



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS ANIMAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

BRUNA KALINE GORGÔNIO DE AZEVEDO

**ORGANIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE CHEIRO DO CATETO
(*Pecari tajacu*, LINNAEUS 1758) E A INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA NA
MANUTENÇÃO DE SUA ESTRUTURA.**

MOSSORÓ-RN

2015

BRUNA KALINE GORGÔNIO DE AZEVEDO

**ORGANIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE CHEIRO DO CATETO
(*Pecari tajacu*, LINNAEUS 1758) E A INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA NA
MANUTENÇÃO DE SUA ESTRUTURA.**

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

Orientador: Prof. Dr. José Domingues Fontenele Neto

MOSSORÓ-RN
2015

Catálogo na Fonte

Catálogo de Publicação na Fonte. UFERSA - BIBLIOTECA CENTRAL ORLANDO TEIXEIRA -
CAMPUS MOSSORÓ

Azevedo, Bruna Kaline Gorgonio de.

Organização histológica da glândula de cheiro do cateto Pecari
tajacu, Linnaeus 1758 e a influência da testosterona na manutenção de
sua estrutura / Bruna Kaline Gorgonio de Azevedo. - Mossoró, 2015.

1. Cateto. 2. Tayassuidae. 3. Dependência hormonal. 4. AgNOR. I.

RN/UFERSA/BCOT/38
3

CDD

BRUNA KALINE GORGÔNIO DE AZEVEDO

**ORGANIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE CHEIRO DO CATETO
(*Pecari tajacu*, LINNAEUS 1758) E A INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA NA
MANUTENÇÃO DE SUA ESTRUTURA.**

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

Aprovação em 27 de fevereiro de 2015

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. José Domingues Fontenele Neto (UFERSA)
Orientador



Prof.ª Dr.ª Ana Cláudia Sales Rocha Albuquerque (UERN)
Primeiro Conselheiro



Prof.ª Dr.ª Máisa Clari Farias Barbalho de Mendonça (UERN)

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

BRUNA KALINE GORGONIO DE AZEVEDO – Nascida no Município de São José do Seridó-RN, no dia 26/01/1990, filha de Francisco Assis de Azevedo e Francisca Gorgônio de Azevedo. Graduiu-se em ciências biológicas pela Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (UERN) em 2011. Em 2013 foi selecionada pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da UFERSA, orientada pelo Prof. Dr. José Domingues Fontenele Neto. Durante o período do mestrado desenvolveu trabalhos na área de morfologia, com ênfase em histologia.

A **Deus**, pelas bênçãos e pela força, a minha mãe, Francisca, minha tia, Tereza Maria e aos meus melhores amigos e maiores incentivadores.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela força que me destes. Por não ter permitido que eu parasse no meio do caminho, pelo cuidado incondicional que Ele tem demonstrado por mim, pela renovação de fé a cada momento de fraqueza e por ter me conduzindo sempre para o melhor lado, promovendo a certeza de que tudo daria certo.

A minha mãe, Francisca Gorgônio, pessoa maravilhosa e de fé, pelo qual me inspiro e sinto um grande amor. Por ter acreditado em meus sonhos e investir na minha carreira acadêmica, nunca medindo esforços para isso. Pela força fornecida nos momentos de fraqueza e por ter levantado minha cabeça sempre quando eu precisei.

Ao meu irmão, Artur, por ter depositado em mim a confiança de que eu venceria qualquer obstáculo, se assim eu quisesse. Pelas palavras de apoio e incentivo e por ser uma pessoa incrível de bom senso.

A todos os meus tios, em especial minha tia Tereza Maria. Por ser a minha luz de vida, por esta comigo em qualquer momento, pelas palavras de incentivo e amor e por me fazer querer seguir, para que um dia pudesse ver o resultado do meu esforço.

Ao meu noivo, João Paulo, pessoa a quem amo. Pela paciência, compreensão e força depositada em mim durante todo esse período. Por ter me ajudado a não desistir e seguir em frente, construindo junto comigo o nosso futuro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Domingues Fontenele Neto, pelo qual tenho uma grande admiração. Pela confiança e oportunidade depositadas em mim, pela disposição em me orientar, pelo direcionamento científico que me concedeu e por não ter medido esforços para me ajudar.

Aos meus amigos do Laboratório de Histologia da UFERSA, Raony, Sérvulo, Stteferson, Liana e Viviane pelos momentos de descontração e pela ajuda fornecida nesse estudo.

À banca examinadora, pela disponibilidade em participar, ao corrigirem esse trabalho, e tal contribuição que trarão.

As minhas amigas Jovilma Soares, Hortência Moraes, Maria Rejane, Acacia Maria, Maira Cibelle, Pérsia Cirne e Raiza Gorgonho, que me trouxeram apoio nos momentos de luta e de alegria.

À Universidade Federal Rural do Semi-Árido, pelos recursos fornecidos durante o desenvolvimento desse experimento.

A CAPES pelo apoio financeiro fornecido a mim durante o curso de mestrado.

Aos animais usados nessa pesquisa, sem os quais esse estudo não poderia ter sido realizado.

“A humildade exprime, uma das raras
certezas de que estou certo: a de que
ninguém é superior a ninguém.”

Albert Einstein

**ORGANIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE CHEIRO DO CATETO
(*Pecari tajacu*, LINNAEUS 1758) E A INFLUÊNCIA DA TESTOSTERONA NA
MANUTENÇÃO DE SUA ESTRUTURA.**

AZEVEDO, B.K.G. **Organização histológica da glândula de cheiro do cateto (*Pecari tajacu*, LINNAEUS 1758) e a influência da testosterona na manutenção de sua estrutura.** 2015. 91p. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Morfisiologia e Biotecnologia Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2015.

RESUMO: O cateto (*Pecari tajacu*) pertence à família Tayassuidae, possuem quatro dígitos no membro torácico e três no membro pélvico, apresentam um focinho alongado e uma cauda curta; se destacam por possuir uma glândula odorífera no dorso, que secreta continuamente um líquido esbranquiçado. Tal secreção pode ser considerada um sinal químico. Sinais químicos de ação intra-específicos são denominados feromônios, agindo na fisiologia e desenvolvimento dos indivíduos ou diretamente em seu comportamento. Em várias espécies de mamíferos, a função do desenvolvimento da glândula de cheiro é regulada por hormônios gonadais. O objetivo desse trabalho foi descrever a morfologia da glândula de cheiro e avaliar se sua estrutura é influenciada pela testosterona. Para isso foram utilizados doze catetos machos provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da Universidade Federal Rural do Semi-Árido e dividido em quatro grupos de três animais: grupo I (catetos recém-nascidos), grupo II (catetos adultos intactos), grupo III (catetos adultos castrados), grupo IV (catetos adultos castrados e tratados com testosterona). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com o Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (nº 26/2013). Os catetos foram sacrificados, as glândulas de cheiro foram dissecadas e as dimensões de comprimento e largura foram mensuradas. Posteriormente fragmentos das glândulas foram submetidos ao processamento histológico, foram realizadas análises histomorfométricas, bem como se avaliou a atividade proliferativa das células glandulares através do método de contagem de regiões organizadoras de nucléolo argirofílicas. A glândula de cheiro era oval e exibia no centro um ducto principal. Duas regiões eram nítidas e diferenciavam-se pela coloração. A porção cranial era clara (glândula sebácea) e a porção caudal era escura (glândula sudorípara). A glândula de cheiro de animais recém-nascidos apresentou diferenças histológicas quando comparado à glândula de animais adultos e após a castração a glândula sofreu um processo de involução que pode ser parcialmente revertido com a reposição hormonal. A porção sebácea da glândula de cheiro foi a mais afetada pela castração. Os resultados dos dados histomorfométricos e da contagem de AgNORs mostraram que a porção sebácea da glândula de cheiro do cateto está sobre forte influência da testosterona, uma vez que a diminuição dos níveis de testosterona no sangue decorrentes da castração, geraram diminuição da atividade proliferativa e alterações significativas em suas unidades secretoras.

Palavras-Chave: Tayassuidae; Dependência hormonal; AgNOR.

HISTOLOGICAL ORGANIZATION OF THE SCENT GLAND OF THE COLLARED PECCARY(*Pecari tajacu*, LINNAEUS 1758) AND THE INFLUENCE OF TESTOSTERONE IN MAINTAINING ITS STRUCTURE

AZEVEDO, B.K.G. **Histological organization of the scent gland of the collared peccary (*Pecari tajacu*, LINNAEUS 1758) and the influence of testosterone in maintaining its structure.** 2015. 91p. Dissertation (Master's degree in Animal Science: Morphophysiology and Animal Biotechnology) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2015.

ABSTRACT: The collared peccary (*Pecari tajacu*) belongs to the family Tayassuidae, have four digits on the forelimb and three in the pelvic limb, presents elongated snout and a short tail; stands out for having an odoriferous gland on the back that continuously secretes a whitish liquid. This secretion can be considered a chemical signal. Chemical signals intra-specific action are called pheromones acting in physiology and development of individuals or directly in their behavior. In several mammalian species, the function of the scent gland development is regulated by gonadal hormones. This study's objective was to describe the morphology of scent gland and assess if its structure is influenced by testosterone. For this we used twelve collared peccary from the Centro de Multiplicação de Animais Silvestres of the Universidade Federal Rural do Semi-Árido, divided into groups: group I (newborns peccary), group II (adult collared peccaries), group III (adult castrated collared peccaries), group IV (castrated collared peccaries and treated with testosterone). All the procedures used were approved by the UFERSA's Ethics in Animals Use Commission (process number: 26/2013). The collared peccary were sacrificed, the scent glands were dissected and the length and width dimensions were measured. Posteriorly glands fragments were subjected to histological processing, histomorphometric analyzes were performed, the proliferative kinetics of glandular cells were also evaluated through the AgNORs count method. The peccaries had a scent gland with oval shape and showed in the center a central duct. Two regions were distinct and differentiated by the color. The cranial portion was clear (sebaceous glands) and the caudal portion was dark (sweat gland). The newborn animal scent gland showed histological differences when compared to adult animal's glands and after castration the gland underwent a process of involution which can be partially reversed with hormone replacement. The sebaceous portion of the scent gland was the most affected by castration. The results of histomorphometric data and AgNOR count showed that the sebaceous portion of the collared peccary scent gland is under strong influence of testosterone, since the decrease in testosterone levels in the blood resulting from castration, generated low proliferative activity and changes significant in their secretory units.

Keywords: Tayassuidae; Hormonal dependence; AgNOR.

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2:

Tabela 1 – Valores médios da proporção volumétrica da porção secretora e do tecido conjuntivo da glândula sebácea de catetos.....	53
Tabela 2 - Comprimento e largura média das glândulas de cheiro dos catetos.....	54
Tabela 3 - Valores médios da altura do epitélio, diâmetro do lúmen, proporção volumétrica tubular e extratubular da glândula sudorípara de catetos.....	59
Tabela 4 - Valores médio de AgNOR/núcleo nas células da glândula sebácea e sudorípara de catetos.....	61

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1 - Imagem do cateto (*Pecari tajacu*). Fonte: Bruna (2015) – arquivo pessoal..... 18

Figura 2 - Ilustração esquemática da glândula sebácea, associada ao folículo piloso, mostrando os diferentes estágios de diferenciação dos sebócitos. Fonte: Adaptado de NIEMANN E HORSLEY (2012)..... 24

Figura 3 - Modelo descrevendo compartimentos de células-tronco que contribuem para morfogênese do folículo piloso e da glândula sebácea. No início, células progenitoras comuns geram células-tronco localizadas em compartimentos distintos do folículo piloso na pele. Fonte: Adaptado de NIEMANN E HORSLEY (2012)..... 25

Figura 4 - Morfologia da glândula sudorípara écrina. A figura ilustra as partes distintas da glândula sudorípara écrina, mostrando o ducto intra-epidérmico, o ducto sudoríparo e a porção secretora enovelada. Fonte: Adaptado de LU E FUCHS (2014)..... 26

Capítulo 2

Figura 1 - A glândula de cheiro de um cateto adulto. Em A observe que a glândula é ovóide, e no centro há uma pequena teta (seta) da qual sai uma secreção esbranquiçada. Em B glândula de cheiro após remoção da pele. Note que há duas porções, a cranial que é clara (*) e a caudal que é escura (seta espessa). Barra de escala: (A) 4 cm; (B) 3 cm..... 51

Figura 2 - A glândula de cheiro do cateto recém-nascido observada ao microscópio de luz corada com hematoxilina e eosina. Em A fotomicrografia da porção sebácea. No destaque I observe que os alvéolos apresentam células basais (cabeça da seta), células poliédricas com citoplasma bem corado (seta) e núcleos com aspecto eucromático; os alvéolos convergem para um ducto interlobular e o maior indicio de acúmulo de sebo é restrita a essa região. Em B fotomicrografia da porção sudorípara; observe no destaque II que esta é tubular enovelada e que o lúmen é estreito (L), revestido por células cúbicas. Entre os túbulos verifique o tecido conjuntivo frouxo (TC). Barras de escala: (A) 226,0 µm; (B): 99, µm..... 56

Figura 3 - A glândula de cheiro do cateto adulto observada ao microscópio de luz corada com hematoxilina e eosina. Em A, fotomicrografia da porção sebácea. Observe que os alvéolos apresentam-se bem desenvolvidos; na região basal

verificamos a camada proliferativa com células cubóides, núcleo central, eucromático e com citoplasma eosinofílico (destaque I). No centro do alvéolo as células são maiores, globosas e com o citoplasma repleto de gotículas lipídicas (seta) e o núcleo em algumas células é picnótico (*). Em B observe parte de uma unidade secretora da porção sudorípara. Note que o lúmen apresenta-se distendido (L) e está revestido por um epitélio simples cúbico com um núcleo basal eucromático, verificamos ainda que o citoplasma é vacuolado e que na porção apical visualizamos projeções apicais sugestivas do mecanismo de secreção (seta espessa). Barras de escala: (A) 160,0 μm ; (B): 58,0 μm 57

Figura 4 – Comparação da organização histológica da porção sebácea da glândula de cheiro dos grupos dos catetos. (A) cateto recém-nascido, observe os alvéolos pouco desenvolvidos e bastante tecido conjuntivo ao seu redor (B) adulto; note os alvéolos bastante desenvolvidos, com uma delicada camada de tecido conjuntivo entre as unidades secretoras (C) castrado, observe que as unidades secretoras sofreram um processo de involução e o tecido conjuntivo ao seu redor aumentou (D) castrado tratado com testosterona, observe que os alvéolos se tornaram bem desenvolvidos gerando uma diminuição no tecido conjuntivo. Hematoxilina e eosina. Barras de escala: 104,0 μm 58

Figura 5 – Comparação da organização histológica da porção sudorípara da glândula de cheiro dos grupos dos catetos. (A) cateto recém-nascido, observe que os túbulos secretores são menores, com lúmen pequeno e bastante tecido conjuntivo ao seu redor (B) adulto; note que as unidades secretoras são maiores, o lúmen é grande, cheio de secreção e existe uma delicada camada de tecido conjuntivo entre os túbulos secretores (C) castrado, observe que as unidades secretoras sofreram uma pequena diminuição, o lúmen é distendido, contém secreção e o tecido conjuntivo ao seu redor aumentou (D) castrado tratado com testosterona, observe que os túbulos não estavam totalmente desenvolvidos, apresentavam secreções no lúmen e o tecido conjuntivo ao seu redor era abundante. Hematoxilina e eosina. Barras de escala: 104,0 μm 59

Figura 6 – Fotomicrografia da glândula sebácea corada pelo método de impregnação por prata. Os AgNORs são visualizados como grumos escuros no interior do núcleo das células da glândula. Em destaque, uma célula com AgNORs intranucleares proeminentes é apontada (seta). Barra de escala: 30,0 μm 60

SUMÁRIO

1 CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA.....	16
1.1 INTRODUÇÃO.....	16
1.2 REVISÃO DE LITERATURA.....	18
1.2.1 O cateto.....	18
1.2.2 Glândulas da pele.....	20
1.2.2.1 Glândula sebácea.....	20
1.2.2.2.4 Glândula sudorípara écrina.....	23
1.2.2.2.5 Glândula sudorípara apócrina.....	24
1.2.3 Glândulas especiais na pele.....	25
1.2.2.2.6.1 Glândula ceruminosa.....	25
1.2.2.2.6.5 Glândula lagrimal.....	26
1.2.2.2.6.6 Glândula prepucial.....	26
1.2.4 Inervação da pele.....	26
1.2.5 Feromônios.....	27
1.2.5.1 Caracterização dos feromônios.....	27
1.2.5.2 Produção de feromônios.....	28
1.2.5.3 Detecção de feromônios.....	30
1.2.5.3 Efeito do feromônio no comportamento animal.....	32
1.3 OBJETIVOS.....	34
1.3.1 Geral	34
1.3.2 Específicos	34
1.4 REFERÊNCIAS	35
2 CAPÍTULO 2 – A ORGANIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE CHEIRO DO CATETO (<i>Pecari tajacu</i>) DEPENDE DE SINALIZAÇÃO POR TESTOSTERONA.....	40
2.1 RESUMO	41
2.2 INTRODUÇÃO	42
2.3 MATERIAL E MÉTODOS	44
2.3.1 Animais	44
2.3.2 Castração.....	44

2.3.3 Reposição hormonal	44
2.3.4 Avaliações macroscópicas e processamento histológico.....	45
2.3.5 Impregnação por prata e contagem de AgNOR.....	46
2.3.6 Análise estatística.....	46
2.4 RESULTADOS.....	47
2.4.1 Características morfológicas da glândula de cheiro do cateto.....	47
2.4.2 Características histológicas da glândula de cheiro do catetos.....	47
2.4.3 Efeito da castração e da reposição hormonal sobre a morfologia da glândula de cheiro.....	49
2.4.4 Atividade proliferativa da glândula de cheiro dos catetos.....	55
2.5 DISCUSSÃO	57
2.6 AGRADECIMENTOS.....	63
3 REFERÊNCIAS.....	64
ANEXOS	67
ANEXO I – ARTIGO: THE HISTOLOGICAL ORGANIZATION COLLARED PECCARY SCENT GLAND (<i>Pecari tajacu</i>) SIGNALING DEPENDS BY TESTOSTERONE (Artigo submetido ao periódico Anatomia, Histologia, Embryologia.....	68
ANEXO II – PARECER DO PROJETO ENCAMINHADO AO CEUA-UFERSA.....	91

1 CAPÍTULO 1 – REVISÃO DE LITERATURA

1.1 INTRODUÇÃO

A comunicação por sinal químico é uma das formas mais utilizadas entre as espécies como forma de interação. Dentre os sinais químicos liberados por mamíferos, enviar poderosas mensagens com efeitos que modulam o comportamento pode ser de grande importância social (PONMANICKAM, 2010). Os sinais químicos que geram comunicação entre organismos são chamados semioquímicos. Se provocarem comunicação entre indivíduos de espécies diferentes são denominados aleloquímicos; se a comunicação for entre indivíduos da mesma espécie são chamados feromônios (MCCLINTOCK, 2002).

Feromônios de mamíferos estão envolvidos em comportamentos reprodutivos, como a atração sexual (REKWOT et al., 2001; ACHIRAMAN; ARCHUNAN, 2002), interface com a puberdade, ciclo estral e gravidez (DOMINIC, 1991; ARCHUNAN, 2009) bem como, com comportamentos sociais, tais como marcação territorial (PODDAR-SARKAR; BRAHMACHARY, 1999), interação entre mãe e seu filhote (BROUETTE-LAHLOU et al., 1999) e iniciação de agressão (THOMSON et al., 2007). As principais fontes de liberação de feromônios são as secreções das glândulas odoríferas (MYKYTOWYCZ, 1972; JOHNSTON, 1990), urina (JEMIOLO et al., 1987; HURST, 1990) e fezes (SANKAR; ARCHUNAN, 2008).

O cateto (*Pecari tajacu*) apresenta uma glândula odorífera no dorso, que secreta continuamente um líquido esbranquiçado (WALLACH; BOEVER, 1983). Tal secreção pode ser considerada um sinal químico (EPLING, 1956; NOGUEIRA-FILHO, 1999). Estes sinais químicos das glândulas odoríferas são produzidos na pele pelas glândulas apócrinas (SCHUMMER et al., 1981) e/ou pelas glândulas sebáceas especializadas (GOODRICH;

MYKYTOWYCZ, 1972). Em várias espécies de mamíferos, a função e o desenvolvimento das glândulas odoríferas podem ser regulados por hormônios gonadais em ambos os sexos (BALAKRISHNAN; ALEXANDER, 1985; FERKIN; JOHNSTON, 1993).

Dessa forma este trabalho teve por objetivo especular o desenvolvimento e a regulação da atividade secretora da glândula de cheiro de catetos machos através da influência da testosterona, descrevendo sua morfologia e avaliando se sua estrutura é influenciada por esse hormônio. O referido conhecimento é importante visto que as secreções emitidas pelas glândulas de cheiro dos catetos podem ser de grande importância econômica, nomeadamente no controle reprodutivo, uma vez que feromônios estão envolvidos com padrões comportamentais e são capazes de influenciar a atividade gonadal. Além do que, estudos morfológicos e histológicos da glândula de cheiro desses animais são fundamentais para facilitar o entendimento da fisiologia reprodutiva e interação social entre esses animais.

1.2 REVISÃO DE LITERATURA

1.2.1 O cateto

O cateto (*Pecari tajacu*, LINNAEUS, 1758) é uma espécie exclusiva das Américas, que pode ser encontrado em todo o continente americano do Novo México, nos Estados Unidos da América e no norte da Argentina. Esta espécie (Fig. 1) pertence ao reino Animalia, filo Chordata, classe Mammalia, ordem dos Artiodáctilos, subordem Suiforme e família Tayassuidae (SOWLS, 1997).

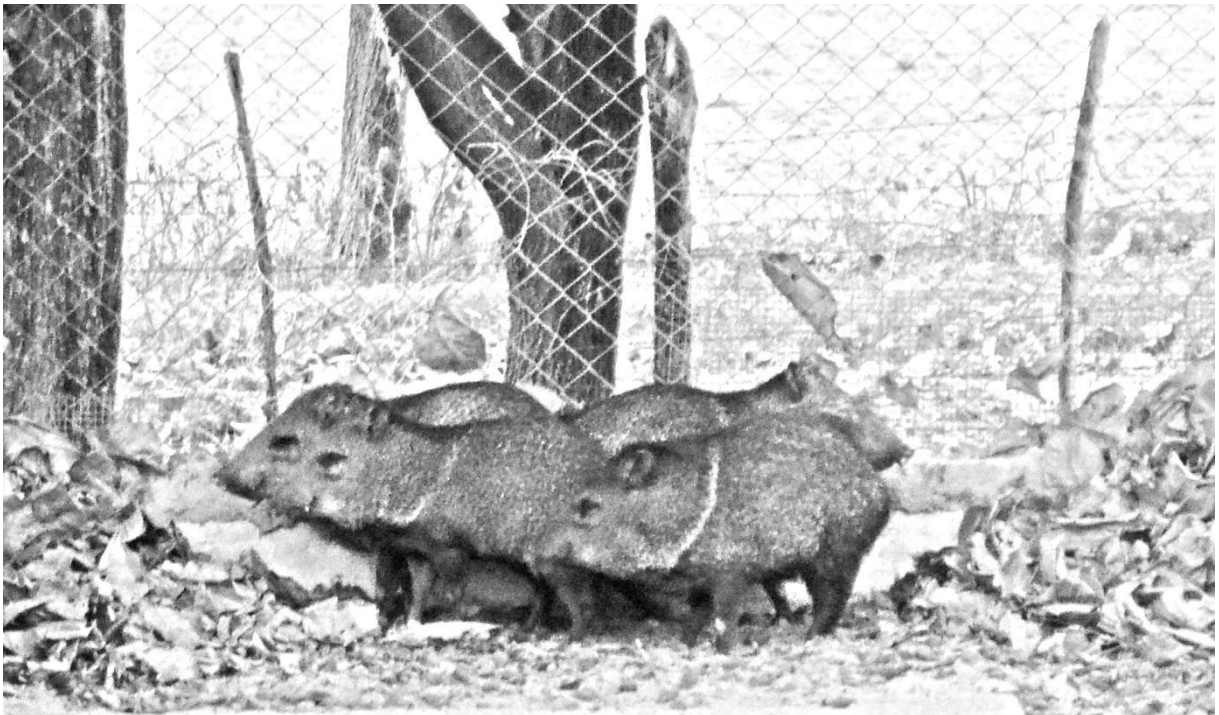


Figura 1 – Imagem do cateto (*Pecari tajacu*). Fonte: Bruna (2014) – arquivo pessoal.

O cateto caracteriza-se por possuir uma pelagem escura, castanho-cinza, sendo mais escura nos membros e ao longo de sua crista dorsal, com uma faixa esbranquiçada que atravessa o peito de ombro a ombro (GROVES; GRUBB, 1993). Apresentam quatro dígitos no membro torácico e três no membro pélvico, olhos e orelhas pequenas, cauda muito curta e membros proporcionalmente delgados em contraste ao corpo robusto (ORR, 1986). Esses animais são altamente sociais e cooperativos, vivendo constantemente unidos em manadas; as

fêmeas mostram certo grau de filopatria e em seus grupos existem altas taxas de parentesco. O grau de parentesco nesses animais é importante uma vez que, parentes são mais próximos e apresentam interações amigáveis e menos agonistas (BIONDO, 2014).

Esses animais são semelhantes aos porcos domésticos e aos javalis, mas não são porcos (COSTA et al., 2004). Várias características anatômicas os tornam diferentes, tais como: uma cauda muito curta, o osso da perna fundido ao do pé que resulta em três dígitos na pata posterior, a ausência de vesícula biliar e a presença de um estômago compartimentalizado em estômago glandular, bolsa gástrica e dois sacos cegos (GROVES; GRUBB, 1993).

A anatomia do palato do cateto tem um arranjo típico semelhante ao observado em outros mamíferos, apresentando principalmente uma única papila incisiva, uma série de rugas e um acúmulo de tecido linfóide no palato mole (TEÓFILO et al., 2013).

Uma característica marcante nessa espécie é a presença de uma glândula de cheiro localizada dorsalmente a uma distância de aproximadamente 15 a 20 cm da base de seu rabo. A glândula de cheiro emite um odor forte, que é usado em funções sociais (HANNON et al., 1991). Este órgão produz secreções odoríferas com funções de demarcação de território, reconhecimento social e manutenção da proximidade de grupo (BYERS; BEKOFFE, 1981). A secreção emitida pela glândula de cheiro do cateto pode ser considerada um sinal químico (EPLING, 1956; NOGUEIRA-FILHO, 1999). Estes sinais químicos das glândulas odoríferas são produzidos na pele pelas glândulas apócrinas (SCHUMMER et al., 1981) e/ou pelas glândulas sebáceas especializadas (GOODRICH; MYKYTOWYCZ, 1972).

No Brasil, *Pecari tajacu*, vem sendo amplamente criado em cativeiro devido à exploração econômica da sua carne e couro. A carne desses animais é de excelente perfil lipídico devido à presença de quantidades consideráveis de ácido linoléico e quantidades de

colesterol menores do que as encontradas em carnes de outras espécies (LOPES et al., 2007). Além do que, seu couro é usado em confecções de artigos de luxo (RAMOS et al., 2009).

1.2.2 Glândulas da pele

1.2.2.1 Glândula sebácea

As glândulas sebáceas estão na derme em todo o tegumento, exceto nas palmas das mãos e plantas dos pés. A secreção eliminada pelas glândulas sebáceas, chamada sebo, é uma mistura de lipídeos compreendendo triglicerídeos e colesterol. Elas apresentam uma estrutura lobular formada por ácinos e sua atividade secretora é muito pequena até a puberdade, uma vez que sofre influência de hormônios sexuais (FAWCETT, 1995).

Como componente crucial da unidade pilossebácea, a glândula sebácea está ligada a zona juncional do folículo piloso. Esta região encontra-se abaixo do infundíbulo folicular e acima da região do bulbo e do istmo do folículo piloso. A camada basal da glândula é composta por células proliferativas que são contíguas com a camada mais externa do folículo piloso. No interior da glândula existem sebócitos cheios de lipídeos e queratinócitos especializados. A lise destas células resulta na liberação de lipídeos distintos ou sebo, através de um canal especializado na superfície da pele (NIEMANN; HORSLEY, 2012).

A contínua produção de sebo e regeneração da glândula sebácea requer reposição de sebócitos por células indiferenciadas da camada basal proliferativa. As células das linhagens epiteliais são constantemente renovadas ao longo da vida e são sustentadas por divisão celular dos queratinócitos basais. Estas células basais estão cercadas por uma membrana basal que separa o epitélio do tecido dérmico vizinho (THODY; SHUSTER, 1989).

Devido ao fato da glândula sebácea apresentar secreção holócrina, os sebócitos sofrem estágios de maturação em locais distintos (Figura 2). Ao lado da única camada de

queratinócitos basais da camada periférica, segue a zona de maturação. Como os sebócitos se tornam mais maduro e acumulam progressivamente lipídeos, eles são empurrados do centro da estrutura glandular para a zona de necrose. Nessa região, sebócitos totalmente maduros têm núcleos picnóticos, indicando de que eles estão prestes a se degenerar (NIEMANN; HORSLEY, 2012).

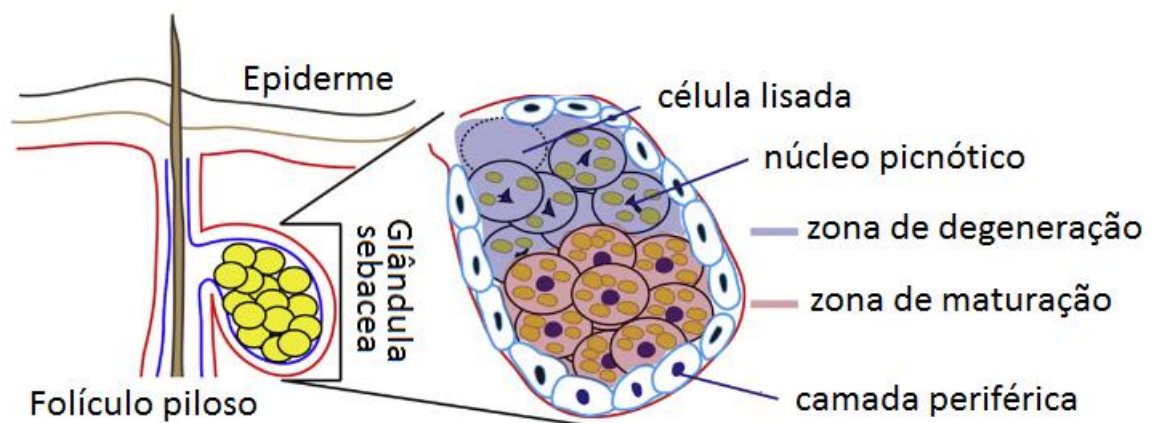


Figura 2. Ilustração esquemática da glândula sebácea, associada ao folículo piloso, mostrando os diferentes estágios de diferenciação dos sebócitos. Fonte: Adaptado de NIEMANN E HORSLEY (2012).

A complexidade da estrutura do epitélio da pele é gerada durante o desenvolvimento, quando a superfície da ectoderme se torna restrita às linhagens epidérmicas. Uma única camada de células epidérmicas começa a proliferar e se diferenciar para estratificar e formar a epiderme interfolicular. Células mesenquimais especializadas também se desenvolvem sob a epiderme. O desenvolvimento da unidade pilossebácea começa com a geração do compartimento folicular quando as células progenitoras começam a crescer para dentro do mesênquima para gerar todas as linhagens das células do folículo piloso. Com base em vários critérios morfológicos, o processo de formação da unidade pilossebácea tem sido classificado em oito fases distintas (PAUS et al., 1999; MILLAR, 2002). Os sebócitos começam a

aparecer do estágio 5 da morfogênese do folículo piloso e no estágio 6 os sebócitos formam as glândulas sebáceas (PAUS et al., 1999).

Nos estágios iniciais da morfogênese do folículo piloso, as células expressam os genes Sox9 e Lrig1. Experimento de rastreio de linhagem genética verificando o destino de células que expressam o Sox9 no início do desenvolvimento do folículo piloso, tem demonstrado que essas células podem gerar células do folículo piloso e células das glândulas sebáceas. Além disso, a ablação do gene Sox9 resulta na ausência de glândulas sebáceas (NOWAK et al., 2008).

Como precede a morfogênese do folículo piloso, tão cedo Sox9+, Lrig1+ e células progenitoras geram distintos agrupamentos de células estaminais imediatamente antes dos primeiros sebócitos emergirem. As células que expressam o gene Sox9 são separada de células que expressam Lrig1+ e são confinadas a região do bojo do folículo piloso (Figura 3). No entanto, as células que expressam o gene Lrig1 permanecem na parte superior do folículo piloso onde sebócitos maduros estão prestes a surgir (FRANCES; NIEMANN, 2012).

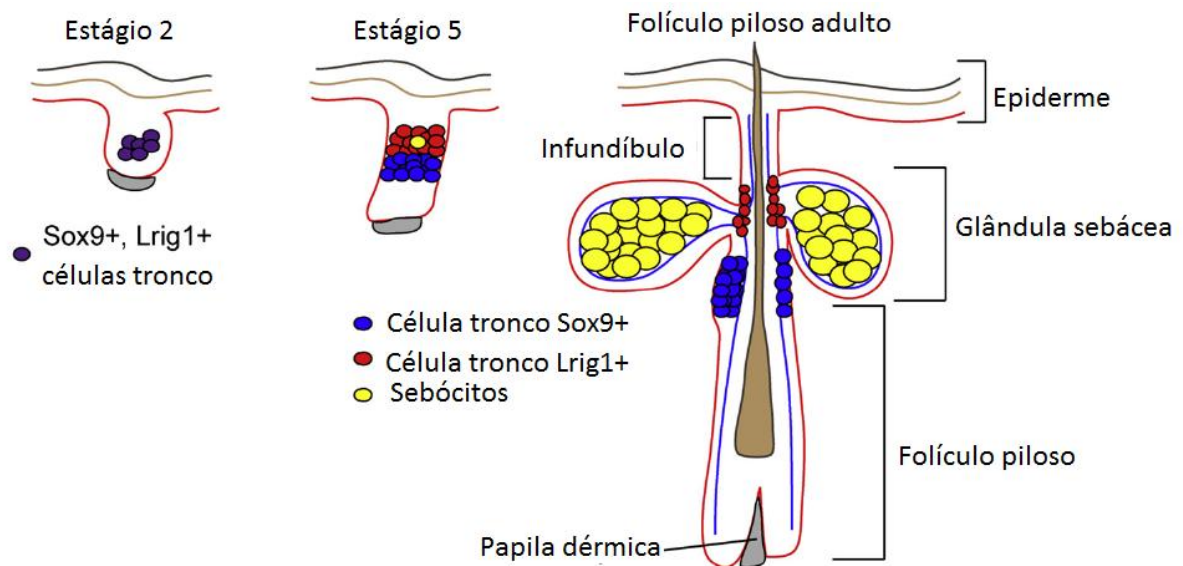


Figura 3. Modelo descrevendo compartimentos de células-tronco que contribuem para morfogênese do folículo piloso e da glândula sebácea. No início, células progenitoras comuns geram células-tronco localizadas em

compartimentos distintos do folículo piloso na pele de um adulto. Fonte: Adaptado de NIEMANN E HORSLEY (2012).

1.2.2.2 Glândula sudorípara écrina

A função principal das glândulas sudoríparas écrinas é produzir o suor que serve para diminuir a temperatura do corpo quando está quente. Esta estrutura possui secreção merócrina e não desemboca em folículos pilosos, mas sim diretamente na superfície da epiderme. A glândula écrina é formada por partes distintas: uma porção secretora tubular, um ducto de reabsorção e um ducto intra-epidérmico (Figura 4) (SAGA, 2002).

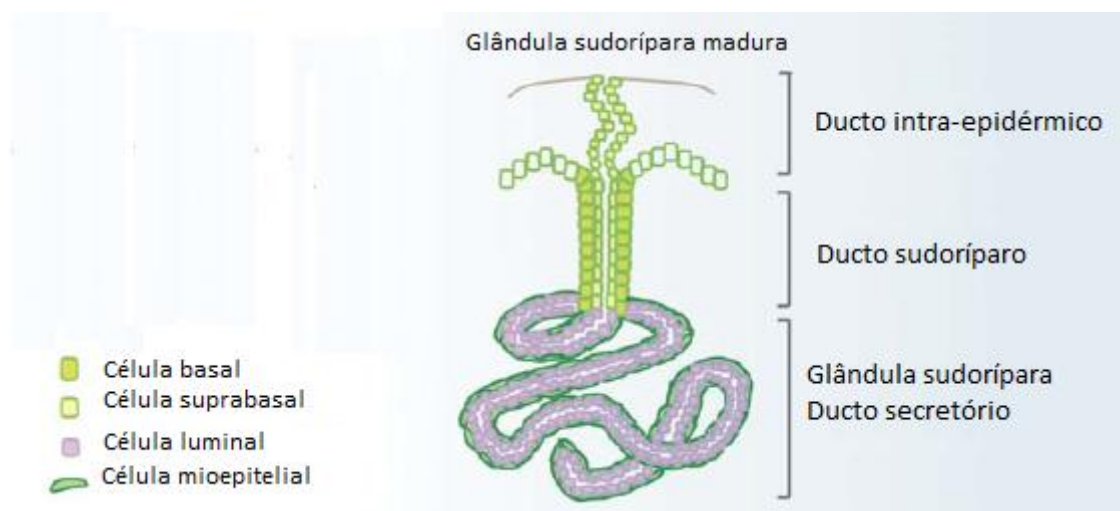


Figura 4. Morfologia da glândula sudorípara écrina. A figura ilustra as partes distintas da glândula sudorípara écrina, mostrando o ducto intra-epidérmico, o ducto sudoríparo e a porção secretora enovelada. Fonte: Adaptado de LU E FUCHS (2014).

O suor, secretados pelas glândulas écrinas, é uma solução diluída de eletrólitos que contém principalmente cloreto de sódio (NaCl), potássio (K), e bicarbonato (HCO_3). Além disso, ele contém compostos inorgânicos, tais como lactato, uréia, amoníaco, aminoácidos e várias proteínas. Os eletrólitos presentes no suor primário são reabsorvidos no ducto para gerar um fluido hipotônico antes de ser liberado para a superfície da pele (SATO, 1989).

Os túbulos secretores são compostos por três tipos de células: células escuras, claras (secretoras) e mioepiteliais. A célula clara dos túbulos secretores é caracterizada pela presença

de invaginações da membrana basal (o sítio de Na - K ATPase), vilosidades na membrana, canalículos intercelular que se abre dentro do lúmen e mitocôndrias abundantes localizados perto da membrana basolateral, o que indica que a célula clara está envolvido na secreção ativa de eletrólitos e água. A célula clara também tem receptores para neurotransmissores colinérgicos e adrenérgicos (SAGA, 2002).

A atividade das glândulas sudoríparas ecrinas é intermitente e provavelmente cíclica. Depende da inervação ortossimpática e responde a um determinado tipo de mediação fisiológica colinérgica (receptores muscarínicos para acetilcolina). Assim, atropina pode inibi-la. Além disso, os nervos periglandulares contêm grandes quantidades de ATP e neurotransmissores, tais como o peptídeo intestinal vasoativo, o peptídeo natriurético atrial e o peptídeo relacionado com o gene da calcitonina (PIÉRARD et al., 2014).

1.2.2.3 Glândula sudorípara apócrina

As glândulas sudoríparas apócrinas estão localizadas na derme e hipoderme, elas se originam do epitélio dos folículos pilosos como um brotamento epitelial que se desenvolve em uma glândula. Seus dutos penetram o folículo logo acima da entrada do ducto sebáceo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2010). Essa glândula é a mais frequentemente encontrada em mamíferos domésticos. Sua secreção ligeiramente alcalina de caráter viscoso, aquoso e sem cheiro, adquire um odor desagradável e característico devido à presença de bactérias na pele, determinando o odor característico nos indivíduos. O produto de secreção dessa glândula contém uma mistura complexa de proteínas, lipídeos, esteróides, água e eletrólitos (GARTNER, 2011).

Glândulas sudoríparas apócrinas são maiores do que as glândulas sudoríparas ecrinas. Elas são constituídas por unidades secretoras e por ductos. A porção secretora

apresenta um lúmen grande e é formada por uma camada simples de células cúbicas a colunares, que podem se tornar pavimentosas, caso a luz da glândula seja preenchida por secreção. Células mioepiteliais circundam a porção secretora das glândulas sudoríparas apócrinas e vão auxiliar na expulsão do produto de secreção para o ducto das glândulas. As membranas das células secretoras mostram microvilosidades apicais e pequenas vesículas são observadas dentro do citoplasma (SAGA, 2002).

Glândulas apócrinas já estão presentes no nascimento, mas tornam-se totalmente ativas durante a puberdade (SATO, 1989). O funcionamento das glândulas apócrinas inicia sob a influência dos androgênios, tendo pouco efeito na termorregulação. Elas são ativadas por fibras nervosas simpáticas durante eventos de dor e estresse. Como sua ativação aumenta na estimulação sexual, e elas aumentam e diminuem durante o ciclo menstrual feminino, acredita-se que sejam os equivalentes humanos das glândulas sexuais odoríferas de outros animais (MARIEB; KATJA, 2009).

O fato do nome dado as glândulas sudoríparas apócrinas, é explicado pelo seu tipo de secreção. Pensava-se que seu produto de secreção continha porção do citoplasma das células secretoras. Entretanto, a microscopia eletrônica mostrou evidências de que nenhuma porção das células secretoras é eliminada, por isso a forma é merócrina. No entanto, a glândula ainda mantém o nome original (GARTNER, 2011).

1.2.3 Glândulas especiais na pele

1.2.3.1 Glândulas ceruminosas

A pele que reveste o meato acústico externo é continua com a da aurícula, e em sua parte mais profunda, contém folículos pilosos, glândulas sebáceas e glândulas apócrinas modificadas denominadas glândulas ceruminosas. As secreções de ambos os tipos de

glândulas contribuem para a formação do cerume, de tonalidade amarelada. As glândulas ceruminosas são glândulas tubulares altamente ramificadas, enoveladas, que apresentam células secretoras cúbicas no revestimento do lúmen glandular e uma camada mais profunda de células mioepiteliais (OVALLE; NAHIRNEY, 2011). O citoplasma das células secretoras contém corpos residuais e grânulos de pigmento. Os ductos excretores das glândulas abrem-se diretamente sobre a superfície da pele ou no canal de um folículo piloso. O cerume, rico em lipídeos, tem propriedades hidrofóbicas e ácidas para a proteção contra patógenos e infecções. Ele também contém lisozima, uma enzima bactericida (OVALLE; NAHIRNEY, 2011).

1.2.3.2 Glândula lacrimal

A glândula lacrimal fica na fossa lacrimal, situada na região súpero-lateral da órbita. Esta é uma glândula serosa, acinosa composta, que se assemelha a glândula parótida. Células mioepiteliais envolvem totalmente os ácinos secretores. O fluido lacrimal é composto principalmente por água. Esse líquido estéril, que contém lisozima, é um fluido antibacteriano (GARTNER, 2011).

1.2.3.3 Glândula prepucial

As glândulas sudoríparas apócrinas e sebáceas no interior do prepúcio produzem secreções que se combinam com células descamadas para formar a substância friável conhecidas como esmegma. Sua secreção confere ao macho seu odor característico (DYCE, 2010).

1.2.4 Inervação da pele

A pele é o maior órgão sensorial do corpo. A derme apresenta um rico suprimento nervoso, como: uma complexa rede de nervos sensitivos e inervação simpática eferente dos pelos; fascículos nervosos abundantes, contendo fibras nervosas mielínicas e amielínicas, que

formam extensos plexos subpapilares na derme. As fibras nervosas que entram na epiderme perdem suas bainhas de mielina e terminam por entre as células epidérmicas como terminações nervosas livres ou intimamente associadas às células de Merkel, que atuam como receptores táteis. Localizados nas papilas dérmicas, os corpúsculos de Meissner são mecanorreceptores que medeiam o tato. Já os receptores para pressão profunda, os corpúsculos de Pacini, são encapsulados, maiores, situados em regiões mais profundas da derme e do tecido subcutâneo (OVALLE, 2011).

1.2.5 Feromônios

1.2.5.1 Caracterização dos feromônios

Sinais são definidos como características comportamentais, fisiológicas e morfológicas formadas ou mantidas por seleção natural. Estudos comportamentais entre animais da mesma espécie são estabelecidos principalmente devido ao modo como estes se comunicam, aos sinais químicos emitidos e a maneira de captar e interpretar esses sinais químicos (OTTE, 1974).

A comunicação química envolve a produção e liberação de sinais químicos específicos pelo emissor e a detecção e processamento olfativo desse sinal, com uma resposta comportamental apropriada, pelo receptor (MCCLINTOCK, 2002).

Feromônios são sinais intercelulares, inodoros e invisíveis, que permitem que os animais da mesma espécie se comuniquem com outros membros por uma linguagem que não envolve sons ou sinais visuais, mas sim odores químicos que eles mesmos liberam para o meio ambiente (SOLOMONS; FRYHLE, 2004). De acordo com sua natureza e efeitos, eles são divididos em vários grupos. São chamados liberadores quando geram em poucos minutos alterações no sistema nervoso, desencadeando efeitos imediatos no comportamento do

receptor, tais como os que promovem o comportamento de acasalamento, atração sexual ou agressão entre machos. Os feromônios preparadores estimulam mudanças em eventos fisiológicos e neuroendócrinos que produzem efeitos mais duradouros no comportamento (MCCLINTOCK, 2002), tais como aqueles que resultam na secreção de hormônios, influenciando a ovulação ou a maturação de espermatozóides.

Em peculiar, prever-se que feromônios preparadores provocam a secreção do hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH) a partir do hipotálamo, que por sua vez desencadeia a liberação do hormônio luteinizante (LH) e do hormônio folículo estimulante (FSH) pela glândula pituitária (GRAMMER et. al., 2005). O LH em sinergia com o FSH estimula o crescimento folicular normal e ovulação em fêmeas. O FSH, nos machos, atua nas células germinativas dos túbulos seminíferos do testículo e é responsável pelo estímulo à espermatogênese, já o LH controla a produção e estimula a secreção de testosterona (JUNQUEIRA E CARNEIRO, 2008). Por último, feromônios sinalizadores são sinais químicos que fornecem uma variedade de informações para o indivíduo receptor, tais como: o sexo do emissor, status reprodutivo, idade e estado de dominância (SEMWAL, 2013).

1.2.5.2 Produção de feromônios

Feromônios de mamíferos são liberados principalmente por secreções produzidas pelas glândulas cutâneas, urina (JEMIOLO et. al., 1987; HURST, 1990) e fezes (SANKAR; ARCHUNAN, 2008). Estas fontes de feromônios contêm misturas de produtos naturais que variam com a espécie, sexo, idade e estado endócrino. As misturas de feromônios podem ser bastante complexas, por exemplo, camundongos machos não liberam uma única substância feromonal para mostrar sinais de masculinidade, mas sim lançam um coquetel de compostos voláteis e peptídeos andrógeno-dependentes (LIBERLES, 2013).

Numerosos compostos voláteis que são liberados na urina, supostamente regulam a fisiologia reprodutiva, atração por cheiro e comportamentos de agressão. Em ratos os compostos feromoniais ativos têm sido largamente identificados como substâncias voláteis que tendem a se ligar a proteínas excretadas na urina. A bexiga urinária e o conteúdo da glândula prepucial são atualmente conhecidos como fontes significativas de feromônios. Os feromônios liberados na urina de ratos que foram identificados até agora, pertencem a classes quimicamente distintas, como o 2,3-dehidro-exo-brevicomina, 2,5-dimetilpirazina, 2-heptanona, 6-hidroxi-6-metil-3-heptanona, 2-sec-butil-4,5-di-hidrotiazole, α -farneseno e β -farneseno. O 2-heptanona é um produto metabólico bastante comum, no entanto 6-hidroxi-6-metil-3-heptanona e 2,3-dehidro-exo-brevicomina são odorantes estruturalmente incomuns (NOVOTNY, 2003).

A maior parte da comunicação química em mamíferos é realizada por glândulas odoríferas, essas glândulas compreendem os principais meios de produção de feromônios entre os animais. As glândulas odoríferas têm sido extensivamente estudadas em diversas ordens de mamíferos com base em sua localização no corpo. Uma única espécie animal pode apresentar uma diversidade variada de glândulas. Os ratos, por exemplo, apresentam várias glândulas tegumentares, tais como: prepucial, glândulas no rosto, axila e flanco (PONMANICKAM et. al., 2010). O cateto (*Pecari tajacu*) apresenta uma glândula de cheiro na região dorsal de seu corpo (SOWLS, 1997). As cabras apresentam em sua pele a glândula corneal, localizada na região caudo medial na base do corno; a glândula subcaudal, localizada ventralmente na base da cauda; a glândula mental, situada no centro da região intermandibular e a glândula prepucial, localizada próximo do orifício prepucial abaixo da camada interna do prepúcio (VAN LANCKER et al., 2005). Coelhos selvagens apresentam pelo menos três glândulas na pele, a glândula submandibular situada sob o queixo, a glândula inguinal na

virilha e a glândula anal em volta da parte terminal do reto (MYKYTOWYCZ; GOODRICH, 1974). Os seres humanos possuem glândulas na base dos folículos pilosos, especialmente nas axilas e região genital (SEMWAL et. al., 2013). Os sinais químicos liberados por essas glândulas odoríferas são produzidos principalmente por dois tipos de glândulas cutâneas, as glândulas sebáceas que se desenvolvem em associação aos folículos pilosos e as glândulas sudoríparas (apócrinas ou merócrinas) (EBLING, 1972).

1.2.5.3 Detecção de feromônio

Os animais apresentam certos comportamentos em resposta a feromônios, os quais podem ter ação a partir de uma única molécula ou a partir de uma mistura de vários produtos químicos. Neurônios sensoriais localizados nos tecidos olfativos expressam diferentes quimiorreceptores que são capazes de detectar os feromônios. Os axônios desses neurônios projetam-se para regiões do bulbo olfatório e estimulam diferentes circuitos límbicos (LIBERLES, 2013).

Feromônios de mamíferos são detectados pelo sistema olfativo, que consiste em várias subestruturas sensoriais, incluindo o epitélio olfatório principal, órgão vomeronasal, gânglio Grüneberg e órgão septal (LIBERLES, 2013).

O epitélio olfatório principal contém milhões de neurônios sensoriais que detectam odores no ar e feromônios, os quais entram na cavidade nasal, através das narinas. Ele desempenha um papel importante na comunicação feromonal, uma vez que os neurônios presentes nesse epitélio detectam feromônios de mamíferos e outros produtos naturais com alta afinidade, incluindo componentes voláteis na urina, esteróides e aminas biogênicas (SPEHR et al., 2006; LIBERLES; BUCK, 2006; KELLER et al., 2007). Perda de sinalização do epitélio olfatório principal por ablação genética de moléculas olfativas sinalizadoras ou por

interrupção cirúrgica prejudica comportamentos que incluem o acasalamento, luta e fuga de predador (MANDIYAN et al., 2005; WANG et al., 2006; WEISS et al., 2011).

O órgão vomeronasal é um órgão sensorial que é encontrado na maioria dos mamíferos e desempenha um papel importante na detecção de feromônios. Ele está localizado acima do palato duro em ambos os septos nasal e é revestido com células receptoras cujos axônios projetam-se no bulbo olfatório acessório, que captam e enviam sinais para o hipotálamo (TIRINDELLI et al., 1998). A arquitetura do órgão vomeronasal é particularmente propícia para a detecção de macromoléculas solúveis em água, tais como proteínas e esteróides sulfatados, que são transmitidos durante o estímulo direto no contato animal (LUO et al., 2003).

O gânglio Grüneberg é composto por neurônios ciliados que residem na região anterior do nariz, esses neurônios detectam odores e expressam receptores olfatórios (FLEISCHER; BREER, 2010). O órgão septal é uma fina camada de neurônios sensoriais ciliados localizados no septo nasal ventral, e se assemelham aos neurônios do epitélio olfativo principal (MA et al., 2003).

O sistema vomeronasal tem sido o principal foco para a pesquisa de feromônios, no entanto, em alguns mamíferos os feromônios podem ser detectados pelo epitélio olfativo principal, como por exemplo, o feromônio androsterona em javali continua a induzir lordose, posição sexual favorável à cópula em porcas fêmeas, quando o órgão vomeronasal é bloqueado (DORRIES et al., 1997), o que demonstra ser detectado pelo sistema olfativo principal. O comportamento de amamentação das crias de coelho é provocado pelo feromônio 2-metil-but-2-enal e remoção do órgão vomeronasal não tem qualquer efeito sobre esse

comportamento, enquanto remoção do sistema olfativo principal elimina-o completamente (HUDSON; DISTEL, 1986).

1.2.5.4 Efeito do feromônio no comportamento animal

Vários estudos têm sido feitos para demonstrar um número de efeitos confirmados de feromônios sobre animais. O efeito “Lee-boot” descreveu a influência do ambiente social sobre ciclos reprodutivos; nesse estudo ratas fêmeas foram colocadas em uma mesma gaiola e foi observado que acontecem sincronia e prolongamento do ciclo estral entre elas (GRAMER et al., 2005).

O "efeito Whitten" mostrou que ratas fêmeas exibindo um ciclo estral prolongado e alojadas juntas, quando foram expostas a introdução de ratos machos em seu meio, ovularam ao mesmo tempo dentro de três ou quatro dias após a exposição aos odores do macho (SANTOS, 2002).

O "efeito de Bruce" mostrou o bloqueio de gestação quando fêmeas recém-inseminadas foram expostas aos odores de machos que não eram seus companheiros originais. Nesse estudo foi observado que ocorreu mais aborto do que era esperado ao acaso e dentro de três a seis dias após o aborto, ocorreu acasalamento com os machos desconhecidos. Gestantes de camundongos que foram expostas a odores de machos conhecidos, não apresentam gestação alterada e a inclusão de machos castrados e juvenis não alterou a gestação (BRUCE, 1959).

No reflexo de Flehmen, o macho faz o movimento de estender a cabeça e o pescoço, contrair as narinas, elevar e curvar o lábio superior. Esse reflexo é realizado para facilitar a introdução de partículas, como os feromônios, contidas na urina das fêmeas no meio exterior para o órgão vomeronasal nos machos. Este comportamento, normalmente ocorre após o

macho ter cheirado a urina da fêmea. As cheiradas e o reflexo de Flehmen permitem a identificação pelo macho, do estado fisiológico da fêmea (LADEWIG et al.,1980). E finalmente, um efeito bastante citado na literatura é o “Vandenburgh”, onde afirmou que ratas fêmeas jovens (com 20 dias após o desmame) expostas a odores de ratos adultos machos entram na puberdade precocemente, quando comparadas com fêmeas da mesma idade que não foram expostas a tais odores (VANDENBERGH, 1983). Esse fenômeno deve ter sido ocasionado através da liberação de feromônios masculinos estimulando a puberdade, provavelmente através da liberação do hormônio luteinizante (LH), que estimula o crescimento folicular fazendo com que as ratas fêmeas estejam aptas a acasalar mais cedo.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 GERAL

Descrever a macroscopia e microscopia da glândula de cheiro do cateto (*Pecari tajacu*) e analisar o efeito da castração sobre sua estrutura.

1.3.2 ESPECÍFICOS

Descrever a morfologia externa e caracterizar a organização histológica da glândula de cheiro dos catetos, por meio da microscopia de luz;

Verificar as variações morfológicas, morfométricas e histomorfométricas da glândula de cheiro dos catetos causados pela depleção de testosterona;

Analisar a atividade proliferativa da glândula de cheiro dos catetos por meio da contagem de AgNOR;

1.4 REFERÊNCIAS

- ACHIRAMAN, S.; ARCHUNAN, G. Urinary proteins and pheromonal communication in mammals. **Indian journal of experimental biology**, v. 40, n. 9, p. 1077-1078, 2002.
- ARCHUNAN, G. et al. Vertebrate pheromones and their biological importance. **Journal of Experimental Zoology, India**, v. 12, n. 2, p. 227-239, 2009.
- BALAKRISHNAN, M.; ALEXANDER, K. M. Sources of body odour and olfactory communication in some Indian mammals. **Indian Rev Life Sci**, v. 5, p. 277-313, 1985.
- BIONDO, Cibele et al. Social structure of collared peccaries (Pecari tajacu): Does relatedness matter?. **Behavioural processes**, v. 109, p. 70-78, 2014.
- BRUCE, H. M. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. **Nature**, London, v. 184, p. 105, 1959.
- BYERS, J. A.; BEKOFF, M. Social, spacing, and cooperative behavior of the collared peccary, *Tayassu tajacu*. **Journal of Mammalogy**, p. 767-785, 1981.
- COSTA, D. S.; HENRY, M. R. G. M.; PAULA, T. A. R. Spermatogenesis in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 56, n. 1, p. 46-51, 2004.
- DYCE, K.M. Tratado de anatomia veterinária. **Elsevier Brasil**, p. 356, 2010.
- DOMINIC, C. J. Chemical communication in animals. **J. Sci. Res**, v. 41, p. 157-169, 1991.
- DORRIES, K.M.; ADKINS-REGAN, E.; HALPERN B.P. Sensitivity and behavioral responses to the pheromone androstenone are not mediated by the vomeronasal organ in domestic pigs. **Brain, behavior and evolution**, v. 49, n. 1, p. 53-62, 1997.
- EBLING, F.J. The response of the cutaneous glands to steroids. **General and Comparative Endocrinology**, v. 3, p. 228-237, 1972.
- EPLING, G. P. Morphology of the scent gland of the javelina. **Journal of Mammalogy**, p. 246-248, 1956.
- FAWCETT D. W.: Tratado de Histología – Bloom Fawcett. 12ª edição – **Editorial Mc Graw Hill Interamericana**, 1995. Disponível em: http://cursosvirtuales.cfe.edu.uy/semipresencial/file.php/1/01/Primer/8113Organizacion%20celular%20y%20tisular/paginas/unidades/unidad_4/temas/Unidad41/anexos/anexo16.pdf. Acesso: 24/07/2013
- FERKIN, Michael H.; JOHNSTON, Robert E. Roles of gonadal hormones in control of five sexually attractive odors of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). **Hormones and Behavior**, v. 27, n. 4, p. 523-538, 1993.

FLEISCHER, J.; BREER H. The Grueneberg ganglion: a novel sensory system in the nose. **Histology and histopathology**, v. 25, n. 7, p. 909-915, 2010.

FRANCES, D.; NIEMANN, C. Stem cell dynamics in sebaceous gland morphogenesis in mouse skin. *Developmental biology*, v. 363, n. 1, p. 138-146, 2012.

GARTNER, L. Tratado de histologia. **Elsevier Brasil**, p. 531, 2011.

GOODRICH, B. S.; MYKYTOWYCZ, R. Individual and sex differences in the chemical composition of pheromone-like substances from the skin glands of the rabbit, *Oryctolagus cuniculus*. **Journal of mammalogy**, p. 540-548, 1972.

GRAMMER, K.; FINK, B.; NEAVE, N. Human pheromones and sexual attraction. **European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology**, v. 118, n. 2, p. 135-142, 2005.

GROVES, C.P., GRUBB, P. The suborder Suiformes. Pigs, Peccaries and Hippos. **Status Survey and Conservation Action Plan**, p. 1–4, 1993.

HANNON, P. G. et al. Dorsal-gland activity in peccaries at various physiological states. **Journal of mammalogy**, p. 825-827, 1991.

HUDSON, R.; DISTEL, H. Pheromonal release of suckling in rabbits does not depend on the vomeronasal organ. **Physiology & behavior**, v. 37, n. 1, p. 123-128, 1986.

HURST, J.L. Urine marking in population of wild house mice (*Mus domesticus*): communication between the sexes. **Animal Behaviour**, v. 40, n. 2, p. 233-243, 1990.

JEMIOLO, B.; ALBERTS, J.; SOCHINSKI-WIGGINS, S.; HARVEY, S.; NOVOTNY, M. Behavioural and endocrine responses of female mice to synthetic analogues of volatile compounds in male urine. **Animal behaviour**, v. 33, n. 4, p. 1114-1118, 1985.

JOHNSTON, R.E. Chemical communication in golden hamsters: from behaviours to molecules and neural mechanisms. In: Dewsbury, D.A. (Ed.), **Contemporary Psychology**. Signaur Press, New York, pp. 381–409, 1990.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. **Editora Guanabara Googan S.A.** Rio de Janeiro, v. 10, p. 370, 2010.

KELLER, A.; ZHUANG, H.; CHI, Q.; VOSSHALL, L.B.; MATSUNAMI, H. Genetic variation in a human odorant receptor alters odour perception. **Nature**, v. 449, n. 7161, p. 468-472, 2007.

LADEWIG, JAN; HART, BENJAMIN L. Flehmen and vomeronasal organ function in male 326 goats. **Physiology & behavior**, v. 24, n. 6, p. 1067-1071, 1980.

LIBERLES, S. D. Mammalian Pheromones. **Annual review of physiology**, 2013. Acesso em 2 de janeiro de 2014. Disponível em: <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-physiol-021113-170334>

LIBERLES, S.D.; BUCK, L.B. A second class of chemosensory receptors in the olfactory epithelium. **Nature**, v. 442, n. 7103, p. 645-650, 2006.

LOPES, Kátia Regina Freire et al. Teores de colesterol e ácidos graxos em carne de catetos (*Tayassu tajacu*). **Revista Caatinga**, v. 20, n. 3, 2007.

LUO, M.; FEE, M.S.; KATZ, L.C. Encoding pheromonal signals in the accessory olfactory bulb of behaving mice. **Science**, v. 299, n. 5610, p. 1196-1201, 2003.

MA, M.; GROSMAITRE, X.; IWEMA, C.L.; BAKERH; GREER, C.A, SHEPHERD, G.M. Olfactory signal transduction in the mouse septalorgan. **The Journal of neuroscience**, v. 23, n. 1, p. 317-324, 2003.

MANDIYAN, V.S.; COATS, J.K.; SHAH, N.M. Deficits in sexual and aggressive behaviors in Cnga2 mutant mice. **Nature neuroscience**, v. 8, n. 12, p. 1660-1662, 2005.

MARIEB, E. N.; HOEHN, K. **Anatomia e fisiologia**. Artmed, p 141-143, 2009.

MCCLINTOCK, M. K. Pheromones, odors, and vasanas: the neuroendocrinology of social chemosignals in humans and animals. **Hormones, brain and behavior**, v. 1, p. 797-870, 2002.

MILLAR, Sarah E. Molecular mechanisms regulating hair follicle development. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 118, n. 2, p. 216-225, 2002.

MYKYTOWYCZ, R. The behavioural role of the mammalian skin glands. **Naturwissenschaften**, v. 59, n. 4, p. 133-139, 1972.

MYKYTOWYCZ, R.; GOODRICH, B. S. Skin glands as organs of communication in mammals. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 62, n. 3, p. 124-131, 1974.

NIEMANN, C.; HORSLEY, V. Development and homeostasis of the sebaceous gland. In: Seminars in cell & developmental biology. **Academic Press**, p. 928-936, 2012.

NOGUEIRA FILHO, S.L.G. Manual de criação de cateto e queixada. **Viçosa: Centro de Produções Técnicas**, p. 70, 1999.

NOVOTNY, M. V. Pheromones, binding proteins and receptor responses in rodents. **Biochemical Society Transactions**, v. 31, n. 1, p. 117-122, 2003.

NOWAK, Jonathan A. et al. Hair follicle stem cells are specified and function in early skin morphogenesis. **Cell stem cell**, v. 3, n. 1, p. 33-43, 2008.

ORR, R. T. Biologia dos vertebrados. San Francisco-California: **Academy of Sciences**, 5 ed, p.242, 1986.

OTTE, Daniel. Effects and functions in the evolution of signaling systems. **Annual Review of Ecology and Systematics**, p. 385-417, 1974.

OVALLE, W. N. **Bases da Histologia**. Elsevier Brasil, p. 255, 2011.

PAUS, Ralf et al. A comprehensive guide for the recognition and classification of distinct stages of hair follicle morphogenesis. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 113, n. 4, p. 523-532, 1999.

PIÉRARD, G.-E.; PIÉRARD-FRANCHIMONT, C.; HERMANNNS-LÊ, T. Secreciones sudorípara y sebácea. **EMC-Dermatología**, v. 48, n. 4, p. 1-9, 2014.

PODDAR-SARKAR, M.; BRAHMACHARY, R. L. Can free fatty acids in the tiger pheromone act as an individual finger print?. **Current science**, v. 76, n. 2, p. 141-142, 1999.

PONMANICKAM, Ponnirul et al. Identification of testosterone-dependent volatile compounds and proteins in the preputial gland of rat *Rattus norvegicus*. **General and comparative endocrinology**, v. 167, n. 1, p. 35-43, 2010.

RAMOS, EDUARDO MENDES et al. Rendimento de carcaça e de cortes comerciais de queixadas criados em cativeiro. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, v. 27, n. 2, 2009.

REKWOT, P. I. et al. The role of pheromones and biostimulation in animal reproduction. **Animal reproduction science**, v. 65, n. 3, p. 157-170, 2001.

SAGA, K. Structure and function of human sweat glands studied with histochemistry and cytochemistry. **Progress in histochemistry and cytochemistry**, v. 37, n. 4, p. 323-386, 2002.

SANKAR, R., ARCHUNAN, G. Identification of putative pheromones in bovine (*Bostaurus*) faeces in relation to estrus detection. **Animal reproduction science**, v. 103, n. 1, p. 149-153, 2008.

SANTOS BF. Criação e manejo de camundongos. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: **Editora Fiocruz**; p.115-8, 2002.

SATO, K. et al. Biology of sweat glands and their disorders. I. Normal sweat gland function. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 20, n. 4, p. 537-563, 1989.

SCHUMMER, August et al. The anatomy of the domestic animals. Volume 3. The circulatory system, the skin and the cutaneous organs of the domestic mammals. **Verlag Paul Parey**, 1981.

SEMWAL, A.; KUMAR, R.; TEOTIA, U.V.S.; & SINGH, R. Pheromones and their role as aphrodisiacs: A review. **Journal of Acute Disease**, v. 2, n. 4, p. 253-261, 2013.

SOWLS, L. K. Javelinas and others peccaries: Their biology, management and use. The **Texas A&M University**, College Station, Texas, p.324, 1997.

SOLOMONS, T. E FRYHLE, C. Organic Chemistry. 8th edition. Nova Iorque, **Wiley**, 156p, 2004.

SOWLS, L. K. Javelinas and others peccaries: Their biology, management and use. The Texas A&M University, **College Station, Texas**, 324 p., 1997.

SPEHR, M.; KELLIHER, K.R.; LI, X.H.; BOEHM, T.; LEINDERS-ZUFALL, T.; ZUFALL, F. Essential role of the main olfactory system in social recognition of major histocompatibility complex peptide ligands. **The Journal of neuroscience**, v. 26, n. 7, p. 1961-1970, 2006.

TEÓFILO, T. S. et al. Histology of Palate and Soft Palate Tonsil of Collared Peccary (*Tayassu tajacu*). **Anatomia, histologia, embryologia**, v. 43, n. 5, p. 361-368, 2013.

THODY AJ, SHUSTER S. Control and function of sebaceous glands. **Physiological Reviews**, 69:383–416, 1989.

THODY, A. J.; SHUSTER, S. Control and function of sebaceous glands. **Physiological reviews**, v. 69, n. 2, p. 383-416, 1989.

THOMSON, R.N., NAIPER, R., WEKESA, K.S. Chemosensory cues from the lachrymal and preputials stimulate production of IP3 in the vomeronasal organ and aggression in male mice. **Physiol. Behav.** v. 90, p.797–802, 2007.

TIRINDELLI, R.; MUCIGNAT-CARETTA, C.; RYBA, NJP. Molecular aspects of pheromonal communication via the vomeronasal organ of mammals. *Trends Neurosci*, 21:482–6, 1998.

VAN LANCKER, S.; VAN DEN BROECK, W.; SIMOENS, P. Morphology of caprine skin glands involved in buck odour production. **The Veterinary Journal**, v. 170, n. 3, p. 351-358, 2005.

VANDENBERGH, John. Pheromones and reproduction in mammals. **Elsevier**, 1983.

WALLACH, J. P., BOEVER, W. J. Diseases of Exotic Animals: Medical and surgical management. **Philadelphia: W. B. Saunders**, p. 631-632, 1983.

WANG, Z.; BALET SINDREU, C.; LI, V.; NUDELMAN, A.; CHAN, G.C.; STORM, DR. Pheromone detection in male mice depends on signaling through the type 3 adenylyl cyclase in the main olfactory epithelium. **The Journal of neuroscience**, 26.28: 7375-7379, 2006.

WEISS, J., PYRSKI, M., JACOBI, E., BUFE, B., WILLNECKER, V., SCHICK, B. & ZUFALL, F. Loss-of-function mutations in sodium channel Nav1.7 cause anosmia. **Nature**, 472 (7342), 186-190, 2011.

2 CAPÍTULO 2 – A ORGANIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE CHEIRO DO CATETO (*Pecari tajacu*) E SUA RELAÇÃO COM A TESTOSTERONA.

The histological organization collared peccary scent gland (*Pecari tajacu*) and its relationship with testosterone

Bruna Kaline Gorgônio de Azevedo; Mychel Raony Paiva Teixeira Moraes; Liana Falcão Lima; Stefferson Lucas Mendes Lima; José Domingues Fontenele-Neto

A organização histológica da glândula de cheiro do cateto (*Pecari tajacu*) e sua relação com a testosterona.

2.1 RESUMO

O cateto (*Pecari tajacu*) pertence à família Tayassuidae e destaca-se por apresentar uma glândula de cheiro na região dorsal de seu corpo, que libera continuamente uma secreção branca. O objetivo desse trabalho foi descrever a morfologia da glândula de cheiro e avaliar se sua estrutura é influenciada pela testosterona. Para isso foram utilizados doze catetos machos divididos em quatro grupos de três animais: grupo I (catetos recém-nascidos), grupo II (catetos adultos), grupo III (catetos adultos castrados), grupo IV (catetos adultos castrados e tratados com testosterona). Os catetos foram sacrificados, as glândulas de cheiro foram dissecadas e as dimensões de comprimento e largura foram mensuradas. Posteriormente fragmentos das glândulas foram submetidos ao processamento histológico, foram realizadas análises histomorfométricas, bem como se avaliou a atividade proliferativa das células glandulares através do método de contagem de regiões organizadoras de nucléolo argirofílicas. A glândula de cheiro era oval e exibia no centro um ducto central. Duas regiões eram nítidas e diferenciavam-se pela coloração. A porção cranial era clara (glândula sebácea) e a porção caudal era escura (glândula sudorípara). A glândula de cheiro de animais recém-nascidos apresentou diferenças histológicas quando comparado à glândula de animais adultos e após a castração a glândula sofreu um processo de involução que pode ser parcialmente revertido com a reposição hormonal. A porção sebácea da glândula de cheiro foi a mais afetada pela castração.

Palavras-chave: Tayassuidae; Dependência hormonal; AgNOR.

2.2 INTRODUÇÃO

A família Tayassuidae, pertence à Ordem Artiodactyla sendo representada por três gêneros e três espécies: *Pecari tajacu*, *Tayassu pecari* e *Catagonus wagneri* (GROVES; GRUBB, 1993; GONGORA; MORAN, 2005). Os catetos são os ungulados mais amplamente distribuídos, habitam desde o sudoeste dos Estados Unidos passando pela América Central, América do Sul até o Norte da Argentina. Os machos adultos pesam entre 21 a 35 kg e as fêmeas adultas entre 21 a 33 kg (BODMER et al., 1997). Eles vivem em grupos variando entre 1 a 20 indivíduos, dentro dos quais exibem dominância hierárquica, onde o macho dominante é o maior e mais pesado (HELLGREN et al. 1989).

Os catetos se reproduzem durante todo o ano, não existe época ideal para a cópula e nascimento de filhotes. O início da vida reprodutiva de ambos os sexos ocorre por volta dos 8 aos 16 meses de idade. O tamanho da ninhada varia de um a quatro filhotes, com desmame em torno de dois meses após o parto (GARCIA et al., 2009).

Esses animais apresentam uma glândula de cheiro localizada próximo à base de sua cauda, responsável por manter a comunicação entre esses indivíduos. As secreções liberadas pela glândula de cheiro estão relacionadas com a marcação territorial, comunicação social, reconhecimento do indivíduo e manutenção da proximidade do grupo, sendo captadas pelo olfato (BISSONETTE, 1982). Tem sido descrito uma variedade de funções para as secreções liberadas pelas glândulas localizadas na pele, acredita-se que glândulas secretórias associadas com os órgãos genitais, liberam compostos que influenciam o comportamento reprodutivo, enquanto aquelas localizadas em regiões ventrais, dorsais, cabeça e flanco secretam compostos relacionados a comportamentos territoriais e outros associados com status social (THOMPSON et al., 2007; BURGNER et al., 2009; ACHIRAMAN, et al. 2011; CEACERO et al., 2014).

Os principais componentes voláteis liberados nas secreções da glândula de cheiro de catetos em ambos os sexos são geranilgeraniol e esqualeno (WATERHOUSE, 1996), estes compostos podem possivelmente atuar como feromônios. Em várias espécies de mamíferos, a função do desenvolvimento de glândulas odoríferas é regulada por hormônios gonadais (WALES; EBLING, 1971; IWATA et al., 2000; PONMANICKAM et al. 2010). Dessa forma, o objetivo desse trabalho é verificar a morfologia da glândula de cheiro do cateto (*Pecari tajacu*) e a influência da testosterona na sua organização histológica.

2.3 MATERIAL E MÉTODOS

2.3.1 Animais

Neste experimento, foram utilizados doze catetos machos, provenientes do Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, registrado junto ao IBAMA como criadouro científico sob o número 1478912. Esses foram mantidos com comida e água *ad libitum*. Os animais foram divididos em quatro grupos de três animais: grupo I, recém-nascidos (10 dias de idade); grupo II, adultos intactos; grupo III, adultos castrados e grupo IV, adultos castrados e tratados com testosterona. Todos os procedimentos realizados foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (número do processo: 26/2013) da UFERSA.

2.3.2 Castração

Os animais do grupo III e IV foram privados de alimentos e água, durante 18 e 12 horas, respectivamente, e submetidos à anestesia geral induzida por administração intramuscular de cloridrato de tiletamina e cloridrato de zolazepam (2,2 mg/kg em partes iguais), em seguida os animais foram submetidos à técnica de orquiectomia (SANTOS et al., 1999). Após o procedimento cirúrgico os animais foram mantidos vivos por 30 dias.

2.3.3 Reposição hormonal

Os catetos do grupo IV, após castrados, tiveram um repouso de 10 dias. Logo em seguida os animais foram tratados com Durateston (Schering-Plough) administrado por via intramuscular a uma dose de 125 mg/cateto a cada três semanas, durante o período de 45 dias. Após o tratamento os catetos foram sacrificados.

2.3.4 Avaliações macroscópicas e processamento histológico

Após a morte dos animais as glândulas foram dissecadas e as dimensões de comprimento e largura foram mensuradas utilizando-se um paquímetro. Os fragmentos foram coletados e imediatamente fixados por meio de banho de imersão em methacarn (60% metanol, 30% clorofórmio, 10% ácido acético) por 24hrs. Em seguida os fragmentos foram submetidos ao processamento histológico, que consiste numa desidratação por meio de banhos de imersão em soluções de concentrações crescentes de etanol, diafanização em xilol e, por fim, impregnação em parafina histológica à 56°C. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo rotatório, obtendo-se cortes de 5,0 µm de espessura, os quais foram colocados em lâminas de vidro, previamente preparadas com albumina de Meyer. Em seguida, os cortes foram corados com hematoxilina e eosina (HE) e analisados usando o fotomicroscópio equipado com câmera digital DP72 CCD (Olympus BX51; Olympus OpticalCo.,Tokyo, Japan).

Os parâmetros histomorfométricos analisados das glândulas de cheiro foram: diâmetro do lúmen, altura do epitélio e proporção volumétrica dos compartimentos tubular e extratubular da porção sudorípara; além da proporção volumétrica das unidades secretoras da porção sebácea. As medições foram feitas em fotomicrografias utilizando o software de bioinformática NIH ImageJ v. 1.47 (U. S. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). Os valores foram expressos como média $\pm$ desvio padrão da média. O diâmetro do lúmen e altura do epitélio da glândula sudorípara foi determinado através da medição de 100 túbulos ao longo da glândula de todos os grupos dos catetos. A proporção volumétrica das unidades secretoras e do tecido conjuntivo ao seu redor foi determinada pelo método de contagem de pontos de intersecção em 10 campos aleatórios do parênquima glandular capturados num

aumento de 20x, utilizando uma grade projetada pelo o Image J sobre a fotomicrografia (SILVA, 2009). Os resultados foram expressos em porcentagem.

3.3.4 Impregnação por prata e contagem de AgNOR

A atividade proliferativa das glândulas de cheiro dos catetos foi avaliada pela contagem de regiões organizadoras de nucléolo argirofílicas (AgNOR). Para isso foram usados cortes de 5,0 µm de espessura, estes foram desparafinizados em xilol, lavados em etanol absoluto, pós-fixados com solução de etanol absoluto e ácido acético (3:1) por 30 min à temperatura ambiente, e então reidratados. A impregnação com prata foi feita usando uma solução aquosa de ácido acético 1% com gelatina 2% e solução aquosa de nitrato de prata 50% (1:2) por 30 minutos em sala escura à temperatura ambiente. Em seguida, os cortes foram lavados com água destilada e a reação foi bloqueada com solução aquosa de tiosulfato de sódio 5% por 5 minutos à temperatura ambiente (SIRI et al.,2000). Os cortes foram, então, desidratados e as lâminas foram montadas. A contagem de AgNOR foi um estudo duplo-cego: 50 campos aleatórios da glândula sudorípara e da glândula sebácea de todos os grupos dos catetos foram capturados num aumento de 100x, e os grânulos de prata foram contados em 100 núcleos de células do epitélio secretor . Os números médios de AgNOR/núcleo foram expressos como média ± desvio padrão da média.

3.3.5 Análise estatística

Os resultados foram analisados pelo teste ANOVA One-way seguido pelo teste de Tukey com nível de significância de 0,05%. Os testes estatísticos foram realizados utilizando o Software R versão 3.1.2 (Pumpkin Helmet).

2.4 RESULTADOS

2.4.1 Características morfológicas da glândula de cheiro do cateto

A glândula de cheiro possuía formato oval e havia no centro uma teta pelo qual era secretado um líquido branco (Figura 1A). No cateto recém-nascido a glândula media aproximadamente 2,7 cm de comprimento e 1,26 cm de largura, enquanto que no adulto o comprimento e largura mediam respectivamente 10,6 cm e 5,4 cm (Tabela 1). Após dissecção verificou-se que a glândula apresentava duas regiões: uma cranial e outra caudal. A região cranial, que representava a maior porção da glândula, era clara enquanto que a região caudal, menor, era escura (Figura 1B).

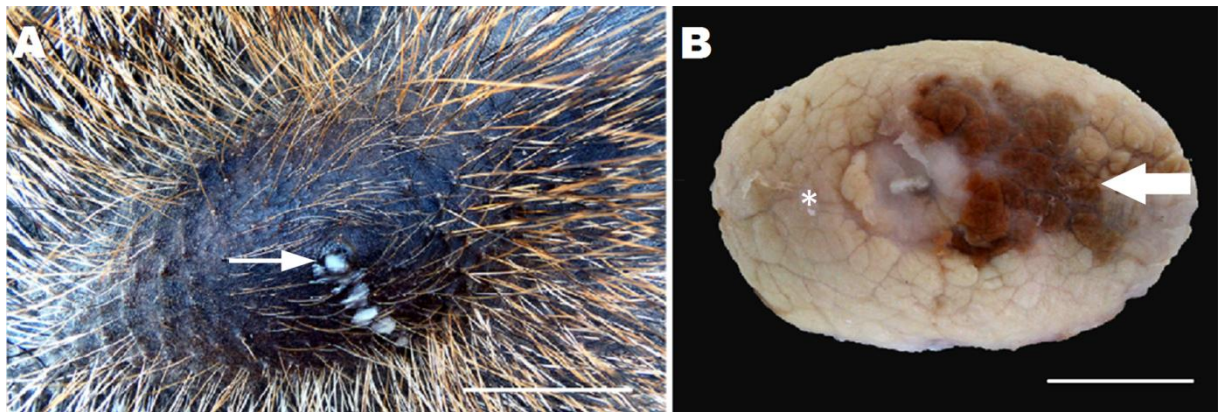


Figura 1 - A glândula de cheiro de um cateto adulto. Em A observe que a glândula é ovóide, e no centro há uma pequena teta (seta) da qual sai uma secreção esbranquiçada. Em B, glândula de cheiro após remoção da pele. Note que há duas porções, a cranial que é clara (*) e a caudal que é escura (seta espessa). Barra de escala: (A) 4 cm; (B) 3 cm.

2.4.2 Características histológicas da glândula de cheiro do cateto

Durante a análise por microscopia de luz verificou-se que as regiões da glândula de cheiro apresentavam organização histológica distinta. A porção cranial era formada por uma glândula do tipo sebácea, enquanto que a porção caudal era uma glândula sudorípara. Em

animais recém-nascidos a glândula sebácea apresentava-se cerca de 55% do seu volume ocupado pelas unidades secretoras (Tabela 2). As unidades secretoras dessa porção eram alveolares, ligeiramente lobuladas com perfil irregular, não apresentavam luz e eram compostas por um aglomerado de células em arranjo poliédrico. Um tecido conjuntivo frouxo circundava os pequenos lóbulos e nele encontravam-se vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. As células periféricas que formavam a camada germinativa apresentavam um núcleo central eucromático e citoplasma eosinofílico. As células localizadas no interior do alvéolo eram maiores, o citoplasma em sua grande maioria ainda era eosinofílico e o núcleo ligeiramente excêntrico. Os alvéolos eram ramificados, sem luz definida e convergiam para um ducto interlobular. Nesses animais, células com gotículas lipídicas acumuladas no citoplasma foram identificadas apenas na região do ducto interlobular, indicando pouca produção de sebo (Figura 2A).

Na glândula sudorípara dos animais recém-nascidos cerca de 65% do seu volume era constituído por túbulos secretores (Tabela 3). A porção sudorípara era formada por túbulos enovelados revestidos por um epitélio cúbico simples (Figura 2B) com aproximadamente 8,01 μm de altura e núcleo central. Nesses animais a glândula sudorípara se assemelhava a uma glândula do tipo écrina, pois não era possível verificar projeções apicais que caracterizavam o mecanismo de secreção apócrino e o lúmen era pequeno com aproximadamente 21,02 μm de diâmetro (Tabela 3).

Nos catetos adultos, a porção sebácea apresentava lóbulos alveolares, ramificados e com tecido conjuntivo frouxo ao seu redor. Nessa região, cerca de 82% era formada por unidades secretoras (Tabela 2). Os alvéolos apresentavam-se com formas irregulares e sem uma luz definida. Estes exibiam células periféricas de núcleo eucromático bem definido e citoplasma eosinofílico formando a camada germinativa. Acima da camada germinativa havia

um conjunto de células com diferentes graus de degeneração, núcleo heterocromático, algumas vezes picnótico e com citoplasma pouco eosinofílico evidenciando acúmulo de gotículas lipídicas (Figura 3A). Esses alvéolos convergiam para um ducto interlobular que se abria no ducto principal da glândula de cheiro, o ducto interlobular era revestido por um epitélio cúbico simples que se tornava estratificado próximo ao ducto principal.

Na porção sudorípara da glândula de cheiro dos catetos adultos verificamos a presença de túbulos enovelados revestidos por um epitélio cúbico simples, suas células mediam cerca de 10,77 μm de altura, o núcleo era basal e eucromático, o citoplasma se apresentava vacuolado e freqüentemente era observado, na região apical, projeções citoplasmáticas caracterizando o processo de secreção apócrino (Figura 3B). A luz dos túbulos apresentava aproximadamente 158,08 μm de diâmetro e células de núcleo achatado, heterocromático localizavam-se abaixo dos túbulos, sendo provavelmente células mioides. Cerca de 80% da glândula sudorípara era formado por túbulos (Tabela 3).

Tabela 1 – Comprimento e largura média das glândulas de cheiro dos catetos.

Parâmetros	Recém-nascido	Adulto	Castrado	Castrado tratado com testosterona
Comprimento (cm)	2,76 $\pm$ 0,25 ^c	10,66 $\pm$ 0,76 ^a	5,83 $\pm$ 0,76 ^b	9,70 $\pm$ 0,17 ^a
Largura (cm)	1,26 $\pm$ 0,21 ^c	5,40 $\pm$ 0,29 ^a	3,60 $\pm$ 0,41 ^b	4,50 $\pm$ 0,41 ^{ab}

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Médias na mesma linha com letras minúsculas diferentes diferem entre si ($p < 0,05$). Teste de Tukey.

2.4.3 Efeito da castração e da reposição hormonal sobre a morfologia da glândula de cheiro

A morfologia das diferentes regiões da glândula de cheiro nos catetos castrados mostrou variações. A principal modificação foi a diminuição do tamanho da glândula e a relação proporcional entre unidade secretora e estroma (Figura 4, 5). Nos animais castrados o

comprimento da glândula era de 5,83 cm e sua largura 3,60 cm (Tabela 1), isso significa dizer que houve uma redução de 44% no comprimento e 33% na largura da glândula de cheiro dos animais castrados comparados aos não castrados.

Quando se analisou a proporção volumétrica, verificou-se que as unidades secretoras da glândula sebácea passaram a representar 59% do seu volume (Tabela 2). Com isso a porção secretora passou a ocupar um volume 28% menor que no animal não castrado.

Em relação à porção sudorípara verificou-se que as unidades secretoras representavam cerca de 65% (Tabela 3), dessa forma houve uma redução no volume relativo ocupado pelos túbulos de aproximadamente 18%. Além do que, o lúmen e as células das unidades secretoras passaram a apresentar um diâmetro médio de 141,56 μm e 16,27 μm , respectivamente. Nesse caso, a redução do lúmen foi de 10% e as células epiteliais tiveram um aumento cerca de 51% comparados aos adultos. (Tabela 3).

A suplementação com testosterona exógena no período de 45 dias em animais castrados foi capaz de induzir um aumento da glândula de cheiro de modo que nesse período o seu comprimento chegou a ser de 9,7 cm (Tabela 1), tornando-se apenas 10% menor que em animais não castrado. A largura da glândula atingiu 4,5 cm, ou seja, ficou 16% menor comparado aos animais não castrado.

Tabela 2 – Valores médios da proporção volumétrica da porção secretora e do tecido conjuntivo da glândula sebácea de catetos.

Grupos de catetos	Proporção volumétrica da porção secretora (%)	Proporção volumétrica do tecido conjuntivo (%)
Recém-nascido	55,50 $\pm$ 9,2 ^b	44,50 $\pm$ 8,8 ^a
Adulto	82,50 $\pm$ 3,6 ^a	17,50 $\pm$ 3,6 ^b
Castrado	59,62 $\pm$ 7,0 ^b	40,38 $\pm$ 7,0 ^a
Castrado tratado com testosterona	81,37 $\pm$ 3,7 ^a	18,63 $\pm$ 3,1 ^b

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Médias na mesma coluna com letras minúsculas diferentes diferem entre si ($p < 0,05$). Teste t de Tukey.

Além do tamanho a suplementação hormonal influenciou a organização estrutural da glândula de cheiro (Figura 4, 5) e os parâmetros morfométricos se aproximaram dos encontrados nos animais não castrados (Tabela 2, 3). Com isso, na análise de proporção volumétrica as unidades secretoras da porção sebácea passaram a ocupar um volume apenas 2% menor que o encontrado nos catetos adultos, e na porção sudorípara verificou-se que o volume médio ocupado pelos túbulos foi 16% menor. O lúmen possuía o diâmetro de 129,23 μm e a altura das células do epitélio secretor era de 15,80 μm ; o lúmen sofreu redução de 18% e as células das unidades secretoras tiveram um aumento cerca de 47% em comparação aos animais não castrados.

Tabela 3 – Valores médios da altura do epitélio, diâmetro do lúmen, proporção volumétrica tubular e extratubular da glândula sudorípara de catetos.

Animais	Altura do epitélio (μm)	Diâmetro do lúmen (μm)	Proporção volumétrica tubular (%)	Proporção volumétrica extratubular (%)
Recém-nascido	8,01 $\pm$ 1,2 ^c	21,02 $\pm$ 9,2 ^c	65,31 $\pm$ 3,5 ^c	34,69 $\pm$ 3,5 ^a
Adulto	10,77 $\pm$ 2,8 ^b	158,08 $\pm$ 62,4 ^a	80,50 $\pm$ 8,7 ^a	18,87 $\pm$ 7,3 ^b
Castrado	16,27 $\pm$ 2,3 ^a	141,56 $\pm$ 66,9 ^{ab}	65,75 $\pm$ 5,8 ^b	35,00 $\pm$ 5,8 ^a
Castrado tratado com testosterona	15,80 $\pm$ 1,9 ^a	129,23 $\pm$ 45,6 ^b	67,25 $\pm$ 4,6 ^b	35,75 $\pm$ 9,6 ^a

Dados expressos como média $\pm$ desvio padrão. Médias na mesma coluna com letras minúsculas diferentes diferem entre si ($p < 0,05$). Teste de Tukey.

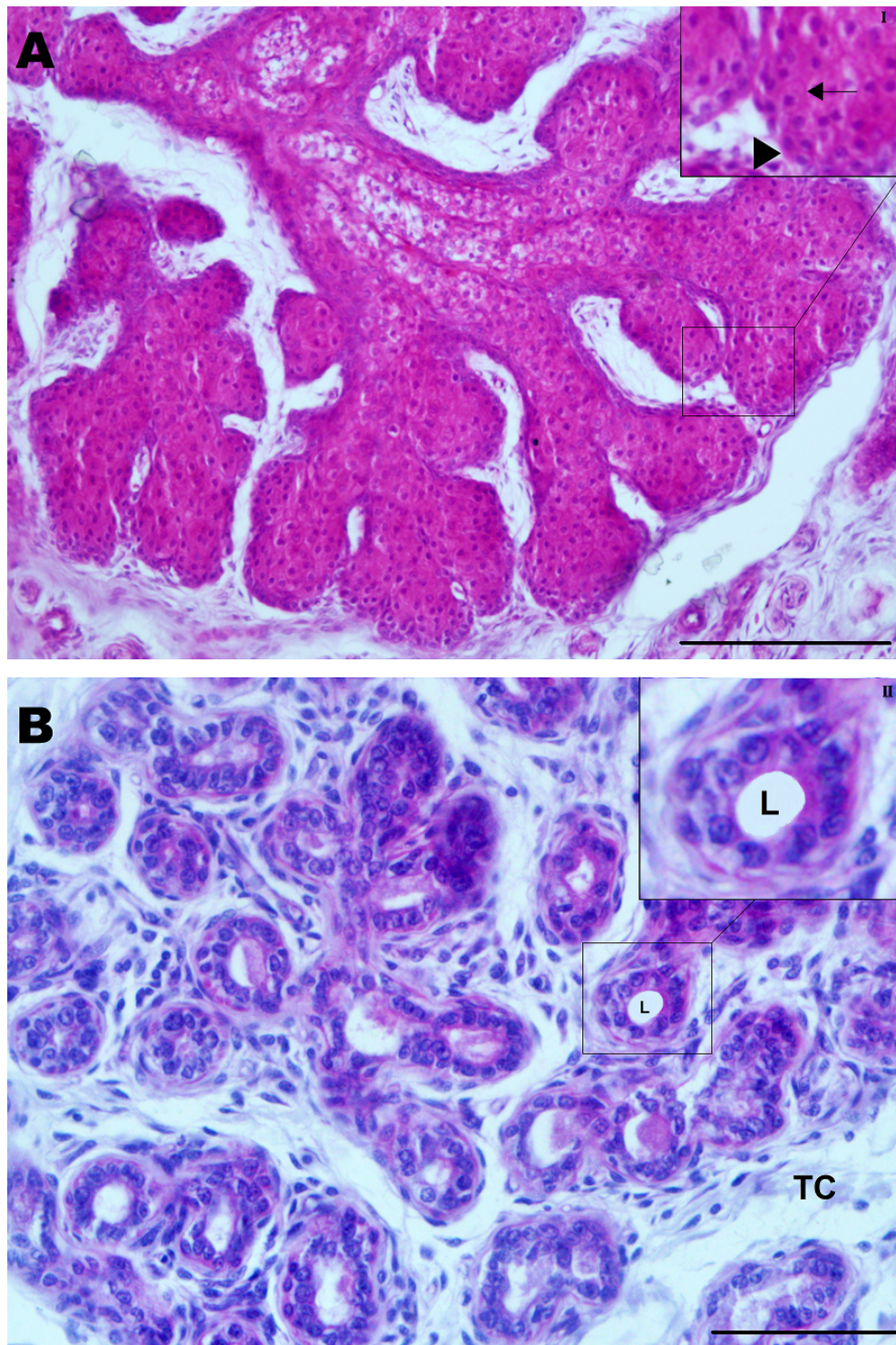


Figura 2. A glândula de cheiro do cateto recém-nascido observada ao microscópio de luz corada com hematoxilina e eosina. Em A fotomicrografia da porção sebácea. No destaque I observe que os alvéolos apresentam células basais (cabeça da seta), células poliédricas com citoplasma bem corado (seta) e núcleos com aspecto eucromático; os alvéolos convergem para um ducto interlobular e o maior indicio de acúmulo de sebo é restrita a essa região. Em B fotomicrografia da porção sudorípara; observe no destaque II que esta é tubular enovelada e que o lúmen é estreito (L), revestido por células cúbicas. Entre os túbulos verifique o tecido conjuntivo frouxo (TC). Barras de escala: (A) 226,0 μm ; (B): 99, μm

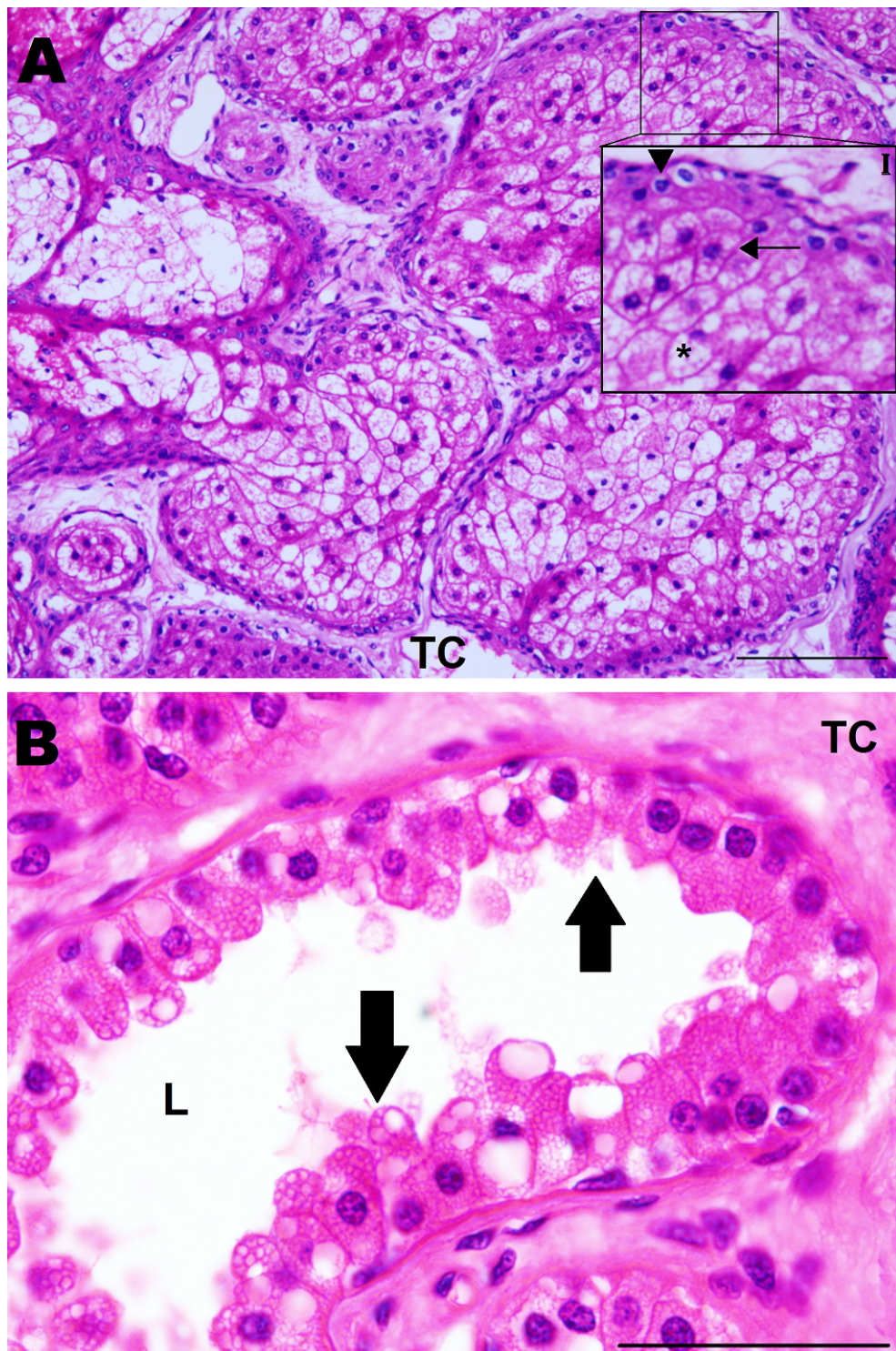


Figura 3. A glândula de cheiro do cateto adulto observada ao microscópio de luz corada com hematoxilina e eosina. Em A, fotomicrografia da porção sebácea. Observe que os alvéolos apresentam-se bem desenvolvidos; na região basal verificamos a camada proliferativa com células cubóides, núcleo central, eucromático e com citoplasma eosinofílico (destaque I). No centro do alvéolo as células são maiores, globosas e com o citoplasma repleto de gotículas lipídicas (seta) e o núcleo em algumas células é picnótico (*). Em B observe parte de uma unidade secretora da porção sudorípara. Note que o lúmen

apresenta-se distendido (L) e está revestido por um epitélio simples cúbico com um núcleo basal eucromático, verificamos ainda que o citoplasma é vacuolado e que na porção apical visualizamos projeções apicais sugestivas do mecanismo de secreção (seta espessa). Barras de escala: (A) 160,0 μm ; (B): 58,0 μm

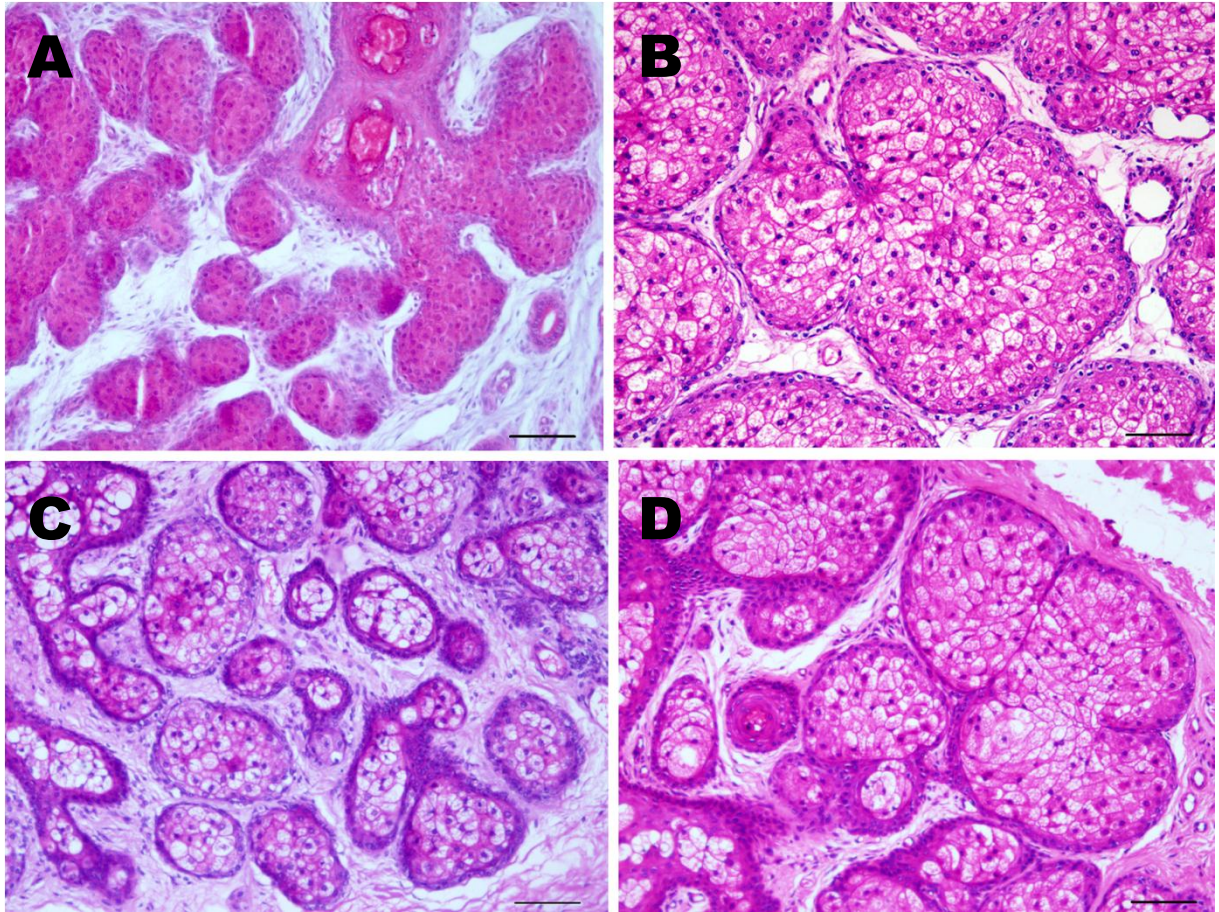


Figura 4 – Comparação da organização histológica da porção sebácea da glândula de cheiro dos grupos dos catetos. (A) cateto recém-nascido, observe os alvéolos pouco desenvolvidos e bastante tecido conjuntivo ao seu redor (B) adulto; note os alvéolos bastante desenvolvidos, com uma delicada camada de tecido conjuntivo entre as unidades secretoras (C) castrado, observe que as unidades secretoras sofreram um processo de involução e o tecido conjuntivo ao seu redor aumentou (D) castrado tratado com testosterona, observe que os alvéolos se tornaram bem desenvolvidos gerando uma diminuição no tecido conjuntivo. Hematoxilina e eosina. Barras de escala: 104,0 μm

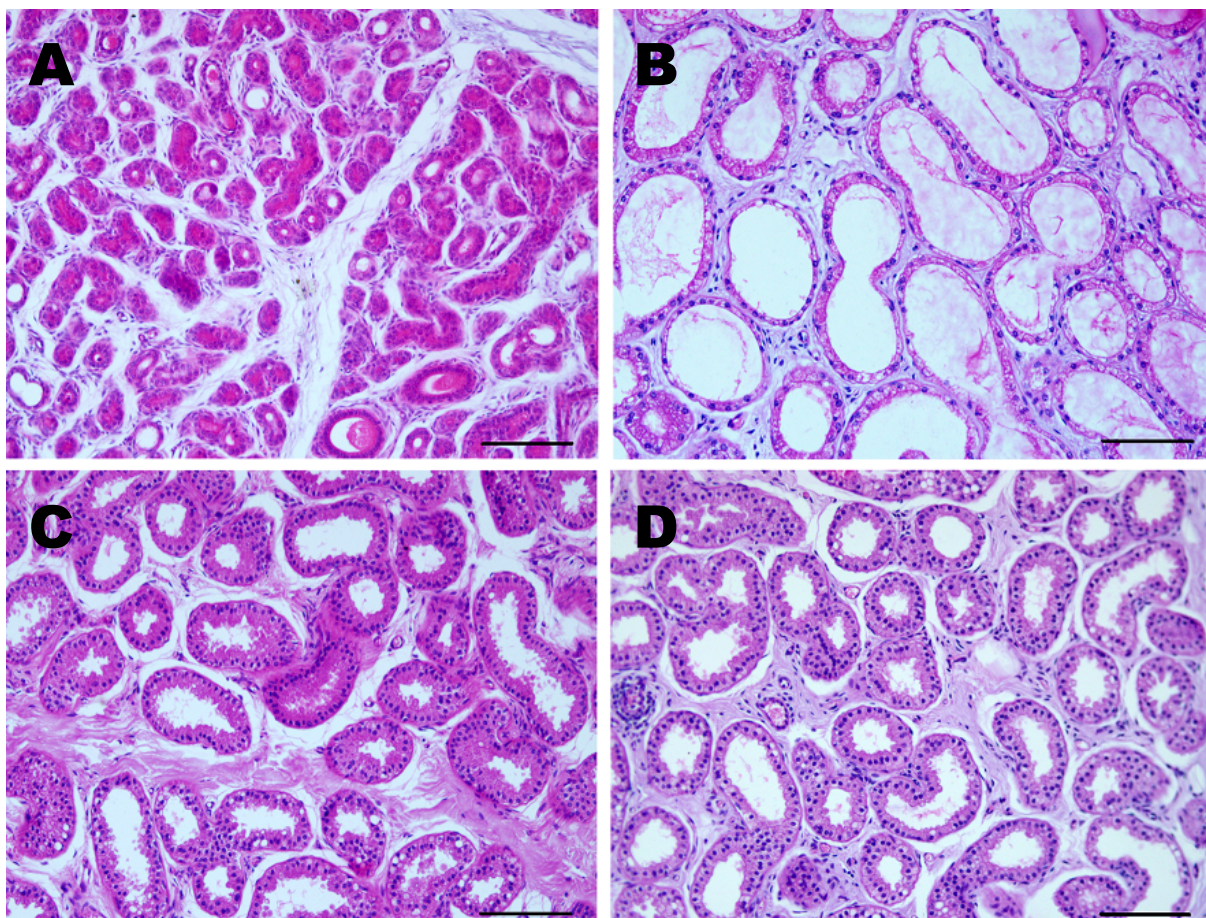


Figura 5 – Comparação da organização histológica da porção sudorípara da glândula de cheiro dos grupos dos catetos. (A) cateto recém-nascido, observe que os túbulos secretores são menores, com lúmen pequeno e bastante tecido conjuntivo ao seu redor (B) adulto; note que as unidades secretoras são maiores, o lúmen é grande, cheio de secreção e existe uma delicada camada de tecido conjuntivo entre os túbulos secretores (C) castrado, observe que as unidades secretoras sofreram uma pequena diminuição, o lúmen é distendido, contém secreção e o tecido conjuntivo ao seu redor aumentou (D) castrado tratado com testosterona, observe que os túbulos não estavam totalmente desenvolvidos, apresentavam secreções no lúmen e o tecido conjuntivo ao seu redor era abundante. Hematoxilina e eosina. Barras de escala: 104,0 μ m

2.4.4 Atividade proliferativa da glândula de cheiro dos catetos

A atividade proliferativa da glândula de cheiro foi avaliada pelo método de contagem de AgNOR, os quais foram observados como grânulos de prata no interior do núcleo das células da glândula sebácea e sudorípara (Figura 6). O número médio de AgNORs nas células das unidades secretoras variou significativamente entre os grupos dos catetos. Em relação à glândula sebácea, baixos números de AgNOR/núcleo foram observados em catetos recém-nascidos e em castrados, ao passo que houve um aumento significativo do número médio de

AgNORs/núcleo em catetos adultos e em castrados tratados com testosterona. Na glândula sudorípara não houve diferenças significativas no número de AgNORs/núcleo entre os animais castrados e aqueles tratados com testosterona, sendo que os catetos adultos obtiveram os maiores valores e os animais recém-nascidos os menores valores. (Tabela 4).

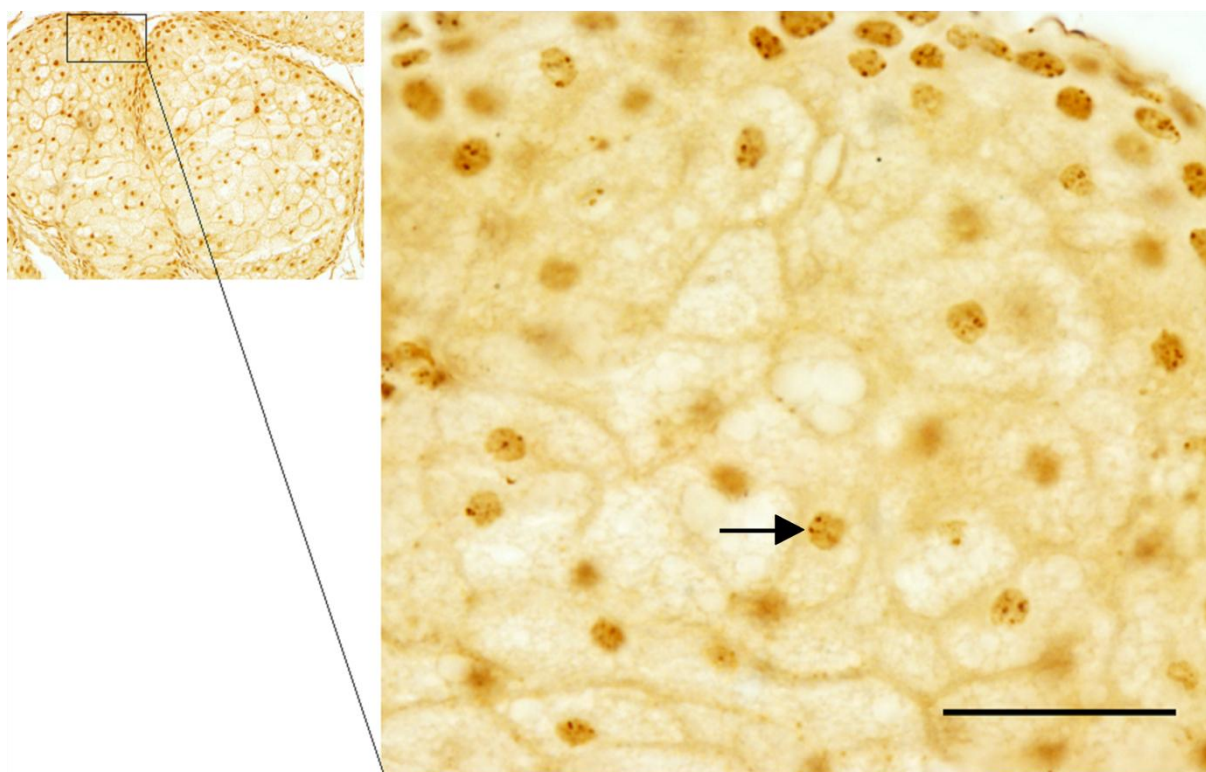


Figura 6 – Fotomicrografia da glândula sebácea corada pelo método de impregnação por prata. Os AgNORs são visualizados como grânulos escuros no interior do núcleo das células da glândula. Em destaque, uma célula com AgNORs intranucleares proeminentes é apontada seta. Barra de escala: 30,0µm

Tabela 4 – Valores médio de AgNOR/núcleo nas células da glândula sebácea e sudorípara de catetos.

Grupos de catetos	Células	
	Glândula sebácea	Glândula sudorípara
Recém-nascido	2,28 ± 1,4 ^b	2,85 ± 1,5 ^c
Adulto	4,97 ± 1,9 ^a	4,42 ± 1,7 ^a
Castrado	2,48 ± 1,2 ^b	3,68 ± 1,7 ^b
Castrado tratado com testosterona	4,46 ± 1,8 ^a	3,56 ± 1,5 ^b

2.5 DISCUSSÃO

O presente estudo consiste na primeira análise da influência hormonal sobre os parâmetros morfométricos e proliferativos da glândula de cheiro de catetos. Essa espécie apresenta uma glândula com formato oval e no centro há uma teta por onde um líquido branco é constantemente liberado. Tem sido descrito uma variedade de funções para as secreções liberadas pelas glândulas localizadas na pele, algumas delas são: reconhecimento individual (MASSOLO et al., 2009), comportamento de agressão (THOMPSON et al., 2007; CEACERO et al., 2014), marcação territorial (ARAKAWA et al., 2008), comportamentos sociais e reprodutivos (BURGENER et al., 2009; ARAKAWA et al., 2011).

A morfologia da glândula de cheiro em catetos foi previamente descrita por Epling (1956) e no presente trabalho foi observado o mesmo padrão estrutural, ou seja, ela é composta por uma porção sebácea e uma porção sudorípara. Essa organização contendo duas unidades glandulares ocorre também na glândula de cheiro em primatas, tais como: *Callithrix jacchus* e *Callithrix khulia* (DE MEDEIROS COSTA, 2007), mas não é o padrão em relação a glândulas de cheiro em outros animais. Em quatis (*Nasua nasua*) a glândula prepucial é apenas sebácea, túbulo alveolar e de secreção holócrina (BERTASSOLI et al., 2011), já em castores suas glândulas anais apresentam-se somente como glândulas sebáceas túbulo-acinares compostas (WALRO; SVENDSEN, 1982).

A porção sebácea da glândula de cheiro do cateto recém-nascido tem um padrão de organização semelhante ao encontrado em outros animais. Quanto ao volume e composição, o tecido conjuntivo da glândula nos animais recém-nascidos se assimila aos encontrados em caprinos jovens (DAL MONTE et al., 2005) visto ser uma região que contém tecido conjuntivo em abundância, apresentando vasos sanguíneos, linfáticos e nervos. Assim como em cães (THOMSETT, 1986) o tecido conjuntivo ao redor das unidades secretoras funcionam

como uma camada protetora contra traumas físicos e fornecem suporte estrutural. Em relação à porção secretora, a glândula sebácea nesses animais era alveolar, formada por células periféricas pequenas, células maiores eosinofílicas presentes no interior do alvéolo e células com gotículas lipídicas presentes apenas no ducto interlobular, indicando pouca produção de sebo; esse padrão do epitélio secretor da glândula sebácea é semelhante ao que se observa na glândula prepucial de ratos pré-puberes (PONMANICKAM et al., 2010). De acordo com Niemann e Horsley (2012) isso é possível visto que, glândulas sebáceas em indivíduos jovens são diminuídas e produzem pouco sebo, após a puberdade elevados níveis hormonais induzem o crescimento da glândula sebácea e produção de sebo.

Na porção sudorípara dos catetos recém-nascidos um aspecto relevante encontrado foi que as unidades secretoras se assemelham aos de uma glândula sudorípara écrina. Isso possivelmente acontece devido à glândula estar em processo de desenvolvimento, visto que Saga (2002) afirma que a porção secretora das glândulas sudoríparas, que consiste numa única camada de células colunares, varia de altura e tamanho, refletindo diferentes estádios de maturação.

A glândula de cheiro nos animais adultos também é formada por epitélios secretores e tecido conjuntivo ao seu redor. O volume ocupado pelo tecido conjuntivo que envolve os lóbulos glandulares se assemelha ao encontrado na glândula cornual e difere do encontrado em glândulas subcaudais e prepuciais de caprinos (VAN LANCKER et al., 2005) uma vez que na glândula cornual o volume do tecido conjuntivo é escasso, enquanto que em glândulas subcaudais e prepuciais é abundante.

Quanto à histologia, as unidades secretoras da porção sebácea na glândula de cheiro dos catetos adultos é semelhante ao que se observa na glândula prepucial de ratos machos adultos (PONMANICKAM et al., 2010) e em quatis adultos (BERTASSOLI et al., 2011),

visto que os epitélios glandulares apresentam lóbulos alveolares, ramificados, sem luz definida, além de exibirem células periféricas e células centrais no alvéolo com indícios de acúmulos de gotículas lipídicas no citoplasma. No entanto, vale salientar que existem variações quanto à composição da glândula sebácea em glândulas odoríferas de outros animais: em caprinos observa-se que a glândula cornual e mental são modificadas e diferem das típicas glândulas sebáceas holócrinas uma vez que, são grandes e possui citoplasma fortemente eosinofílico em colorações com hematoxilina e eosina semelhantes aos hepatócitos (VAN LANCKER et al., 2005).

Na sua forma mais madura, as glândulas sebáceas são apêndices acinares de secreção holócrina da epiderme (PIÉRARD et al., 2014). Na camada basal existem células proliferativas, e sebócitos cheios de lipídios estão presentes no interior da glândula. Eventualmente a lise dos sebócitos maduros resulta na liberação de sebo contendo distintos lipídios para um ducto excretório especializado (NIEMANN; HORSLEY, 2012).

A altura do epitélio dos túbulos secretores na glândula sudorípara dos animais adultos media cerca de 10,77 μm , o lúmen era de aproximadamente 158,08 μm , apresentavam células de núcleo basal, citoplasma vacuolado e projeções apicais citoplasmáticas, semelhantes ao que se observa na porção sudorípara na glândula odorífera de sagüis (DE MEDEIROS COSTA, 2007). Segundo Saga (2002) a porção secretora da glândula sudorípara apócrinas é formada por uma camada simples de células cúbicas a colunares, que podem se tornar pavimentosas, caso a luz da glândula seja preenchida por secreção, o lúmen possui aproximadamente 200 μm de diâmetro, as membranas celulares mostram microvilosidades na região apical e as células secretoras apresentam grânulos citoplasmáticos.

A glândula sudorípara é importante nos animais visto ser o vetor de fenômenos necessários para o reconhecimento sexual olfativo uma vez que, o ducto excretor dessa

estrutura é comum aos da glândula sebácea, dessa forma os produtos de secreção dos dois tipos glandulares estão intimamente misturados (PIÉRARD et al., 2014). A glândula sudorípara apócrina libera uma secreção amarelada ou esbranquiçada, viscosa e oleosa que possui um odor almiscarado em resposta a decomposição dos componentes da secreção por bactérias (OVALLE, 2011) o que gera o cheiro característico dos animais.

No presente estudo, a glândula de cheiro dos catetos castrados diminuiu consideravelmente de tamanho. A diminuição da glândula é uma consequência direta da diminuição dos níveis de testosterona no sangue decorrente da castração, similar ao que se observa em ratos (PONMANICKAM et al., 2010) onde a castração gerou diminuição da glândula prepucial. Outra modificação encontrada nos animais castrados foi a diminuição da unidade secretora da porção sebácea. Resultados similares foram reportados por Zielonka (1994) no qual verificou que a castração reduziu significativamente o volume citoplasmático das células da glândula sebácea em gatos, refletindo numa diminuição da atividade metabólica. Além do que, Iwata et al. (2000) verificaram que a castração em bodes reduziu significativamente a glândula sebácea e gerou inibição da atividade feromonal.

A suplementação com testosterona foi capaz de induzir um aumento da glândula nos catetos castrados. E além do tamanho, a suplementação hormonal influenciou também a organização estrutural da glândula de cheiro. Esses resultados estão de acordo com o reportado por Zielonka (1993) no qual verificou que o tratamento com testosterona restaurou a morfometria da glândula em gatos castrados. E do mesmo modo, Iwata et al. (2000) verificaram que a administração de testosterona em bodes castrados aumentou a glândula sebácea. Esses resultados em conjuntos aos achados sugerem que o desenvolvimento da glândula de cheiro sofre dependência da testosterona e que possivelmente a produção de feromônios pela glândula sebácea requer a presença desse hormônio.

Em relação à porção sudorípara, o tratamento com testosterona não restaurou de forma significativa os epitélios secretores dos animais castrados comparados aos adultos, nossos resultados divergem dos apontados por Wales e Ebling (1971) onde foi mostrado que as glândulas apócrinas das regiões submandibulares, inguinais e anais de coelhos eram influenciados pela testosterona. Nesse estudo a administração de testosterona em animais castrados gerou aumento significativo no tamanho dos túbulos.

No intuito de avaliar a atividade proliferativa da glândula de cheiro, foi feita a contagem de AgNOR em células da porção sebácea e sudorípara. AgNORs são um conjunto de proteínas argirofílicas que se acumulam nas células altamente proliferativas, enquanto que sua expressão é baixa em células não proliferativas. O número de AgNOR está estritamente relacionada com a rapidez da proliferação celular, como também com a atividade de transcrição do RNA ribossômico (rRNA). Devido ao fato dessas proteínas se acumularem em células proliferativas, sua contagem é usada como meio de avaliar a proliferação celular (ROUSSEL; HERNANDEZ-VERDUN, 1994; DERENZINI, 2000; SIRRI et al., 2000).

Em relação à porção sebácea, altos números de AgNOR/núcleo nas células da glândula foram observados em catetos adulto e naqueles tratados com testosterona, onde as unidades secretoras estavam bem desenvolvidas. Nos catetos recém-nascidos e em castrados, o número de AgNOR/núcleo nas células foram baixos e as unidades secretoras estavam menos desenvolvidas. Com base nesses dados, sugere-se que a atividade proliferativa das células glandulares da porção sebácea é mais intensificada quando os níveis de testosterona são elevados. A maturação da glândula sebácea é caracterizada pela síntese de sebo, que contém triglicerídeos, ceras e esqualeno em abundância e sua secreção é regulada por diversos fatores físico-químicos e por diversos hormônios, em particular os andrógenos (CLAUDINE; GÉRALD, 2002). Nessa glândula a testosterona se transforma em dihidrotestosterona pela

ação de uma enzima específica, a 5-alfa-redutase tipo I. Imediatamente após a formação, dihidrotestosterona, acoplado a um receptor citosólico, atinge o núcleo do sebócito e ali se fixa a um receptor específico (CLAUDINE; GÉRALD, 2012) aumentando a atividade da glândula.

Na glândula sudorípara, os catetos adultos obtiveram os maiores números de AgNOR/núcleo, onde o epitélio encontrava-se cúbico e o lúmen estava cheio de secreção. Os animais recém-nascidos apresentaram baixos números de AgNOR/núcleo, suas células eram cúbicas e o lúmen pequeno. Não houve diferenças significativas no número de AgNORs/núcleo entre os animais castrados e aqueles tratados com testosterona, onde o epitélio era cilíndrico e havia pouca secreção no lúmen. De acordo com isso, podemos presumir que o epitélio secretor se torna cilíndrico quando não há intensa atividade proliferativa. A secreção apócrina responde a estímulos emocionais, adrenérgicos e colinérgicos. Obedece a estímulos através da epinefrina e norepinefrina de origem local ou humoral. É rica em lactato, proteínas, lipídeos, esteróides, água e íons Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^- (PIÉRARD et al., 2014). Devido ao fato da glândula sudorípara não ser influenciada apenas por andrógenos, podemos pressupor que o seu desenvolvimento sofre pouca influência da testosterona.

Os resultados desse estudo fornecem uma forte evidência de que a glândula de cheiro do cateto está sob influência da testosterona. A diminuição dos níveis de testosterona no sangue, decorrente da castração geram alterações significativas nas unidades secretoras, apenas da porção sebácea da glândula odorífera.

2.6 AGRADECIMENTOS

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pelo apoio financeiro e ao Prof. Dr. Moacir Franco de Oliveira por permitir o uso dos animais para o experimento.

3. REFERÊNCIAS

- ARAKAWA, H., D. C. BLANCHARD, K. ARAKAWA, C. DUNLAP AND R. J. BLANCHARD. Scent marking behavior as an odorant communication in mice. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 32, 1236-1248, 2008.
- ARAKAWA, H., S. CRUZ, AND T. DEAK. From models to mechanisms: odorant communication as a key determinant of social behavior in rodents during illness-associated states. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, 35, 1916-1928, 2011.
- BERTASSOLI, B. M., A. C. DOS SANTOS, N. C. PIERI, V. C. DE OLIVEIRA, C. A. MANÇANARES, AND A. F. DE CARVALHO. Classificação Morfológica da Glândula Prepucial do *Nasua nasua* (Quati). **Biotemas**, 24, 83-90, 2011.
- BISSONETTE, J.A. Ecology and social behavior of the collared peccary in Big Bend National Park, Texas, U.S. **Dept. of the Interior, National Park Service**, pp 15-16, 1982.
- BODMER, R.E., AQUINO, R., PUERTAS, P.E., REYES, C.J., FRANG, T.G. AND GOTTDENKER, N.L. Manejo y uso sustentable de pecaríes en la Amazonía peruana. **IUCN Species Survival Commission**, Quito, Equador and Secretaria Cites, Ginebra, Suiza, pp. 31-37, 1997.
- BURGENER, N., M. DEHNHARD, H. HOFER, AND M. L. EAST: Does anal gland scent signal identity in the spotted hyaena?. **Animal Behaviour**, 77, 707-715, 2009.
- CEACERO, F., J. PLUHÁČEK, M. KOMÁRKOVÁ AND M. ZÁBRANSKÝ. Pre-orbital gland opening during aggressive interactions in rusa deer (*Rusa timorensis*). **Behavioural processes**, 111, 51-54, 2014.
- CLAUDINE, P. F., AND P. GÉRALD: Fisiología de la secreción sebácea. **EMC-Dermatología**, 36, 1-7, 2002.
- DAL MONTE, M. A. D. B., R. G. Costa, M. Grotta, G. Bragagnoli, M. A. C. Jacinto and A. N. de Medeiros. Avaliação histológica de peles de caprinos em idades diferenciadas. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, 42, 12-18, 2005.
- DE MEDEIROS COSTA, G., A. L. R. FRANCIOLLI, C. A. F. MANÇANARES, M. G. DE LIMA, C. E. AMBRÓSIO, M. A., MIGLINO, J.R. KFOURY JR. S. PORFIRIO AND E A. F. CARVALHO: Análise morfológica comparativa das glândulas cutâneas de cheiro do sagüi de tufo-branco (*Callithrix jacchus*) e do sagüi de tufo-preto (*Callithrix kuhlii*) (Callithrichidae, Primates). **Biotemas**, 20, 65-72, 2007.
- DERENZINI, M. The AgNORs. **Micron**, 31, 117-120, 2000.
- EPLING, G. P. Morphology of the scent gland of the javelina. **Journal of Mammalogy**, 37, 246-248, 1956.

FERKIN, M. H., AND R. E. JOHNSTON. Roles of gonadal hormones in control of five sexually attractive odors of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). **Hormones and Behavior**, 27, 523-538, 1993.

GARCIA, A. R., P. R. KAHWAGE AND O. M. Ohashi. Aspectos reprodutivos de caititu (Tayassu tajacu). **Rev Bras Reprod Anim**, 33, 71-81, 2009.

GONGORA, J., AND C. MORAN. Nuclear and mitochondrial evolutionary analyses of Collared, White-lipped, and Chacoan peccaries (Tayassuidae). **Molecular phylogenetics and evolution**, 34, 181-189, 2005.

GROVES, C.P. AND P. GRUBB. The suborder suiformes. Pigs, Peccaries and Hippos. Status Survey and Conservation Action Plan, pp. 5-21, 1993.

HELLGREN, E. C., R. L. LOCHMILLER, M. S. AMOSS, S. W. J. SEAGER, S. J. MAGYAR, K. P. COSCARELLI AND W. E. GRANT. Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (Tayassu tajacu). **Journal of Reproduction and Fertility**, 85, 677-686, 1989.

IWATA, E., Y. WAKABAYASHI, Y. KAKUMA, T. KIKUSUI, Y. TAKEUCHI, AND Y. MORI. Testosterone-dependent primer pheromone production in the sebaceous gland of male goat. **Biology of reproduction**, 62, 806-810, 2000.

MASSOLO, A., F. R. DANI AND N. BELLA. Sexual and individual cues in the peri-anal gland secretum of crested porcupines (*Hystrix cristata*). **Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde**, 74, 488-496, 2009.

NIEMANN, C., AND V. HORSLEY. Development and homeostasis of the sebaceous gland. *Seminars in cell & developmental biology*, 23, pp. 928-936, 2012.

OVALLE, W. *Netter Bases da Histologia*, Elsevier Brasil, pp 244- 247, 2011.

PIÉRARD, G. E., C. PIÉRARD-FRANCHIMONT, AND T. HERMANNNS-LÊ. Secreciones sudorípara y sebácea. **EMC-Dermatología**, 48, 1-9, 2014.

POHORECKY, L. A., G. G. BLAKLEY, E. W. MA, H. A. SOINI, D. WIESLER, K. E. BRUCE AND M. V. NOVOTNY, 2008. Social housing influences the composition of volatile compounds in the preputial glands of male rats. **Hormones and behavior**, 53, 536-545.

PONMANICKAM, P., K. PALANIVELU, S. GOVINDARAJ, R. BABURAJENDRAN, Y. HABARA AND G. ARCHUNAN. Identification of testosterone-dependent volatile compounds and proteins in the preputial gland of rat *Rattus norvegicus*. **General and comparative endocrinology**, 167, 35-43, 2010.

ROUSSEL, P., AND D. HERNANDEZ-VERDUN. Identification of Ag-NOR proteins, markers of proliferation related to ribosomal gene activity. **Experimental cell research**, 214, 465-472, 1994.

SAGA, K. Structure and function of human sweat glands studied with histochemistry and cytochemistry. **Progress in histochemistry and cytochemistry**, 37, 323-386, 2002.

SANTOS, F. G. et al. Cloridrato de tiletamina associado com cloridrato de zolazepam na tranquilização e anestesia de calitriquídeos (Mammalia, Primates). **Arq. bras. med. vet. zootec**, v. 51, n. 6, p. 539-45, 1999.

SILVA, Carlos AO et al. Aspectos histológicos e morfométricos dos testículos de gatos domésticos (*Felis catus*). **Pesq. Vet. Bras**, v. 29, n. 4, p. 312-316, 2009.

SIRRI, V., P. ROUSSEL AND D. HERNANDEZ-VERDUN. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle. **Micron**, 31, 121-126, 2000.

THOMPSON, R. N., A. NAPIER AND K. S. WEKESA. Chemosensory cues from the lacrimal and preputial glands stimulate production of IP 3 in the vomeronasal organ and aggression in male mice. **Physiology & behavior**, 90, 797-802, 2007.

THOMSETT, L. R: Structure of canine skin. **British Veterinary Journal**, 142, 116-123, 1986

VAN LANCKER, S., W. VAN DEN BROECK AND P. SIMOENS. Morphology of caprine skin glands involved in buck odour production. **The Veterinary Journal**, 170, 351-358, 2005.

WALES, N. A. M., AND F. J. EBLING. The control of the apocrine glands of the rabbit by steroid hormones. *Journal of Endocrinology*, 51, 763-770, 1971.

WALRO, J. M., AND G. E. SVENDSEN. Castor sacs and anal glands of the North American beaver (*Castor canadensis*): their histology, development, and relationship to scent communication. *Journal of Chemical Ecology*, 8, 809-819, 1982.

WATERHOUSE, J. S., J. KE, J. A. PICKETT AND P. J. WELDON. Volatile components in dorsal gland secretions of the collared peccary, *Tayassu tajacu* (Tayassuidae, Mammalia). **Journal of chemical ecology**, 22, 1307-1314, 1996.

ZIELONKA, T. M., D. CHARPIN, P. H. BERBIS, P. LUCIANI, D. CASANOVA, AND D. VERVLOET. Effects of castration and testosterone on Fel d I production by sebaceous glands of male cats: I—immunological assessment. **Clinical & Experimental Allergy**, 24, 1169-1173, 1994.

ANEXOS

ANEXO I

The histological organization collared peccary scent gland (*Pecari tajacu*) depends on signaling by testosterone

Bruna Kaline Gorgônio de Azevedo; Mychel Raony Paiva Teixeira Moraes; Liana Falcão

Lima, Stefferson Lucas Mendes Lima; José Domingues Fontenele-Neto*

Department of Animal Sciences, Veterinary Medicine College, UFERSA- Mossoró-RN
59625-900, Brazil

*Corresponding Author:

José D. Fontenele-Neto, DVM; PhD.

Department of Animal Sciences, Veterinary College,
Universidade Federal Rural do Semi-Árido - UFERSA,
Mossoró, RN, BR 110 km 47, 59625-900, Brazil.

Phone: +55 (84)33151728

Fax: +55 (84) 33151778

E-Mail: fontenele-neto@ufersa.edu.br

Number of figures: 06

Number of tables: 04

Summary

The *Pecari tajacu* belongs to the family Tayassuidae and stands out by presenting a scent gland, which continuously releases a white secretion. This study's objective was to describe the morphology of scent gland and assess if its structure is influenced by testosterone. For this we used twelve collared peccary, divided into groups: group I (newborns peccary), group II (adult collared peccaries), group III (adult castrated collared peccaries), group IV (castrated collared peccaries and treated with testosterone). The collared peccary were sacrificed, the scent glands were dissected and the length and width dimensions were measured. Posteriorly glands fragments were subjected to histological processing, histomorphometric analyzes were performed, the proliferative activity of glandular cells were also evaluated through the AgNORs count method. The peccaries had a scent gland with oval shape and showed in the center a central duct. Two regions were distinct and differentiated by the color. The cranial portion was clear (sebaceous glands) and the caudal portion was dark (sweat gland). The newborn animal scent gland showed histological differences when compared to adult animal's glands and after castration the gland underwent a process of involution which can be partially reversed with hormone replacement. The sebaceous portion of the scent gland was the most affected by castration.

Introduction

The Tayassuidae family belongs to the Order Artiodactyla being represented by three genders and three species: *Pecari tajacu*, *Tayassu pecari* and *Catagonus wagneri* (Groves and Grubb, 1993; Gongora and Moran, 2005). The collared peccaries are the most distributed ungulates, they live from the southwestern United States passing through Central America, South America to northern Argentina. Adult males weigh between 21 and 35 kg and adult females between 21 and 33 kg (Bodmer, 1997). They live in groups ranging from 1-20 individuals, within which exhibit hierarchical dominance, where the dominant male is larger and heavier (Hellgren et. al. 1989).

The collared peccaries reproduce throughout the year, there is no ideal time for mating and birth of puppies. The beginning of the reproductive life of both sexes occurs at about 8 to 16 months old. Clutch size varies from one to four cubs, with weaning around two months after parturition (Garcia, 2011).

These animals have a scent gland located near the base of his tail, responsible for maintaining communication between these individuals. The secretions released by the scent gland are related to territorial marking, social communication, individual recognition and group proximity maintenance, being captured by smell (Bissonette, 1982). It has been described a variety of functions to the secretions released by the skin glands, it is believed that secretory glands, associated with the genitals, release compounds that influence reproductive behavior, while those located in ventral regions, dorsal, head and flank secrete compounds related to territorial behavior and others associated with social status (Thompson et al., 2007; Burgener et al., 2009; Achiraman, et al. 2011; Ceacero et al., 2014).

The main volatile components released in the scent gland secretions of peccaries in both sexes are geranylgeraniol and squalene, these compounds may potentially act as pheromones (Waterhouse, 1996). In some mammalian species, the function of the development of odoriferous glands is regulated by gonadal hormones (Ferkin and Johnston, 1993; Iwata et al., 2000; Ponmanickam et al. 2010). Thus, the objective of this study is to describe the morphology of scent gland and assess if its structure is influenced by testosterone.

Materials and Methods

Animals

In this experiment, twelve collared peccary males were used, from the Centro de Multiplicação de Animais Silvestres (CEMAS) of the Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, registered with IBAMA as scientific breeding under number 1478912. They were maintained on food and water *ad libitum*. The animals were sacrificed and divided into four groups of three animals: group I, newborn (10 days old); group II, adults; group III, castrated adult and group IV, castrated adults and testosterone-treated. All the procedures used were approved by the UFERSA's Ethics in Animals Use Commission (process number: 26/2013).

Castration

The animals of group III and IV were deprived of food and water for 18 and 12 hours before surgery, respectively and submitted general anesthesia induced by intramuscular administration of tiletamine and hydrochloride zolazepam (2,2 mg/kg in equal parts), and then the animals were orchietomized. After surgery the animals were kept alive for 30 days.

Hormone replacement

The animals from group IV were treated with testoviron (Schering, Germany) administered intramuscularly at 0.5 mg every three weeks by peccaries, during the period of 45 days. After treatment with testosterone the collared peccaries were sacrificed.

Evaluation macroscopic and histological processing

After sacrificing the animals, the glands were dissected and the dimensions of length and width were measured using a caliper. The fragments were collected and immediately

fixed by immersion in methacarn (60% methanol, 30% chloroform, 10% acetic acid) for 24 hrs. Then the fragments were subjected to histological processing, consisting in dehydration by immersion baths in increasing concentrations of ethanol solutions, diaphanization in xylene, and, finally, histological paraffin impregnation at 56°C. The paraffin blocks were cut into rotary microtome 5.0 µm thick sections were obtained, which were placed on glass slides previously prepared with meyer albumin. Following, the sections were stained with hematoxylin and eosin (HE) and analyzed using photographic microscope equipped with digital camera DP72 CCD (Olympus BX51; Olympus Optical Co., Tokyo, Japan).

The scent glands histomorphometric variables analyzed were: diameter, epithelium height, tubular compartment volumetric proportion and extratubular and lumen of sweat portion; and the volumetric proportion of secretory unit's sebaceous portion were also analyzed. The measurements were made in photomicrographs using bioinformatics software NIH ImageJ v.1:47 (US National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). The values were expressed as average value $\pm$ standard deviation of the average value. The sweat gland average diameter, epithelial height and lumen were determined by measurement of 100 tubules along the gland of all groups of the collared peccaries. The volumetric proportion of the secretory units and connective tissue around it was determined by counting the points of intersection method in 10 random fields in the glandular parenchyma captured in an increase of 20x using a grid projected by the Image J on the photomicrograph. The results were expressed as percentage.

Impregnation by silver and AgNOR count

The proliferative activity of the scent glands of collared peccaries was evaluated by count organizing regions argyrophilic nucleolus (AgNOR). For that were used

5.0 μm thick cuts, deparaffinized in xylene, washed with absolute ethanol, post-fixed with absolute ethanol solution and acetic acid (3:1) for 30 min at room temperature, and then rehydrated. The impregnation with silver was made using an aqueous solution of 1% acetic acid, 2% gelatin and 50% silver nitrate aqueous solution (1:2) for 30 min in the dark room at room temperature. Then, the sections were washed with distilled water, and the reaction was blocked with aqueous solution of 5% sodium thiosulfate for 5 min at room temperature. Then the sections were dehydrated and the blades were mounted. The AgNOR count was a double-blind study: 50 random fields sweat glands and sebaceous glands in all groups of the collared peccaries were captured in a 100x magnification, and the silver granules were counted in 100 nuclei of epithelial secretory cells. The average numbers of AgNOR/nuclei were expressed as average value $\pm$ standard deviation of the average value.

Statistical analysis

The results were analyzed by ANOVA One-way test followed by Tukey test at 5% significance level. Statistical tests were performed using the R software version 3.1.2 (Pumpkin Helmet).

Results

Morphology of the scent gland of the collared peccary

The scent gland had oval shape in the center and had a teat for which he was a white liquid secreted (Fig.1A). In newborn collared peccary, the gland measured approximately 2,7 cm long and 1,2 cm wide, while in the adult the measured length and width were respectively 5,4 cm and 10,6 cm (Table 2). After dissection it was found that the gland had two regions:

one cranial and other caudal. The cranial region, which represented the major portion of the gland was clear while the flow area, smaller was dark (Fig. 1B).

During analysis by light microscopy it was verified that the regions of the scent gland exhibited distinct histological organization. The cranial portion was formed by a sebaceous gland type, while the caudal portion was a sweat gland. In newborn animals sebaceous gland about 55% of the volume was occupied by the secretory units (Table 1). The secretory units that portion were alveolar, slightly lobed with irregular profile, had no light and consisted of a cluster of cells in polyhedral arrangement. A loose connective tissue surrounded the small lobes and on it was found blood vessels, lymphatic's vessels and nerves. The peripheral cells that formed the germ layer had a euchromatic central nucleus and eosinophilic cytoplasm. The cells located within the cavity had become larger, the cytoplasm of most the cells were eosinophilic and had a slightly eccentric core. The alveolus were branched undefined light and converged for a interlobular duct. In these animals, cells with accumulated lipid droplets in the cytoplasm were identified only in the interlobular ducts region indicating little sebum production (Fig. 2B).

In the sweat gland of newborns peccaries about 65% of the volume was comprised secretory tubules (Table 3). The sweat portion was formed tubules coated with a simple cuboidal epithelium (Fig. 2A) of approximately 8,01 μm in height and central core. In these animals the sweat gland resembled a gland of the eccrine type, since it was not possible to verify apical projections that characterized the apocrine secretion mechanism and the lumen was small with approximately 21,02 μm in diameter (Table 3).

In the adult's collared peccaries, the sebaceous portion had alveolar lobes, branched and with loose connective tissue around it. In this region, approximately 82% was formed by

secretory units (Table 1). The alveolus had irregular shapes with and without a defined light. These exhibited peripheral cell with euchromatic nucleus well defined, eosinophilic cytoplasm, forming the germinal layer. Above the germinal layer had a set of cells with different degrees of degeneration, heterochromatic nucleus, sometimes pyknotic and with eosinophilic cytoplasm with little evidence of accumulation of lipid droplets (Fig. 2D). These alveoli converged for a interlobular duct that opened in the main duct of the scent gland, the interlobular duct was coated by a simple cubic epithelium that became stratified near the main duct.

In sweat portion of the scent gland of collared peccaries verified the presence of meandering tubules coated by a simple cubic epithelium, its cells measured about 10.77 μm in height, the core was basal and euchromatic, the cytoplasm was vacuolated and often was observed, in the apical region, cytoplasmic projections featuring the process of apocrine secretion (Fig. 2C). The light of the tubules had approximately 158.08 μm in diameter and flattened nucleus of cells, heterochromatic was located below the tubules, probably being myoid cells. About 80% of sweat glands were formed by tubules (Table 3).

Effect of castration on the morphology of scent gland

The morphology of the different regions of the scent gland of the collared peccaries castrated showed little variation (Fig. 2E, F). The main change observed has been the reduction in the size of the gland and the proportional relationship between secretory unit and stroma. In castrated animals the length of the gland was 5.83 cm and 3.60 cm of width, this means that there was a 44% reduction in length and 33% reduction in the width of the scent gland of castrated peccaries compared to adults.

When the volumetric proportion, was found that the secretory portion of sebaceous unit now represents 59% of the volume while the volume of connective tissue occupied 40% (Table 1). Therewith the secretory portion came to occupy a volume about 28% lower than in the not castrated animals.

In relation to sweat portion was found that secretory units represented about 65% while the conjunctive tissue around it was approximately 35%, the reduction in the relative volume occupied by the tubules in this portion of the gland was 18%. In addition, the light and the cells of the secretory units began to show an average diameter of 141.56 μm and 16.27 μm respectively. In this case, the reduction of light was 10% and epithelial cells had increased about 51% compared to adults (Table 3).

Exogenous testosterone supplementation, in 45-day period, in castrated animals was capable of inducing an increase in scent gland so that its length in this period came to be 9.7 cm, becoming only 10% lower than in animals not castrated.

Besides the size, the hormone supplementation influenced the structural organization of the scent gland (Fig.3, 4) and the morphometric parameters are close to those from not castrated animals (Table 1,3). Therewith, in analysis of the volumetric proportion the secretory units of the portion sebaceous passed to occupy a volume only 2% lower than a volume occupy the tubules in adult collared peccaries; and the portion sweat the volume occupied by tubules in this portion of the gland was 16% lower than in adult animals. The lumen had a diameter of 129,23 μm and the height of epithelial secretory cells was 15.80 μm , thus the lumen was reduced by 18% and the cells of the secretory units began to show an increase about 47 %.

Proliferative activity of scent gland of the peccaries

The proliferative activity of the scent gland was evaluated by counting method AgNOR, which have been reported as silver granules in the nucleus of the cells of the sebaceous and sweat glands (Figure 5). The average number of AgNOR units of the secretory cells varied significantly between the groups of collared peccaries. Regarding the sebaceous gland, low numbers of AgNOR / nuclei were observed in newborn collared peccary and castrated peccary, whereas there was a significant increase in the average number of AgNOR / nuclei in adults collared peccary and those castrated and treated with hormone replacement. In the sweat gland there were no significant differences in the number of AgNORs / nuclei between the castrated animals and those treated with testosterone, and the adult collared peccaries had the highest values (Table 4).

Discussion

This study is the first analysis of the hormonal influence on the morphometric and proliferative parameters of the peccaries scent gland. This species has a gland with oval shape and in the center there is a teat where a white liquid is constantly released. It has been described a variety of functions to the secretions released by glands in the skin, some of them are: individual recognition (Massolo et al., 2009), aggressive behavior (Thompson et al, 2007 Ceacero et al, 2014.); territorial marking (Arakawa et al., 2008), social and reproductive behavior (Burgener et al, 2009; Arakawa et al, 2011).

The morphology of the scent gland in collared peccaries was previously described by Epling (1956) and in this study we observed the same structural pattern, that is, it consists of a sebaceous portion and a sweat portion. This organization, containing two glandular units, also occurs in *Callithrix jacchus* and *Callithrix khulii* scent glands, but it is not the standard for

scent glands in other animals. In coatis (*Nasua nasua*) the preputial gland is only sebaceous, alveolar tubule and holocrina secretion (Bertassoli et al., 2011), in beavers, the anal glands appear as composed sebaceous glands acinar tubule (Walro and Svendsen, 1982).

The sebaceous portion of the scent glands in newborn collared peccary has a organization pattern similar to those found in other young animals. Regarding the volume and composition, the glands connective tissue in newborn animals is similar to those found in young goats (Cha Monte et al., 2005), since it is a region containing abundant connective tissue, with blood vessels, lymphatics and nerves. As in dogs (Thomsett, 1986) connective tissue around the secreting units function as a protective layer against physical trauma and provide structural support. Regarding the secretory portion of the sebaceous gland in these animals, it showed honeycomb shape, consisting of a cluster of cells with polyhedral arrangement. Peripheral cells composing the germ layer has a central and euchromatic core, since the cells within the alveoli are larger, with eosinophilic cytoplasm and without lipid droplets inside; this pattern of secretory epithelium of the sebaceous gland is similar to that observed in the preputial gland of prepubertal rats (Ponmanickam et al., 2010).

Sebaceous glands in young individuals are diminished and produce little sebum, after puberty elevated hormone levels induce the growth of sebaceous glands and sebum production (Niemann and Horsley, 2012).

In sweat portion of newborns peccaries an important aspect found was that the secretory units resemble a eccrine sweat gland. This is possibly due to gland is under development, as Saga (2000) states that the secretory portion of the sweat glands, consisting of a single layer of columnar cells, varies in height and size, reflecting different stages of maturation.

The scent gland in adult animals also consists of secretory epithelia and connective tissue around it. The volume occupied by the tissue surrounding the glandular lobules is similar to that found in cornual gland found and its different of those found in goats sub caudal and preputial gland (Van lancker et al., 2005) since in the cornual gland the connective tissue volume is scarce, while in sub caudal and preputial glands are abundant.

Regarding histology, the scent gland secretory units of the sebaceous portion in peccaries is similar to that observed in the preputial gland of adult male rats (Ponmanickam et al., 2010) and in adults coatis (Bertassoli et al., 2011), since the glandular epithelia exhibit branched, irregular, undefined light alveoli lobes, besides, they exhibit central and peripheral cells in the alveoli with accumulation of lipid droplets in the cytoplasm. However, it is worth noting that there are variations in the composition of the sebaceous gland in scent glands of other animals: in goats, was observed that cornual and mental glands are modified and differ from the typical holocrine sebaceous glands, since they are large and has strongly eosinophilic cytoplasm with colorations with H&E similar to hepatocytes (Van Lancker et al., 2005).

In its mature form, the sebaceous glands are acinares appendix of holocrine secretion of the epidermis (Pierard et al, 2014). In the basal layer exists proliferating cells, and sebocytes filled with lipid are present within the gland. Eventually the lysis of mature sebocytes results in the release of sebum containing different lipids to a specialized excretory duct (Niemann and Horsley, 2012).

The height of the epithelium of the secretory tubules in the sweat gland of adult animals had an average diameter was 158.08 μm and the cells of the secretory units feature basal nucleus, vacuolated cytoplasm and cytoplasmic apical projections. According to Saga (2000) the lumen of the secretory portions of the apocrine sweat glands is large, measuring

approximately 200 μm in diameter, cell membranes show microvilli on the apical region and the secretory cells have cytoplasmic granules. The sweat portion of the odoriferous gland in adult collared peccaries is formed by coated tubules lined by a simple cubic epithelium and resembles the preputial gland of coatis (Bertassoli et al., 2011).

The sweat gland in animals is important since it is the vector of phenomena necessary for sexual olfactory recognition, since the excretory duct of this structure is common to the sebaceous glands and, therefore, the secretions of the two products of the two glandular types are intimately mixed (Piérard et al., 2014). The apocrine sweat gland releases a yellowish or whitish, viscous and oily secretion that has a musky odor in response to decomposition of the secretion components by bacteria (Ovalle, 2011) which generates the animals' characteristic smell. The apocrine secretion responds to emotional stimuli, adrenergic and cholinergic. Obeys stimuli by epinephrine and norepinephrine with local or humoral origin and being rich in lactate and Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cl^- , HCO_3^- (Piérard et al., 2014).

In this study, the major modification on the castrated collared peccaries scent gland was the decrease in size and secretory proportional relationship between the secretory unit and the connective tissue of the sebaceous portion. It is known that testosterone influences the development of skin glands in animals. Ponmanickam et al. (2010) reported a decrease of preputial glands of castrated rats, compared with normal adults. And in the volume, this study is consistent with that reported by Zielonka (1993) who found that the castration significantly decreased the cytoplasmic volume of cells of the sebaceous gland in cats, reflecting a decrease in metabolic activity. In addition, Iwata et al. (2000) found that castration in goats significantly reduced the sebaceous gland and generated inhibition of pheromonal activity.

Testosterone supplementation was able to induce an increase in castrated collared peccaries gland. And besides size, hormone supplementation also influenced the structural organization of the scent gland. These results are in agreement with that reported by Zielonka (1993) who found that the treatment with testosterone restored the morphology of the gland in castrated cats. Similarly, Iwata et al. (2000) found that administration of testosterone in castrated goats increased sebaceous gland. These results in the joint findings suggest that the development of scent gland undergoes dependence of testosterone and, possibly, pheromone production by the sebaceous gland requires the presence of this hormone.

It has been reported that dominant males peccaries have testosterone levels above their subordinates (Hellgren, 1989) and in other species, the glands in the skin are larger and heavier in animals exhibiting dominance. (Pohorecky et al., 2008). In the sebaceous glands testosterone is transformed into dihydrotestosterone by the action of a specific enzyme, 5-alpha reductase type I. Immediately after formation, dihydrotestosterone, coupled to a cytosolic receptor, reaches the sebocyte core and there binds to a specific receptor (Claudine and Gerald, 2012) increasing the activity of the gland.

Regarding the sweat portion, testosterone treatment did not restore significantly the secretory epithelia of castrated animals compared to adults. Our results differ from those indicated by Wales and Ebling (1971) where it was shown that the apocrine glands of submandibular, inguinal and anal regions of rabbits were influenced by testosterone, in this study the administration of testosterone in castrated animals generated an increase in epithelial height and of the tubules size.

In order to evaluate the proliferative activity of the scent gland, was made AgNOR count in cells of the sebaceous and sweat portion. AgNOR are a set of argyrophilic proteins

that accumulate in highly proliferating cells, whereas its expression is low in non-proliferating cells. The number of AgNOR is closely related to the speed of cell proliferation, but also with the transcription activity of ribosomal RNA (rRNA). Because these proteins accumulate in proliferating cells, a count is used as a means to assess cell proliferation (Roussel and Hernandez-Verdun, 1994; Derenzini., 2000; Sirri et al, 2000).

The results of this study showed that castration affects only the proliferative activity of the sebaceous portion of the scent gland. The rate of cell proliferation in the sebaceous gland of castrated peccaries was comparable to newborn peccaries. And the proliferative activity was restored after testosterone replacement in castrated animals. The maturation of the sebaceous gland is characterized by the synthesis of sebum, which contains triglycerides, squalene and waxes in abundance. The excretion of sebum is regulated by various physical and chemical factors and by various hormones, in particular androgens (Claudine and Gerald, 2002). Found that the major volatile components of the secretions released by the scent gland in males collared peccary are geranylgeraniol and squalene (Waterhouse, 1996). Thus, this indicates that testosterone causes the maturation of the sebaceous portion of the scent gland and consequent increase in secretory activity.

The results of this study provide strong evidence that the collared peccary the scent gland is under the influence of testosterone. The decrease in testosterone levels in the blood, due to castration generates significant changes in secretory units, only the portion of odoriferous sebaceous gland.

Acknowledgment

The authors are grateful to the Dr. Moacir F Oliveira for allowing the use of animals for the experiment and to CAPES for grants.

References

1. Arakawa, H., D. C. Blanchard, K. Arakawa, C. Dunlap and R. J. Blanchard, 2008: Scent marking behavior as an odorant communication in mice. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **32**, 1236-1248.
2. Arakawa, H., S. Cruz, and T. Deak, 2011: From models to mechanisms: odorant communication as a key determinant of social behavior in rodents during illness-associated states. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **35**, 1916-1928.
3. Bertassoli, B. M., A. C. dos Santos, N. C. Pieri, V. C. de Oliveira, C. A. Mançanares, and A. F. de Carvalho, 2011: Classificação Morfológica da Glândula Prepucial do *Nasua nasua* (Quati). *Biotemas*, **24**, 83-90.
4. Bissonette, J.A., 1982. Ecology and social behavior of the collared peccary in Big Bend National Park, Texas, U.S. Dept. of the Interior, National Park Service, pp 15-16.
5. Bodmer, R.E., Aquino, R., Puertas, P.E., Reyes, C.J., Frang, T.G. and Gottdenker, N.L. 1997: Manejo y uso sustentable de pecaríes en la Amazonía peruana. IUCN Species Survival Commission, Quito, Equador and Secretaria Cites, Ginebra, Suiza, pp. 31-37.
6. Burgener, N., M. Dehnhard, H. Hofer, and M. L. East, 2009: Does anal gland scent signal identity in the spotted hyaena?. *Animal Behaviour*, **77**, 707-715.
7. Ceacero, F., J. Pluháček, M. Komárková and M. Zábranský, 2014: Pre-orbital gland opening during aggressive interactions in rusa deer (*Rusa timorensis*). *Behavioural processes*, **111**, 51-54.
8. Claudine, P. F., and P. Gérald, 2002: Fisiología de la secreción sebácea. *EMC-Dermatología*, **36**, 1-7.

9. Dal Monte, M. A. D. B., R. G. Costa, M. Grotta, G. Bragagnoli, M. A. C. Jacinto and A. N. de Medeiros, 2005: Avaliação histológica de peles de caprinos em idades diferenciadas. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, **42**, 12-18.
10. Derenzini, M., 2000. The AgNORs. *Micron*, **31**, 117-120.
11. Epling, G. P., 1956: Morphology of the scent gland of the javelina. *Journal of Mammalogy*, **37**, 246-248.
12. Ferkin, M. H., And R. E. Johnston, 1993: Roles of gonadal hormones in control of five sexually attractive odors of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Hormones and Behavior*, **27**, 523-538.
13. Garcia, A. R., P. R. Kahwage and O. M. Ohashi, 2009: Aspectos reprodutivos de caíaitus (*Tayassu tajacu*). *Rev Bras Reprod Anim*, **33**, 71-81.
14. Gongora, J., and C. Moran, 2005: Nuclear and mitochondrial evolutionary analyses of Collared, White-lipped, and Chacoan peccaries (*Tayassuidae*). *Molecular phylogenetics and evolution*, **34**, 181-189.
15. Groves, C.P. and P. Grubb, 1993: The suborder suiformes. Pigs, Peccaries and Hippos. *Status Survey and Conservation Action Plan*, pp. 5–21.
16. Hellgren, E. C., R. L. Lochmiller, M. S. Amoss, S. W. J. Seager, S. J. Magyar, K. P. Coscarelli and W. E. Grant, 1989: Seasonal variation in serum testosterone, testicular measurements and semen characteristics in the collared peccary (*Tayassu tajacu*). *Journal of Reproduction and Fertility*, **85**, 677-686.
17. Iwata, E., Y. Wakabayashi, Y. Kakuma, T. Kikusui, Y. Takeuchi, and Y. Mori, 2000: Testosterone-dependent primer pheromone production in the sebaceous gland of male goat. *Biology of reproduction*, **62**, 806-810.

18. Massolo, A., F. R. Dani and N. Bella, 2009: Sexual and individual cues in the perianal gland secretum of crested porcupines (*Hystrix cristata*). *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde*, **74**, 488-496.
19. Niemann, C., and V. Horsley, 2012. Development and homeostasis of the sebaceous gland. *Seminars in cell & developmental biology*, **23**, pp. 928-936.
20. Ovalle, W. (ed), 2011: *Netter Bases da Histologia*, Elsevier Brasil, pp 244- 247.
21. Piérard, G. E., C. Piérard-Franchimont, and T. Hermanns-Lê, 2014: Secreciones sudorípara y sebácea. *EMC-Dermatología*, **48**, 1-9.
22. Pohorecky, L. A., G. G. Blakley, E. W. Ma, H. A. Soini, D. Wiesler, K. E. Bruce and M. V. Novotny, 2008: Social housing influences the composition of volatile compounds in the preputial glands of male rats. *Hormones and behavior*, **53**, 536-545.
23. Ponmanickam, P., K. Palanivelu, S. Govindaraj, R. Baburajendran, Y. Habara and G. Archunan, 2010: Identification of testosterone-dependent volatile compounds and proteins in the preputial gland of rat *Rattus norvegicus*. *General and comparative endocrinology*, **167**, 35-43.
24. Roussel, P., and D. Hernandez-Verdun, 1994: Identification of Ag-NOR proteins, markers of proliferation related to ribosomal gene activity. *Experimental cell research*, **214**, 465-472.
25. Saga, K., 2002: Structure and function of human sweat glands studied with histochemistry and cytochemistry. *Progress in histochemistry and cytochemistry*, **37**, 323-386.
26. Sirri, V., P. Roussel and D. Hernandez-Verdun, 2000. The AgNOR proteins: qualitative and quantitative changes during the cell cycle. *Micron*, **31**, 121-126.

27. Thompson, R. N., A. Napier and K. S. Wekesa, 2007: Chemosensory cues from the lacrimal and preputial glands stimulate production of IP 3 in the vomeronasal organ and aggression in male mice. *Physiology & behavior*, **90**, 797-802.
28. Thomsett, L. R., 1986: Structure of canine skin. *British Veterinary Journal*, **142**, 116-123.
29. Van Lancker, S., W. Van Den Broeck and P. Simoens, 2005: Morphology of caprine skin glands involved in buck odour production. *The Veterinary Journal*, **170**, 351-358.
30. Wales, N. A. M., and F. J. Ebling, 1971: The control of the apocrine glands of the rabbit by steroid hormones. *Journal of Endocrinology*, **51**, 763-770.
31. Walro, J. M., and G. E. Svendsen, 1982: Castor sacs and anal glands of the North American beaver (*Castor canadensis*): their histology, development, and relationship to scent communication. *Journal of Chemical Ecology*, **8**, 809-819.
32. Waterhouse, J. S., J. Ke, J. A. Pickett and P. J. Weldon, 1996: Volatile components in dorsal gland secretions of the collared peccary, *Tayassu tajacu* (Tayassuidae, Mammalia). *Journal of chemical ecology*, **22**, 1307-1314.
33. Zielonka, T. M., D. Charpin, P. H. Berbis, P. Luciani, D. Casanova, and D. Vervloet, 1993: Effects of castration and testosterone on Fel d I production by sebaceous glands of male cats: I—immunological assessment. *Clinical & Experimental Allergy*, **24**, 1169-1173.

Figures legend

Figure 1. The scent gland of an adult collared peccary. In the note that the gland is ovoid, and in the center there is a small teat (arrow) which leaves a whitish discharge. In B gland scent gland after skin removal. Note that there are two portions: the cranial that is clear (thick arrow) and the dark flow rate (*). Scale bars: (A) 4; (B) 3 cm.

Figure 2. The scent gland of newborn collared peccary observed by microscopy with light stained with hematoxylin and eosin. The micrograph the sebaceous portion. In the Spotlight I note that the alveoli have basal cell (arrow head), polyhedral cells with well stained cytoplasm (arrow) and nuclei with euchromatic aspect; alveoli converge to a interlobular duct and sebum accumulation clue is restricted to that region. In B photomicrograph of sweat portion; note on highlight II that this is coiled tubular and the lumen is narrow (L), coated cubic cells. Among the tubules check the loose conjunctive tissue (CT). Scale bars: (A) 226,0 μm ; (B): 99,0 μm .

Figure 3. The scent gland of newborn collared peccary observed by microscopy with light stained with hematoxylin and eosin. In A micrograph the sebaceous portion. Look that the alveoli are doing well developed; in the basal region we verify the proliferative layer of cuboidal cells, core, euchromatic and eosinophilic cytoplasm (highlight I). In the alveolar center cells were larger, globular and with the cytoplasmic full of lipid droplets (arrow) and the core was pyknotic in a few cells (*). In B, observe part of a secretion unit of the sweat portion. Note that the lumen has distended (L) and is covered by a simple columnar epithelium with one cubic basal eucromático nucleus, still it is found that the cytoplasm is vacuolated and in the apical we view suggestive apical projections of the secretion mechanism (thick arrow). Scale bars: (A) 160.0 μm ; (B): 58.0 μm .

Figure 4 - Comparison of the histological organization of the sebaceous portion of the scent gland of collared peccaries. (A) collared peccary newborn; look that the alveoli are undeveloped and there quite the connective tissue around it (B) adult; look the well-developed alveoli with a delicate layer of connective tissue between the secretory units (C) castrated; look that the secretory units suffered a process of involution and connective tissue around it increased (D) castrated treated with testosterone; note that the alveoli become well developed generating a decrease in connective tissue. Hematoxylin and eosin. Scale bars: 104,0 μm .

Figure 5 - Comparison of the histological organization of the sweat portion of the scent gland of collared peccaries. (A) collared peccary newborn; look that the secretory tubules are smaller, with small lumen and quite connective tissue around it (B) adult; note that the secretory units are larger, the lumen is large, full secretion and there is a delicate layer of connective tissue between the secretory tubules (C) castrated; note that the secretory units suffered decrease, the lumen is distended, contains secretion and the connective tissue around it increased (D) castrated treated with testosterone; note that the tubules were not well developed, presented secretions in the lumen and the connective tissue around it was plentiful.. Hematoxylin and eosin. Scale bars: 104,0 μ m.

Figure 6 - photomicrograph of sebaceous gland stained by silver impregnation method. The AgNOR are visualized as dark clumps within the core of the gland cells. Featured, a cell (arrow) with AgNORs prominent intranuclear is pointed arrow. Scale bar: 30,0 μ m.

Tables

Table 1 – Mean values of volumetric proportion of secretory portion and connective tissue of the sebaceous gland of collared peccaries.

Peccaries groups	Volumetric proportion of secretory portion (%)	Volume proportion of connective tissue (%)
Newborn	55,25 $\pm$ 9,2 ^b	44,50 $\pm$ 8,8 ^a
Adult	82,51 $\pm$ 3,6 ^a	17,50 $\pm$ 3,6 ^b
Castrated	59,63 $\pm$ 7,0 ^b	40,38 $\pm$ 7,0 ^a
Castrated treated with testosterone	81,13 $\pm$ 3,7 ^a	18,63 $\pm$ 3,1 ^b

Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation. Mean in the same column with different lower case letters differ (P < 0.05). Tukey test.

Table 2 – Length and width of the scent glands of the collared peccaries.

Parâmetros	Newborn	Adult	Castrated	Castrated treated with testosterone
Length (cm)	2,76 $\pm$ 0,25 ^c	10,66 $\pm$ 0,76 ^a	5,83 $\pm$ 0,76 ^b	9,70 $\pm$ 0,17 ^a
Width (cm)	1,26 $\pm$ 0,21 ^c	5,40 $\pm$ 0,29 ^a	3,60 $\pm$ 0,41 ^b	4,50 $\pm$ 0,41 ^{ab}

Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation. Mean in the same line with different lower case letters differ (P < 0.05). Tukey test.

Table 3 – Mean values of the epithelial height, diameter of the lumen, volumetric proportion tubular and extratubular sweat glands of collared peccaries.

Animals	Epithelial height (μm)	Diameter of the lumen (μm)	Volumetric proportion tubular (%)	volumetric proportion extratubular (%)
Newborn	8,01 $\pm$ 1,2 ^c	21,02 $\pm$ 9,2 ^c	65,31 $\pm$ 3,5 ^c	34,69 $\pm$ 3,5 ^a
Adult	10,77 $\pm$ 2,8 ^b	158,08 $\pm$ 62,4 ^a	80,50 $\pm$ 8,7 ^a	18,87 $\pm$ 7,3 ^b
Castrated	16,27 $\pm$ 2,3 ^a	141,56 $\pm$ 66,9 ^{ab}	65,75 $\pm$ 5,8 ^b	35,00 $\pm$ 5,8 ^a
Castrated treated with testosterone	15,80 $\pm$ 1,9 ^a	129,23 $\pm$ 45,6 ^b	67,25 $\pm$ 4,6 ^b	35,75 $\pm$ 9,6 ^a

Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation. Mean in the same column with different lower case letters differ (P <0.05). Tukey test.

Tabela 4 – Average values of AgNOR/nucleus in cells of the sebaceous gland and sweat of collared peccaries.

Peccaries groups	Cells	
	Sebaceous gland	Sweat gland
Newborn	2,28 $\pm$ 1,4 ^b	2,85 $\pm$ 1,5 ^c
Adult	4,97 $\pm$ 1,9 ^a	4,42 $\pm$ 1,7 ^a
Castrated	2,48 $\pm$ 1,2 ^b	3,68 $\pm$ 1,7 ^b
Castrated treated with testosterone	4,46 $\pm$ 1,8 ^a	3,56 $\pm$ 1,5 ^b

Data are expressed as mean $\pm$ standard deviation. Mean in the same column with different lower case letters differ (P <0.05). Tukey test.

ANEXO II



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

PARECER DE PROJETO ENCAMINHADO A CEUA-UFERSA

Parecer Nº 26/2013 PROCESSO Nº 23091.004825/2013-50

Data de Entrada: 06/11/2013 Aprovado: 26/11/2013

1. Pessoal Responsável:
José Domingues Fontenele Neto

2. Título do Projeto:

Organização histológica da glândula de cheiro do cateto (Tayassu tajacu, LINNAEUS 1758) e a influência da testosterona na manutenção de sua estrutura.

3. Considerações:

Após apreciação pelos membros, a comissão julgou que o protocolo de procedimentos está devidamente preenchido e de acordo com as especificações da Comissão de Ética no Uso de Animais da UFERSA. O problema em questão tem relevância científica. O protocolo experimental está bem discriminado e coerente. O número experimental de animais está coerente com os objetivos da pesquisa. Durante os procedimentos, os animais serão acondicionados corretamente e serão submetidos a estresse ou sofrimento mínimos. O método de eutanásia está de acordo com a resolução Nº 714, de 20 de junho de 2002 a qual dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia em animais. Todo o procedimento de manipulação dos animais será realizado com acompanhamento técnico especializado e com o uso de material adequado.

4. Parecer final:

FAVORÁVEL à aprovação do projeto

Mossoró, 26 de novembro de 2013.

Atenciosamente,

Profª Emanuelle Fontenele Rabelo
Presidente
Comissão de Ética no uso de animais
CEUA UFERSA

Emanuelle Fontenele Rabelo
Presidente CEUA