

OBSERVAÇÕES MORFOLÓGICAS E HISTOQUÍMICAS SOBRE AS GLÂNDULAS SALIVARES DO JACARÉ *Caiman latirostris* (Crocodilia, Reptilia).*

Antonio Sílvio Rabelo**
Renato Antonio da Costa**
Gilson Herbet de Faria**

RESUMO

Empregando-se métodos histológicos e histoquímicos para glicoconjugados, desenvolveu-se um trabalho sobre as glândulas salivares do jacaré *Caiman latirostris*. Com base nos resultados obtidos, constatou-se que estas glândulas são pouco desenvolvidas, aparecendo como estruturas unicelulares, semelhantes às células caliciformes, incluídas no epitélio estratificado pavimentoso da cavidade oral. Observou-se, ainda, a presença de esparsos alvéolos glandulares desprovidos de ductos excretores que continuam diretamente com o epitélio. Por meio de métodos histoquímicos para glicoconjugados, foi possível a detecção de glicoproteína e de ácido siálico nas formações glandulares desses animais.

* Recebido para publicação em fevereiro de 1992.

** Docentes do Departamento de Histologia e Embriologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás.

INTRODUÇÃO

OPPEL (1900), revendo os trabalhos publicados anteriormente, mencionava em seu tratado de Anatomia alguns que admitiam a presença de pequenas glândulas salivares na cavidade oral dos crocodilos, principalmente as glândulas palatinas, assim chamadas por ROSE (1893). Algum tempo depois, FAHRENHOLZ (1937) confirmava estas observações e ainda citava os trabalhos de REESE (1925) que observou glândulas salivares na superfície dorsal da língua destes crocodilianos.

JUNQUEIRA & FAVA DE MORAES (1965), estudando alguns aspectos comparativos das glândulas salivares maiores dos vertebrados, verificaram que elas estão ausentes nos peixes, aparecem nos anfíbios como estruturas rudimentares, desenvolvem-se um pouco mais nos répteis e atingem sua máxima complexidade nos mamíferos. Ainda, JUNQUEIRA *et al.* (1967) verificaram uma alta concentração de ácido siálico nas glândulas salivares de algumas espécies de répteis por eles estudadas.

Com base nos trabalhos acima citados, desenvolveu-se um estudo sobre as glândulas salivares do jacaré *Caiman latirostris*, empregando-se métodos histológicos para o estudo morfológico e métodos histoquímicos para detecção de carboidratos, com a finalidade de se conhecer a natureza de sua secreção.

MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi realizado com dois exemplares de *Caiman latirostris*, capturados às margens do Rio dos Bois, no sul do Estado de Goiás. Um espécime pesava 120 g e media 33 cm de comprimento e o outro 1.700 g e 82 cm.

Os animais foram sacrificados de acordo com as técnicas convencionais de laboratório. Seguiu-se uma dissecação minuciosa de toda a cavidade oral. Como não foram encontradas glândulas salivares circunscritas, retiraram-se vários fragmentos de mucosa de diversos locais da cavidade oral, que foram fixados em formol a 10%, Bouin, Gendre e Helly, durante 24 horas. Seguiu-se a inclusão em parafina pelos métodos rotineiros. Foram feitos cortes de 5 micrômetros.

O estudo morfológico foi feito por meio das técnicas rotineiras de coloração H.E. e tricrômico de Mallory.

Para o estudo histoquímico dos carboidratos foram usados os seguintes métodos: PAS (ácido periódico, Schiff), segundo McMANNUS (1946); Alcian blue + PAS, segundo VIALLI (1955); Metacromasia, segundo BEVELANDER & JOHNSON (1955); Metacromasia e Alcian blue segundo LISON (1960).

Como controle foram utilizados os seguintes métodos: Acetilação, segundo McMANNUS & CASON (1946); Metilação, segundo FISHER & LILLIE (1954); Metilação seguida de Saponificação, segundo SPICER & LILLIE (1959); Hidrólise

ácida, segundo QUINTARELLI *et al.* (1961); ação da Hialuronidase testicular, segundo QUINTARELLI (1963) e Alfa-amilase, segundo FINCRE-DONNO & BAUME (1966).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi possível constatar a presença de grande quantidade de células volumosas, semelhantes às células caliciformes, porém um pouco mais alongadas, incluídas e dispersas no epitélio estratificado pavimentoso da cavidade oral.

Estas células volumosas, consideradas como glândulas unicelulares por JUNQUEIRA & FAVA DE MORAES (1965), apresentam um citoplasma claro e vacuolizado, enquanto o núcleo é achatado e deslocado para a base da célula.

A quantidade destas células caliciformes, dispersas no epitélio de revestimento da mucosa oral do jacaré, varia conforme a localização, pois enquanto em certas regiões são muito freqüentes, noutras locais estão ausentes. Nas regiões de maior concentração glandular é comum a observação de dobras epiteliais profundas que aumentam sobremaneira a superfície secretora. É interessante ressaltar que, geralmente, estas dobras epiteliais estão acompanhadas por tecido linfóide.

Foi observada ainda a presença de esparsos alvéolos glandulares, desprovidos de ductos excretores, continuando-se diretamente com o epitélio e aprofundando-se pouco na lâmina própria. Morfologicamente esses alvéolos glandulares são do tipo mucoso com luz bem visível e irregular. Suas células apresentam limites imprecisos, com citoplasma claro e núcleo ovóide, situado na base da célula.

Em relação à reação dessas estruturas glandulares aos métodos histoquímicos utilizados, observou-se que as células caliciformes, assim como os alvéolos glandulares, reagiram intensamente ao PAS após digestão pela alfa-amilase. Este material PAS positivo não resistia à acetilação. Também foi observado, através do método do Alcian blue a pH 2,5, que todas as formações glandulares mostraram uma coloração azul intensa, ao passo que, após a metilação, a reação foi negativa, porém ligeiramente positiva após metilação seguida de saponificação. Por outro lado, após ação da hialuronidase testicular, pareceu não haver alteração na intensidade da cor obtida. Já as estruturas glandulares, quando submetidas previamente a uma hidrólise ácida na estufa a 60°C, durante cinco horas, não mostraram qualquer reatividade frente ao método do alcian blue. Por outro lado, quando se empregou o método da metacromasia, conseguiu-se positividade em soluções tamponadas a pH 5,6 e 3,4. Analisando-se os resultados do Alcian blue + PAS, pareceu haver uma predominância do Alcian blue sobre a fucsina nas células caliciformes, enquanto nos alvéolos glandulares ambos os métodos se equivaliam. Os resultados histoquímicos para carboidratos estão expressos na Tabela I.

Com relação às características morfológicas, os resultados permitem admitir não só a presença de glândulas unicelulares (células caliciformes) incluídas no epitélio estratificado pavimentoso da cavidade oral do jacaré, já descrito nos répteis por JUNQUEIRA & FAVA DE MORAES (1965), como estrutura glandular difusa, bem como a presença de alguns alvéolos glandulares, com características mucosas desprovidas de ductos, penetrando pouco no tecido conjuntivo.

Essas estruturas glandulares não estão distribuídas uniformemente por toda a mucosa oral do jacaré. Estão ausentes na maior parte da mucosa e aglomeram-se em regiões onde aparecem, inclusive, dobras epiteliais, formando verdadeiros campos glandulares.

Tabela I - Resultados Histoquímicos para Carboidratos

MÉTODOS	Estruturas Glandulares	
	Alvéolos	Células Caliciformes
PAS	+	+
PAS (após amilase)	+	+
PAS (após acetilação)	-	-
Alcian blue	+	+
Alcian blue (após metilação)	-	-
Alcian blue (após metilação e saponificação)	±	±
Alcian blue (após hialuronidase)	+	+
Alcian blue (após hidrólise ácida)	-	-
Metacromasia pH 5,6	+	+
Metacromasia pH 3,4	±	±
Metacromasia pH 2,2	-	-
Alcian blue + PAS	+ (verm.) + (azul)	++ (azul) ± (verm.)

Obs.: - = ausência de cor

±, +, ++ = graus de intensidade de cor

Baseando-se na Tabela I dos resultados histoquímicos para carboidratos, pode-se admitir a presença de glicoproteínas no citoplasma das células dessas formações glandulares, em função de sua positividade ao método do PAS, resistente a alfa-amilases e o seu comportamento frente à acetilação, que bloqueou completamente os radicais vic-glicóis.

Constatou-se também a presença de radicais ácidos, em razão da positividade ao método do Alcian blue. Este método, quando acompanhado dos processos de metilação e saponificação, possibilitou a distinção entre os tipos carboxilados e sulfatados. Isto porque, segundo SPICER & LILLIE (1959), o processo da metilação bloqueia tanto os radicais ácidos carboxilados como os sulfatados, sendo que somente os primeiros são passíveis de detecção após a saponificação.

Ainda com a finalidade de distinguir os tipos de radicais ácidos, utilizou-se a reação da metacromasia tamponada a pH 5,6; 3,4 e 2,2.

Assim sendo, como não houve reversibilidade total de coloração ao Alcian blue, após os processos de metilação e saponificação, poder-se-ia admitir a presença de radicais sulfatados. Porém, este resultado deve ocorrer devido a uma hidrólise parcial do ácido siálico nestes processos (FAVA DE MORAES, 1965) e não devido aos radicais sulfatados, pois a reação da metacromasia com pH abaixo de 3,4 mostrou-se negativa. Isto porque, segundo DORFMAN (1963) e SZIRMAI (1963), a presença de glicosaminoglicanas estaria condicionada a uma reação metacromática positiva em pH abaixo de 2,0.

Por outro lado, através da hialuronidase pode-se excluir a presença de ácido hialurônico, em face da resistência das substâncias detectadas à ação desta enzima.

Desta forma, resta admitir a presença de ácido siálico, pois, após a hidrólise ácida, não houve coloração pelo método do Alcian blue. Esta asserção encontra apoio nos trabalhos de QUINTARELLI *et al.* (1961), onde ficou estabelecido que a hidrólise ácida prolongada a 60°C retira inteiramente este derivado ácido de carboidrato.

Baseado no método do Alcian blue + PAS, segundo VIALLI (1955), o ácido siálico predomina sobre a glicoproteína nas células caliciformes; nos alvéolos, entretanto, não ocorre esta predominância.

CONCLUSÕES

As glândulas salivares do jacaré *Caiman latirostris* estão representadas por glândulas unicelulares e intra-epiteliais (células caliciformes), bem como por esparsos alvéolos glandulares.

Os alvéolos glandulares não apresentam ductos excretores, continuando-se diretamente com o epitélio. Essas formações glandulares contêm glicoproteínas e ácido siálico.

ABSTRACT

MORFOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL OBSERVATIONS ON THE SALIVARY GLANDS OF THE ALLIGATOR *Caiman latirostris*.

Using histological and histochemical methods for glicoconjugates, the present work on the salivary glands of the alligator *Caiman latirostris* (Crocodilia, Reptilia), was developed. On the bases of the results obtained, the authors believe that those glands are not well developed, appearing as unicellular structures goblet-like cells, in the stratified squamous epithelium of the oral cavity. Scattered glands alveolus without excretory tubules which extend directly whit the epitelium were also present. By means of histochemical methods for glicoconjugates, it was possible to detect the glicoprotein and the sialic acid in the glandular formation of these animals.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEVELANDER, G.; JOHNSON, P.L. Localization of polysaccharides in developing teeth. *J.Dente. Res.*, v. 34, n.1, p. 123-131, 1955.
- DORIMAN, A. Polysaccharides of connective tissue. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 11, p. 2-13, 1937.
- FAHRENHOLZ, C. Drussen der Mundhule. In: *Handbuch der vergleichenden Anatomie der Wirbeltire*. Urban & Swarzenberg: Perlin. 1937. v.3, p. 115-210.
- FAVA DE MORAES, F. *Alguns dados morfológicos, associados ao estudo histoquímico dos polissacarídeos em glândulas salivares de animais pertencentes às seguintes ordens: Marsupialia, Chiroptera, Primates, Edentata, Lagomorpha, Rodentia, Carnivora e Artiodactyla (Mammalia)*. São Paulo, 1965. v. 3, p. 231-290. Tese de doutoramento - USP. FAC. ODONT.
- FIORE-DONNO, G. ; BAUME, L.J. Estude histochemique de la dentinogenese humaine. *Helv. Odont. Acta.*, v. 10, p. 141-185, 1966.
- FISHER, E.R. ; R.D. The efect of Methilation on basephilia. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 2. p. 81-87, 1954.
- JUNQUEIRA, L.C.U ; FAVA DE MORAES, F. Comparative aspects of the vertebrate major salivary glands biology. In: *Sekretion and Excretion*. Berlin: Ed. Bothermann, W./Spring Verlag. 1965. p. 36-48.

- JUNQUEIRA, L.C.U., FAVA DE MORAES, F. ; TOLEDO, A.M.S. Siliac acids in vertebrate salivary glands, saliva and pancreas. *Arch. oral Biol.*, v. 12, p. 151-157, 1967.
- LISON, L. *Histochimie et Cytochimie Animales, Principes et methods*. 3. Ed. Paris: Gauthier - Villars, 1960. 2 v.
- McMANNUS, J.F.A. Histological demonstration of mucin after periodic acid. *Nature*, v. 158. p. 202, 1946.
- McMANNUS, J.F.A. ; CASON, J.E. Carbohydrate Histochemistry studied by acetylation technique. I. Periodic acid methods. *J. Exp. Med.*, v. 91, p. 651-654, 1950.
- OPPEL, A. Lehrbuch der Vergleichenden Mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere. *Verlag Gustav Fisher*, 1900.
- QUINTARELLI, G.; TSUIKI, S.; HASHIMOTO, Y.; PIGMAN, W. Studies of sialic acid-containing mucins in bovine submaxillary and sublingual glands. *J. Histochem. Cytochem.* , v. 9, p. 176-183, 1961.
- QUINTARELLI, G. Histochemical identification of salivary mucins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, v. 106, p. 339-363, 1963.
- REESE, A.M. 1925. Biolgener I, apud FAHRENHOLZ, C., op.cit.
- ROSE, C. Uber die Nasndrusen von *Crocodylus porosus*. *Abb. (Aus dem Anat. Institut zu Freiburg I.B.) Anat. Anz. Jahrg.* v. 8, p. 745-751, 1983.
- SPICER, S.S. & LILLIE, R.D. Saponification as a means of selectively reverse reversing the methylation blockate of tissue basophilia. *J. Histochem.*, v. 7, p. 123-135, 1959.
- VIALLI, M. Tecnia per l'uso contemporaneo in istochimica dell alcian blue e della reazione de Hotchkiss. *Arch. zool. ital.*, v. 40, p. 399-407, 1955.
- SZIRMAI, J.A. Quantitative approaches in the histochemistry of mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.*, v. 11, p. 24-34, 1963.