

RODRIGO ATAÍDE DOS SANTOS

ANATOMIA, HISTOLOGIA E MORFOMETRIA DO ESTÔMAGO DO GAMBÁ
Didelphis aurita (WIED-NEUWIED, 1826)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2012

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S237a
2012

Santos, Rodrigo Ataíde dos, 1975-

Anatomia, histologia e morfometria do estômago do gambá
Didelphis aurita (Wied-Neuwied, 1826) / Rodrigo Ataíde dos
Santos. – Viçosa, MG, 2012.
viii, 42f. : il. (algumas color.) ; 29cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Cláudio César Fonseca.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Gambá. 2. Estômago - Anatomia. 3. Estômago -
Histologia. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento
de Biologia Geral. Programa de Pós-Graduação em Biologia
Celular e Estrutural. II. Título.

CDD 22. ed. 599.2

RODRIGO ATAÍDE DOS SANTOS

ANATOMIA, HISTOLOGIA E MORFOMETRIA DO ESTÔMAGO DO GAMBÁ
Didelphis aurita (WIED-NEUWIED, 1826)

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 14 de agosto de 2012.

Ita de Oliveira Silva

Laércio dos Anjos Benjamin

Cláudio César Fonseca
(Orientador)

“Seja bendito o nome de Deus para todo o sempre, porque dele é a sabedoria e a força; Ele muda os tempos e as horas; Ele remove os reis e estabelece os reis: Ele dá sabedoria aos sábios e ciência aos entendidos. Ele revela o profundo e o escondido: conhece o que está em trevas e com Ele mora a luz. Ó Deus de meus pais, eu Te louvo e celebro porque Me deste sabedoria e força.” Daniel 2:20-23

AGRADECIMENTOS

Ao Deus Eterno, que cumpre todas as suas promessas; que me abençoou grandemente na realização desse trabalho, sem eu ter feito nada para merecer. À Ele, minha eterna gratidão.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Estrutural pela oportunidade.

À CAPES, pelo suporte financeiro.

Ao meu orientador Professor, Dr. Cláudio César Fonseca, pelos ensinamentos, paciência e oportunidade concedida.

À Professora Sirlene Souza Rodrigues Sartori, pela co-orientação.

Aos Professores Ita de Oliveira Silva e Laércio dos Anjos Benjamin, por participarem da banca examinadora.

Aos Professores Sérgio Luís Pinto da Matta e Izabel Regina Santos Costa Maldonado, pelos conselhos, ajuda e carinho constante.

Aos Professores do Laboratório de Biologia Estrutural do DBG/UFV, Juliana Silva Rocha, Mariana Machado Neves, e aos “jovens” Alex e Mateus pela ajuda nos momentos difíceis.

Ao Professor José Pereira de Freitas, aposentado do Departamento de Fitotecnia/UFV, pelos esclarecimentos da terminologia adotada em latim.

Aos estudantes de mestrado e doutorado, em especial meus colegas e amigos, Átima, Daiane, Edson, Grazi, Ítalo e Rômulo, pelo companheirismo, me ajudando nos momentos mais difíceis.

Aos funcionários do DBG, em especial às secretárias Beth e Diana, pelo apoio e palavras de incentivo.

À Leililene, minha amada e companheira de cada batalha, que tem vivido os mesmos sonhos, as mesmas lutas e que tem participado das mesmas vitórias.

À minha família, minha mãe Irene e meus irmãos Alexandre, Alex e Eliane, pelas palavras de incentivo, apoio e orações constantes.

Aos meus amigos e irmãos em Cristo, que me ajudaram em várias circunstâncias, e que oraram pela realização deste sonho.

SUMÁRIO

RESUMO	v
ABSTRACT	vii
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
Referências bibliográficas	3
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Aspectos zoológicos e ecológicos do gambá	4
2.2 Aspectos anatômicos, fisiológicos e neuroendócrinos do estômago de mamíferos	5
2.3 Aspectos morfológicos e morfométricos comparativos do estômago e demais segmentos do tubo digestivo de mamíferos.....	8
Referências bibliográficas	11
3. ESTUDO ANATÔMICO, MORFOMÉTRICO, HISTOLÓGICO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES NEUROENDÓCRINOS DO ESTÔMAGO DO GAMBÁ <i>Didelphis aurita</i> (WIED-NEUWIED, 1826)	
Resumo	15
Abstract	16
Introdução	16
Material e métodos	19
Resultados e discussão	22
Referências bibliográficas	37
4. CONCLUSÕES GERAIS	40
5. APÊNDICES	41

RESUMO

SANTOS, Rodrigo Ataíde dos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, agosto de 2012. **Anatomia, histologia e morfometria do estômago do gambá *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826)**. Orientador: Cláudio César Fonseca. Coorientadora: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

O gambá é um animal que tem permitido o estudo da ontogênese de diferentes sistemas orgânicos e aspectos fisiológicos importantes, tornando-se objeto de pesquisas que buscam soluções para questões relacionadas à saúde humana. Nesse contexto, o estudo das descrições anatômicas do estômago do gambá *Didelphis aurita*, bem como suas características morfométricas, são relevantes para contribuir com informações morfofisiológicas desse órgão comparando a outras espécies animais. Tais informações podem ser significativas quando comparadas com outros mamíferos, no tocante a aspectos anatômicos e endócrinos relacionados com a histologia e estrutura das células enteroendócrinas presentes no estômago. Para este estudo foram utilizados oito gambás adultos machos capturados na região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, nos municípios de Viçosa e Ubá, dos quais foram obtidos dados anatômicos e morfométricos do estômago, além de dados dos componentes neuroendócrinos. Foram coletados fragmentos das regiões cárdica, fúndica e pilórica, e das transições esôfago-gástrica e pilórico-duodenal. Observou-se que o estômago de gambás adultos apresentou capacidade volumétrica média de $0,201 \pm 0,074$ l, representando cerca de 20% do peso corporal, dado este que apresenta uma forte correlação com mensurações anatômicas, tais como a profundidade torácica e o comprimento vértice-caudal. A descrição morfométrica do estômago do gambá *D. aurita* foi realizada enfocando as túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa. Os diferentes tipos de glândulas encontrados na lâmina própria, as diferentes profundidades de criptas e as diferentes espessuras da túnica muscular definem as regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago. As técnicas de Grimelius e de Masson-Fontana modificada foram utilizadas para identificação e quantificação de células argirófilas e argentafins, respectivamente. Neurônios do sistema nervoso autônomo organizados em gânglios submucosos e mioentéricos, formam o sistema nervoso entérico (SNE) identificado pela técnica de HE. As células argirófilas revelaram-se distribuídas em grande quantidade em todas as regiões do estômago, prevalecendo a média de $76,30 \pm 5,00$ céls./mm² na região pilórica sobre as demais regiões. As células argentafins apresentaram maior média na região cárdica ($21,00 \pm 3,71$ céls./mm²). Os gânglios

mioentéricos apresentaram-se mais numerosos em relação aos submucosos e apresentaram distribuição crescente ao longo das regiões cárdica, fúndica e pilórica. Foi observada maior média na região pilórica, em torno de $5,90 \pm 0,73$ gânglios/mm². O estudo anatômico e morfométrico do estômago do gambá *Didelphis aurita* é relevante para se conhecer a morfofisiologia desse órgão. Tais informações podem ser significativas quando comparadas às de outros mamíferos no tocante a aspectos anatômicos e endócrinos relacionados com a histologia e estrutura das células enteroendócrinas observadas ao longo do estômago.

ABSTRACT

SANTOS, Rodrigo Ataíde dos, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, August, 2012. **Anatomy, histology and morphometry of the stomach the opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826)**. Adviser: Cláudio César Fonseca. Co-adviser: Sirlene Souza Rodrigues Sartori.

The opossum is an animal that has allowed the study of the ontogeny of different organs and systems and important physiological aspects, becoming the object of researches seeking solutions to issues related to human health. In this context, the study of anatomical descriptions of the stomach of the opossum *Didelphis aurita*, as well as their morphometric characteristics, is relevant to the morphophysiological information about this organ. Such information may be significant when compared with other mammals, with respect to anatomical and endocrine aspects related to histology and structure of the enteroendocrine cells observed throughout the stomach. For this study we used eight adult opossums captured in the Zona da Mata region of Minas Gerais, in the municipalities of Viçosa and Uba which data were obtained about the anatomy and histology of the stomach, and morphometry of the neuroendocrine components. Fragments were collected from cardiac, fundic and pyloric regions, and transitions of esophageal and gastric pyloric-duodenal. It was observed that the stomach of adult opossum presented average volumetric capacity of 0.201 ± 0.074 l, representing about 20% of body weight, given that it has a strong correlation with measurements anatomy, such as chest depth and crown-rump length. The anatomical body measurements correlated with the measured organs, threads or the internal regions of the body may provide the parameters to be studied in animals, whose measurements are consistent with the desired correlation. Thus, it avoids euthanasia of animals that do not meet the morphometric requirements. The morphometric description of the stomach of the opossum *D.aurita* was performed focusing on mucous, submucous, muscle and serous tunics. The different types of glands found, as well as the different depths of the crypts and the different thickness of muscular layer define particular cardiac, fundic and pyloric stomach regions. Grimelius and modified Masson-Fontana techniques were used for identification and quantification of argyrophilic and argentafins cells, respectively. Neurons of the autonomic nervous system, organized in submucosal and myoenteric ganglia, form the enteric nervous system (ENS) identified by the HE technique. Argyrophilic cells proved to be distributed in large quantities in all regions of the stomach, prevailing average 76.30 ± 5.00 cells/mm² in the pyloric region on other regions. Argentaffin cells had a higher average in

the cardiac region, which was 21.00 ± 3.71 cells/mm². The myoenteric ganglia were more numerous in relation to increasing submucosal and were distributed throughout the cardiac, fundic and pyloric regions. Average was higher in the pyloric region, around 5.90 ± 0.73 ganglia/mm². The anatomical and morphometric study of the opossum *Didelphis aurita* stomach is relevant to know morphophysiology this organ. Such information may be significant when compared to other mammals in relation to anatomical and endocrine-related histology and structure of endocrine cells observed throughout the stomach.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O gambá-de-orelha-preta, *Didelphis aurita*, e o de orelha-branca, *D. albiventris*, são espécies de marsupiais didelfídeos extensamente distribuídas na Região Neotropical, onde existe pelo menos uma das duas espécies em cada bioma brasileiro (EMMONS e FEER, 1990).

A espécie *Didelphis aurita* faz parte da família Didelphidae e encontra-se distribuída do sul do Canadá ao nordeste da Argentina. Aquelas espécies assumidas como *Didelphis marsupialis* no sudeste do Brasil, sudeste do Paraguai e sudeste da Argentina referem-se, na verdade, ao gambá *D. aurita* (EISENBERG e REDFORD, 1999).

O gambá tem um espectro alimentar importante, pois o seu tubo digestivo é tipicamente onívoro, contendo glândulas salivares grandes, com exceção da parótida. O estômago do gambá se apresenta como um órgão dilatado do tubo digestivo, cuja principal função é a liquefação do bolo alimentar e a digestão de determinados componentes. Sua mucosa apresenta grande quantidade de glândulas fúndicas e células endócrinas gastrointestinais. Estas, junto com as células do pâncreas, contêm peptídeos específicos e aminas biogênicas que regulam a atividade digestiva (KRAUSE et al., 1985; STEVENS e HUME, 1995; FONSECA et al., 2002b).

O gambá é uma espécie que permite o estudo da ontogênese de diferentes sistemas orgânicos e aspectos fisiológicos importantes, que fazem desse animal objeto de pesquisas que buscam soluções para questões relacionadas à saúde humana (NOGUEIRA, 1989). Segundo este autor, estudos ontogenéticos são facilitados pelo curto período de gestação, podendo-se neste período observar importantes diferenças entre as regiões proximal e distal do intestino delgado. Os marsupiais do gênero *Didelphis* são utilizados com frequência como modelo no estudo das células enteroendócrinas, abordando aspectos da sua identificação, distribuição e quantificação (RIBEIRO et al., 2011) e ontogênese (KRAUSE et al., 1989; FONSECA et al. 2002a e b). Estas células, através da liberação de peptídeos, atuam regulando a secreção, absorção, motilidade e proliferação das células epiteliais intestinais (RINDI et al., 2004). Estes peptídeos podem ser liberados na corrente sanguínea e agir a distância (peptídeos endócrinos); estimular localmente células vizinhas (peptídeos parácrinos); ou ser liberados de terminações nervosas (peptídeos neurócrinos) (POLAK et al., 1993).

Células enteroendócrinas reativas para os peptídeos somastostatina, gastrina, glucagon, polipeptídeo pancreático e serotonina estão presentes na mucosa gástrica do gambá adulto *Didelphis virginiana* (KRAUSE et al., 1985).

A distribuição regional e a frequência relativa das células endócrinas gastrointestinais variam com a espécie, hábitos do animal, diferenças biológicas, fisiológicas e anatômicas, de forma que novas técnicas têm contribuído para melhor identificação dessas células (KU et al., 2004 e 2006).

Em função da possibilidade de examinar a distribuição regional e a frequência de tipos individuais de células enteroendócrinas ao longo do estômago e a sua descrição anatômica, este trabalho teve por objetivo geral descrever a anatomia do estômago do gambá *Didelphis aurita*, bem como o estudo morfométrico e histológico das túnicas da parede do estômago e a identificação de células enteroendócrinas na mucosa do estômago.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- EISENBERG, J. F.; REDFORD, H. **Mammals of neotropics - the central neotropics**. The University of Chicago Press, Chicago, 1999. 609p.
- EMMONS, L. H.; FEER, F. **Neotropical rainforest mammals a field guide**. The University of Chicago Press, Chicago. 1990. 281p.
- FONSECA, C. C.; NOGUEIRA, J. C.; BARBOSA, A. J. A. Argrophilic and Glucagon-Immunoreactive cells in the ileum and colon of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). **Cells Tissues and Organs**, v. 170, p. 20-33. 2002a.
- FONSECA, C. C.; NOGUEIRA, J. C.; BARBOSA, A. J. A. Diâmetro das ilhotas pancreáticas do gambá *Didelphis albiventris* em desenvolvimento intramarsupial. **Archives Veterinary Science**. v. 7, p. 129-134. 2002b.
- KRAUSE, W. J.; YAMADA J.; CUTTS, H. Quantitative distribution of enteroendocrine cells in the gastrointestinal tract of adult opossum, *Didelphis virginiana*. **Journal of Anatomy**, v. 140, p. 591-605, 1985.
- KRAUSE, W. J.; CUTTS III, J. H.; CUTTS, J.H.; YAMADA, J. Immunohistochemical study of the developing endocrine pancreas of the opossum (*Didelphis virginiana*). **Cells Tissues and Organs**, v.135, p. 84-96, 1989.
- KU, S. K.; LEE, H. S.; LEE, J. H. An immunohistochemical study of gastrointestinal endocrine cells in the ddy mice. **Journal of Veterinary Science**, v. 5, n. 2, p. 87-95, 2004.
- KU, S. K.; LEE, H. S.; LEE, J. H. The Regional distribution and relative frequency of gastrointestinal endocrine cells in the nude mice, Balb/c-nu/nu: An immunohistochemical study. **Anatomy Histology Embryology**, v. 35, p. 104-110, 2006.
- NOGUEIRA, J. C. Reprodução do gambá *D. albiventris*. **Ciência Hoje**, v. 9, n. 53, p. 8-9. 1989.
- POLAK, J. M.; BISHOP, A. E.; BARBOSA, A. J. A.; BLOOM, S. R.. **Hormônios gastrointestinais**. In: DANI, R.; CASTRO, P. L. Gastroenterologia Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1993. 2016p.
- RIBEIRO, G. M. F.; FONSECA, C. C. ; MATTA, S. L. P.; RODRIGUES, S. S.; NEVES, C. A. Quantification of argyrophillic, argentaffin and insulin immunoreactive cells in the small intestine in the opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). **Acta Scientiarum - Biological Sciences** (Online), v. 33, p. 479-485, 2011.
- RINDI, G.; LEITER, A. B.; KOPIN, A. S.; BORDI, C.; SOLCIA, E. The “normal” endocrine cells of the gut changing concepts and new evidences. **Anal of New York Academy of Science**, v. 1014, p.1-12, 2004.
- STEVENS, C. E.; HUME, I. D. **Comparative physiology of the vertebrate digestive system**. 2ed. New York: Cambridge. University Press. 1995. 420p.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos zoológicos e ecológicos do gambá

Os gambás pertencem à subclasse Theria, infraclasse Metatheria, ordem Marsupialia e Família Didelphidae (LUO et al., 2003). São animais que possuem hábito solitário e noturno, sendo generalistas de habitats e ocupando principalmente o solo (OLIVEIRA et al., 2010). Refugiam-se de dia nos ocós de árvores, entre as raízes ou sob monte de folhas secas (CHEREM et al., 1996). Pertencem à subclasse Theria, infraclasse Metatheria e ordem Marsupialia (LUO et al., 2003). Alimentam-se principalmente de pequenos vertebrados, invertebrados, carniça e frutos maduros (JULIEN-LAFERRIÈRE e ATRAMENTOWICZ, 1990). Segundo Culau et al. (2010), o gambá é um animal onívoro, devora pequenos roedores, aves, ovos, anfíbios, frutas e vegetais.

Encontram-se distribuídos do Sul do Canadá ao Nordeste da Argentina (LUO et al., 2003). O gambá-de-orelha-preta, *Didelphis aurita* e o gambá-de-orelha-branca, *D. albiventris* são espécies extensamente distribuídas na Região Neotropical, sendo possível observar pelo menos uma das duas espécies nos diversos biomas (EMMONS e FEER, 1990). A espécie *D. marsupialis*, ou gambá comum, distribui-se do Nordeste da Argentina e Sul do Brasil até o México, em Trinidad e Tobago e em ilhas das Pequenas Antilhas mais próximas do continente (HONACKI et al., 1982).

Samoto et al. (2006) descrevem para a espécie *Didelphis aurita* um período gestacional de aproximadamente doze dias, e os filhotes terminam seu desenvolvimento no marsúpio, período considerado de gestação externa, e que tem duração de 90 dias. Os marsupiais caracterizam-se por apresentar um curto período de gestação seguido de um longo período de desenvolvimento.

Segundo Gardner (2005), os gambás podem reproduzir-se três vezes durante o ano. Os filhotes nascem sem caracterização definida, se são “embriões ou fetos”, com cerca de nove a dez milímetros de comprimento vértice-caudal - CR (TALICE e LAGOMARSINO, 1959; NOGUEIRA, 1989; FONSECA et al., 2002a), ainda sem condições de sobreviver no meio ambiente externo. Migram sobre os pelos da região ventral da mãe até alcançarem o marsúpio, onde a relação entre mãe e filhote ocorre por justaposição íntima entre a papila mamária da mãe e o epitélio oral do filhote (COUTINHO et al., 1967). Os filhotes permanecem no marsúpio até três meses pois, durante esse crescimento ainda não são capazes de viver sozinhos.

Segundo Samoto et al. (2006), o período de vida em cativeiro é de dois a quatro anos. Esses autores consideram que tal particularidade possibilita o estudo da ontogênese de diferentes sistemas e aspectos fisiológicos importantes da espécie, que se caracteriza por possuir boa capacidade termorreguladora, pouco volume de urina devido à reduzida ingestão de água e boa adaptação a diferentes condições ambientais.

Os gambás produzem um líquido fétido através das glândulas para-anais, utilizado pelo animal como defesa e, na fase do cio, quando a fêmea costuma exalar esse odor para atrair os machos. Outra estratégia de defesa é o comportamento de fingir-se de morto ou tanatose até que o predador desista (GARDNER, 2005).

Os gambás didelfídeos vêm se destacando como modelo no estudo do sistema endócrino, devido à diferenciação simultânea do aparelho digestório e das glândulas endócrinas quando o animal se encontra ainda no período intramarsupial (KRAUSE et al., 1989; FONSECA et al., 2002b).

Essas características gerais despertaram o interesse e a curiosidade da comunidade científica sobre este animal, tornando-o objeto de estudo nas mais diversas áreas do conhecimento (CULAU et al., 2010).

2.2 Aspectos anatômicos, fisiológicos e neuroendócrinos do estômago de mamíferos

O estômago é um órgão do tubo digestivo situado na cavidade abdominal caudal ao diafragma. Caracteriza-se por ser um segmento dilatado, continuando-se a partir do esôfago e cranial ao duodeno. Similarmente ao intestino delgado, é um órgão que exerce funções exócrinas e endócrinas, digerindo o alimento e secretando hormônios. As principais funções são continuar a digestão de carboidratos iniciada na boca e adicionar um fluido ácido ao meio gástrico, permitindo a ativação da pepsina. Esta enzima e a atividade da musculatura lisa do estômago promovem a transformação do bolo alimentar em uma massa viscosa (quimo), além de promover a digestão inicial de proteínas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

O tubo digestivo do gambá é tipicamente onívoro, contendo glândulas salivares grandes, com exceção da parótida. A mucosa gástrica possui grande quantidade de glândulas fúndicas e células endócrinas gastrointestinais. Estas, juntamente com as células do pâncreas, produzem peptídeos específicos e aminas biogênicas que regulam a atividade digestiva (KRAUSE et al., 1985; STEVENS e HUME, 1995; FONSECA et al., 2002b).

O estômago do gambá é não compartimentalizado, o que é mais comumente encontrado nos mamíferos não ruminantes de estômago simples (BANKS, 1992; MARÍN, 1996; DYCE et al., 2004; BACHA JR e BACHA, 2000; EURELL e FRAPPIER, 2006). São identificadas quatro regiões: cárdia, fundo, corpo e piloro. As regiões do fundo e corpo possuem estrutura microscópica idêntica e, portanto, histologicamente, apenas três regiões são consideradas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). Da mesma maneira que em outros mamíferos, a parede do estômago do gambá é formada pelas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa (EURELL e FRAPPIER, 2006; HAM e COMARCK, 1983; BANKS, 1992; GEORGE et al., 1998; BACHA JR e BACHA, 2000).

A mucosa gástrica é revestida por um epitélio que sofre invaginações em direção à lâmina própria, formando as fossetas gástricas, das quais desemboca a secreção de glândulas tubulares ramificadas características de cada região do estômago (cárdica, fúndica e pilórica).

A superfície luminal do estômago quando observada ao microscópio em pequeno aumento, apresenta numerosas pequenas invaginações do epitélio de revestimento, circulares ou ovoides, estas são aberturas das fossetas gástricas. O epitélio que reveste a superfície do estômago e as fossetas é simples prismático, e todas as células secretam um muco alcalino (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008; GANONG, 1998).

A lâmina própria do estômago é composta por tecido conjuntivo frouxo, contendo células musculares lisas e células linfóides. Separando a mucosa da submucosa adjacente, existe uma camada de músculo liso, a muscular da mucosa. A submucosa é composta por tecido conjuntivo denso apresentando vasos sanguíneos e linfáticos. A camada muscular é formada por fibras musculares lisas orientadas em três direções principais. A camada interna é oblíqua, a média é circular e a externa é longitudinal. No piloro, a camada longitudinal encontra-se muito mais espessa para formar o esfíncter pilórico (BANKS, 1992; GEORGE et al., 1998; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008).

O cárdia é uma banda circular estreita, na transição entre o esôfago e o estômago, apresentando uma mucosa com glândulas tubulares simples ou ramificadas, denominadas glândulas cárdicas. A região fúndica apresenta uma lâmina própria preenchida por glândulas tubulares ramificadas, chamadas de glândulas fúndicas, que se abrem no fundo de cada fosseta gástrica. As glândulas possuem três regiões distintas: colo, corpo e base, sendo que a distribuição dos diferentes tipos celulares epiteliais nas glândulas gástricas não é uniforme. O colo possui células mucosas em diferenciação, que substituirão as

células da fosseta, células tronco indiferenciadas e células oxínticas (parietais). O corpo possui células tronco mucosas do colo e células parietais. A base das glândulas contém principalmente células zimogênicas.

As células parietais são arredondadas ou piramidais, com um núcleo esférico que ocupa posição central e citoplasma intensamente eosinofílico. Estas células secretam ácido clorídrico, cloreto de potássio, traços de outros eletrólitos e fator gástrico intrínseco. O íon H^+ origina-se da dissociação do H_2CO_3 (ácido carbônico) produzido pela ação da enzima anidrase carbônica, abundante nas células parietais. A atividade secretora das células parietais é estimulada por vários mecanismos, como o estímulo parassimpático (terminações nervosas colinérgicas), histamina (mediador parácrino secretado por células enterocromafin-like - ECL e por um hormônio polipeptídico denominado gastrina, secretado pelas células G (GANONG, 1998; KIERSZENBAUM, 2004).

As células zimogênicas possuem características de células que sintetizam e exportam proteínas. Sua basofilia deve-se ao retículo endoplasmático rugoso abundante. Os grânulos em seu citoplasma contêm a enzima inativa pepsinogênio, que é convertida na enzima pepsina após ser secretada no ambiente ácido do lúmen gástrico (BANKS, 1992).

Células enteroendócrinas estão distribuídas pelo colo e base das glândulas (BANKS, 1992; GEORGE et al., 1998; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). São encontradas, principalmente, próximo à base das glândulas gástricas. No fundo do estômago, 5-hidroxitriptamina (serotonina) é um dos principais produtos de secreção, secretado por células enterocromafins (ECL). Outras células enteroendócrinas (células D) secretam somatostatina, que inibe a liberação de alguns outros hormônios, inclusive de gastrina, secretada pelas células G (BANKS, 1992; GEORGE et al., 1998; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008)

Furnes (2000) relata que, além do controle endócrino das funções gastrointestinais realizado pelas células enteroendócrinas, existe também um controle neural, exercido por células nervosas na parede do tubo digestivo, pâncreas e sistema biliar, constituindo o sistema nervoso entérico. Este sistema contém dois plexos ganglionares no intestino, o plexo mioentérico e o plexo submucoso, onde reside a maioria das células nervosas intrínsecas. O plexo mioentérico, conhecido como plexo de Auerbach, está localizado entre a camada muscular circular interna e a longitudinal externa; e o plexo submucoso, ou de Meissner, localiza-se no tecido conjuntivo da camada submucosa.

Há uma integração entre os sistemas nervoso e endócrino que controlam os movimentos do tubo digestivo, a secreção de suas glândulas e, indiretamente, participam dos processos de digestão e absorção de nutrientes (RODRIGUES et al., 2005).

As células endócrinas são argirófilas ou argentafins, com exceção das células imunorreativas à insulina, colecistocinina e somatostatina, que não são marcadas pelos sais de prata (POLAK et al., 1993). Segundo Rodrigues et al. (2005) e Basile et al. (2012), as células endócrinas distribuídas por toda extensão do tubo digestivo localizam-se no epitélio de revestimento da mucosa e no epitélio glandular, intercaladas com as células exócrinas, apresentando morfologia variada, apesar da grande maioria apresentar conformação ovalada. Há ocorrência de dois tipos celulares, sendo que em um tipo as células alcançam a superfície luminal, consideradas do tipo aberto, e outras, sem continuidade com o lúmen, são do tipo fechado. Conforme Santos e Zucoloto (1996), as células do tipo fechado respondem à distensão ou estimulação humoral, enquanto que as do tipo aberto respondem a pequenas alterações do pH ou da composição do conteúdo luminal do intestino.

2.3 Aspectos morfológicos e morfométricos comparativos do estômago e demais segmentos do tubo digestivo de mamíferos

Os estudos de Carvalho et al. (2011) mostram que o estômago dos ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) é curto em relação ao segmento intestinal. O cárdia, região que garante a entrada do estômago, e o piloro, esfíncter localizado na saída, localizam-se próximos devido ao formato do órgão.

Segundo Acuna et al. (2011), a estrutura do estômago da capivara assemelha-se à de outros mamíferos. A região pilórica que compõe o estômago da capivara *H. hydrochaeris* assemelha-se em geral à das outras espécies de mamíferos, não apresentando diferenças expressivas (BANKS, 1992; MARÍN, 1996; GEORGE et al., 1998). O epitélio simples prismático, secretor de muco que reveste a região pilórica do estômago de *H. hydrochaeris*, é similar ao epitélio de revestimento que cobre a mucosa gástrica nos outros mamíferos, bem como a constituição e distribuição celular dos diferentes tipos glandulares da mucosa (BANKS, 1992; GEORGE et al., 1998; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008; BACHA JR e BACHA, 2000). A constituição da lâmina própria do estômago do *H. hydrochaeris* é semelhante à de outras espécies de mamíferos. A camada muscular da mucosa da região pilórica do estômago da capivara *H.*

hydrochaeris assemelha-se à dos demais mamíferos de estômago simples e à do abomasso nos ruminantes (EURELL e FRAPPIER, 2006).

Velásquez et al. (2002) afirmam que a túnica submucosa do estômago da capivara *H. hydrochaeris* é semelhante à dos mamíferos domésticos – cavalo, cão, gato, porco, bovinos – e à dos demais roedores, tanto pelo tipo de tecido conjuntivo que a compõe, quanto pela ausência de glândulas (ANDREW E HICKMAN, 1974; BANKS, 1992; GEORGE et al., 1998; EURELL e FRAPPIER, 2006).

A túnica muscular, constituída por duas camadas de músculo liso, a circular interna e a longitudinal externa, difere daquela encontrada no mesmo órgão de outros mamíferos monogástricos, por apresentar uma terceira camada, a oblíqua interna. As características da túnica serosa de *H. hydrochaeris* não apresentam diferenças marcantes em relação à de outros animais.

Porém, comparativamente, a morfologia dos intestinos e a distribuição de células enteroendócrinas podem variar em diferentes espécies de animais. O gambá *D. aurita* possui particular importância na evolução dos mamíferos, por representar um elo de transição entre os Prototheria e os Eutheria, podendo ser utilizado como bom modelo para estudos comparativos entre as células enteroendócrinas e a morfologia do tubo digestivo (PORTELA-GOMES et al., 1984). Entretanto, poucos são os trabalhos que abordam aspectos morfológicos do tubo digestivo de marsupiais (BARBOSA et al., 1987; TAKAGI et al., 1990; FONSECA et al., 1998; FONSECA et al., 2002a; CHRISTENSEN, 2003; RIBEIRO et al., 2011; BASILE et al., 2012).

Basile et al. (2012) afirmam que as vilosidades intestinais do gambá *D. aurita* apresentam três formas principais, com alargamento do ápice ou da base, ou com espessura regular em toda sua extensão. Glândulas tubulares simples encontram-se dispostas na base da mucosa, que é caracterizada por um tecido epitelial simples prismático, composto por células absortivas, mucossecretoras, enteroendócrinas e indiferenciadas. A lâmina própria e a submucosa são formadas por tecido conjuntivo frouxo e grande quantidade de vasos sanguíneos e núcleos celulares típicos de linfócitos. A camada muscular da mucosa apresenta-se delgada, limitando a mucosa e a submucosa; a túnica muscular é formada por uma camada muscular lisa interna, disposta circularmente, e por uma camada muscular lisa externa, disposta longitudinalmente.

Basile et al. (2012) e Ribeiro et al. (2011) consideram que a camada muscular circular do jejuno do gambá *D. aurita* apresenta-se mais espessa que a do íleo,

provavelmente devido às diferenças dos padrões de contração durante o peristaltismo da região do intestino delgado.

Segundo Ribeiro et al. (2011), a mucosa do intestino delgado do gambá *D.aurita* é constituída por vilosidades geralmente digitiformes, glândulas intestinais e muscular da mucosa. A camada submucosa formada por tecido conjuntivo frouxo apresenta um grande número de neurônios, assim como a camada muscular. Esta é formada por duas camadas de músculo liso, uma circular interna e outra longitudinal externa. As células mais frequentes da túnica mucosa são os enterócitos, as células caliciformes e as células endócrinas. Os enterócitos apresentam uma condensação na região apical em função da borda estriada; as células caliciformes apresentam citoplasma em imagem negativa e núcleo intensamente basófilo quando coradas com hematoxilina-eosina, as células endócrinas argirófilas apresentam citoplasma corado em negro pela técnica de Grimelius e as células argentafins apresentam citoplasma corado em marrom escuro pela técnica de Masson Fontana modificada (RIBEIRO, et al.,2011).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUNA, F. A.; RESOAGLI, E. H.; ORTIZ, M. I. **Aspectos morfológicos e morfométricos do estômago da capivara, *H. hydrochaeris* (Linne, 1766)**. Facultad de Cs. Veterinarias: UNNE, p.1-3, 2011.
- ANDREW, W.; HICKMAN, C. P. **Histology of the vertebrates**. Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1974. 439p.
- BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. 2ed. São Paulo: Manole, 1992. 629p.
- BACHA, JR., W. J.; BACHA, L. M. **Color atlas of veterinary histology**. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2000. 318p.
- BARBOSA, A. J. A.; CASTRO, L. P. F.; NOGUEIRA, A. M. F. A simple and economical modification of the Masson-Fontana method of staining melanin granules and enterochromaphin cells. **Stain Technology**, v. 59, p.193-196, 1984.
- BARBOSA, A. J. A.; NOGUEIRA, J. C.; PENNA, F. J.; POLAK, J. M. Distribution of enteroglucagon-and polypeptide YY-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of the white-belly opossum (*Didelphis albiventris*). **Journal of Histochemistry**, v. 88, p.37-40, 1987.
- BASILE, D. R. S.; NOVAES, R. D.; MARQUES, D. C. S.; FIALHO, M. C. Q.; NEVES, C. A.; FONSECA, C. C. Analysis of the morphology and distribution of argentaffin, argyrophil and insulin-immunoreactive endocrine cells in the small intestine of the adult opossum *Didelphis aurita* (Wied-neuwied, 1826). **Tissue & Cell**, 2012. (No prelo)
- CARVALHO, C. A.; KENNER, M. F.; MATTA, S. L. P.; FONSECA, C. C.; PINTO, R.; OLIVEIRA, L. L. Aspectos macroscópicos e histológicos da mucosa gástrica de ratos Wistar e sua utilização em modelo de úlceras gástricas. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, n. 1, p. 44 – 53, 2011.
- CHEREM, J. J.; GRAIPEL, M. E.; MENEZES, M. E.; SOLDATELI, M. Observações sobre a biologia do gambá (*Didelphis marsupialis*) na ilha de Ratones Grande, Estado de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 9, n. 2., P. 47-56, 1996.
- CHRISTENSEN, J. The forms of argyrophilic ganglion cells in the myenteric plexus throughout the gastrointestinal tract of the opossum. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 24, n. 3, p. 251-260, 2003.
- COUTINHO, H. B.; BURITY, L. G.; JALES, B.F.; MOREIRA, A. The attachment between the maternal nipple and the foetuses of *Didelphis paraguayensis*. **Archives of Oral Biology**. v.12, n.2, p.175–182, 1967.
- CULAU, P. O. V.; RECKZIEGEL, S. H.; GOLTZ, L. V., ARAÚJO, A. C. P. A artéria celíaca em *Didelphis albiventris* (gambá). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.38, p. 121-125, 2010.

- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 813p.
- EMMONS, L. H.; FEER, F. **Neotropical rainforest mammals a field guide**. The University of Chicago Press, Chicago. 1990. 281p.
- EURELL, J. A.; FRAPPIER, B. C. **Dellmann's text book of Veterinary histology**. 6ed. Blackwell Publishing;Iwoa, 2006. 405p.
- FONSECA, C. C.; NOGUEIRA, J. C.; BARBOSA, A. J. A. Ultrastructural pattern of glucagon producing-cells in the gastric mucosa of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). **Annals of Anatomy**, v.180, p. 477-480, 1998.
- FONSECA, C. C.; NOGUEIRA, J. C.; BARBOSA, A. J. A. Argyrophilic and Glucagon-Immunoreactive cells in the ileum and colon of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). **Cells Tissues and Organs**, v. 170, n. 20-33, 2002a.
- FONSECA, C. C.; NOGUEIRA, J. C.; BARBOSA, A. J. A. Diâmetro das ilhotas pancreáticas do gambá *Didelphis albiventris* em desenvolvimento intramarsupial. **Archives Veterinary Science**. v. 7, p. 129-134, 2002b.
- FURNESS, J. B. Types of neurons in the enteric nervous system. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 81, p. 87-96, 2000.
- GANONG, W. F. **Fisiologia médica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 623p.
- GARDNER, A. L. **Order Didelphimorphia**. In: WILSON, D. E.; REEDER, D. M. *Mammal Species of the World: a taxonomic and geographic reference*. 3 ed. Baltimore: John Hopkins University Press, p. 3 – 18, 2005.
- GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. **Histologia Comparada**. 2ed. São Paulo: Roca, 1998. 286p.
- HAM, A. W.; CORMACK, D. H. **Histologia**. 8ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1983. 570p.
- HONACKI, J. H.; KINMAN, K. E.; KOEPL, J. W. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference**. Allen Press: Lawrence Kansas, 1982. 694p.
- JULIEN-LAFERRIÈRE, D.; ATRAMENTOWICZ, M. Feeding and reproduction of three *didelphid marsupials* in two Neotropical Forests (French Guiana). **Biotropica**, v. 22, n. 4, p. 404 – 415, 1990.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 540p.
- KIERSZENBAUM, A. L. **Histologia e Biologia Celular: uma introdução à patologia**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2004. 696p.

KRAUSE, W. J.; YAMADA J.; CUTTS, H. Quantitative distribution of enteroendocrine cells in the gastrointestinal tract of adult opossum, *Didelphis virginiana*. **Journal of Anatomy**, v. 140, p. 591-605, 1985.

KRAUSE, W. J.; CUTTS, J. H.; YAMADA, J. Immunohistochemical study of the developing endocrine pancreas of the opossum (*Didelphis virginiana*). **Cells Tissues Organs**, v.135, p. 84-96, 1989.

LUO, Z. X.; JI, Q.; WIBLE, J. R.; YUAN, C. An early cretaceous tribosphenic mammal and metatherian evolution. **Science**, v. 302, p. 1934 – 1940, 2003.

MARIN, L. J. G. Secreción gástrica. In: SACRISTÁN, A. G.et al.(Orgs). **Fisiología Veterinária**. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana, p. 554 – 563, 1996.

NOGUEIRA, J. C. Reprodução do gambá *D. albiventris*. **Ciência Hoje**, v. 9, n. 53, p. 8-9. 1989.

OLIVEIRA, M. L.; FERREIRA, R. M.; GOMES, M. P.; ILHA, D. S.; LORENZON, C.S.; DUARTE, M.B. Estudo populacional de gambás, *Didelphis albiventris* (Mammalia, Didelphidae), em um pequeno fragmento florestal. **Mastozoología Neotropical**. v.17, n.1. p. 161-165, Mendoza, 2010. Disponível em < <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed> > Acesso em: 10 nov. 2011.

PORTELA-GOMES, G. M.; GRIMELIUS, L.; PETERSON, R.; BERGSTROM, R. Enterochromaffin cells in the rat gastrointestinal tract. Aspects of factors influencing quantification. **Upsala Journal of Medical Science**, v.89, n. 3, p. 189-203, 1984.

POLAK, J. M.; BISHOP, A. E.; BARBOSA, A. J. A.; BLOOM, S. R.. **Hormônios gastrointestinais**. In: DANI, R.; CASTRO, P. L. Gastroenterologia Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. 2016p.

RIBEIRO, G. M. F.; FONSECA, C. C. ; MATTA, S. L. P.; RODRIGUES, S. S.; NEVES, C. A. Quantification of argyrophillic, argentaffin and insulin immunoreactive cells in the small intestine in the opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). **Acta Scientiarum Biological Sciences** (Online), v. 33, p. 479-485, 2011.

RODRIGUES, S. S.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D. Células endócrinas do sistema gastroenteropancreático: conceitos, distribuição, secreções, ação e controle. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia**, Unipar, v. 8, p. 171-180, 2005.

SAMOTO, V. Y.; MIGLINO, M. A.; AMBROSIO, C. E.; PEREIRA, F. T. V.; LIMA, M. C.; CARVALHO, A. F. Opossum (*Didelphis* sp) mammary gland morphology associated to the marsupial model. **Biota Neotropica**, v. 6, n. 2, 2006.

SANTOS, G. C.; ZUCOLOTO, S. Células endócrinas gastrointestinais: breve histórico e principais métodos de identificação à microscopia óptica. **Arquivo de Gastroenterologia**, v. 33, n.1. p. 36 – 44, 1996.

STEVENS, C. E.; HUME, I. D. Contributions of microbes in vertebrate gastrointestinal tract to production and conservation of nutrients. **Physical Review**, v.78, p. 393 – 427, 1995.

TALICE, R. V.; LAGOMARSINO, J. C. Comportamiento sexual e nacimientos en cautividad de la "comadreja overa": *Didelphis azarae*. In: Congresso Sudamericano de Zoologia, **Anais**, v.5, n.6, p 81-96. 1959.

TAKAGI, C.; YAMADA, J.; KRAUSE, W. J.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. An immunohistochemical study of endocrine cells in the proximal duodenum of eight marsupial species. **Journal of Anatomy**, v. 168, p.49-56, 1990.

VELÁSQUEZ, J. C. C.; FONSECA, C. C.; MENIM, E.; PAULA, T. A. R. Estudo histológico e histoquímico da região pilórica do estômago da capivara *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Biotemas**, v.15, p. 83-95, 2002.

3. ESTUDO ANATÔMICO, MORFOMÉTRICO, HISTOLÓGICO E IDENTIFICAÇÃO DOS COMPONENTES NEUROENDÓCRINOS DO ESTÔMAGO DO GAMBÁ *Didelphis aurita* (WIED-NEUWIED, 1826)

RESUMO

O estômago do gambá *D. aurita*, bem como de outros mamíferos, é um órgão que possui funções exócrinas e endócrinas, digerindo o alimento e secretando hormônios. Foram utilizados oito gambás da espécie *Didelphis aurita* adultos e machos capturados na região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, nos municípios de Viçosa e Ubá. Parâmetros como peso corporal, comprimento vértice-caudal (CR), profundidade torácica (PTO) e mensurações do estômago foram obtidos. Os gambás apresentaram peso médio de 1048,17 kg, comprimento CR médio de 64,93 cm, perímetro torácico médio de 22,81 cm e profundidade torácica média de 11,47 cm. A capacidade volumétrica média do estômago foi de 0,201 l, apresentando uma leve concavidade cranial, assumindo a conformação de um C. Histologicamente, a parede do estômago do gambá *D. aurita* apresentou-se constituída pelas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa. Diferentes tipos de glândulas foram encontrados na lâmina própria, permitindo diferenciar as regiões cárdica, fúndica e pilórica. Células argirófilas e argentafins possuem a capacidade de reter e reduzir sais de prata, características presentes em células endócrinas. As técnicas de Grimelius e de Masson-Fontana modificada foram utilizadas para identificação e quantificação de células argirófilas e argentafins, respectivamente. Neurônios do sistema nervoso autônomo, organizados dentro dos gânglios submucosos e mioentéricos, formam o sistema nervoso entérico (SNE) e foram identificados pela técnica de HE. Os gânglios submucosos foram menos numerosos que os gânglios mioentéricos, sendo que a maior média foi de 2,60 gânglios submucosos/mm² na região fúndica. Os gânglios mioentéricos apresentaram-se mais numerosos, numa distribuição crescente ao longo das regiões cárdica, fúndica e pilórica. As células argirófilas revelaram-se distribuídas em grande quantidade em todas as regiões do estômago, prevalecendo a média de 76,32 céls./mm² na região pilórica sobre as demais regiões. As células argentafins apresentaram maior média na região cárdica, que foi de 21,0 céls/mm².

Palavras-chave: estômago, anatomia, histologia, células argirófilas, células argentafins, gambá.

ABSTRACT

The stomach of the opossum *D.aurita*, is an organ with exocrine and endocrine functions, digesting food and secreting hormones. This study used eight opossums *Didelphis aurita*, adults and males, captured in a small region of forest, located in the Museum of Zoology John Moojen - Villa Gianetti, UFV, Viçosa, Minas Gerais, and in the rural municipality of Uba, Minas Gerais. Parameters such as body weight, crown-rump length, thoracic depth and measurements of the stomach were estimated. Opossums showed average weight of 1048.17 kg, average length of 64.93cm and average depth of 11.47 cm chest. The volume of the stomach was average 0.201 l, presenting a slight cranial concavity, assuming a C form and somewhat bulky. Histologically, the stomach wall of the opossum *D. aurita* consists of mucous, submucous, muscle and different types of glands wich allows to differentiate between cardiac, fundic and pyloric regions. Argentafins argyrophil cells and have the capacity to retain and reduce silver salts, features found in endocrine cells. The techniques of Grimelius and Masson-Fontana modified were used for identification and quantitation of cells and argyrophil argentafins respectively. Neurons of the autonomic nervous system, organized within the submucosal and myenteric ganglia form the enteric nervous system (ENS) and were identified by the technique of HE. The submucosal glands were less numerous than the myenteric ganglia, with the highest average was 2.60 submucosal glands / mm² in the fundus. The myenteric ganglia were more numerous, a growing distribution across regions cardiac, fundic and pyloric. Argyrophil cells proved to be distributed in large quantities in all regions of the stomach, the prevailing average of 76.32 cels./mm² in the pyloric region on other regions. Argentafins cells showed higher average in the region trophy, which was 21.0 cells/ mm².

Keywords: stomach, anatomy, histology, argyrophilic cells, argentafins cells, opossum.

INTRODUÇÃO

O gambá *Didelphis aurita* é um mamífero da fauna silvestre que tem hábitos noctívagos, é nômade e tem proles numerosas. Pertencente ao gênero *Didelphis*, ordem

Polyprotodontes e subfamília Marsupialis, habitando todo o Brasil e alguns países sul-americanos (EMMONS e FEER, 1990).

No habitat silvestre, essa espécie é encontrada com frequência no solo, sendo considerada semiterrestre. Quando jovem, escala cipós e outros suportes como estratégia de fuga para o sub-bosque e florestas. Seus ninhos são feitos, em geral, em buracos no solo, em emaranhados de cipós nas copas das árvores e em ocos de troncos (DELICIELLOS et al., 2006). Quando adultos, os animais são ocasionalmente arborícolas, solitários, com hábitos noturnos e bastante nômades, sendo que os machos percorrem caminhos maiores, quando comparados às fêmeas (PORTUGAL et al., 2009).

Entre os mamíferos, há uma diversidade na forma e na estrutura dos segmentos que compõem o aparelho digestório. Essa diversidade é principalmente adaptativa e reflete a alimentação habitual dos vários grupos. A dieta concentrada de carnívoros é digerida com mais facilidade e estes animais possuem um estômago pequeno e simples (GETTY, 1986).

Nos onívoros, como os gambás, o estômago apresenta-se como um saco de paredes espessas e com glândulas produtoras de ácido clorídrico e enzimas. Getty (1986) e Dyce et al. (2010) descrevem que em animais domésticos como cão e gato, o estômago é constituído de duas partes distintas, que convergem e se unem em um ângulo ventral. Esse padrão é comum à maioria dos mamíferos (carnívoros e onívoros). A parte mais ampla chamada de cárdia ou região cárdica, fica principalmente à esquerda do plano sagital mediano, sob proteção das costelas e em contato direto com o fígado e o diafragma. Essa porção, é aquela na qual o esôfago se abre. Segundo Dyce et al. (2010), a segunda parte passa para a direita do plano sagital mediano e continua com o duodeno através do piloro, correspondendo à região pilórica. A face cranial de ambas as partes fica essencialmente em contato com o fígado, enquanto a superfície caudal está em contato com a massa intestinal, rim esquerdo, pâncreas e omento maior. A porção de maior curvatura do estômago, que se abre entre as regiões cárdica e a pilórica, denomina-se região fúndica.

A parede do estômago é formada por quatro camadas ou túnicas distintas denominadas mucosa, submucosa, muscular e serosa (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008). A túnica mucosa é composta por um revestimento epitelial que sofre invaginações, formando as fossetas ou criptas gástricas, por uma lâmina própria de tecido conjuntivo frouxo, contendo glândulas, e pela muscular da mucosa (VELÁSQUEZ et al., 2002; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008; ANDREW e HICKMAN, 1974).

Correspondendo à divisão anatômica, Carvalho et al. (2011) propõe que a mucosa gástrica pode ser dividida em regiões com diferentes tipos celulares: cárdica, fúndica e pilórica. Andrew e Hickman (1974) observaram que a região cárdica está localizada ao redor da abertura gástrica do esôfago, acreditando-se que ela seja responsável pela produção de bicarbonato e muco protetor. A região fúndica que ocupa a parte dorsal do estômago é constituída em sua maior parte de mucosa glandular, apresentando glândulas tubulares ramificadas. A região pilórica, que se estende da região fúndica até o piloro (esfíncter presente entre o estômago e o intestino delgado), possui células secretoras de muco que agem como uma barreira alcalina, tamponando o pH ácido do suco gástrico.

A túnica submucosa, composta por tecido conjuntivo, é rica em vasos sanguíneos e linfáticos. A túnica muscular é formada por uma camada circular interna e uma longitudinal externa. A serosa é uma camada de tecido conjuntivo frouxo, revestida por um epitélio simples pavimentoso denominado mesotélio (CARVALHO et al., 2011).

O estômago do gambá *D. aurita*, como o da maioria dos mamíferos, é um órgão que possui funções exócrinas e endócrinas, digerindo o alimento e secretando hormônios, despertando o interesse pelo estudo anatômico, morfométrico e histológico (DYCE et al., 2010).

Marsupiais do gênero *Didelphis* têm sido utilizados com frequência como modelo no estudo das células enteroendócrinas, visando sua identificação, distribuição e quantificação (KRAUSE et al., 1985; BARBOSA et al., 1987; TAKAGI et al., 1990). Esse gênero vem se destacando como modelo devido à diferenciação simultânea do aparelho digestório e das glândulas endócrinas, quando o animal ainda se encontra em período intramarsupial (KRAUSE et al., 1989; FONSECA et al., 2002).

As células endócrinas distribuídas ao longo do tubo digestivo podem ser classificadas em argirófilas e argentafins pela sua capacidade de reter e reduzir sais de prata, de acordo com o hormônio produzido (insulina, secretina, somatostatina) ou ainda com base nas características e conteúdo de seus grânulos secretores (RIBEIRO et al., 2011).

Segundo Basile et al. (2012) e Rodrigues et al. (2005), as células endócrinas distribuídas por toda extensão do tubo digestivo localizam-se no epitélio de revestimento da mucosa e no epitélio glandular, intercaladas com as células exócrinas. Apresentam morfologia variada, apesar da grande maioria ter conformação ovalada.

Essas células liberam peptídeos que atuam regulando a secreção, absorção, motilidade e proliferação das células epiteliais intestinais (RINDI et al., 2004). Peptídeos,

como fatores de crescimento, citocinas e neuropeptídeos, agem como mensageiros químicos que, juntamente com os hormônios secretados pelas células endócrinas, controlam as funções do aparelho digestório (RAYBOLD, 1998; REHFELD, 1998). Segundo Polak et al. (1993), os peptídeos que agem na fisiologia do aparelho digestório podem ser liberados na corrente sanguínea e agir a distância (peptídeos hormonais), ou ainda estimular localmente células vizinhas. Essa última atividade é realizada por peptídeos parácrinos (peptídeos parácrinos). Peptídeos chamados de neurócrinos são liberados de terminações nervosas.

De acordo com Furness (2000), o controle neural das funções gastrointestinais é exercido por células nervosas presentes na parede do tubo digestivo, pâncreas e sistema biliar, constituindo o sistema nervoso entérico. Conforme descrito por Furness (2000), esse sistema contém dois plexos ganglionares que se estendem por todo o tubo digestivo, os plexos mioentérico e submucoso. O plexo mioentérico, conhecido como plexo de Auerbach, está localizado entre a camada muscular circular interna e a longitudinal externa. O plexo submucoso, ou de Meissner, localiza-se no tecido conjuntivo da túnica submucosa. Neurônios do sistema nervoso autônomo organizados nos gânglios submucosos e mioentéricos, formam o sistema nervoso entérico (SNE), que regula a maioria das funções gastrointestinais (GUYTON e HALL, 1997). Os sistemas nervoso e endócrino exercem o controle de forma integrada sobre os movimentos intestinais e secreção de suas glândulas, e participam dos processos de digestão e absorção de nutrientes (RODRIGUES et al., 2005).

MATERIAL E MÉTODOS

Para o estudo morfológico, morfométrico e dos componentes neuroendócrinos, foram utilizados oito gambás da espécie *Didelphis aurita* adultos e machos capturados na região da Zona da Mata do Estado de Minas Gerais, nos municípios de Viçosa e Ubá, com autorização do Ibama (licença número 31340-1). Os procedimentos experimentais envolvendo os animais seguiram as determinações do Comitê de Ética no Uso de Animais/UFV, sendo aprovados sob o protocolo nº 104/2011.

Armadilhas do tipo gancho com 75x31x31cm iscadas com banana e óleo de fígado de bacalhau foram utilizadas para a captura dos animais. Após serem capturados, ainda no interior da armadilha, os animais foram anestesiados com anestésico geral tiopental

sódico a 30mg/ml, na dose de 60mg/kg, por via intraperitoneal. Depois que os animais foram retirados da gaiola, os animais foram mensurados com fita métrica milimetrada, sendo obtido comprimento crown-rump ou vértice-caudal (CR) compreendido entre a porção mais dorsal da crista occipital até a base da cauda (NODEN e LAHUNTA, 1985).

Foram obtidos, ainda, o perímetro torácico (PT), por mensuração do diâmetro do tórax em posição caudal aos membros torácicos, e a profundidade torácica (PTO), correspondente à distância entre a parte mais dorsal da coluna vertebral torácica e o apêndice xifoide. Tais mensurações foram obtidas com fita métrica.

A utilização de animais em experimentação tem sido combatida frequentemente, e os pesquisadores têm buscado métodos alternativos para substituir o uso de animais experimentais. Na impossibilidade de substituir os animais, é preconizado pela legislação vigente (Lei nº11.794/2008) que o número de animais utilizados deva se ater ao mínimo estatisticamente definido. Essa lei, mediante o decreto nº 6.899/2009, estabelece atualmente procedimentos para o uso científico de animais, principalmente no tocante ao número de animais experimentais. Com o intuito de se trabalhar experimentalmente com menor número de animais, as mensurações anatômicas corporais indicarão parâmetros pré-estabelecidos referentes aos órgãos, segmentos ou outros parâmetros internos do corpo dos animais, evitando-se a eutanásia daqueles animais cujas mensurações não atendam aos parâmetros a serem pesquisados.

A cavidade abdominal foi aberta na sua linha alba, e o estômago foi identificado e delimitado por amarraduras com barbantes.

A eutanásia foi realizada com o animal ainda anestesiado, mediante administração intracardíaca de cloreto de potássio a 0,25%, em função do peso corporal. O estômago foi retirado e colocado sobre uma placa de petri, possibilitando a mensuração do comprimento de suas dimensões: curvatura maior (cma), curvatura menor (cme), maior diâmetro (D) e menor diâmetro (d), utilizando-se de barbante e paquímetro para determinação de tais mensurações. Estas medidas foram utilizadas para o cálculo da capacidade volumétrica do estômago.

Para o cálculo da capacidade volumétrica do estômago foi utilizada a equação matemática que determina o volume de um elipsoide de revolução (BELTRÃO et al., 2001). Os valores obtidos das mensurações do diâmetro maior (D) e do diâmetro menor (d) foram aplicados na seguinte fórmula:

$$V = 4 \pi ab^2 / 3$$

sendo a, o diâmetro maior (D); b, o diâmetro menor (d); e π , fixado na aproximação de 3,14.

Os registros de imagens foram obtidos antes e depois da retirada do estômago do corpo do animal. Foi utilizada câmera fotográfica digital SONY S730, tomando-se cuidado para preservar a integridade anatômica e topográfica *in situ* de seus constituintes.

Para o estudo histológico e dos componentes neuroendócrinos, em um intervalo de tempo máximo de quinze minutos, foram coletados dois fragmentos de 1cm² da região cárdica, dois fragmentos da região fúndica, dois fragmentos da região pilórica, um fragmento da transição esôfago-gástrica e um fragmento da transição pilórico-duodenal, os quais foram fixados por 24h em formol a 10% tamponado.

Após a fixação, os fragmentos foram desidratados em série de concentrações crescentes de álcool etílico (70, 80, 95 e 100%), diafanizados em xilol (dois banhos), incluídos em parafina e seccionados na espessura de 5 μ m em micrótomo rotativo manual (modelo Leica, RM 2155). Os cortes foram submetidos às técnicas de hematoxilina-eosina (BANCROFT e STEVENS, 1996) , para quantificação dos gânglios submucosos e mioentéricos, Grimelius (GRIMELIUS, 1968) , para quantificação de células argirófilas e Masson-Fontana modificada (BARBOSA et al., 1984), para quantificação de células argentafins. O processamento foi realizado no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral / UFV.

A documentação dos cortes histológicos foi realizada no Departamento de Veterinária da UFV, em fotomicroscópio binocular Olympus CX31 acoplado à câmera Olympus SC-20.

As descrições histológica e morfométrica das regiões do estômago foram realizadas com o auxílio do programa Image Pro-Plus 4.0 (Media Cybernetics, 2007). As mensurações foram feitas em dez campos aleatórios de cada região.

Para a análise de correlação entre a espessura das camadas mucosa, submucosa e muscular das regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago, bem como a correlação de dados biométricos com as mensurações do estômago, foi empregado o teste de correlação de Pearson ($p < 0,05$).

Para a quantificação dos gânglios nervosos submucosos e mioentéricos, utilizou-se microscópio de luz Olympus CX31 em aumento de 100x (ocular de 10x e objetiva de 10X), em campos de 880 μ m de extensão mensurados com régua ocular micrométrica, registrando-se a quantidade de gânglios para cada unidade de área de túnica submucosa e túnica muscular. A unidade de área analisada foi de 0,44 mm².

As áreas das túnicas submucosa e muscular foram obtidas a partir da sua espessura média multiplicada pela extensão da régua micrométrica. Foram pesquisados dez campos aleatórios da túnica submucosa e da túnica muscular das regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago.

As células argirófilas e argentafins foram quantificadas em dez campos aleatórios da mucosa, das diferentes regiões do estômago, utilizando microscópio de luz da marca Olympus CX31, (ocular de 10x e objetiva de 40X). A área da túnica mucosa foi determinada a partir do cálculo para obtenção do diâmetro do campo visual, pela relação entre ocular e objetiva, permitindo a determinação do raio do campo, conseqüentemente, o cálculo da área em mm². A unidade de área analisada foi de 0,13 mm². Os cortes histológicos foram documentados em fotomicroscópio binocular Olympus CX31 acoplado à câmera Olympus SC-20 do Departamento de Veterinária/UFV.

Os dados obtidos foram organizados em planilha eletrônica (EXCEL 2007). Para o cálculo da média, desvio padrão, variância e análise de variância, utilizou-se o programa estatístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Foram realizadas análises de correlação de Pearson para verificar possíveis correlações entre o número de células endócrinas e a morfometria das camadas das diferentes regiões do estômago, e entre o número de gânglios nervosos submucosos e mioentéricos e a morfometria das camadas submucosas e musculares respectivamente ($p < 0,05$).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais apresentaram peso corporal médio de $1.048,17 \pm 262,67$ g, comprimento CR médio de $64,93 \pm 14,84$ cm, profundidade torácica média de $11,47 \pm 0,76$ cm e perímetro torácico médio de $22,81 \pm 1,55$ cm (Tabela 1).

As características anatômicas do estômago do gambá *D. aurita* revelaram que ele está localizado na cavidade abdominal, posiciona-se na porção esquerda caudalmente ao fígado, e apresenta-se como uma porção dilatada do aparelho digestório, interposto entre o esôfago e o intestino delgado (Figuras 1 e 2). Esse órgão apresenta uma leve concavidade cranial, assumindo a conformação de um C.

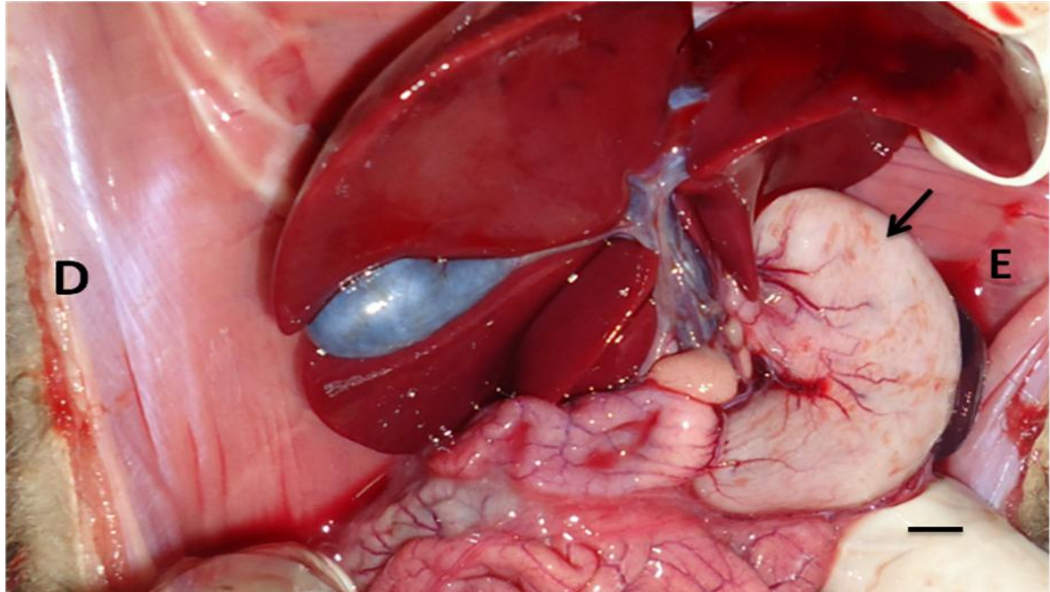


Figura 1: Aspecto ventrodorsal da cavidade abdominal de *Didelphis aurita* mostrando a localização do estômago (seta). **D**-antímero direito, **E**-antímero esquerdo. Barra: 1 cm.

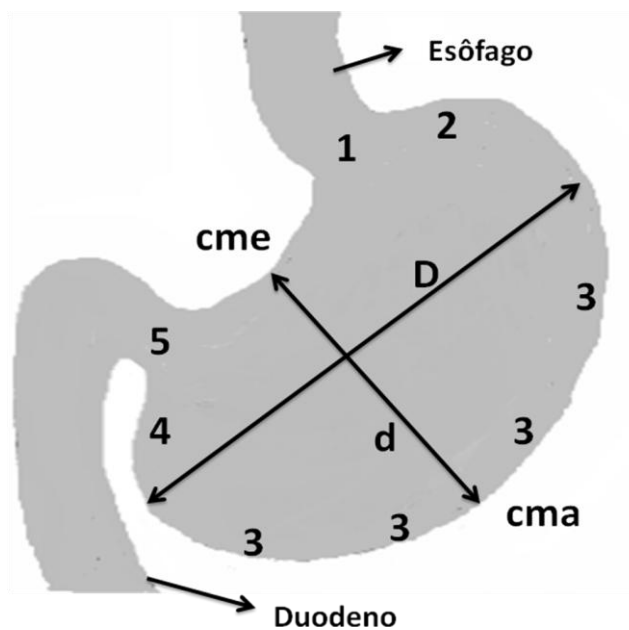


Figura 2: Esquema representativo do estômago de gambá *D. aurita* e suas subdivisões. **1**- Transição esôfago-gástrica; **2**- Região cárdica; **3**- Região fúndica, **4**- Região pilórica, **5**- Transição gastro-duodenal, **D**- maior diâmetro, **d**- menor diâmetro, **cma**- curvatura maior, **cme**- curvatura menor.

O estômago possui porções distintas numa orientação craniocaudal, assim divididas: a parte em que o esôfago se abre no cárdia fica à esquerda do plano sagital mediano. A outra porção, mais estreita e de paredes espessas, compreende a região

pilórica, localiza-se à direita do plano sagital mediano. Entre as duas porções, localiza-se a região fúndica, voltada ventralmente (Figuras 3 e 4).

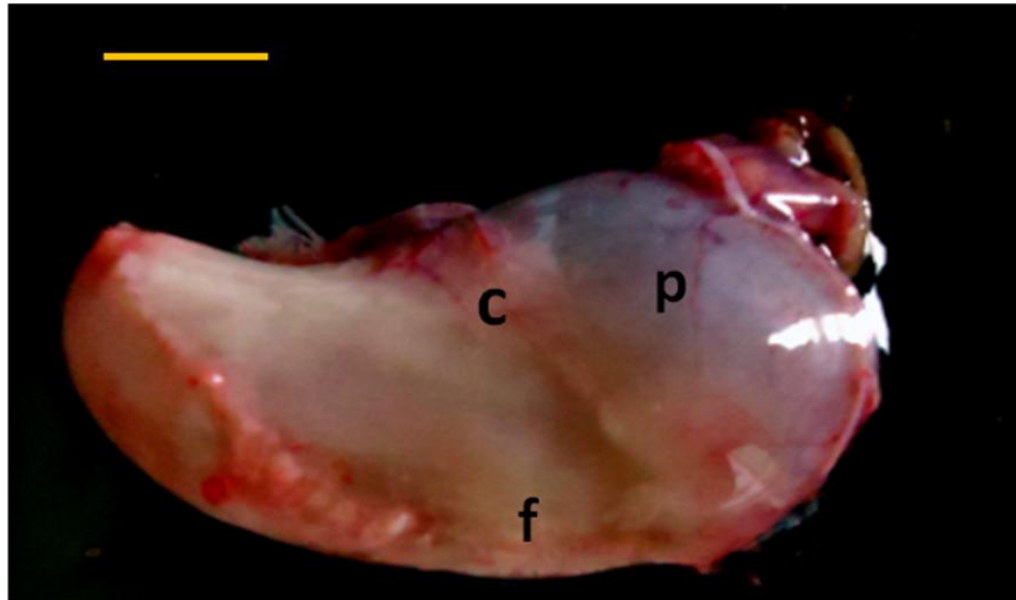


Figura 3: Superfície visceral do estômago de gambá *Didelphis aurita*. Regiões: c- cárdica; f- fúndica; p- pilórica. Barra: 1cm.

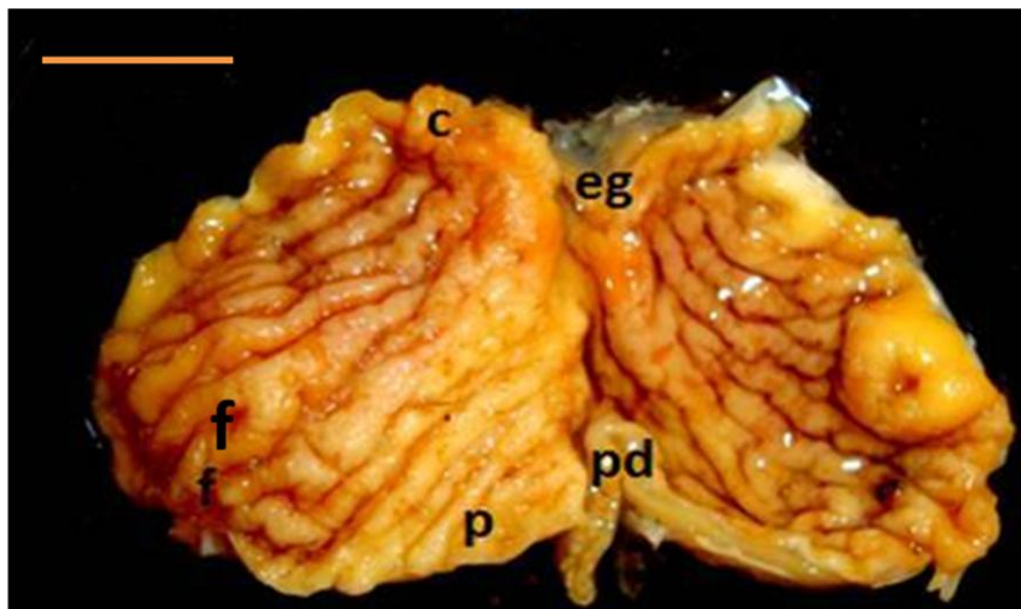


Figura 4: Túnica mucosa do estômago de *Didelphis aurita*. Regiões cárdica (c), fúndica (f), pilórica (p), de transição esôfago-gástrica (eg) e de transição pilórico-duodenal (pd). Barra: 1cm.

O folheto visceral do peritônio ou túnica serosa externa reveste todo o órgão e continua com uma membrana denominada omento. A curvatura maior, convexa, fixa-se ao omento maior. A pequena e côncava curvatura menor fixa-se no omento menor (DYCE et al., 2010).

Observou-se que o estômago de gambás adultos apresentou capacidade volumétrica média de $0,201 \pm 0,074$ l (Tabela 1), representando cerca de 20% do peso corporal, aproximadamente de 0,097 a 0,184 l/kg. Este dado se assemelha ao observado em cães, que possuem uma capacidade média como sendo de 0,10 a 0,25 l/kg, ou seja, 18% do peso corporal em média. Os animais apresentaram comprimento CR médio de $64,93 \pm 14,84$ cm e profundidade torácica média de $11,47 \pm 0,76$ cm. Houve correlação forte entre o peso corporal e a profundidade torácica, e correlação moderada entre a capacidade volumétrica do estômago com os parâmetros peso corporal (Tabela 1), comprimento CR e profundidade torácica (Tabela 1). Os coeficientes de correlação forte, moderada e fraca ($p < 0,05$) foram definidos de acordo com Dancey e Reidy (2006).

Tabela 1 – Parâmetros anatômicos e coeficiente de correlação de Pearson do estômago do gambá *D. aurita* adulto.

Parâmetros	Média ± desvio padrão	A	B
P (kg)	1.048,17 ± 262,67		
CR (cm)	64,93 ± 14,84	0,70 ¹	0,42 ²
PET (cm)	22,81 ± 1,55	0,85 ¹	0,49 ²
PRT (cm)	11,47 ± 0,76	0,78 ¹	0,41 ²
CV (l)	0,201 ± 0,074	0,46 ²	
CMA (cm)	9,63 ± 2,14	0,02 ³	
CME (cm)	1,21 ± 0,56	0,01 ³	
D (cm)	4,32 ± 0,66	0,39 ²	
d (cm)	3,16 ± 0,44	0,08 ³	

P-peso, **CR**-comprimento crown-rump, **PET**-perímetro torácico, **PRT**-profundidade torácica, **CV**-capacidade volumétrica, **CMA**-curvatura maior, **CME**-curvatura menor, **D**-maior diâmetro, **d**-menor diâmetro. **A**-coeficiente de correlação de Pearson entre parâmetros e peso do estômago, **B**-coeficiente de correlação de Pearson entre parâmetros e capacidade volumétrica do estômago. Coeficiente de Correlação de Pearson. **1**- correlação forte; **2**- correlação moderada; **3**- correlação fraca ($p < 0,05$) de acordo com Dancey e Reidy (2006).

As medidas de espessura das camadas do estômago encontram-se na Tabela 2, não havendo diferenças estatísticas entre as mensurações de espessura das diferentes regiões do estômago.

Histologicamente, a parede do estômago do gambá *D. aurita* é formada pelas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa (Figura 5). Os tipos de glândulas encontrados na lâmina própria, as diferentes profundidades de criptas e de espessuras da túnica muscular definem em particular as regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago.

No gambá *D. aurita*, assim como nos mamíferos de modo geral (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2008), o revestimento interno do estômago não distendido apresenta dobras direcionadas longitudinalmente, que se achatam quando o estômago está distendido. Tais dobras são projeções das camadas mucosa e submucosa.

A mucosa revelou-se revestida por um epitélio simples prismático mucossecretor que sofre invaginações em direção à lâmina própria, formando as fossetas ou criptas gástricas, das quais desembocam secreções de glândulas tubulares ramificadas características de cada região do estômago, havendo diferenças importantes entre a mucosa cárdica, fúndica e pilórica, evidenciando as diferenças dos constituintes glandulares de cada região (Figuras 6 e 7). Segundo Junqueira e Carneiro (2008), a lâmina própria do estômago é constituída por tecido conjuntivo frouxo contendo células

musculares lisas e células linfóides. Observou-se um espessamento da muscular da mucosa na região pilórica (Figura 7 B), quando comparada com a região cárdica e fúndica, evidenciado pela presença do esfíncter pilórico.

A túnica submucosa do estômago do gambá *D. aurita* (Figura 5) assemelha-se à de mamíferos domésticos, como cão, gato, cavalo, porco, bovinos e roedores, assim como da capivara, como descrito por Velásquez et al. (2002). Todos estes possuem uma submucosa composta de tecido conjuntivo frouxo, vascularizado e aglandular, como descrito por Velásquez et al. (2002).

A camada muscular apresentou-se composta por duas camadas de músculo liso, uma circular interna e outra longitudinal externa (Figura 5). O folheto visceral do peritônio, ou túnica serosa, reveste todo o órgão. Observou-se um estreitamento da serosa na região fúndica, que coincide com a curvatura maior, local em que o estômago se prende ao omento maior, levando à diminuição do contato do estômago com a serosa em regiões de curvatura.

A junção esôfago-gástrica apresenta uma diferença abrupta entre os dois segmentos, uma vez que o esôfago é revestido por um epitélio estratificado pavimentoso e uma submucosa que apresenta glândulas esofágicas secretoras de muco, o que facilita o transporte do alimento e protege a mucosa. Na região próxima ao estômago, revelam-se grupos de glândulas secretoras de muco (Figura 6A).

A lâmina própria da região cárdica possui glândulas tubulares simples ou ramificadas, as glândulas cárdicas, apresentando porções terminais curtas e de lume amplo (Figura 6B).

A lâmina própria da região fúndica apresenta-se com glândulas tubulares ramificadas (Figura 7A). Na porção do colo glandular, há a presença de células mucosas do colo e poucas células oxínticas (parietais). No corpo da glândula, há um grande número de células parietais, produtoras de ácido clorídrico. Na base das glândulas, há principalmente a presença de células principais ou zimogênicas, e algumas células parietais.

A região pilórica apresenta-se com fossetas gástricas profundas, onde as glândulas tubulosas simples ou ramificadas se abrem. Comparada com a região cárdica, a região pilórica possui fossetas mais longas e glândulas mais curtas (Figura 7B).

A junção gastro-duodenal apresenta-se com espessamento da túnica muscular da mucosa e da túnica muscular circular interna. Tais espessamentos alcançam seu maior desenvolvimento nessa região, constituindo o esfíncter pilórico (Figura 8).

Tabela 2: Espessuras (em μm) das túnicas mucosa, muscular da mucosa, submucosa, muscular circular interna, muscular longitudinal externa, muscular e serosa das diferentes regiões do estômago do gambá *Didelphis aurita*

	Região Cárdica	Região Fúndica	Região Pilórica
mc	542,69 \pm 146,01	671,79 \pm 71,73	504,33 \pm 111,08
mmc	103,93 \pm 32,84	124,74 \pm 39,36	181,09 \pm 29,43
smc	219,34 \pm 34,06	160,48 \pm 44,96	132,21 \pm 36,10
mci	302,55 \pm 51,52	132,78 \pm 14,83	407,55 \pm 49,51
mle	111,19 \pm 23,03	45,77 \pm 7,73	143,69 \pm 39,21
ms	429,54 \pm 86,65	494,92 \pm 20,45	579,28 \pm 20,88
se	16,78 \pm 2,98	10,68 \pm 2,48	17,71 \pm 2,27

mc-mucosa, **mmc**-muscular da mucosa, **smc**-submucosa, **mci**-muscular circular interna, **mle**-muscular longitudinal externa, **ms**-muscular, **se**-serosa.

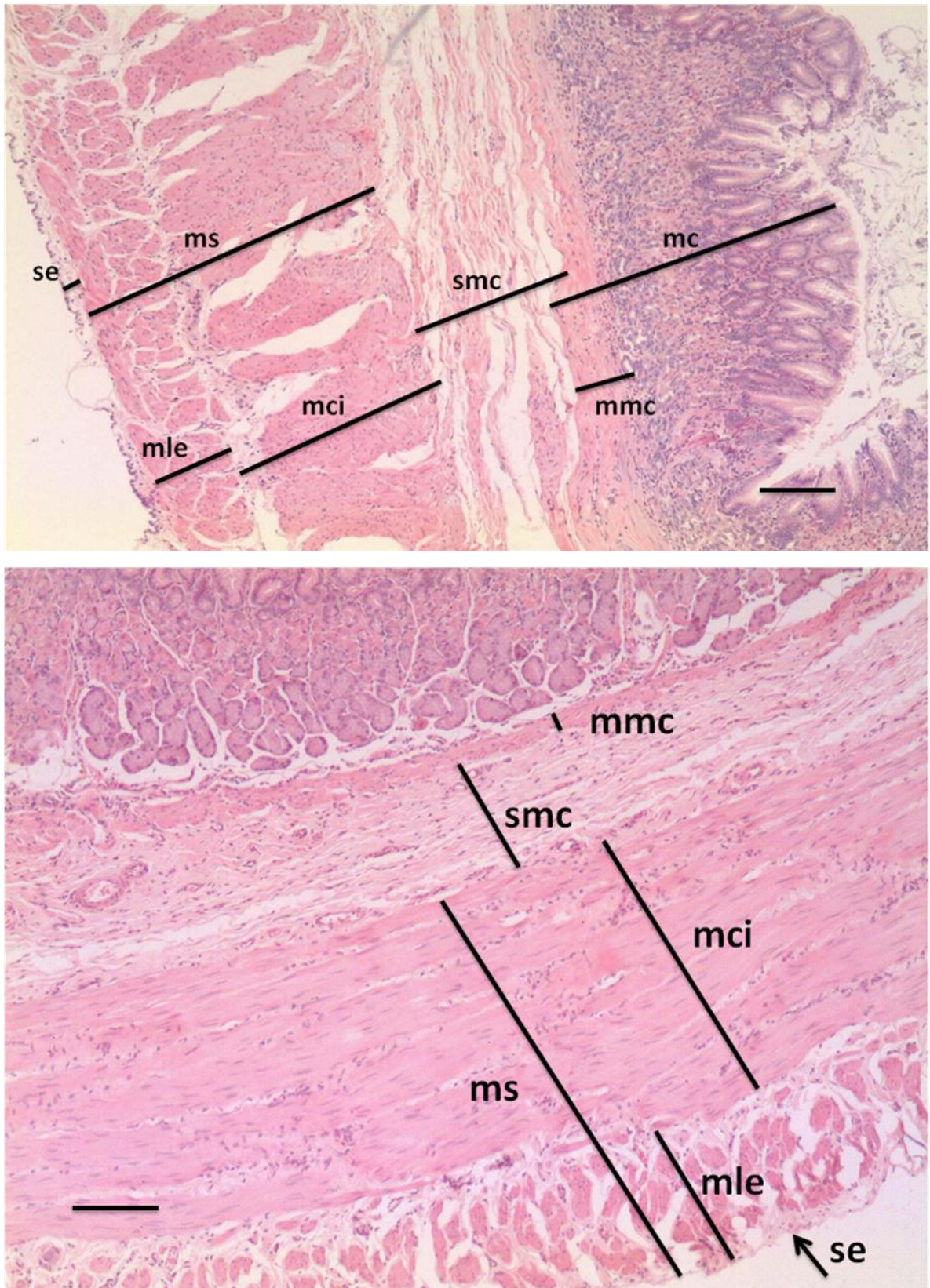


Figura 5: Constituintes histológicos da parede do estômago do gambá *Didelphis aurita*. **mc**-mucosa; **mmc**-muscular da mucosa; **smc**-submucosa; **mci**-muscular circular interna; **mle**-muscular longitudinal externa; **ms**-muscular; **se**-serosa. Barra:50 μ m. Coloração: HE.

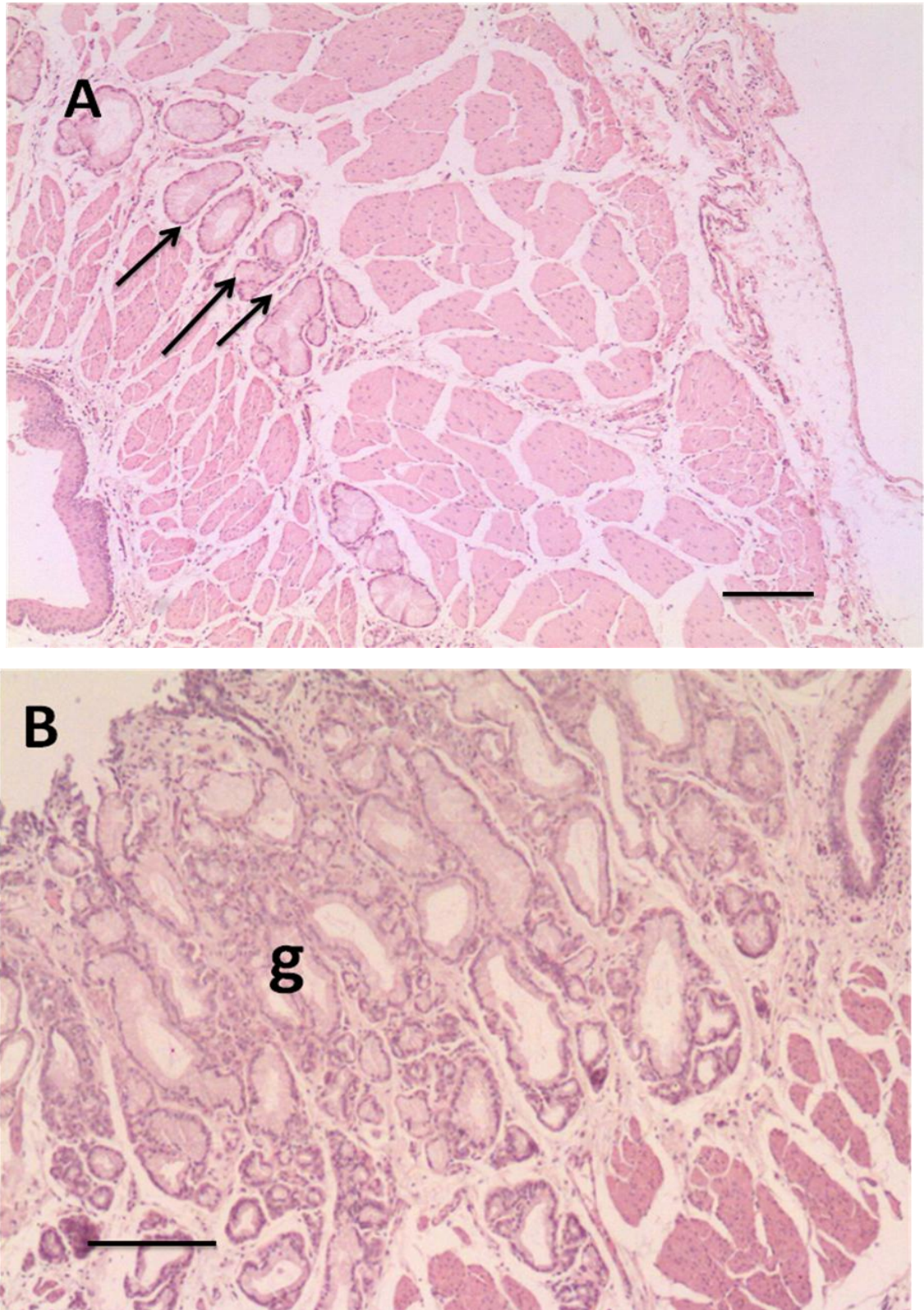


Figura 6: Estômago do gambá *D. aurita*. A. Região da transição esôfago-gástrica mostrando as glândulas esofágicas produtoras de muco (setas). B. Região cárdica, onde se observam as glândulas cárdicas (asteriscos). Barra: 50 µm. Coloração HE

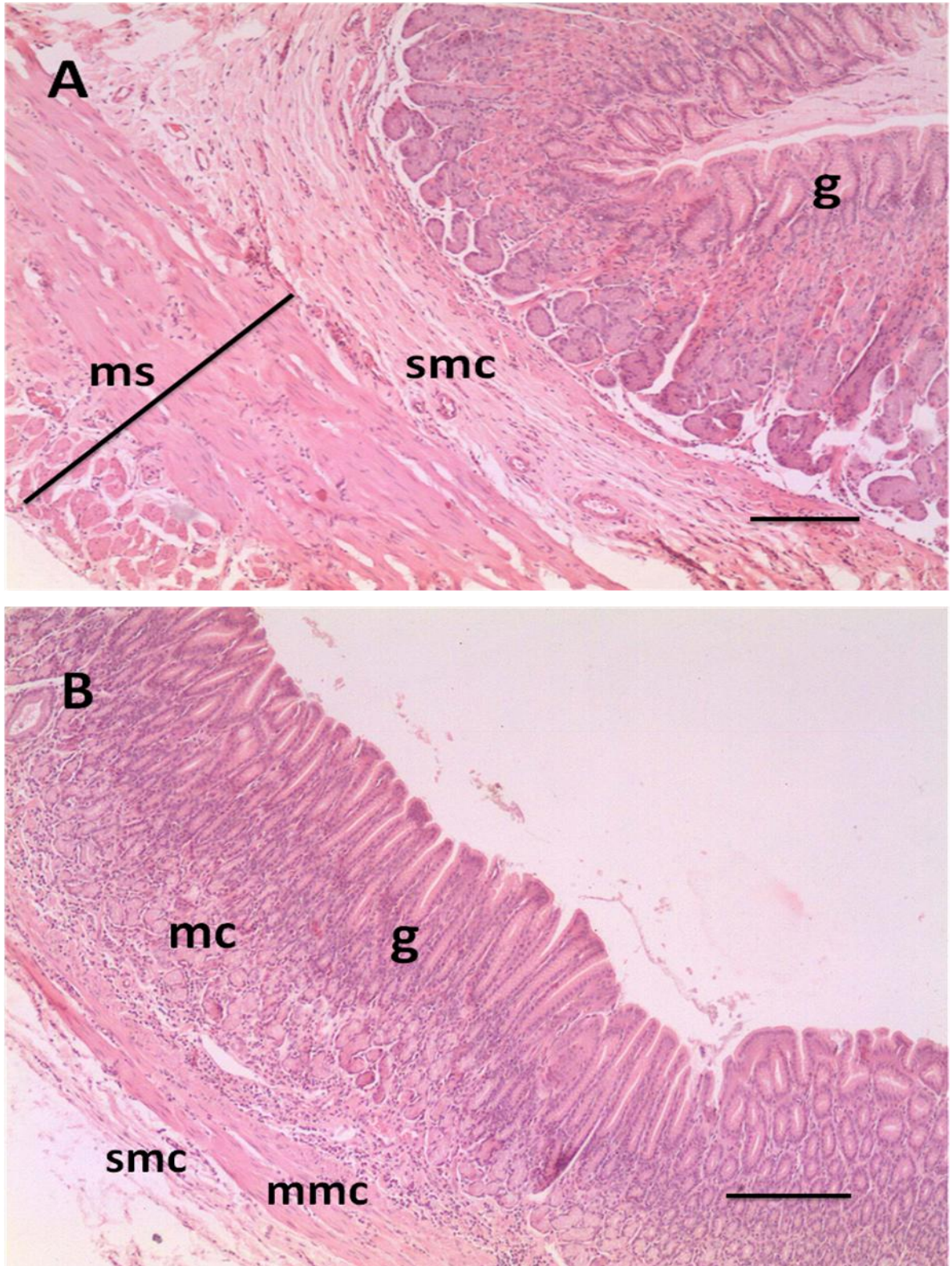


Figura 7: Estômago do gambá *D. aurita*. A. Região fúndica. B. Região pilórica g-glândulas; mc-mucosa; mmc-muscular da mucosa; smc-submucosa. Barra: 50 μ m. Coloração: HE.

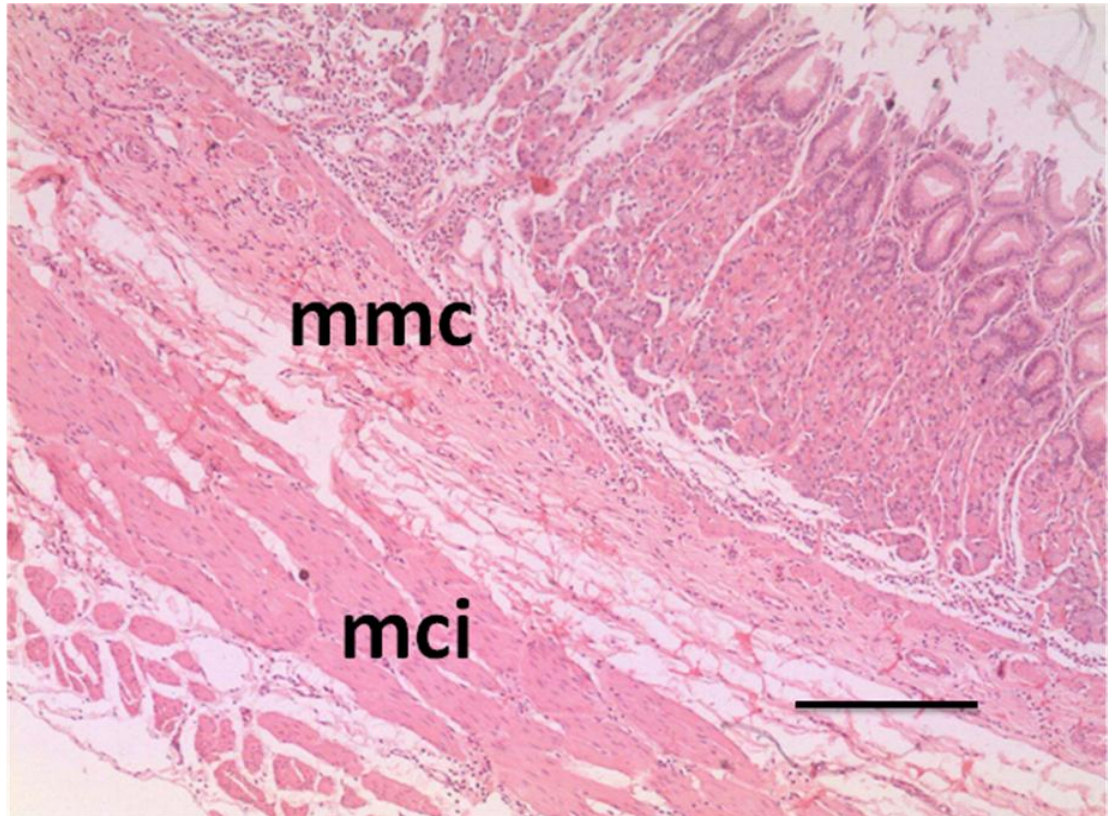


Figura 8: Estômago do gambá *D. aurita*. Região de transição gastro-duodenal. mmc- túnica muscular da mucosa; mci- túnica muscular circular interna. Barra: 50 μ m. Coloração:HE.

As mensurações anatômicas corporais correlacionadas com as mensurações dos órgãos, segmentos ou regiões internas do corpo permitem prever parâmetros a serem estudados nos animais, cujas medidas estão de acordo com as correlações pretendidas. Desse modo, evita-se a eutanásia de animais que não atendem aos requisitos morfométricos.

Os gânglios submucosos foram menos numerosos que os gânglios mioentéricos ao longo da submucosa das diferentes regiões do estômago. Observou-se uma média de $2,6 \pm 0,96$ gânglios submucosos/mm² na região fúndica, sobrepondo a média desses gânglios na região cárdica, que foi de $1,80 \pm 0,78$ gânglios/mm², e na região pilórica, que apresentou uma média de $1,40 \pm 0,51$ gânglios/mm² (Tabela 1). Não houve diferenças estatísticas de distribuição de gânglios submucosos ao longo da submucosa das regiões cárdica, fúndica e pilórica (Tabela 1).

Os gânglios mioentéricos (Figura 10B) apresentaram-se distribuídos ao longo das regiões cárdica, fúndica e pilórica, com média maior na região pilórica de $5,9 \pm 0,73$ gânglios/mm². Apesar dessa distribuição crescente, não houve diferença estatística

significativa ao longo das regiões (Tabela 1). Os gânglios mioentéricos da região cárdica apresentaram uma média de $4,50 \pm 1,58$ gânglios/mm², e os da região fúndica apresentaram uma média de $5,60 \pm 1,07$ gânglios/mm².

As células argirófilas (Figura 10A) apresentaram-se distribuídas em grande quantidade em todas as regiões do estômago, prevalecendo o número médio de $76,32 \pm 5,00$ céls./mm² na região pilórica sobre as demais regiões (Tabela 1). O número de células endócrinas argirófilas na região cárdica foi de $60,40 \pm 7,63$ céls./mm² e de $70,20 \pm 7,06$ céls./mm² na região fúndica. A análise de variância não mostrou diferenças estatísticas na distribuição destas células nas diferentes regiões do estômago. Segundo Velásquez et al. (2002), as células endócrinas argirófilas estão presentes em grande quantidade na mucosa da região pilórica do estômago da capivara, concentradas principalmente na base das glândulas gástricas, podendo também ser identificadas algumas delas no corpo, e ocasionalmente no colo das glândulas.

As células argentafins (Figura 9 A e B) apresentaram número médio de $17,30 \pm 3,62$ céls./mm² na região cárdica, de $21,00 \pm 3,71$ céls./mm² na região fúndica, e de $20,44 \pm 2,48$ céls./mm² na região pilórica (Tabela 3). Não houve diferenças estatísticas significativas entre a distribuição dessas células nas regiões cárdica, fúndica e pilórica. As células argentafins apresentaram impregnação citoplasmática pelos sais de prata, com granulação de tamanho e distribuição variada (Figura 9 A e B).

As diferentes reações bioquímicas celulares que ocorrem na execução de técnicas pela impregnação por sais de prata determinam se a reação é do tipo argentafim ou argirófila. Na reação argentafim, a redução do nitrato de prata amoniacal é decorrente da capacidade redutora dos próprios componentes intracelulares; já na argirófila, os sais de prata ligam-se aos grânulos citoplasmáticos e são, então, reduzidos à prata metálica pela exposição a uma substância exógena redutora. A positividade dessas reações está relacionada com a produção de peptídeos na mucosa de todo aparelho digestório, como hormônios e neurotransmissores (BRESSAN et al., 2005).

Tabela 3: Número de gânglios e células endócrinas por mm² de áreas da parede do estômago de diferentes regiões do estômago (média ± desvio padrão)

Parâmetros	Regiões		
	cárdica	fúndica	pilórica
gsm	1,80 ± 0,78 ^a	2,60 ± 0,96 ^a	1,40 ± 0,51 ^a
gme	4,50 ± 1,58 ^a	5,60 ± 1,07 ^a	5,90 ± 0,73 ^a
céls.argirófilas	60,40 ± 7,63 ^a	70,20 ± 7,06 ^a	76,32 ± 5,00 ^a
céls.argentafins	17,30 ± 3,62 ^b	21,00 ± 3,71 ^b	20,44 ± 2,48 ^b

Valores seguidos por letras minúsculas iguais na mesma linha não diferem entre si para coeficiente de correlação de Pearson ($p < 0,05$). **gsm**-gânglios submucosos, **gme**-gânglios mioentéricos.

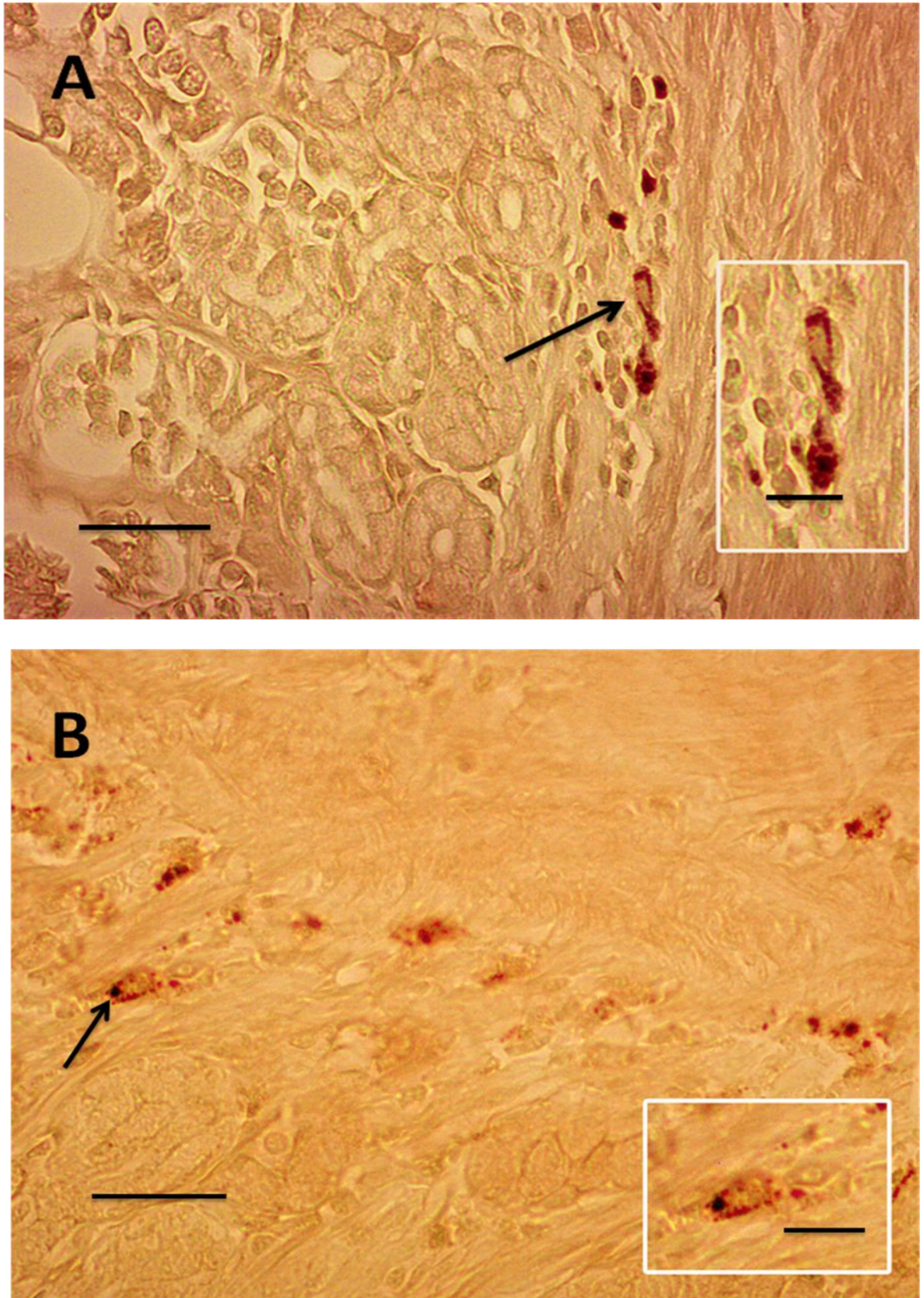


Figura 9. A e B. Células endócrinas argentafins (setas e destaque) da túnica mucosa do estômago do gambá *D. aurita*. Barras em A: 12 μ m e 8 μ m (destaque). Barras em B: 14 μ m e 8 μ m (destaque). Coloração: Masson-Fontana modificada.

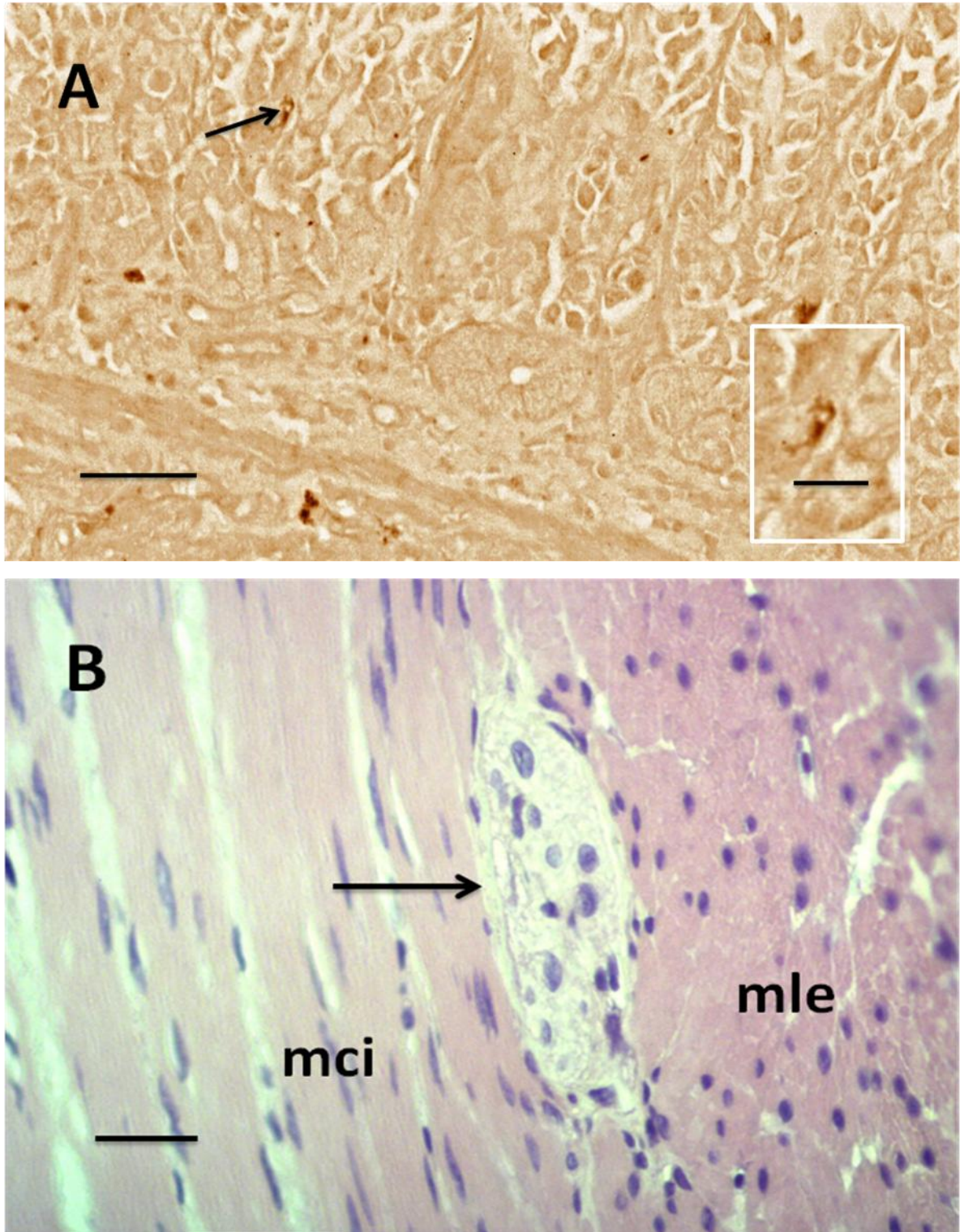


Figura 10. A. Célula endócrina argirófila (seta e destaque) da túnica mucosa do estômago do gambá *D.aurita* (Técnica de Grimelius). B. Plexo nervoso mioentérico (seta) do estômago do gambá *D.aurita* . mci-camada muscular circular interna, mle-camada muscular longitudinal externa. Barras em A: 14 μ m e 8 μ m (destaque). Barra em B: 8 μ m. Coloração HE.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDREW, W.; HICKMAN, C. P. **Histology of the vertebrates**. Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1974. 439p.
- BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. **Theory and practice of histological techniques**. 4ed. New York: Churchill Livingstone, 1996. 725p.
- BARBOSA, A. J. A.; CASTRO, L. P. F.; NOGUEIRA, A. M. F. A simple and economical modification of the Masson-Fontana method of staining melanin granules and enterochromaphin cells. **Stain Technology**, v. 59, p.193-196. 1984
- BARBOSA, A. J. A.; NOGUEIRA, J. C.; PENNA, F. J.; POLAK, J. M. Distribution of enteroglucagon-and polypeptide YY-immunoreactive cells in the gastrointestinal tract of the white-belly opossum (*Didelphis albiventris*). **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 88, p.37-40, 1987.
- BASILE, D. R. S.; NOVAES, R. D.; MARQUES, D. C. S.; FIALHO, M. C. Q.; NEVES, C. A.; FONSECA, C. C. Analysis of the morphology and distribution of argentaffin, argyrophil and insulin-immunoreactive endocrine cells in the small intestine of the adult opossum *Didelphis aurita* (Wied-neuwied, 1826). **Tissue & Cell**, 2012. (No prelo).
- BELTRÃO, N. E. M.; ALMEIDA, O. A.; PEREIRA, J. R.; FIDELES FILHO, J. Metodologia para estimativa do crescimento do fruto volume absoluto relativo da planta do algodoeiro. **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, Campina Grande, v.5, n.1, p.283-289, jan-abr, 2001
- BRESSAN, M. S.; FONSECA, C. C.; MENIN, E.; PAULA, T. A. R. Aspectos anátomo-histológicos e neuroendócrinos do ceco de capivaras *Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1776 (Mammalia, Rodentia). **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da Unipar**, v. 8, p. 197-203, 2005.
- CARVALHO, C. A.; FERNANDES, K. M.; MATTA, S. L. P.; FONSECA, C. C.; PINHO, R.; OLIVEIRA, L. L. Aspectos macroscópicos e histológicos da mucosa gástrica de ratos wistar e sua utilização em modelo de úlceras gástricas. **Archives of Veterinary Science**, v. 16, p. 44-53, 2011.
- DANCEY, J. R.; REIDY, J. **Estatística sem matemática para psicologia usando spss para Windows**. 3ed. Porto Alegre, 2006. 608p.
- DELICIELLOS, A. C.; LORETTO, D.; ANTUNES, V. Z. Marsupiais da Mata Atlântica. **Ciência hoje**, v. 38, n.223, p.66-69, 2006.
- DYCE, K. M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de anatomia veterinária**. 3ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 813p.
- EMMONS, L. H, FEER, F. **Neotropical rainforest mammals a field guide**. The University of Chicago Press, Chicago. 1990. 281p.

- FURNESS, J. B. Types of neurons in the enteric nervous system. **Journal of the Autonomic Nervous System**, v. 81, p. 87-96, 2000.
- FONSECA, C. C.; NOGUEIRA, J. C.; BARBOSA, A. J. A. Argyrophilic and Glucagon-Immunoreactive cells in the ileum and colon of the developing opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia). **Cells Tissues and Organs**, v.170, p. 20-33, 2002.
- GETTY, R. (Org) **Anatomia dos animais domésticos**. 5ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986. 2000p.
- GRIMELIUS, L. A silver nitrate stain for $\mu 2$ cells in human pancreatic islets. **Acta Societas Medicorum Upsaliensis**, v.73: p.43-270, 1968.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 1997. 1264p.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 11ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. 540p.
- KRAUSE, W. J.; YAMADA, J.; CUTTS, H. Quantitative distribution of enteroendocrine cells in the gastrointestinal tract of adult opossum, *Didelphis virginiana*. **Journal of Anatomy**, v. 140, p.591-605, 1985
- KRAUSE, W. J.; YAMADA, J.; CUTTS, H. Enteroendocrine cells in the developing opossum small intestine and colon. **Journal of Anatomy**, v. 162, p.83-96, 1989.
- NODEN, D. M.; LAHUNTA, A. **The Embriology of domestic animals. Developmental Mechanisms and Malformations**. Baltimore: Williams & Wilkins 1985. 367p.
- POLAK, J. M.; BISHOP, A. E.; BARBOSA, A. J. A.; BLOOM, S. R.. **Hormônios gastrointestinais**. In: DANI, R.; CASTRO, P. L. Gastroenterologia Clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 1993. 2016p.
- PORTUGAL, L. G. **Ecologia populacional de pequenos mamíferos e o parasitismo por Trypanosoma cruzi em uma área rural do Estado do Rio de Janeiro**. Dissertação (Mestrado em Biologia Parasitária). 109p. Rio de Janeiro: Instituto Oswaldo Cruz, 2009.
- RAYBOLD, H. E. Does your gut taste? Sensory transduction in the gastrointestinal tract. **News Physiology Science**, v.13, p.275-280, 1998.
- REHFELD, J. F. The new biology of gastrointestinal hormones. **Physiology Reviews**, v. 78 p. 1087-1108, 1998.
- RIBEIRO, G. M. F.; FONSECA, C. C.; MATTA, S. L. P.; RODRIGUES, S. S.; NEVES, C. A. Quantification of argyrophillic, argentaffin and insulin immunoreactive cells in the small intestine in the opossum *Didelphis aurita* (Wied-Neuwied, 1826). **Acta Scientiarum Biological Sciences** (Online), v. 33, p. 479-485, 2011.
- RINDI, G.; LEITER, A. B.; KOPIN, A. S.; BORDI, C.; SOLCIA, E. The “normal” endocrine cells of the gut changing concepts and new evidences. **Annals of New York Academy of Science**, v. 1014, p.1-12, 2004.

RODRIGUES, S. S.; FONSECA, C. C.; NEVES, M. T. D. Células endócrinas do sistema gastroenteropancreático: conceitos, distribuição, secreções, ação e controle. **Arquivos de Ciência Veterinárias e Zoologia**, Unipar, v. 8, p. 171-180, 2005.

TAKAGI, C.; YAMADA, J.; KRAUSE, W. J.; KITAMURA, N.; YAMASHITA, T. An immunohistochemical study of endocrine cells in the proximal duodenum of eight marsupial species. **Journal of Anatomy**, v. 168, p.49-56, 1990.

VELÁSQUEZ, J. C. C.; FONSECA, C. C.; MENIM, E.; PAULA, T. A. R. Estudo histológico e histoquímico da região pilórica do estômago da capivara *Hydrochoerus hydrochaeris*. **Biotemas**, v.15, p. 83-95, 2002.

4. CONCLUSÕES GERAIS

A capacidade volumétrica média do estômago do gambá *Didelphis aurita* adulto, representando cerca de 20% do peso corporal mostrou que este órgão apresenta moderada correlação com as mensurações anatômicas de profundidade torácica e comprimento vértice-caudal (CR).

Histologicamente, a parede do estômago do gambá *D. aurita* é formada pelas túnicas mucosa, submucosa, muscular e serosa. Diferentes tipos de glândulas encontrados na lâmina própria, as diferentes profundidades de criptas e as diferentes espessuras da túnica muscular definem as regiões cárdica, fúndica e pilórica do estômago.

A túnica muscular revelou-se constituída de duas camadas de músculo liso, uma circular interna e uma longitudinal externa. Entre essas duas camadas, foi encontrado o maior número de gânglios nervosos, os gânglios mioentéricos. As células enteroendócrinas revelaram-se distribuídas em grande quantidade em todas as regiões do estômago, sendo que as argirófilas foram mais abundantes que as argentafins.

Os parâmetros observados são de relevância para a contribuição em estudos relacionados aos aspectos estruturais e funcionais do estômago, conferindo ao gambá *D. aurita* um importante modelo para a obtenção de conhecimento aplicados às demais espécies de animais.

5. APÊNDICES

Apêndice 1

1. Técnica de Hematoxilina-Eosina (BANCROFT e STEVENS, 1996)

1. Vidraria utilizada: 2 pipetas de 100 ml; 2 Erlenmeyer 200 ml

- Lavar vidraria em água corrente

- Papel-filtro

-1 cuba tipo “manteigueira”.

2. Preparo de soluções:

-Hematoxilina----- 2,5g

-Álcool 100%----- 25ml

-Alúmen de amônio ou potássio----- 50g

-Água destilada----- 500ml

-Óxido vermelho de mercúrio----- 1,25g

-Ácido acético----- 20ml

3. Dissolver hematoxilina no álcool e o alúmen na água destilada.

4. Misturar as duas soluções e aquecer até 100°C.

5. Adicionar óxido de mercúrio à solução e resfriar a mesma.

6. Adicionar ácido acético e filtrar a solução

7. Pesar 1g de eosina e dissolver em 100ml de água destilada

8. Preparo das lâminas: desparafinizar e hidratar.

9. Colocar lâminas na solução de hematoxilina durante 1 minuto.

10. Lavar as lâminas em água corrente durante 10 minutos.

11. Colocar lâminas na solução de eosina durante 1 minuto.

12. Lavar as lâminas em água corrente.

13. Desidratar, diafanizar e montar as lâminas.

Apêndice 2

2. Técnica de Grimelius (GRIMELIUS, 1968)

1. Vidraria utilizada: 2 pipetas 100ml; 3 Erlenmeyers 250ml; 2 cubas “manteigueira”; 3 cubas

2. Lavar vidrarias:

- em água corrente por 1 hora

- em água destilada 3 vezes

3. Pesar os reagentes:

- AgNO₃ ----- 80mg ou 83mg

- Hidroquinona ----- 1g

- Sulfito de sódio anidro ----- 5g

4. Preparar solução de prata

- AgNO₃ ----- 80mg

- Tampão acetato (estoque) 0,2M/pH 5,6 ----- 10ml

ou 100ml de tampão e não usar água destilada

- Água dd ----- 90ml

5. Preparar banho-maria (60°C)

- Colocar 2 cubas com solução de prata
- Colocar uma cuba para a solução reveladora
- Ligar o banho-maria

6. Preparar as lâminas

Desparafinizar (xilol I e II por 15min) e hidratar (álcool 100 I e II, 95, 80, 70 por 3 min e água dd por 10 min)

7. Incubar as lâminas na solução de AgNO_3 a 60°C por 3 horas (controlar ao microscópio a partir daí).

8. Preparo da solução reveladora:

Esta deve ser preparada +/- 30 min. antes de usar

- hidroquinona -----1g
- sulfito de sódio anidro ----- 5g
- água dd em vidro ----- 100ml

Preparar em Erlenmeyer (colocar em banho-maria) e transferir para a cuba vazia que está no banho-maria.

9. Após 3h de incubação na solução de prata, mergulhar as lâminas na solução reveladora por 1 min e observar ao microscópio. Se os cortes estiverem corados colocá-los na água destilada para interromper a reação.

10. Desidratar e diafanizar em xilol I e II rapidamente. Em seguida, montar.

Apêndice 3

3. Técnica Masson-Fontana modificada (BARBOSA et al., 1984)

1. Lavar vidrarias por uma hora em água corrente.

- 2 pipetas 100ml
- 3 Erlenmeyer 200ml
- 2 cubas
- 2 cubas “mantegueiras”
- 2 conta-gotas

2. Preparar solução de nitrato de prata (AgNO_3)

- Dissolver 500mg nitrato de prata em 100ml de água destilada
- Separar 10 ml desta solução
- Adicionar NH_4OH (hidróxido de amônio) gota a gota até que o precipitado marrom torne-se claro
- Adicionar gota a gota, a solução de nitrato de prata separada até que a solução fique ligeiramente turva.
- Filtrar a solução em papel filtro

Levar a solução para o banho-maria a 60°C

3. Iniciar a desparafinização e a hidratação

4. Colocar as lâminas na solução a 60°C por 60 min

5. Interromper a coloração em água dd

6. Obs.: Observar ao microscópio. Se houver muita precipitação e/ou o “background” estiver escuro, fazer uso do tiosulfato de sódio anidro 5% (5g para 100 ml água dd) por poucos segundos.

7. Desidratar e diafanizar rapidamente no xilol I e II; montar as lâminas em bálsamo.