedrosa Iglesias 2014. 46 f. : il.		
	Tese (Doutorado) - Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2014.		
	Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.		
Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.			
	Orientador: Prof. Dr. Antônio Chaves de Assis Neto.		
	Co-orientador: Dr. Phelipe Oliveira Favaron.		
	1. Ácinos pancreáticos. 2. Ilhotas pancreáticas. 3. <i>Myrmecophaga tridactyla</i> . 4. Tamanduá- bandeira. I. Título.		

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

culdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Comissão de Ética no Uso de Animais — Comissão de Ética no uso de animais

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto intitulado "Morfologia macro e microscópica do pâncreas de tamanduá *Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758*", protocolado sob o nº 3016/2013, utilizando 14 (catorze) tamanduás bandeira, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto, está de acordo com os princípios éticos de experimentação animal da "Comissão de Ética no uso de animais" da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo e foi aprovado em reunião de 15/5/2013.

We certify that the Research "Macro and microscopic morphology of pâncreas of Tamanduá *Myrmecophaga tridactyla Linnaeus*, 1758", protocol number 3016/2013, utilizing 14 (forty) tamanduás bandeiras, under the responsibility Prof. Dr. Antonio Chaves de Assis Neto, agree with Ethical Principles in Animal Research adopted by "Ethic Committee in the use of animals" of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of University of São Paulo and was approved in the meeting of day 5/15/2013.

São Paulo, 20 de maio de 2013.

arize !!

Denise Tabacchi Fantoni Presidente



Av. Prof. Dr. Orlando Marques de Palva, nº87 Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira" São Paulo/SP – Brasil 05508-270

Fone: + 55 11 3091-7671/7676/0904 Fax: +55 11 3032-2224 E-mail: ceuavet@usp.br http://www.fmvz.usp.br

-0

Folha de Avaliação

Autor: IGLESIAS, Luciana Pedrosa

Titulo: Morfologia macro e microscópica do pâncreas de tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, *1758*)

Tese 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 Doutor em Ciências

Data: ____ / ____ / ____

	Banca Examinadora
Prof(a). Dr(a):	
Instituição:	Julgamento:
Prof(a). Dr(a):	
Instituição:	Julgamento:
Prof(a). Dr(a):	
Instituição:	Julgamento:
Prof(a). Dr(a):	
Instituição:	Julgamento:
Prof(a). Dr(a):	
Instituição:	Julgamento:

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelo dom da vida, e por guiar sempre os meus passos.

Aos meus pais pela formação ética e pelo caráter, me ensinando sempre a fazer o bem.

Aos meus avós pela oração.

Ao meu esposo Felipe, hoje minha base, família e prioridade.

Aos meus irmãos Rodrigo e Thayla pela torcida e apoio.

Aos meus primos Felipe e Mari pelo acolhimento e suporte.

Ao Professor Dr. Alan e à Dra. Rosângela pela compreensão, ensinamentos e orientação.

Aos Professores Dr. Frederico e Dr. Humberto pelos ensinamentos.

Aos Professores Dra. Maria Angélica Miglino, Dr. Antônio Chaves de Assis Neto e Dr. Phelipe Oliveira Favaron pelas contribuições realizadas no trabalho.

A todos os amigos que torceram e a todas as dificuldades encontradas, fica a certeza de estar mais fortalecida e cada dia mais disposta a praticar o bem.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa fornecida durante todo esse período, que foi essencial para o desenvolvimento da tese.

RESUMO

Iglesias, L. P. **Morfologia macro e microscópica do pâncreas de tamanduá-bandeira** (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, *1758*). [Macro and microscopic morphology of pancreas of the anteater (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, *1758*)]. 2014. 46 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

O tamanduá-bandeira Myrmecophaga tridactyla é uma espécie considerada "vulnerável" no Brasil, por estar ameaçado de extinção em algumas regiões do país. O presente projeto teve por objetivo identificar e caracterizar as estruturas macro e microscópicas do pâncreas nessa espécie. Para tanto, foram dissecados 16 pâncreas de tamanduás-bandeira provenientes do Hospital Veterinário "Dr. Halim Atique" do Centro Universitário de Rio Preto (UNIRP). As amostras coletadas, foram provenientes de casos de animais atendidos no referido Hospital e que vieram a óbito. O pâncreas situava-se no antímero esquerdo do corpo do animal, apresentava coloração pálida, corpo central e superfície lobulada. Acompanhava a curvatura ventricular maior do estomago aderindo-se na porção inicial do duodeno. Relaciona-se crâniodorsalmente com o baço e ventrículo gástrico, e caudoventralmente com a cápsula fibrosa renal (que aloja o rim esquerdo) e intestinos. Estruturalmente, o órgão demonstrou duas partes distintas: a primeira delas com características exócrinas, composta por ácinos pancreáticos e a segunda endócrina, formada pelas ilhotas pancreáticas encontradas nas regiões media, caudoventral e lobar esquerda. A analise ultraestrutural permitiu identificar nas células centro-acinosas do pâncreas vesículas com grânulos de zimogênio, mitocôndrias, Aparelho de Golgi e retículo endoplasmático rugoso.

Palavras-chave: Ácinos pancreáticos. Ilhotas pancreáticas. *Myrmecophaga tridactyla*. Tamanduá-bandeira.

ABSTRACT

Iglesias, L. P. **Macro and microscopic morphology of pancreas of the anteater** (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758). [Morfologia macro e microscópica do pâncreas de tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758)]. 2014. 46f. Tese (Doutorado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.

The giant anteater *Myrmecophaga tridactyla* is a species considered 'vulnerable' in Brazil since it is threatened in some Brazilian regions. This study aimed to identify and characterize morphological structures of the pancreas in this species. For this, 16 anteaters pancreas from the Veterinary Hospital "Dr. Halim Atique at University Center of Rio Preto (UNIRP), were dissected. All samples were from animals treated at the hospital which died of natural causes. The pancreas was located in the left antimere of the animal's body, being lobulated and having a pale color and central body. It followed the greater curvature of the stomach, adhering on the initial portion of the duodenum. It was craniodorsally related to the spleen and gizzard, and caudoventrally to the renal fibrous capsule (which houses the left kidney) and intestines. Structurally, the organ had two distinct parts: an exocrine, composed of pancreatic acini; and and endocrine, formed by pancreatic islets found in the medial, caudoventral and left lobar regions. The ultrastructural analysis allowed identifying the central-acinar pancreatic cells with vesicles zymogen granules, mitochondria, Golgi apparatus and rough endoplasmic reticulum.

Keywords: Pancreatic acini. Pancreatic islets. Myrmecophaga tridactyla. Xenarthra

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fotomacrografia do pâncreas a fresco de Myrmecophaga		
	tridactyla Linnaeus, 1758, macho, adulto (A-B)		
Figura 2 -	Fotomacrografia do pâncreas de Myrmecophaga tridactyla		
	Linnaeus, 1758, fêmea, adulta (AB)		
Figura 3 –	Fotomacrografia do pâncreas de Myrmecophaga tridactyla		
	Linnaeus, 1758, fêmea, adulta (A-B)		
Figura 4 –	Fotomacrografia do pâncreas de Myrmecophaga tridactyla		
	Linnaeus, 1758, fêmea, adulta (A-D)		
Figura 5 –	Fotomicrografia da microscopia de luz do pâncreas exócrino do		
	Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (A-E)	30	
Figura 6 –	Fotomicrografia da microscopia de luz do pâncreas endócrino do		
	Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (F-J)	31	
Figura 7 –	Fotomicrografia da microscopia de luz da cápsula do pâncreas do		
	Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (A-D)	32	
Figura 8 –	Fotomicrografia da microscopia de luz das regiões 1 e 2 do		
	pâncreas do Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (A-B)	33	
Figura 9 –	Fotomicrografia da microscopia de luz das regiões 3 e 4 do		
	pâncreas do Myrmecophaga gtridactyla Linnaeus, 1758 (C-D)	34	
Figura 10 –	Fotomicrografia eletrônica de varredura do pâncreas do		
	Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (A-D)		
Figura 11 –	Fotomicrografia eletrônica de transmissão do pâncreas do		
	Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (A-D)	37	
Figura 12 –	Fotomicrografia eletrônica de transmissão do pâncreas do		
	Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (E-H)		

1	INTRODUÇÃO	
2	OBJETIVOS	
3	MATERIAL E MÉTODO	
3.1	ANÁLISE ANATÔMICA	
3.2	ANÁLISE MICROSCÓPICA	20
3.2.1	Microscopia de Luz	20
3.2.2	Microscopia Eletrônica de Varredura	20
3.2.3	Microscopia Eletrônica de Transmissão	21
3.2.4	Análise Estatística	
4	RESULTADOS	23
4.1	ANATOMIA DESCRITIVA E REGIONAL	23
4.2	ANÁLISES HISTOLÓGICAS	
4.3	ANALISES ULTRAESTRUTURAIS	
5	DISCUSSÃO	
6	CONCLUSÕES	42
	REFERÊNCIAS	43

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO

A ordem Xenarthra (Edentata) é constituída por tamanduás, preguiças e tatus. O antigo nome dessa ordem, "Edentata", significa "sem dentes". Entretanto, neste grupo somente os tamanduás são realmente desprovidos de dentes. De fato, a característica que distingue esta ordem de outras é a presença de articulações adicionais entre as vértebras lombares, conhecidas como "xenarthrales" ou "xenarthrous process", e a etmologia do nome Xenarthra vem de *xenon* = estranho, e arthros = articulação. São estas articulações que possibilitam aos membros deste grupo assumirem uma postura ereta sobre um tripé, formado pelos membros pélvicos e a cauda (REIS et al., 2006).

Muitas espécies dessa ordem mostram grande especialização para formas diferentes de vida, o que torna difícil e complexa enquadrá-las em uma classificação (EISENBERG; REDFORD, 2000). Devido a algumas características anatômicas e fisiológicas serem consideradas arcaicas, a relação dos xenartros com outros mamíferos tem sido há décadas uma questão de debate. Nos últimos anos, a possibilidade de realizar estudos filogenéticos baseados em análises genéticas revolucionou nosso conhecimento sobre o parentesco dos xenartros com outros mamíferos e o grau de relação entre tatus, preguiças e tamanduás, sendo esses dois últimos integrantes de um mesmo clado, o Pilosa (MIRANDA, 2012).

A família Myrmecophagidae é composta por três gêneros e quatro espécies de tamanduás, sendo que três destas espécies ocorrem no Brasil. Estes animais possuem focinho alongado e tubular, ausência de dentes, saliva pegajosa, língua longa e extensível, como adaptações para a alimentação constituída principalmente de formigas ou cupins. Possuem garras dianteiras grandes, que utilizam na abertura de cupinzeiros e formigueiros e também para defesa (REIS et al., 2006). A espécie alvo de pesquisa pertencente a esta família é denominada *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758, também conhecida popularmente como tamanduá-bandeira.

O tamanduá-bandeira é uma espécie cuja ocorrência se dá desde o sul de Belize e Guatemala até o norte da Argentina (EISENBERG; REDFORD, 2000). No Brasil, o *M. tridactyla* tem ocorrência elevada em ecorregião de cerrado e baixa na ecorregião de Mata Atlântica, apesar da existência de grandes porções de cerrado dentro dela (CÁCERES et al., 2010). O tamanduá-bandeira é classificado como "vulnerável" no Brasil, de acordo com a Lista Oficial das Espécies Ameaçadas (BRASIL, 2003), como espécie "vulnerável" – (VUA2c) pela *Red List of Threatened Species* (IUCN, 2009), e também está incluso no

Apêndice II da *Convention on International Trade Endagered Species of Wild Fauna and Flora*, desde 2003 (CITES, 2014). Encontra-se classificado como ameaçado de extinção em várias listas regionais (São Paulo, Pará, Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná). No Rio Grande do Sul, já se encontra praticamente extinto e está classificado na lista regional como criticamente em perigo (MIRANDA, 2012).

O *M. tridactyla* é endêmico da região neotropical e possui uma fisiologia distinta, com temperatura corporal e metabolismo baixos, quando comparado a outros mamíferos de massa corpórea semelhante. Tais características são aparentemente adaptações por se alimentarem de presas de baixo valor calórico, como formigas e cupins, possivelmente ingeridos com grande quantidade de detritos. Isso provavelmente limita a distribuição da espécie, uma vez que apenas ocorre nas regiões mais quentes do continente. Essa limitação também parece influenciar os padrões de suas atividades, assim como seus movimentos. No Pantanal, tamanduás monitorados por GPS modificados, apresentaram maior atividade nas horas de baixa temperatura e usaram as "manchas florestais" como abrigo, nos períodos mais quentes do dia, sugerindo uma gama mais estreita de temperatura ótima quando comparado a outros homeotérmicos (MEDRI; MOURÃO, 2005).

Os tamanduás usam predominantemente habitats de floresta para descansar, e habitats abertos para a atividade. As porções florestais trabalham como uma espécie de "tampão de temperatura", porque são mais frias que a matriz dos habitats abertos durante as horas quentes do dia e, mais quentes que a matriz durante as horas frias. Embora a referida espécie seja conhecida por sua associação com habitats abertos, há a necessidade de conservação dos fragmentos florestais para a preservação da espécie (MOURÃO; MEDRI, 2007). No Brasil, ocorrem em todos os biomas, desde a Amazônia aos campos sulinos. Esta espécie é comumente vista nos campos de cerrados do Parque Nacional Serra da Canastra em Minas Gerais e no Parque Nacional das Emas em Goiás (MIRANDA, 2012).

Os tamanduás têm apenas um período de atividade por dia, cuja duração é reduzida com a diminuição da temperatura média diária do ambiente. No Pantanal, geralmente com clima quente, os tamanduás-bandeira são noturnos, mas, à medida que a temperatura média diária diminui a sua atividade inicia-se e termina progressivamente mais cedo. Como consequência, à medida que o dia vai esfriando, os tamanduás-bandeira vão se tornando cada vez mais ativos durante o dia e menos ativos durante a noite, aumentando assim a sua exposição à radiação solar e evitando que emane muito calor corporal durante a noite (SAMPAIO; CAMILO-ALVES; MOURÃO, 2006).

O tamanduá-bandeira é capaz de reduzir seu gasto energético, diminuindo sua temperatura corporal enquanto dorme (situação comum a outros Xenarthras), e, além disso, é capaz também, de "tirar vantagem" do calor ambiental (energia), para aumentar sua temperatura e assim economizar com gastos energéticos (FERNANDES; YOUNG, 2008).

A anestesia pode ser complicada devido a apnéia e embora a intubação orotraqueal emergente possa ser possível em outras espécies, a anatomia particular do tamanduá impede uma intubação "suave". Uma técnica, desenvolvida em um cadáver, é descrita para abordagem cirúrgica de traquéia de tamanduá que pode ser usada para proteger a via aérea do animal anestesiado sob determinadas condições. A abordagem é complicada devido à presença de um grande par de glândulas salivares submaxilares e à posição relativamente profunda e caudal da laringe em relação ao ramo da mandíbula (BRAINARD et al, 2008).

Outros trabalhos dizem respeito à anatomia e histologia do trato reprodutivo de tamanduás fêmeas (ROSSI et al., 2011), ou machos (ROSSI et al., 2013).

A respeito do aparelho digestório, um estudo sobre a anatomia da mastigação do tamanduá bandeira mostrou que a espécie rotaciona as mandíbulas medial e lateralmente para controlar sua língua, quando alongada e abrigá-la quando relaxada. A cavidade oral se expande bilateralmente quando a parte dorsal da mandíbula "dobra" medialmente. Os músculos temporal superficial e pterigóideo medial atuam como os principais rotadores medial e lateral das mandíbulas, respectivamente. A baixa altura do ramo mandibular e o incompleto arco zigomático representam adaptações para o movimento de rotação das mandíbulas, uma vez que ambos contribuem para a transmissão da força orientada medialmente dos músculos temporais e previnem a colisão entre as mandíbulas e o crânio durante o movimento de rotação (ENDO et al., 2007).

Segundo Ferreira et al. (2011) o intestino delgado do tamanduá bandeira é irrigado pela artéria mesentérica cranial e pelo ramo ventral visceral da aorta abdominal. A artéria emerge do retroperitônio e dispersa entre as camadas do mesentério comum, paralelamente à artéria mesentérica caudal. Os principais ramos colaterais craniais irrigam o pâncreas, o duodeno, jejuno (13 artérias), íleo (14 vasos), e a região cecocólica. As artérias se anastomosam com vasos adjacentes para formar arcos, dos quais são derivados ramos terminais que alcançam o intestino. O padrão vascular do tamanduá é semelhante ao encontrado em fetos de mamíferos domésticos durante o desenvolvimento intestinal precoce.

O pâncreas do tamanduá-bandeira é um órgão de coloração pálida, encontra-se em posição adjacente ao duodeno, desempenhando funções exócrinas e endócrinas (HILDEBRAND; GOSLOW JR., 2006). Em suínos, carnívoros e ruminantes, consiste de um

pequeno lobo direito e um grande lobo esquerdo, conectados pelo corpo central, que forma uma espécie de anel ao redor da veia porta. O corpo do pâncreas relaciona-se com a pequena curvatura do estômago e parte cranial do duodeno (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973). No bovino, o corpo e o lobo pancreático esquerdo apresentam-se espessados. Nos carnívoros, é mais avermelhado e apresenta formato de um "V", constituindo em dois longos lobos estreitos, que se reúnem em um ângulo agudo, caudalmente ao piloro. Enquanto que no gato, apresenta forma um "U" (KÖNIG; LIEBICH, 2004).

Segundo Reece (2008), o pâncreas esta sempre próximo da primeira parte do duodeno e aparece como uma glândula alongada de nódulos agregados frouxamente alongados (REECE, 2008). É envolvido por tecido conjuntivo, mas não possui cápsula propriamente dita. Os lóbulos são separados por septos de tecido conjuntivo contendo vasos sanguíneos, linfáticos, nervos e ductos secretores (KIERSZENBAUM, 2008). Como outras glândulas parenquimatosas, o pâncreas é coberto por uma delgada cápsula de tecido conjuntivo, pouco distinta, que envia projeções, ou septos, de tecido conjuntivo, para o interior do órgão, os quais subdividem parcialmente a glândula em lóbulos pouco distintos (OVALLE; NAHIRNEY, 2008). Tem tanto função endócrina quanto exócrina: produz hormônios (endócrina) e secreções digestivas (exócrina) (D'ARCE; FLECHTMANN, 1980; KÖNIG; LIEBICH, 2004; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008; REECE, 2008; OVALLE; NAHIRNEY, 2008; DYCE; SACK; WENSING, 2010; FRANDSON; WILKE; FAILS, 2011).

As secreções pancreáticas exócrinas são formadas principalmente por uma variedade de enzimas digestivas e bicarbonato de sódio. As células pancreáticas acinares secretam as enzimas, e pequenas massas de tecido endócrino, as ilhotas pancreáticas ou de Langerhans (2% da massa pancreática) estão dispersas por todo o parênquima do pâncreas, são aglomerados de células dispostos em cordões irregulares separados por capilares (KIERSZENBAUM, 2008; FRANDSON; WILKE; FAILS, 2011). As ilhas pancreáticas (formalmente chamadas de ilhotas de Langerhans), são grupos isolados de células escassas na glândula. As células beta produzem insulina e as células alfa produzem glucagon. Células alfa e beta secretam diretamente no sangue (secreções sem ductos). As células da ilha são claramente visíveis ao microscópio (REECE, 2008). As ilhotas de Langerhans são microórgãos endócrinos localizados no pâncreas, onde são vistos ao microscópio como grupos arredondados de células, incrustados no tecido pancreático exócrino. São constituídas por células poligonais, dispostas em cordões, em volta dos quais existe uma abundante rede de capilares sanguíneos com células endoteliais fenestradas. Coram-se menos intensamente

pela hematoxilina-eosina que as células acinosas, resultando em um aspecto mais claro das ilhotas quando vistas ao microscópio de luz (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008). Ilhotas individuais encontram-se espalhadas por todo o pâncreas, mas elas são duas vezes mais numerosas na cauda da glândula que em outras partes. São ricamente vascularizadas e incompletamente separadas do pâncreas exócrino por um escasso revestimento de tecido conjuntivo com fibras reticulares. As células das ilhotas formam aglomerados compactos semelhantes a cordões, e em cortes corados em HE aparecem como células poligonais palidamente coradas e intimamente reunidas (OVALLE; NAHIRNEY, 2008).

A unidade histológica funcional do pâncreas exócrino é o ácino seroso. O lúmen do ácino seroso é o início do sistema de ductos excretores-secretores e contém as células centroacinosas, que são exclusivas do pâncreas, elas são contínuas com o epitélio simples cúbico baixo que reveste o ducto intercalar. O pâncreas exócrino não apresenta ductos estriados nem células mioepiteliais. Os ductos intercalares convergem para formar ductos interlobulares revestidos por um epitélio simples cilíndrico com algumas células caliciformes e ocasionais células enteroendócrinas. Os ductos interlobulares se anastomosam para formar o ducto pancreático principal (KIERSZENBAUM, 2008).

O ácino pancreático exócrino é constituído por várias células serosas que circundam um lúmen. Estas células são polarizadas, com um núcleo esférico, sendo típicas células secretoras de proteínas. O número de grânulos de secreção (grânulos de zimogênio) presentes em cada célula varia de acordo com a fase digestiva, sendo máximo em animais em jejum. Uma cápsula delgada de tecido conjuntivo reveste o pâncreas e envia septos para o seu interior, separando-o em lóbulos. Os ácinos são circundados por uma lâmina basal que é sustentada por uma bainha delicada de fibras reticulares. O pâncreas também possui uma rede capilar extensa, essencial para o processo de secreção (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Cada ácino pancreático é formado por células piramidais unidas umas às outras por complexos juncionais no perímetro apical, os quais impedem o refluxo de produtos secretados para os espaços intercelulares. O domínio basal da célula acinosa pancreática está associado à lâmina basal e contém o núcleo e um retículo endoplasmático granular bem desenvolvido. O citoplasma apical apresenta numerosos grânulos de zimogênio e o aparelho de Golgi (KIERSZENBAUM, 2008). O ácino, de formato oval ou semelhante a um frasco, consiste em uma camada de células cúbicas ou piramidais ao redor de um lúmen central. Cada núcleo único e esférico se encontra direcionado para o citoplasma basal da célula, na área com a basofilia citoplasmática mais intensa. Um aspecto exclusivo dos ácinos é a presença de partes iniciais do sistema de ductos excretores, compostas por células centro-acinosas, as quais se

projetam parcialmente para o interior do lúmen dos ácinos, são palidamente coradas e conduzem aos ductos intercalares, revestidos por um epitélio simples cúbico. À microscopia eletrônica, as células centro-acinosas contém um extenso retículo endoplasmático granular, consistente com a intensa síntese de proteínas nas células acinosas. O citoplasma apical das células está preenchido com proeminentes grânulos de secreção (zimogênios) que se coram intensamente com eosina ou corantes ácidos (OVALLE; NAHIRNEY, 2008).

A ultraestrutura do pâncreas exócrino do rato demonstrou microvilosidades da superfície de células apicais visualizadas em seções de cortes longitudinais, em estrias longitudinais e transversais em um padrão de pontos dispostos de forma concêntrica. No aparelho de Golgi, vacúolos e vesículas são reconhecidas. Alguns dos vacúolos frequentemente contêm quantidades variáveis de uma substância de moderada a alta densidade. Imediatamente fora da zona de Golgi são encontrados grânulos de zimogênio. Estes são muito semelhantes aos vacúolos de Golgi contendo material denso e, muitas vezes é difícil decidir se uma determinada formação deve ser classificada como um vacúolo de Golgi ou grânulo de zimogênio imaturo. Essas descobertas parecem apoiar a hipótese de que grânulos de zimogênio são formados a partir de vacúolos de Golgi (EKHOLM; ZELANDER; EDLUND, 1962).

Em um experimento realizado com *Bradypus tridactylus* constatou-se uma fração de proteína semelhante à insulina do pâncreas com baixa mobilidade eletroforética e alto peso molecular, também presente no suco pancreático. E a insulina foi encontrada por radioimunoensaio no suco pancreático basal e após estímulo (COUTINHO et al., 1983).

No pâncreas da preguiça, foram encontrados quatro tipos de células endócrinas imunorreativas para glucagon, insulina, somatostatina e serotonina (5-hidroxitriptamina), como relatado em pâncreas de humanos e mamíferos experimentais comuns, entretanto células polipeptídeo-imunorreativas pancreáticas não foram detectadas nem por aviário nem por anti-soro bovino polipeptídio pancreático. As células endócrinas foram distribuídas principalmente nas ilhotas e também parcialmente no tecido exócrino incluindo os ductos pancreáticos. Aglomerados maiores e menores de células imunorreativas de glucagon e insulina foram encontrados frequentemente no tecido conjuntivo interlobular. Nas ilhotas as células imunorreativas de glucagon e insulina foram o tipo mais proeminente, enquanto que as células imunorreativas de somatostaina e serotonina foram escassas. A característica mais marcante do pâncreas da preguiça é a alta freqüência de células imunorreativas de glucagon, uma vez que estas se apresentam em número muito menor em pâncreas de humanos e mamíferos comuns experimentais comparativamente às células imunorreativas de insulina (DA MOTA et al., 1992).

O pâncreas exócrino de coelhos Angora apresentou-se constituído por células acinares com ductos de diâmetros pequeno, moderado e grande. As células epiteliais piramidais que compõem os ácinos demonstraram ser ricas em retículo endoplasmático rugoso, estrutura cristal de mitocôndria, ribossomos livres e muitos grânulos de zimogênio eletrodensos. Ductos de diâmetros moderado e grande foram encontrados geralmente nas principais células, numerosas células caliciformes e poucas células enteroendócrinas em lâminas epiteliais, e glândulas mucosas em sero-mucosas em lâmina própria. Em conclusão, a estrutura histológica do pâncreas exócrino de coelhos Angora é semelhante à de ser humano, rato, camundongo e gato (ŞİMŞEK; ERGÜN; ERGÜN, 2009).

No pâncreas de rato (Wistar albino), a insulina contendo células β estava localizada na região central das ilhotas de Langerhans, enquanto o glucagon contendo células α e somatostatina contendo células D eram raras, e estavam localizadas nas regiões periféricas das ilhotas (KOCAMIS et al., 2009).

A variação na estrutura das ilhotas entre as espécies pode provocar variação nos mecanismos de desenvolvimento. Contudo suspeita-se que diferentes exigências de condições metabólicas e fisiológicas podem desempenhar um papel mais importante na determinação de suas estruturas. Anteriormente demonstrou-se em camundongos que condições como a prenhez e obesidade resultam em aumento de massa das células β e o tamanho das ilhotas com mudanças na arquitetura (STEINER et al., 2010).

Pesquisas de estrutura e formação das ilhotas das diversas espécies em condições normais e patológicas, tais como prenhez, diabetes e obesidade, fornecem base para análise das mudanças de organização das células alfa e beta dentro das ilhotas. Juntamente com a linhagem de rastreamento, podem fornecer informações sobre a forma como essas mudanças estruturais ocorrem, em caso de migração de células periféricas para o núcleo das ilhotas ou transdiferenciação de células (STEINER et al., 2010).

Um estudo imunohistoquímico realizado com "porquinhos da índia" (*Guinea pig*) constatou que nas ilhotas pancreáticas a maioria das células insulina-IR foram detectadas na região central, parcialmente na região do manto. As células glucagon-IR estavam localizadas na periferia das ilhotas pancreáticas e apresentavam menor frequência em regiões centrais e as células OXA e grelina-IR foram identificadas nas regiões centrais e periféricas. Claramente, as células OXA-IR exibiram uma característica de padrão de distribuição semelhante ao das

células de glucagon-IR. Entretanto a grelina exibiu uma característica de padrão de distribuição diferente das células de insulina (YAMAN; BAYRAKDAR, 2013).

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho foi descrever a morfologia macro e microscópica do pâncreas do tamanduá-bandeira, bem como sua topografia, estrutura e constituição celular.

3 MATERIAL E MÉTODO

3.1 ANÁLISE ANATÔMICA

Para realização desta pesquisa, foram utilizados 16 animais, sendo um macho para dissecação a fresco; e três fêmeas e 12 machos fixados em solução aquosa de formaldeído a 10% para conservação das partes. A documentação fotográfica detalhada fez-se necessária para uma rigorosa descrição dos órgãos envolvidos e suas relações. E a nomenclatura utilizada foi de acordo com o "INTERNATIONAL COMMITTE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE" (ICOVGA, 2012).

Os tamanduás-bandeira da espécie (*Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758) foram provenientes do acervo do Hospital Veterinário "Dr. Halim Atique" e do SACCAS (Setor de Atendimento Clinico Cirúrgico de Animais Selvagens) setor este responsável em fornecer suporte para Policia Militar Ambiental do Estado de São Paulo e IBAMA – Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis.

3.2 ANÁLISE MICROSCÓPICA

Foram utilizados para estudos microscópicos 4 (quatro) animais que vieram a óbito e dos quais imediatamente foram colhidos fragmentos de pâncreas, em diferentes regiões: cranial, médio, caudal e lobar (lobo esquerdo).

3.2.1 Microscopia de Luz

Os fragmentos foram recortados em cubos com lados medindo aproximadamente 0,5cm e colocados em solução fixadora de formol tamponado a 10%, permanecendo por um período mínimo de 48 horas para completa fixação. Em seguida o material foi desidratado em série de etanóis em concentrações crescentes (de 70 à 100%) e diafanizado em xilol, com posterior inclusão em paraplast (Paraplast Plus, Oxford Lab., USA).

No micrótomo (Leika, German) foram realizadas as secções dos blocos em paraplast de 5µm de espessura, os quais foram corados com hematoxilina eosina, reticulina, PAS, tricômico de Masson e picrosírius. As leituras das lâminas foram realizadas e fotomicrografadas em Microscópio de luz Olympus BX 60 acoplado a câmera Axio CAM HRc, utilizando o software Zeiss KS 400.

3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

O material coletado em glutaraldeido 3% foi lavado em água destilada e pós-fixado em solução de tetróxido de Ósmio a 1% em PBS (tampão fosfato de sódio - 0,1M, pH 7,4 a 4°C) por 2 horas. Posteriormente as amostras foram lavadas por 45 minutos em solução PBS, e por 20 minutos em água destilada. . Os fragmentos foram desidratados em soluções crescentes de etanol (50% a 100%) por um período de 30 minutos cada série.

As amostras foram secas no ponto crítico (Criticak Point Balzer® Union CPD 020, Liechlenstrein, Alemanha) com o uso de CO₂ líquido. Na sequência os fragmentos foram fixados em bases metálicas de alumínio *stubs*, com cola de carbono. Após a fixação, foram submetidos a um revestimento metálico com cobertura de ouro no metalizador (Emitch® K500, Ashford, Kent, Inglaterra) e foram analisados em microscópio eletrônico de varredura (LEO® 435VP).

3.2.3 Microscopia Eletrônica de Transmissão

As amostras destinadas ao estudo ultraestrutural foram fixadas em glutaraldeído 3%. Após o processo de fixação, o material foi tratado pelo tetróxido de ósmio 1% (Osmium tetroxide 4% w/w solution in water, Polysciences, Inc., USA) por 1 hora. Após novas lavagens em tampão fosfato, os fragmentos foram desidratados em concentrações crescentes de etanol (70% a 100%) terminando em óxido de propileno (Propylene oxide EM Grade, Polyciences, Inc., USA).

Durante 12 horas, as amostras permaneceram mantidas sob agitação em uma mistura de 1:1 de óxido de propileno (Propylene oxide EM Grade, Polyciences, Inc., USA) e resina Spurr (Spurr's kit-Electron Microscopy Sciences, Co. USA). Em seguida, esta mistura foi substituída por resina pura, onde os materiais permaneceram por mais 4 horas. Após este período as amostras foram colocadas em moldes com resina pura e permaneceram em estufa a 60°C por 72 horas para permitir a polimerização da resina.

As amostras foram cortadas em ultra micrótomo LEICA ULTRACUT UCT para obtenção de cortes semifinos de 1 µm de espessura e coradas a quente com uma solução aquosa de borato de sódio 1% em água destilada, contendo 0,25% de azul de Toluidina para observação ao microscópio de luz.

Em seguida, cortes ultrafinos, com cerca de 60nm de espessura foram colhidos em telas de cobres e contrastados pelo acetato de uranila 2% em água destilada, durante 5 minutos, e pelo citrato de chumbo 0,5% em água destilada, durante 10 minutos. A observação das ultra-estruturas e a documentação fotográfica foram realizadas no microscópio "Morgagni 268D".

3.2.4 Análise Estatística

A avaliação dos dados procedeu-se de forma descritiva simples.

4.1 ANATOMIA DESCRITIVA E REGIONAL

A dissecação de 16 tamanduás, sendo três fêmeas adultas e 13 machos (dentre os quais dois eram filhotes), permitiu observar indistintamente, que o pâncreas está situado no antímero esquerdo (Figuras 1-A-B e 2-A-B) da cavidade abdominal, é mantido por um ligamento que se prolonga do pâncreas à região que compõe uma cápsula fibrosa, onde está alojado o rim esquerdo (Figuras 2-A e 2-B).

O pâncreas do tamanduá-bandeira possui uma única lobação, ou seja, apenas o lobo esquerdo é visível macroscopicamente. É lobulado, parecendo um conjunto de "nódulos" frouxos agregados (Figuras 2-A, 2-B, 3-A, 3-B). Possui coloração pálida, está envolvido por uma fina cápsula de tecido conjuntivo delgado e permanece "aderido" ao ventrículo gástrico, por ambos estarem envolvidos por tecido adiposo (Figura 2-B).

Apresenta uma face gástrica (Figura 4-B), na qual 2/3 do órgão compõe uma borda livre que acompanha a curvatura maior do ventrículo gástrico, iniciando pela porção crâniodorsal, e terminando na porção caudoventral que representa uma transição (Figura 4-D). Apenas uma pequena parte do referido órgão justapõem-se à porção inicial do duodeno (Figura 3-D), com arquitetura semelhante ao formato da letra "L" (Figuras 3-B, 4-B). Esta borda do "L" representa o lobo esquerdo, o qual apresentou-se com tamanho proporcionalmente reduzido nos animais conservados em solução aquosa de formol (Figura 4-B). Entretanto, na dissecação à fresco o volume deste segmento pancreático apresentava-se de maior tamanho (Figuras 1-A e 1-B). O órgão mostrou também uma face dorsolateral voltada para a cavidade abdominal (Figuras 2-A e 3-C). Esta relaciona-se craniodorsalmente com baço e ventrículo gástrico, e caudoventralmente com cápsula fibrosa renal (que aloja o rim esquerdo) e intestinos (Figuras 1-A, 1-B, 2-A, 2-B). Mediante dissecação observou-se na face gástrica o ducto pancreático principal o qual dispunha-se ventralmente ao emitir dorsalmente o ducto pancreático acessório (Figura 3-A). Ainda na face gástrica foram identificadas a artéria pancreática caudal (Figura 3-A e 3-B) e veia esplênica na face dorsolateral (Figuras 2-A).



Figura 1 - Fotomacrografia do pâncreas a fresco de *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758, macho, adulto (A-B)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: **A.** Pâncreas dissecado à fresco com suas regiões crâniodorsal, média, caudoventral e lobar esquerda. **B.** Mesma foto de A, apenas enumerando as regiões para identificação das regiões de coleta para histologia.



Figura 2 - Fotomacrografia do pâncreas de Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758, fêmea, adulta (AB)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: **A.** Representado pela letra "L", verifica-se o ligamento mantendo os órgãos fixados ao peritônio da parede dorsal da cavidade abdominal. BR – "Bolsa Renal", que é a continuação do ligamento, e forma uma bolsa fibrosa que protege o rim esquerdo. D – parte do duodeno. J – Jejuno "tracionado" para fora da cavidade abdominal. E indicado pela seta, uma pequena porção do pâncreas. **B.** Foto mais aproximada, idem a A



Figura 3 - Fotomacrografia do pâncreas de Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758, fêmea, adulta (A-B)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: A. RE – Rim esquerdo dentro da 'bolsa renal'. L – Parte do ligamento (rompido). P – Pâncreas. D – Duodeno. J – Jejuno. Na ponta seta, tem-se a indicação da veia esplênica.
B. VG – Ventrículo gástrico e P – Pâncreas, ambos "aderidos" por estarem envolvidos por tecido adiposo. J – Jejuno. Observar que o pâncreas acompanha a curvatura maior do ventrículo gástrico e que uma pequena parte está presa à porção inicial do duodeno, compondo a borda da letra "L", representando o lobo esquerdo (D)



Figura 4 - Fotomacrografia do pâncreas de Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758, fêmea, adulta (A-D)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: A. Vista ventral do pâncreas (P) e visualização da (seta) artéria pancreática caudal (seta). D – duodeno. B. Face gástrica (FG) do órgão, que acompanha a curvatura maior do ventrículo gástrico iniciando pela porção crâniodorsal (CD), e a porção caudoventral (CV) que representa a pequena porção presa ao duodeno (D), onde é possível visualizar uma pequena projeção, o lobo esquerdo. Indicado pela seta, o ducto pancreático principal que segue ventralmente e emite o acessório (dorsalmente). Próximo a CD visualizar um pequeno vaso, corado em vermelho, que representa a artéria pancreática caudal. C. Vista da face dorsolateral direita (FDL) do pâncreas. D. Observar a região de transição entre a parte livre que acompanha a curvatura gástrica e a "porção" presa ao duodeno (indicada pela seta)

4.2 ANÁLISES HISTOLÓGICAS

O pâncreas do tamanduá-bandeira é coberto por uma delgada cápsula de tecido conjuntivo (Figura 5-D e 7-A-D), que se projeta para o interior da glândula por meio de septos, e estes a subdividem em lóbulos. As colorações de Tricrômo de Masson e Picrosírius comprovam (Figura 7-A) a presença de colágeno corado em azul ou verde (Figuras 7-B e 7-C), bem como a coloração de Picrosírius evidencia as fibras colágenas coradas em vermelho.

De um modo geral, a glândula também apresenta duas partes distintas: uma exócrina, composta pelos ácinos (Figuras 5-A,B,C,E), e outra endócrina, formada pelas ilhotas pancreáticas (Figuras 6-F-J). Os ácinos pancreáticos representam a maior parte da glândula, enquanto as ilhotas pancreáticas a menor área pancreática, manifestando-se de forma isolada e agrupada, similar a "cordões" de células.

Os ácinos possuem formatos ovalados, compostos por células cúbicas ou piramidais em torno de um lúmen central (Figura 5-A, 5-B, 5-C). O núcleo dessas células tem formato esférico e posições basais. Suas colorações são "arroxeadas", devido à basofilia, quando os cortes histológicos são corados por hematoxilina e eosina. No citoplasma apical dessas células a coloração rosa é intensa, devido à acidofilia, proveniente dos grânulos de secreção que são os grânulos de zimogênio. A coloração de azul de toluidina (5-C) em corte semi-fino apenas ilustra a porção exócrina do pâncreas com seus ácinos.

Quando os ácinos estão em maior atividade, as células acinares apresentam-se "vacuoladas" (Figura 5-B). No centro de cada ácino, dispõem-se as células centro-acinosas (Figura 5-A), as quais projetam-se parcialmente para o interior do lúmen. Entre os ácinos é possível identificar ductos interlobulares revestidos por epitélio simples cúbico (Figura 5-E) e envolvidos por tecido conjuntivo fibroso.

Quanto à parte endócrina, foi feita a identificação das ilhotas pancreáticas, com suas células poligonais e compactadas. À primeira vista, coletou-se um fragmento aleatório do pâncreas, e no menor aumento as ilhotas não eram visíveis. Somente foi possível sua visualização em aumento de 40x ao microscópio de luz, onde as ilhotas se apresentavam menos pigmentadas que os ácinos nas colorações HE e PAS (Figuras 6-F-J). Depois de identificadas as ilhotas por fragmentos coletados de diferentes regiões (Figuras 1-A e 1-B), notou-se que na região localizada na porção crâniodorsal do pâncreas, não foram visualizadas ilhotas pancreáticas (Figura 8-A). Já nos demais fragmentos, correspondentes às regiões

média, caudoventral e lobar esquerda respectivamente, foi possível identificar várias ilhotas pancreáticas inclusive em aumentos menores como o de 10x ao microscópio de luz (Figuras 8-B, 9-C, 9-D)



Figura 5 – Fotomicrografia da microscopia de luz do pâncreas exócrino do *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 (A-E)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: A. Ácinos pancreáticos. Indicado pela seta branca um ácino com suas células piramidais em torno do lúmen. Célula centro-acinosa indicada pela seta preta. Coloração HE, aumento de 40x.
B. Pâncreas exócrino também em HE aumento de 40x, as células encontram-se em maior atividade que em A, devido à presença de vacúolos nas células acinares. C. Parte exócrina do pâncreas. Corte semi-fino na coloração Azul de Toluidina, aumento de 40x. D. Cápsula do pâncreas (seta), coloração de Reticulina, aumento de 20x. E. Ducto interlobular (seta), revestido por epitélio simples cúbico e envolvido por tecido conjuntivo fibroso. Coloração HE, aumento de 20x.



Figura 6 – Fotomicrografia da microscopia de luz do pâncreas endócrino do *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 (F-J)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: **F.** Na ponta da seta encontram-se as ilhotas pancreáticas, coloração HE, aumento de 40x. **G.** Mesma foto de F, porém com aumento de 100x. **H, I e J.** Ilhotas também identificadas pela seta, coloração PAS, aumento de 40x



Figura 7 – Fotomicrografia da microscopia de luz da cápsula do pâncreas do *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 (A-D)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: A. A cápsula do pâncreas está corada em rosa e indicada pela letra "C". Coloração HE, aumento de 20x. B. cápsula do pâncreas está corada em azul e indicada pela letra "C". Coloração tricômico de Masson, aumento de 20 x. C. Mesma foto de B, porém com aumento de 40 x. D. A cápsula do pâncreas está corada em vermelho e também indicada pela letra "C". Coloração Picrosírius, aumento de 40 x.



Figura 8 – Fotomicrografia da microscopia de luz das regiões 1 e 2 do pâncreas do *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 (A-B)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: A. Região 1 do pâncreas conforme figura 1-B. Observar a presença de apenas ácinos pancreáticos (destaque de um deles pelo quadrado amarelo) sem existência de ilhotas. Coloração HE, aumento de 10x. B. Região 2 do pâncreas conforme figura 1-B. Observar ilhotas (destacadas em vermelho) imersas em ácinos pancreáticos. Coloração HE, aumento de 10 x.



Figura 9 – Fotomicrografia da microscopia de luz das regiões 3 e 4 do pâncreas do Myrmecophaga gtridactyla Linnaeus, 1758 (C-D)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: **A.** Região 3 do pâncreas conforme figura 1-B. Observar ilhotas (destacadas em vermelho) imersas em ácinos pancreáticos. Coloração HE, aumento de 10x. **B.** Região 4 do pâncreas conforme figura 1-B. Observar ilhotas (destacadas em vermelho) imersas em ácinos pancreáticos. Coloração HE, aumento de 10 x.

4.3 ANALISES ULTRAESTRUTURAIS

À microscopia eletrônica de varredura, o pâncreas do tamanduá-bandeira demonstrou lóbulos pancreáticos divididos por septos de tecido conjuntivo, onde localizavam-se vasos sanguíneos (Figura 10-A). Fibras colágenas compunham uma delgada camada que abrigava o parênquima pancreático (Figura 10-B). Os ácinos representantes da parte exócrina da glândula parenquimatosa (Figura 10-B) sugeriam que as ilhotas pancreáticas compunham a parte endócrina do pâncreas (Figuras 10-C, 10-D).

Mediante a microscopia eletrônica de transmissão foram identificadas células acinosas, as quais eram secretoras e polarizadas (Figura 11-A). Apresentavam algumas organelas tais como mitocôndrias (Figuras 11-C, 12-E, 12-H), retículo endoplasmático abundante e aparelhos de Golgi localizados próximo aos núcleos (Figura 12-F, 12-G). Tais estruturas são envolvidas com a produção de grandes vesículas de secreção, que contêm os grânulos de zimogênio (Figura 11-D).

A célula centro-acinosa apresentou característica achatada, de formato ovalado, delimitando incompletamente o lúmen do ácino pancreático, e apresentava mitocôndrias próximas (Figuras 11-B, 11-C, 11-D).



Figura 10 – Fotomicrografia eletrônica de varredura do pâncreas do *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 (A-D)

Legenda: A. Lóbulos pancreáticos, separados por septos de tecido conjuntivo (seta branca), e um vaso, (seta preta) (300μm). B. Ácinos vistos em maior aumento, e cápsula de tecido conjuntivo, com fibras colágenas, apontados pela seta (30μm). C. Área sugestiva de ilhota pancreática (seta) (100μm). D. Mesma foto de C, em maior aumento (10μm).

Fonte: (IGLESIAS, 2013)



Figura 11 – Fotomicrografia eletrônica de transmissão do pâncreas do Myrmecophaga tridactyla Linnaeus, 1758 (A-D)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: A. Ácino pancreático circundado em amarelo (5μm). B. Ácino pancreático e célula centro-acinar (seta), delimitando incompletamente o lúmen do ácino (5μm). C. Célula centro-acinar em maior aumento, e região com mitocôndrias (seta) (2μm). D. Célula centro acinar (seta), e citoplasma repleto de vesículas arredondadas que contêm os grânulos de zimogênio (2μm).



Figura 12 – Fotomicrografia eletrônica de transmissão do pâncreas do *Myrmecophaga tridactyla* Linnaeus, 1758 (E-H)

Fonte: (IGLESIAS, 2013)

Legenda: **E.** Mitocôndria (apontada pela seta) (0.5µm). **F** e **G.** Aparelho de Golgi e retículo endoplasmático rugoso (seta) (2µm). **H.** Mitocôndrias (seta) (2µm).

5 DISCUSSÃO

Em concordância com autores, tais como Nickel, Schummer e Seiferle (1973) e Hildebrand e Goslow Jr. (2006) o pâncreas do tamanduá também apresentou coloração pálida, entretanto sua disposição e formato diferem das descrições clássicas encontradas na literatura sobre o tema, uma vez que o formato do órgão no tamanduábandeira assemelha-se à letra "L". Em suínos seu formato é triangular, similar à letra "Y", onde acomodam-se seus dois lobos (GETTY, 1981; KÖNIG; LIEBICH, 2004). Em carnívoros por sua vez, assemelha-se à letra "V", com dois lobos longos e estreitos (GETTY, 1981) e em felinos seu formato compara-se à letra "U" (KÖNIG; LIEBICH, 2004).

O pâncreas do tamanduá-bandeira é constituído de um corpo central e um lobo único situado a esquerda, sem apresentar o lobo direito como descrito por alguns autores (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973; GETTY, 1981; KÖNIG; LIEBICH, 2004). Tampouco o órgão deste Edentata divide-se em quatro lobos: dorsal, ventral, terceiro e esplênico (SIMSEK; ALABAY, 2008), porém demonstra aspecto lobulado, envolvido por tecido conjuntivo que constitui a cápsula pancreática, e tecido interlobular, o qual contém grande quantidade de gordura (GETTY, 1981; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; OVALLE; NAHIRNEY, 2008). Tal descrição difere daquelas feitas por autores tais como Kierszenbaum (2008), o qual cita que o pâncreas não possui uma cápsula propriamente dita.

No tamanduá-bandeira, o pâncreas acompanha a curvatura do ventrículo gástrico e relaciona-se apenas com uma pequena parte da porção inicial do duodeno. Entretanto, relaciona-se com outros órgãos, diferindo na proporção de sua localização com as estruturas que compõe sua sintopia (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973; GETTY, 1981; HILDEBRAND; GOSLOW JR., 2006; KIERSZENBAUM, 2008; REECE, 2008; SIMSEK; ALABAY, 2008). Para alguns autores (NICKEL; SCHUMMER; SEIFERLE, 1973) o corpo central do pâncreas está situado na porção inicial do duodeno, e o restante do órgão relaciona-se com a curvatura gástrica. Para outros autores, tais como Hildebrand e Goslow Jr. (2006) o pâncreas encontra-se adjacente ao duodeno, não apresentando relação com o ventrículo gástrico.

No Xenarthra estudado, o pâncreas demonstra estruturas endócrinas e

exócrinas (D'ARCE; FLECHTMANN, 1980; ERMAN; MINGLI; LIPING, 1998; KÖNIG; LIEBICH, 2004; HILDEBRAND; GOSLOW JR., 2006; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008; OVALLE; NAHIRNEY, 2008; REECE, 2008; DYCE; SACK; WENSING, 2010; FRANDSON; WILKE; FAILS, 2011) e seu parênquima é dividido em lóbulos por tecido conjuntivo delgado. A parte exócrina é constituída por ácinos serosos, que possuem formato ovalado e células cúbicas piramidais em torno de lúmen central, e estão envolvidos na síntese e secreção de várias enzimas digestivas, as quais devido a essa função mostram, seus citoplasmas ricos em grânulos de secreção (zimogênios), corando-se mais intensamente por eosina ou corantes ácidos (OVALLE; NAHIRNEY, 2008). A seu turno, o pâncreas endócrino é constituído pelas ilhotas pancreáticas, as quais estão dispersas pela parte exócrina, como grupos isolados de células, dispostos como "cordões" irregulares (ERMAN; MINGLI; LIPING, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008; REECE, 2008; FRANDSON; WILKE; FAILS, 2011). À microscopia de luz, a coloração de HE permitiu constatar que os ácinos ou parte exócrina do pâncreas é corado em vermelho púrpura, devido à presença de enzimas acidofílicas precursoras de grânulos no citoplasma; enquanto que as ilhotas pancreáticas ou parte endócrina são "fracamente" coradas, resultando em um aspecto mais claro (ERMAN; MINGLI; LIPING, 1998; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; REECE, 2008). As demais colorações ilustraram as mesmas regiões e suas diferenças citadas no HE, ou constataram estruturas mais específicas tais como em azul de toluidina. Nos cortes semi-finos, os ácinos pancreáticos demonstraram a cápsula pancreática corada pela reticulina, tricrômo de masson e picrosírius.

Segundo Ovalle e Nahirney (2008) as ilhotas pancreáticas são duas vezes mais numerosas na cauda do pâncreas do que em outras partes. De fato na região crâniodorsal do pâncreas do tamanduá-bandeira não foram encontradas ilhotas pancreáticas, contudo nas demais regiões (média, caudoventral e lobar esquerda), elas eram numerosas.

Na microscopia eletrônica de varredura foram identificados à semelhança da descrição efetuada por vários autores (EKHOLM; ZELANDER; EDLUND, 1962; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008; KIERSZENBAUM, 2008; SIMSEK; ALABAY, 2008; ŞIMŞEK; ERGÜN; ERGÜN , 2009), células acinosas contendo aparelho de Golgi, e extenso retículo endoplasmático rugoso, cujas funções estão relacionadas

com a síntese de proteínas. Células centro-acinosas, mitocôndrias e inúmeras vesículas que contêm os grânulos de zimogênio (precursores das enzimas digestivas) foram vistas no pâncreas do tamanduá-bandeira. Segundo Junqueira e Carneiro (2008) têm sua quantidade variável de acordo com a fase digestiva, na qual o animal se encontra, atingindo o máximo em animais em jejum. Assim, sugere-se que os animais estudados se encontravam em uma fase de restrição alimentar devido ao grande número vesículas com grânulos de zimogênio presentes nos seus respectivos citoplasmas.

6 CONCLUSÕES

O pâncreas do tamanduá-bandeira situa-se no antímero esquerdo do corpo, apresenta coloração pálida, possui um corpo central e lobo esquerdo, e seu formato assemelha-se à letra "L". É revestido por uma cápsula que projeta-se para seu interior dividindo-o em lóbulos. Acompanha a curvatura maior do ventrículo gástrico e está aderido apenas à porção inicial do duodeno. Na microscopia, o pâncreas mostrou duas partes distintas: uma exócrina, composta pelos ácinos, e outra endócrina formada pelas ilhotas pancreáticas, que compõem a menor parte do órgão. As técnicas de varredura e transmissão permitiram a identificação de estruturas (cápsula, ácinos, células acinosas, células centro-acinosas e ilhotas pancreáticas) e organelas comumente presentes em células envolvidas com a síntese proteica (mitocôndrias, retículo endoplasmático rugoso, aparelho de Golgi), bem como as vesículas repletas de grânulos de zimogênios que são os precursores das enzimas digestivas.

REFERÊNCIAS

BRAINARD, B. M.; NEWTON, A; HINSHAW, K. C.; KLIDE, A. M.. Tracheostomy in the giant anteater (*Myrmecophaga tridactyla*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine,** v. 39, n. 4, p. 655-8, Dec. 2008. Disponível em: <<u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19110713</u>>. Acesso em: 23 abr. 2013.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Instrução Normativa nº 03, de 27 de maio de 2003. Atualiza a lista vermelha atualizada de espécies da fauna brasileira ameaças de extinção. Diário Oficial da República Federativa do Brasil 2003.

CÁCERES, N. C.; HANNIBAL, W.; FREITAS, D. R.; SILVA, E. L.; ROMAN, C.; CASELLA, J. Mammal occurrence and roadkill in two adjacent ecoregions (Atlantic Forest and Cerrado) in south-western Brazil. **Zoologia**, v. 27, n. 5, p. 709-717, 2010.

CITES. CONVENTION OF INTERNATIONAL TRADE ENDAGERED SPECIES OF WILD FAUNA AND FLORA. [S.1.]: UNEP, 2014. Appendix II. Disponível em: <<u>http://www.cites.org/eng/appendices.php</u>>. Acesso em: 12 fev. 2014.

COUTINHO, H. B; AGUIAR, F. J.; FREITAS, E. M.; SOUZA, A. M.;, FERREIRA, L. M.; PESSOA, R. G.; HUNTER, R. L. Isolation and convulsivant effect of the "insulin-like" protein obtained from the exocrine pancreas of Bradypus tridactylus L. **Comparative Biochemistry and Physiology: A, Comparative Physiology,** v. 74, n. 4, p. 951-954, 1983. Disponível em:

<<u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6132744</u>>. Acesso em: 23 abr. 2013.

DA MOTA, D. L; YAMADA, J; GERGE, L. L.; PINHEIRO, P. B. An immunohistochemical study on the pancreatic endocrine cells of the three-toed sloth, Bradypus variegatus. **Archive of Histology and Cytology**, v. 55, n. 2, p. 203-209, 1992. Disponível em: <<u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1353979</u>>. Acesso em: 24 abr. 2013.

D'ARCE, R. D.; FLECHTMANN, C. H. W. Introdução à anatomia e fisiologia animal. São Paulo: Nobel, 1980.

DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

EISENBERG, J. F.; REDFORD, K. H. Mammals of the neotropics: the central neotropics: Ecuador, Peru, Bolivia, Brazil. Chicago: University Of Chicago Press,2000. 624 p.

EKHOLM, R.; ZELANDER, T.; EDLUND, Y. The ultrastructural organization of the rat exocrine pancreas: I.acinar cells. **Journal of Ultrastructure Research**, v. 7, n. 1-2, p. 61-72, 1962.

ENDO, H.; NIIZAWA, N.; KOMIYA, T.; KAWADA, S.; KIMURA, J.; ITOU, T.; KOIE, H.; SAKAI, T. Three-dimensional CT examination of the mastication system in the giant anteater. **Zoological Sciences**, v. 24, n. 10, p. 1005-1011, 2007. Disponível em: <<u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18088164</u>>. Acesso em: 24 abr. 2013.

ERMAN, L.; MINGLI, W.; LIPING, W. A. A histomorphological study on digestive system of adult hedgehog. **Journal of Forestry Research**, v. 9, n. 2, p. 111-114, 1998.

FERNANDES, T. N.; YOUNG, R. J. Fluctuations in the tympanic membrane temperatures of non-restrained captive giant anteaters and southern tamanduas. **Journal of Zoology**, v. 274, n. 1, p. 94-98, 2008.

FERREIRA, J. R.; SOUZA, A. L. R.; MORTOZA, A. R.; REZENDE, L. C. Vascularization of the small intestine in lesser anteaters, Tamandua tetradactyla (Xenarthra: Myrmecophagidae). **Zoologia**, v. 28, n. 4, p. 488-494, 2011.

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

GETTY, R. Sisson/Grossman anatomia dos animais domésticos. 5. ed. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981.

HILDEBRAND, M.; GOSLOW JR., G. E. Análise da estrutura dos vertebrados. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2006. 637 p.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e biologia celular:** uma introdução à patologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

KOCAMIS, H.; KARADAG SARI, E.; NAZLI, M.; GULMEZ, N.; ASLAN, S.; DEPREM, T. Immunohistochemical distribution of insulin-, glucagon-, and somatostatin-containing cells in the pancreas of the rat (Wistar albino). **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi,** v. 15, n. 4, p. 611-614, 2009.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. Anatomia dos animais domésticos-texto e atlas colorido/órgãos e sistemas. Porto Alegre: Artmed, 2004.

IUCN. International Union for Conservation of Nature. **IUCN red list of threatened species.** Gland: IUCN, 2009.

MEDRI, I. M.; MOURÃO, G. Home range of giant anteaters (*Myrmecophaga tridactyla*) in the Pantanal wetland, Brazil. **Journal of Zoology**, v. 266, p. 365-375, 2005.

MIRANDA, F. Manutenção de tamanduás em cativeiro. São Carlos: Cubo, 2012. 302 p.

MOURÃO, G.; MEDRI, Í. M. Activity of a specialized insectivorous mammal (*Myrmecophaga tridactyla*) in the Pantanal of Brazil. **Journal of Zoology,** v. 271, n. 2, p. 187-192, 2007.

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. **The viscera of the domestic mammals.** Berlin-Hamburg: Verlag Paul Parey, 1973. 401 p.

ICOVGA. International Committe On Veterinary Gross Anatomical Nomenclature. **Nomina anatomica veterinaria**. New York, 2012.

OVALLE, W. K.; NAHIRNEY, P. C. Netter bases da histologia. São Paulo: Elsevier, 2008. 493 p.

REECE, W. O. Anatomia funcional e fisiologia dos animais domésticos. 3. ed. São Paulo: Roca, 2008. 480 p.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; PEDRO, W. A.; LIMA, I. P. **Mamíferos do Brasil.** Londrina: Technical Books, 2006. 557 p.

ROSSI, L. F.; LUACES, J. P.; ALDANA MARCOS, H. J.; CETICA, P. D.; PEREZ JIMENO, G.; MERANI, M. S. Anatomy and histology of the male reproductive tract and spermatogenesis fine structure in the lesser anteater (*Tamandua tetradactyla*, Myrmecophagidae, Xenarthra): morphological evidences of reproductive functions. **Anat Histol Embryol**, v. 42, n. 4, p. 247-56, 2013. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23072214>. Acesso em: 14 nov. 2013.

_____. Female reproductive tract of the lesser anteater (Tamandua tetradactyla, myrmecophagidae, Xenarthra): anatomy and histology. **Journal of Morphology,** v. 272, n. 11, p. 1307-1313, 2011. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21732404>. Acesso em: 14 nov. 2013.

SAMPAIO, C.; CAMILO-ALVES, P.; MOURÃO, G. M. Responses of a specialized insectivorous mammal (*Myrmecophaga tridactyla*) to variation in ambient temperature. **Biotropica**, v. 38, n. 1, p. 52-56, 2006.

SIMSEK, N.; ALABAY, B. Light and electron microscopic examinations of the pancreas in quails *(Coturnix coturnix japonica)*. **Revue de Médecine Vétérinaire,** v. 159, n. 4, p. *198-206*, 2008.

ŞİMŞEK, N.; ERGÜN, E.; ERGÜN L., E. The histological structure of the exocrine pancreas in angora rabbits. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi**, v. 15, n. 2, p. 173-180, 2009.

STEINER, D. J.; KIM, A. MILLER, K.; HARA, M. Pancreatic islet plasticity: interspecies comparison of islet architecture and composition. **Islets**, v. 2, n. 3, p. 135-

145, 2010. Disponível em: <<u>http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20657742</u>>. Acesso em: 14 nov. 2014.

YAMAN, M.; BAYRAKDAR, A. An immunohistochemical study of the insulin-, glucagon-, orexin a- and ghrelin- immunoreactive cells in the endocrine pancreas of guinea pig. **Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi,** v. 19, n. 1, p. 73-78, 2013.