

**UNIVERSIDADE ESTADUAL NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIAS AGROPECUÁRIAS - CCTA**  
**PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**CAIO VITOR BUENO DIAS**

**CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE SAL EM**  
**TARTARUGA-VERDE *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758)**

**CAMPOS DOS GOYTACAZES**

**MARÇO/2018**

**CAIO VITOR BUENO DIAS**

**CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE SAL EM  
TARTARUGA-VERDE *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758)**

Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração de Produção, Reprodução e Sanidade Animal.

Orientador: Prof. Dr. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho

**CAMPOS DOS GOYTACAZES**

**MARÇO/2018**

## FICHA CATALOGRÁFICA

Preparada pela Biblioteca do **CCH / UENF**

025/2018

D541 Dias, Caio Vitor Bueno.

Caracterização histológica da glândula de sal em tartaruga-verde  
*Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758) / Caio Vitor Bueno Dias. – Campos dos  
Goytacazes, RJ, 2018.

47 f. : il.

Bibliografia: f. 43 – 46.

Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Universidade Estadual do Norte  
Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias,  
2018.

Orientador: Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho.

1. Histologia. 2. Anatomia Microscópica. 3. Animais Selvagens. I.  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD –639.392

CAIO VITOR BUENO DIAS

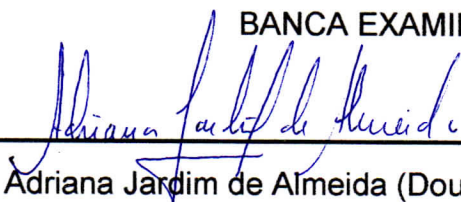
**CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA DA GLÂNDULA DE SAL EM  
TARTARUGA-VERDE *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758)**

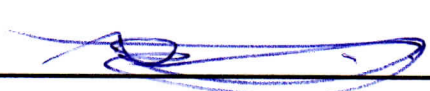
Tese apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Ciência Animal, na Área de Concentração de Produção, Reprodução e Sanidade Animal.

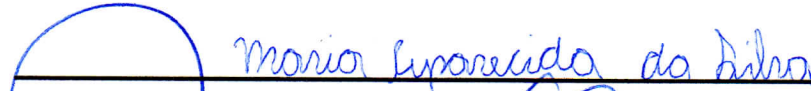
Orientador: Prof. Dr. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho

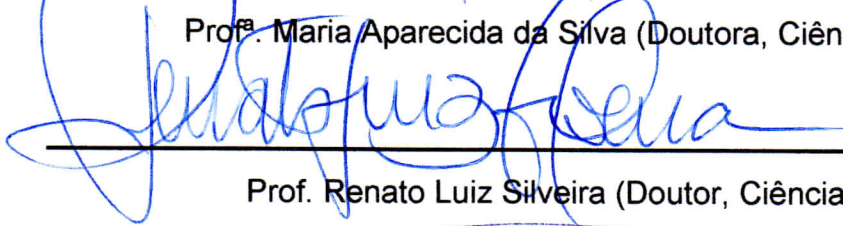
Aprovada em 16 de Março de 2018.

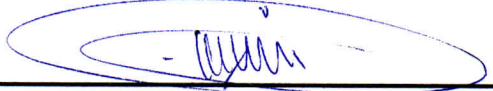
BANCA EXAMINADORA

  
Prof.<sup>a</sup> Adriana Jardim de Almeida (Doutora, Produção Animal) – UENF

  
Prof. Leonardo Serafim da Silveira (Doutor, Produção Animal) – UENF

  
Prof.<sup>a</sup> Maria Aparecida da Silva (Doutora, Ciência Animal) – UFES

  
Prof. Renato Luiz Silveira (Doutor, Ciência Animal) – UFF

  
Prof. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho (Doutor, Anatomia Patológica) – UENF  
(Orientador)

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, por sempre estar presente em minha vida e por me presentear com pessoas tão especiais: minha família e os verdadeiros amigos.

Agradeço à Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro por me proporcionar toda a estrutura e corpo técnico necessário para realização de todos os meus experimentos, e por fomentar todo o meu crescimento profissional.

Agradeço à FAPERJ e à CAPES pela bolsa que possibilitou a realização e manutenção deste sonho, a conclusão de um Doutorado.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Eulógio Carlos Queiroz de Carvalho, que apostou em mim e me aceitou como seu orientado, dando a oportunidade de observá-lo e por doar de forma tão generosa todo o seu conhecimento. Com certeza esse convívio foi de grande valia tanto para meu crescimento como Médico Veterinário, Pesquisador e Professor, quanto como pessoa.

À querida Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Bárbara Freitas Rodrigues, que acreditou em mim, mesmo sem me conhecer direito, me convidando, de forma inesperada, para ser minha Co-orientadora e dividir comigo seu tempo, seu conhecimento, suas experiências profissionais. Você é um dos exemplos em que me espelho na minha vida profissional.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Marinete Pinheiro Carrera, que por motivos de força maior, ou mesmo do destino, me aceitou como orientando, sendo a minha primeira orientadora neste programa de Pós-Graduação. Neste um ano em que frequentei o seu laboratório conheci pessoas maravilhosas, algumas que já levo pra toda a minha vida, adquiri conhecimento de áreas em que nunca imaginaria trabalhar, ampliando meu campo de visão científica, me apresentando a uma área de pesquisa que admiro. Muito Obrigado.

Aos membros da banca que aceitaram o convite para participar, de perto, deste processo de conclusão do meu Doutorado. Prof<sup>a</sup>. Maria Aparecida da Silva, uma amiga que acompanha minha vida acadêmica e profissional há alguns bons anos, desde a minha graduação. Uma amiga por quem tenho grande carinho. E ao Prof.

Dr. Leonardo Serafim da Silveira, de quem sempre solicito ajuda, compartilhando seus conhecimentos e fornecendo dicas valiosas para a realização dos meus projetos.

Agradeço também às pessoas mais fundamentais na minha vida, aquelas a que devo tudo que sou e que doaram e doam o mais profundo e sincero amor, que sempre acreditaram em mim mesmo nos momentos que nem mesmo eu era crédulo em minha capacidade. A eles que amo eternamente, meus pais, Elvira Bueno Dornelas Dias e Vitor Hugo Pereira Dias.

É com muita satisfação e com um carinho enorme, que agradeço a uma pessoa que tenho como exemplo de profissional, de pesquisadora, e de pessoa, que sempre me apoiou, incentivou, e que amo incondicionalmente, minha irmã Germana Bueno Dias.

Ao meu cunhado, praticamente um irmão, Umberto Zottich Pereira, por todo o incentivo e apoio dado a mim todos esses anos de convívio. Obrigado!

A TODOS os amigos que dividiram momentos de alegria e tristeza. Estes anos que passei aqui não foram fáceis, e com certeza sem a presença e o carinho desses amigos teria sido impossível a concretização deste sonho.

Aos demais Professores, Funcionários e Alunos da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em especial à equipe do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal, pois todos tiveram uma participação fundamental ao longo do caminho para a conclusão desta tese.

A realização desta Tese de Doutorado só foi possível graças à colaboração e à contribuição, de forma direta ou indireta, de todas as pessoas citadas acima. MUITO OBRIGADO.

## RESUMO

Este trabalho tem por objetivo a atualização da anatomia microscópica, através da microscopia óptica e eletrônica de varredura, da Glândula de Sal de Tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*). Para isso foram utilizadas glândulas de sal de 10 exemplares (5 machos e 5 fêmeas) de *C. mydas* extraídas do acervo do Setor de Morfologia e Anatomia Patológica (SMAP) do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA). As amostras foram processadas para avaliação microscópica óptica e eletrônica de varredura. Para a avaliação na microscopia óptica, além do corante de rotina, foram utilizadas técnicas de histoquímica para diferenciação e identificação de tecidos específicos. A Glândula de Sal foi caracterizada sendo uma glândula multilobulada, constituída por inúmeras unidades secretoras (US) distribuídas por toda a extensão dos lóbulos. Cada lóbulo é individualizado por um septo de tecido conjuntivo frouxo com a presença das vênulas e arteríolas interlobulares que fazem a irrigação do órgão. Há a presença de unidades secretoras, que são constituídas por um epitélio glandular composto tubular ramificado, formado por células serosas de formato triangular. Estas células assumem a função do órgão, de retirada do excesso de sais do organismo para excretá-los por uma secreção serosa para fora do organismo. Na região periférica observa-se uma maior concentração celular, com células de formato mais cuboide, citoplasma escasso, núcleos com a cromatina mais densa e citoplasma mais basofílico, características que indicam funções de células germinativas, possuindo a função de reposição celular. Na região central do lóbulo e na região interlobular foi observada a presença de tecido conjuntivo rico em fibras colágenas, sendo identificada, através de teste histoquímico, a presença de colágeno do tipo I na região ao redor do ducto central, no tecido conjuntivo intralobular. No tecido conjuntivo interlobular, observou-se uma variação em relação ao tipo do colágeno encontrado, no qual foi encontrado, em proporções relativamente iguais, a presença de colágeno do tipo I e III. Auxiliando no processo de escoamento da secreção produzida pelas US, uma rede de túbulos excretores, que se iniciam a partir do lúmen de cada US, vai confluindo e se agrupando em direção ao ducto central. Estes túbulos, assim como os ductos centrais, são revestidos por dois tipos celulares: um epitélio cilíndrico pseudoestratificado, com citoplasma escasso e basofílico na coloração de Hematoxilina-eosina, e núcleos esféricos e centrais, caracterizando células epiteliais de função germinativa; e uma camada de células apicais, colunares, com citoplasma fracamente corado pela HE, com o núcleo esférico em seu terço basal, que ao teste histoquímico específico foi possível a observação de um conteúdo de mucopolissacarídeos, insinuando uma função protetora do epitélio dos túbulos excretores e do canal central à ação lesiva da alta osmolaridade da secreção glandular. Conclui-se que este trabalho confirmou o que era descrito sobre o tema na escassa literatura e trouxe novas informações, e um banco de fotomicrografias de qualidade, que servirão de referência para demais pesquisas sobre o órgão e apoio para identificação de alterações morfofuncionais.

Palavras-chave: Histologia, Anatomia, Conservação, Animais Selvagens.

## ABSTRACT

This work aims to update the microscopic anatomy, through scanning electron microscopy and scanning of the Salt Gland of Green Turtles (*Chelonia mydas*). For this, salt glands of 10 specimens (5 males and 5 females) of *C. mydas* extracted from the Morphology and Pathological Anatomy Sector (SMAP) of the Laboratory of Morphology and Animal Pathology (LMPA) were used. The samples were processed for optical microscopy and scanning electron microscopy. For optical microscopy evaluation, in addition to routine dye, histochemical techniques were used to differentiate and identify specific tissues. The salt gland was characterized as a multilobulated gland, consisting of innumerable secretory units (US) distributed throughout the lobes. Each lobe is individualized by a loosely connected connective tissue septum with the presence of interlobular venules and arterioles that irrigate the organ. There are the presence of secretory units, which are constituted by a branched tubular glandular epithelium composed of serous cells of triangular shape. These cells assume the function of the organ, the removal of excess salts from the body to excrete them by a serous secretion out of the body. In the peripheral region there is a higher cell concentration, with cells with a more cuboid shape, scarce cytoplasm, nuclei with more dense chromatin and more basophilic cytoplasm, characteristics that indicate germ cell functions, having the cell replacement function. In the central region of the lobe and in the interlobular region the presence of connective tissue rich in collagen fibers was observed. The histochemical test identified the presence of type I collagen in the region around the central duct in the intralobular connective tissue. In the interlobular connective tissue, a variation was observed in relation to the type of collagen found, in which the presence of type I and III collagen was found in relatively equal proportions. By aiding in the process of flow of the secretion produced by the US, a network of excretory tubules, which start from the lumen of each US, converge and clump towards the central duct. These tubules, as well as the central ducts, are covered by two cell types: a pseudostratified cylindrical epithelium with scarce and basophilic cytoplasm in Hematoxylin-eosin staining, and spherical and central nuclei, characterizing epithelial cells of germinal function; and a layer of apical cells, columnar, with cytoplasm weakly stained by HE, with the spherical nucleus in its basal third, that to the specific histochemical test it was possible to observe a content of mucopolysaccharides, insinuating a protective function of the epithelium of the excretory tubules and of the central canal to the action of the high osmolarity of the glandular secretion. It is concluded that this work confirmed what was described on the subject in the scarce literature and brought new information, and a bank of quality photomicrographs, which will serve as reference for other research on the organ and support for identification of morphofunctional changes.

Key-words: Histology, Anatomy, Conservation, Wild Animals.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Ilustração demonstrando as espécies de tartarugas marinhas.....	15
Tartaruga-verde ( <i>Chelonia mydas</i> ).....	17
Prancha de identificação da Tartaruga-verde ( <i>Chelonia mydas</i> ).....	17
Ilustração demonstrando a localização anatômica da Glândula de Sal.....	18
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> )...26	
Fotomicrografia eletrônica de varredura da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ).....	27
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) evidenciando a região periférica com maior adensamento celular e a região central.....	28
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) evidenciando as células da região periférica.....	29
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) demonstrando a morfologia celular das unidades excretoras.....	30
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) A: Imagem evidenciando a membrana basal das US; B: Imagem evidenciado a presença do septo de tecido conjuntivo.....	31
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) demonstrando a presença de fibras colágenas, de coloração azulada, no tecido conjuntivo centrolobular.....	32
Fotomicrografia óptica sob luz polarizada da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) evidenciando a presença de alta concentração de fibras colágenas do tipo I no tecido conjuntivo intralobular.....	33
Fotomicrografia óptica sob luz polarizada da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) evidenciando a presença majoritariamente de fibras colágenas do	

tipo III e de moderada quantidade de fibras do tipo I no tecido conjuntivo interlobular.....	34
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) evidenciando a presença de melanócitos no tecido conjuntivo a região centrolobular do órgão.....	35
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) evidenciando, no centro da imagem, a intersecção entre a UE e o Túbulo excretor.....	36
Fotomicrografia eletrônica de varredura da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) demonstrando os Túbulos secretores convergindo em direção ao centro do lóbulo glandular.....	37
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) demonstrando a morfologia das células do canal central.....	38
Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde ( <i>Chelonia mydas</i> ) evidenciando a presença de mucopolissacarídeos (coloração vermelha) no citoplasma das células apicais do Ducto central.....	39

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>12</b>
1.1. OBJETIVO.....	13
<b>1.1.1. Objetivos Específicos</b> .....	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>14</b>
2.1. ORDEM CHELONIA.....	14
2.2. TARTARUGA-VERDE ( <i>Chelonia mydas</i> LINNAEUS, 1758).....	16
2.3. GLÂNDULA DE SAL.....	18
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>20</b>
3.1. GRUPO AMOSTRAL.....	20
3.2. PROCESSAMENTO DAS AMOTRAS PARA MICROSCOPIA ÓPTICA.....	20
<b>3.2.1. Colorações Especiais</b> .....	<b>21</b>
3.2.1.1. Tricômico de Gomori.....	21
3.2.1.2. Ácido Periódico-Schiff.....	21
3.2.1.3. Picrosirius Red.....	21
3.3. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	21
3.4. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO ORGÃO.....	22
<b>4. RESULTADOS</b> .....	<b>23</b>
4.1. CARACTERIZAÇÃO DO PARÊNQUIMA DA GLÂNDULA DE SAL.....	23
4.2. CARACTERIZAÇÃO DO ESTROMA DA GLÂNDULA DE SAL.....	24
4.3. CARACTERIZAÇÃO DA REDE DE DUCTOS E DO CANAL CENTRAL.....	26
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	<b>40</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>44</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>45</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A regulação osmótica celular é um dos desafios cruciais na conquista de diferentes ambientes e no estabelecimento de espécies aquáticas em ambientes com variações de salinidade (SILVA; VALLOTA, 2006).

Para que as células mantivessem o seu volume constante, supõem-se que paralelamente à evolução dessas moléculas, sistemas de transporte de solutos evoluíram primando à preservação da concentração osmótica (CO) interna igual à do meio e, portanto, garantindo fluxos resultantes de água nulos. Esta habilidade de regular a composição de seu ambiente interno está fortemente relacionada à habilidade de ocupar ambientes que diferem osmoticamente das necessidades de seus tecidos (SILVA; VALLOTA, 2006).

Os vertebrados marinhos habitam um ambiente no qual a concentração de íons do meio é três vezes maior que a dos seus fluidos corporais, com isso são desafiados com a perda de água e aumento da concentração de íons no organismo. Com exceção dos mamíferos marinhos, os rins desses animais não possuem uma capacidade satisfatória para controlar esse grande influxo de íons, portanto, para sua sobrevivência neste meio necessitam de mecanismos extra renais para realizar o controle osmótico (NICOLSON; LUTZ, 1989).

As tartarugas marinhas habitam tanto os ambientes marinhos quanto estuarinos, e, para tal, estão adaptadas a superar os desafios osmóticos que podem levar à desidratação de suas células. Como os demais répteis, elas não possuem a capacidade de concentração urinária, portanto, elas desenvolveram outros métodos para manutenção de sua concentração osmótica (CO), secretando sal ativamente por um órgão com um epitélio glandular excretor adaptado: a Glândula de Sal (PRANGE, 1985).

Esta capacidade é um mecanismo fisiológico fundamental, e provavelmente um dos mais antigos. Quando as moléculas autorreplicantes foram envolvidas por membranas de fosfolípídeos e iniciou-se a produção de moléculas não difusíveis, um gradiente eletroquímico favorável ao influxo ou efluxo de água foi criado com riscos à ruptura ou desidratação destas estruturas, respectivamente variando com a osmolaridade do meio no qual o animal se encontrava (SILVA; VALLOTA, 2006).

O conhecimento da anatomia microscópica de um órgão, com definição de seu tecido funcional (parênquima), tecidos de suporte (estroma) e conseguinte especificação de suas células efetoras e suas funções é de fundamental importância para a identificação de possíveis alterações morfofuncionais celulares e teciduais em um processo patológico.

A caracterização microscópica da glândula de sal, segundo datam os trabalhos, foi realizada nas décadas de 50 a 60, decorrendo em escassa documentação fotomicrográfica, no âmbito da microscopia óptica. Em uma pesquisa utilizando como palavras-chave os termos “*salt gland*” AND *turtle*, na ferramenta de buscas de artigos científicos *Pubmed*, constaram apenas 27 trabalhos, sendo a maioria relacionada a sua função e não a sua anatomia microscópica. Essa escassez de material pode limitar a identificação de possíveis lesões e/ou determinação de padrões de normalidade para o referido órgão. Faz-se então necessária a atualização desta caracterização histológica com uma documentação fotomicrográfica atualizada, e utilização de novas técnicas para maior auxílio na definição dos parâmetros de normalidade da glândula de sal de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*).

## 1.1.OBJETIVO

Este trabalho tem por objetivo a atualização da anatomia microscópica, por meio da microscopia óptica e da microscopia eletrônica de varredura, da glândula de sal de tartarugas-verdes (*Chelonia mydas*).

### 1.1.1. Objetivos Específicos

- Caracterização da anatomia microscópica por meio da utilização da Microscopia Óptica e Microscopia Eletrônica de Varredura;
- Criação de um banco de fotomicrografia óptica e eletrônica de varredura da morfologia normal do órgão;

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

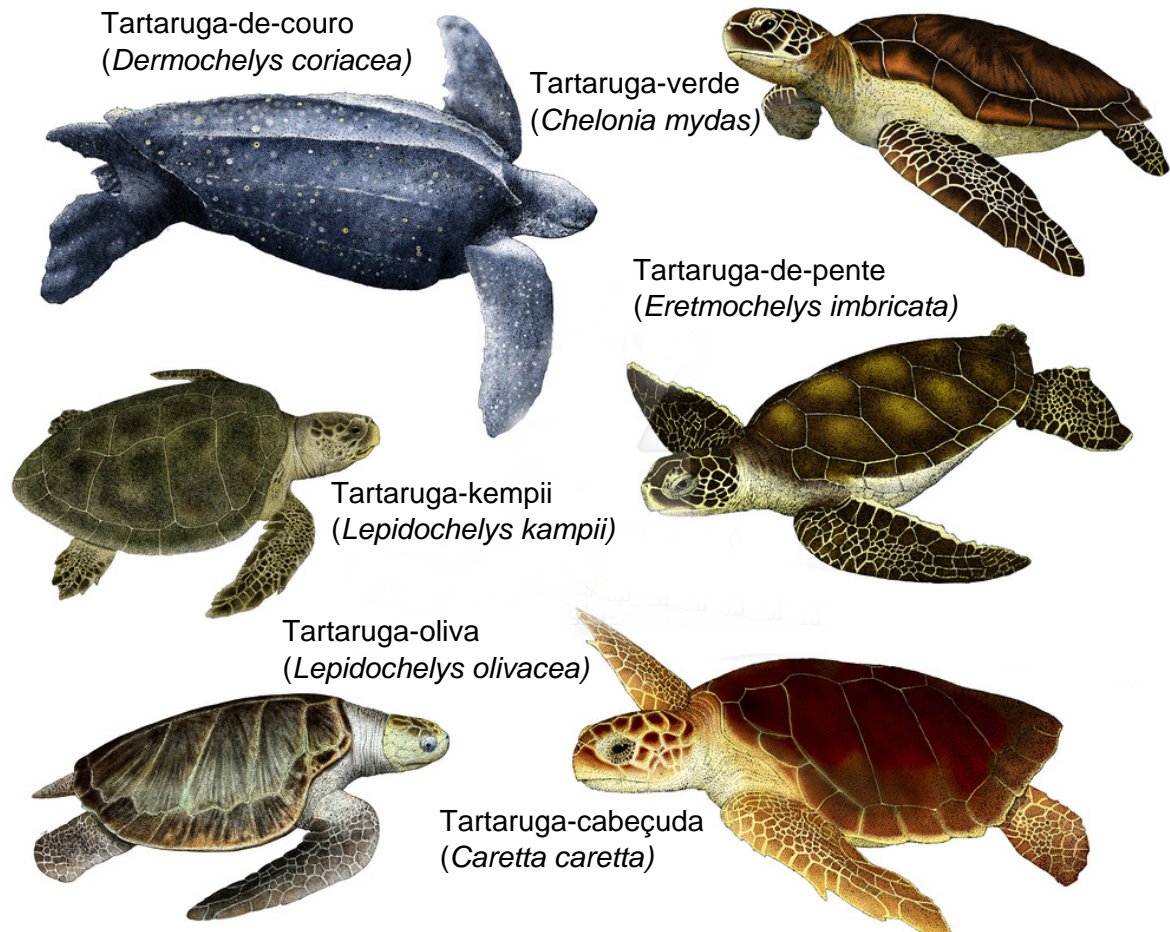
### 2.1. ORDEM CHELONIA

A ordem Chelonia, grupo no qual estão classificadas as tartarugas marinhas, pertencentes à classe Reptilia, é caracterizada por apresentar indivíduos com estrutura corpórea bastante singular, carapaça formada pela fusão dos ossos das vértebras e das costelas, constituindo uma armadura rígida, que protege o corpo do animal contra choques mecânicos e desidratação. Esta característica é apresentada por todos os animais pertencentes a esta ordem e sofreu poucas modificações durante 200 milhões de anos. A carapaça apresenta duas unidades distintas, uma dorsal conhecida como carapaça, e uma ventral denominada plastrão. Elas são recobertas por escudos córneos na maioria das espécies desta ordem (ERNEST; BARBOUR, 1989; POUGH et al., 2003).

Os quelônios são subdivididos em duas subordens, a Cryptodira e Pleurodira, as quais se diferem de acordo com a forma de retração do pescoço. As espécies da subordem Cryptodira retraem o pescoço formando um “S” vertical, e as espécies pertencentes à subordem Pleurodira retraem o pescoço horizontalmente (POUGH et al., 2003). Das espécies de tartarugas marinhas que são encontradas na costa brasileira, todas pertencem à subordem Cryptodira, agrupadas em duas famílias: Dermochelyidae e Cheloniidae (POUGH et al., 2003).

A família Dermochelyidae apresenta uma grande redução dos ossos da carapaça. Eles são formados por um mosaico de pequenos ossos de formato poligonal que ficam imersos em um tecido cartilaginoso, assemelhando-se ao couro. Diferentemente das outras espécies de tartarugas, o seu corpo é recoberto por pele e as placas córneas são ausentes. Seus crânios não apresentam palato secundário e a maxila superior possui duas cúspides que formam uma projeção em forma de “W”. Apresentam unhas em suas nadadeiras e o pescoço é curto e não é completamente retrátil. Esta família, atualmente, é representada somente por uma espécie, a *Dermochelys coriácea* (Linnaeus, 1766), popularmente conhecida como tartaruga de couro, que é listada como a maior espécie entre os quelônios (PRITCHARD, 1997).

A família Chelonidae apresenta a carapaça e o plastrão ósseos recobertos por um número variável de escudos córneos, assim como sua cabeça e membros. São animais dotados de um palato secundário, a pré-maxila não é fusionada ao vômer, apresenta um contato entre os ossos parietal e esquamosal. Seus membros apresentam o formato de nadadeiras, não são retráteis, com dedos alongados e firmemente presos por um tecido conjuntivo. Seis espécies representam essa família atualmente: *Caretta caretta* (Tartaruga cabeçuda), *Chelonia mydas* (Tartaruga-verde), *Eretmochelys imbricata* (Tartaruga de pente), *Lepidochelys olivacea* (Tartaruga oliva), *Lepidochelys kempii* (Tartaruga kempii) e *Natator depressus* (Flatback), ocorrendo na costa brasileira somente as quatro primeiras espécies citadas (Figura 01) (PRITCHARD, 1997; MARCOVALDI; MARCOVALDI, 1999).



**Figura 01:** Ilustração demonstrando espécies de tartarugas marinha das famílias Dermochelyidae e Chelonidae (Fonte: adaptado de: [www.drawingbyjoe.com](http://www.drawingbyjoe.com)).

## 2.2. TARTARUGA-VERDE (*Chelonia mydas* LINNAEUS, 1758)

A Tartaruga verde primeiramente foi descrita por Linnaeus em 1758 como *Testudo mydas* e posteriormente renomeada por Scheweigger, em 1812, para o seu atual nome. Popularmente ela possui este nome devido à coloração de sua gordura de tonalidade esverdeada (BELLINI et al., 1996).

Esta espécie possui distribuição cosmopolita, ocorrendo dos trópicos até as zonas temperadas, e é a espécie que possui maior hábito costeiro, sendo observada inclusive em estuários de rios e lagos. Suas desovas ocorrem principalmente em ilhas oceânicas: Ilha de Trindade (ES), Atol das Rocas (RN) e Fernando de Noronha (PE). As áreas secundárias de desova que ocorrem na costa brasileira se concentram no litoral norte do estado da Bahia, mas esporadicamente já foram observados ninhos na costa dos estados do Espírito Santo, Sergipe e Rio Grande do Norte (MOREIRA et al., 1995; BELLINI et al., 1996; BELLINI; SANCHES, 1996; HIRTH, 1997; MARCOVALDI; MARCOVALDI, 1999).

Apesar de sua grande área de distribuição, a tartaruga-verde está classificada como espécie ameaçada pela Lista Vermelha da *International Union for Conservation of Nature* (IUCN), sendo protegida contra a exploração na maioria dos países (IUCN, 2006).

A tartaruga-verde apresenta uma carapaça óssea revestida por escudos córneos justapostos, seus membros possuem a forma de nadadeiras, e os membros anteriores apresentam unhas bastante evidentes. Sua cabeça possui um formato arredondado e sua mandíbula é revestida por uma ranfoteca serrilhada. A coloração de seu corpo é variada, abrangendo tons de verde oliva e marrom, apresentando manchas ou padrões rajados e estriados (Figura 02). Seu plastrão é branco ou amarelo claro, sua pele é acinzentada ou amarronzada e apresenta um halo mais claro que margeia as escamas, e na parte ventral de suas nadadeiras observa-se a presença de um tom amarelo claro (WYNEKEN, 2001; FORMIA, 2002).

Para a sua identificação são utilizadas algumas características, tais como a presença de quatro pares de escudos laterais em seu casco, sendo que o primeiro par não encontra a placa nugal, e um par de escamas pré-frontais em sua cabeça (Figura 03) (PRINTCHARD; MORTIMER, 2000).



Como as demais tartarugas, o ciclo de vida das tartarugas-verde é complexo, durante o qual realizam extensas migrações entre áreas de alimentação e suas praias de incubação, distantes centenas de quilômetros entre si (MORTIMER, 1991).

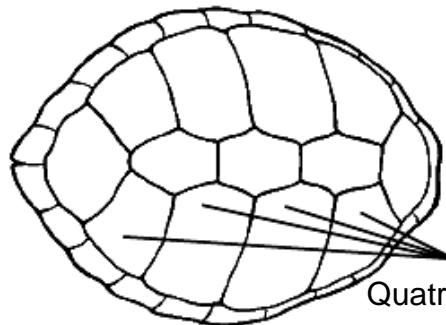
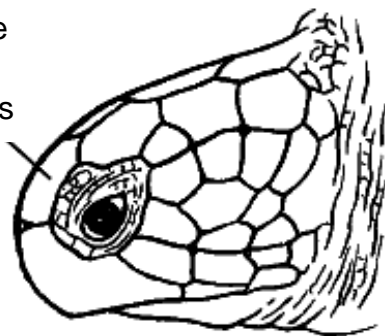


**Figura 02:** Tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) (Fonte: <http://seestjohn.com>).

O hábito alimentar das *C. mydas*, nos primeiros anos de vida constituem-se numa dieta onívora com tendência à dieta carnívora, e após a fase pelágica - quando sua carapaça alcança entre 30 e 40 cm de comprimento - elas tornam-se herbívoras, sendo sua dieta composta principalmente por macroalgas e fenerógamas. Durante a fase imatura pós-pelágica e durante a fase adulta, habitam áreas neríticas, associadas a bancos de fenerógamas submersas e algas (MORTIMER, 1992; BUGONI, 2003).

Elas atingem a maturidade sexual por volta dos 40 a 60 anos de idade, realizando as migrações em busca das áreas de reprodução. Os animais adultos se agregam durante a fase reprodutiva e espalham-se durante o período não reprodutivo (BUGONI, 2003; NARO-MACIEL et al., 2007; PROIETTI et al., 2009).

Um par de  
escamas  
pré-frontais



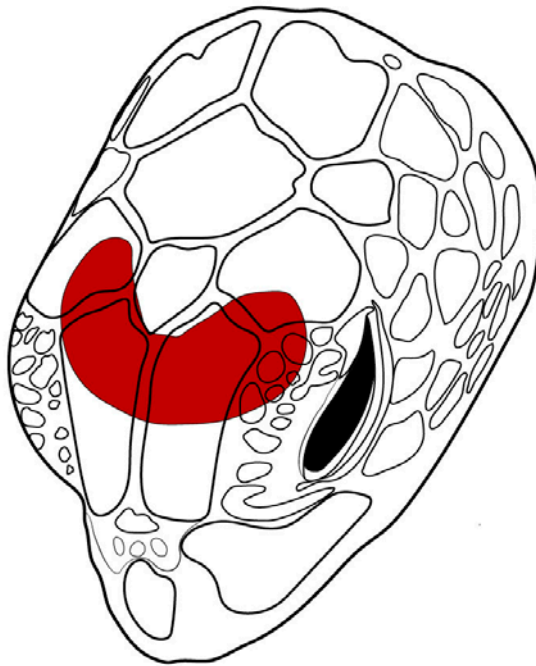
Quatro pares de  
escudos laterais

**Figura 03:** Prancha de identificação da Tartaruga verde (*Chelonia mydas*) (DAWN WITHRINGTON, 2001).

### 2.3. GLÂNDULA DE SAL

A glândula de sal é um órgão responsável pela eliminação do excesso de sal presente no organismo de vertebrados marinhos que não possuem a capacidade de concentração urinária, como os Elasmobrânquios (raias e tubarões), as aves marinhas e algumas espécies de répteis, como as tartarugas marinhas (BRIAN; COWAN, 1971).

Descrita, primeiramente, por Schmidt-Nielsen e Fänge (1958), em répteis marinhos, como uma glândula lacrimal modificada, grande, marrom-avermelhada, bilobada, apresentando inúmeros lóbulos separados por vasos sanguíneos e tecidos conectivos e um ducto curto e largo que se abre na borda posterior do olho (Figura 04).



**Figura 04:** Ilustração demonstrando a localização anatômica da Glândula de Sal (vermelho) (Fonte: Arquivo pessoal)

Microscopicamente é composta por ramificações de um epitélio tubular glandular partindo de um ducto central ou dos canais lobulares, estrutura semelhante à encontrada nas glândulas de sal em aves marinhas.

O epitélio glandular possui grandes bainhas de tecido conjuntivo intralobular e uma camada mais delgada, perilobular, findando cada túbulo. No tecido conjuntivo intralobular foram identificadas um grande número de artérias. Essas artérias se

ramificam de um ramo maior em pequenas artérias através do tecido conjuntivo intralobular, enviando de 8 a 16 arteríolas ao longo dos canais centrais. Essas ramificações das arteríolas formam extensas ramificações formando um rico leito capilar. Na periferia de cada lóbulo os capilares conectam-se aos seios venosos que se fundem formando as veias interlobulares. Estão presentes também dois tipos de fibras nervosas que percorrem todo o tecido glandular: um grupo de fibras inter e intralobular, perfazendo um rico plexo ao redor de cada túbulo, e um grupo de fibras perilobular mais difusas (SCHMIDT-NIELSEN; FÄNGE, 1958; ABEL; ELLIS, 1966).

A Glândula de sal drena por um ducto no canto posterior do olho dos répteis marinhos, este ducto conflui com as pálpebras superiores e inferiores, formando uma estrutura saculiforme. Este ducto, ao interiorizar a glândula, se subdivide em: ducto principal, ductos secundários e canais centrais. Os canais centrais drenam os túbulos secretores dos lóbulos e ao emergirem dos lóbulos se confluem formando os ductos secundários, que se unem para se tornarem o ducto principal. Dentro de cada lóbulo, a região referente à parte distal dos canais centrais é constituída por células colunares. A região proximal dos canais centrais possui um padrão estratificado ou pseudoestratificado, no qual essa estratificação aumenta em direção aos ductos secundários como no ducto principal (ELLIS; ABEL, 1964; ABEL; ELLIS, 1966; MARSHAL; SADDIER, 1989).

Funcionalmente a glândula produz um fluido livre de proteínas, composto basicamente por cloreto de sódio, com concentrações semelhantes às encontradas na água do mar ( $\text{Na}^+/\text{Cl}^- = 0,86$ ), diferentemente do que é observado nas concentrações destes mesmos íons no plasma sanguíneo, onde a concentração se encontra em torno de 1/30, indicando que ocorre um ajuste na concentração desses íons na formação do fluido glandular, em um processo dependente de energia. Essa composição do fluido glandular se mantém fixa, não dependendo da concentração salina do meio em que a tartaruga marinha é submetida. As razões para este fenômeno ainda não são claras (ABEL; ELLIS, 1966; MARSHAL; COOPER, 1988; NICOLSON; LUTZ, 1989; REINA et al., 2002).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. GRUPO AMOSTRAL**

Foram utilizadas glândulas de sal de dez exemplares (cinco machos e cinco fêmeas) de *C. mydas*. Estas glândulas foram extraídas do acervo do Setor de Morfologia e Anatomia Patológica (SMAP) do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA). Todo o material foi coletado durante a necropsia de espécimes encalhados no litoral de São Paulo, recolhidos mortos ou que vieram a óbito durante tratamento nas bases do Programa de Monitoramento de Praias (PMP-Petrobrás). O presente trabalho está licenciado pela Comissão de Ética no uso de Animais da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, protocolada pelo registro nº. 357.

#### **3.2. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ÓPTICA**

As amostras foram processadas de acordo com o protocolo de processamento de amostras para avaliação microscópica adotado pelo SMAP/LMPA (PROPHET *et al.*, 1995).

Após conservadas em solução fixadora de formol tamponado a 10%, por um período mínimo de 48 horas, as amostras foram clivadas e encaminhadas ao processador de tecidos (Leica TP1020), no qual sofreram processos de desidratação, clarificação e impregnação com parafina para posterior inclusão em blocos de parafina.

Finalizado o processo de inclusão, foram realizados os cortes seriados de 4µm de espessura para a confecção das lâminas e coloração com Hematoxilina e Eosina (HE) e colorações especiais (Tricromática de Gomori, Ácido Periódico-Schiff (PAS) e Picrosirius Red.

##### **3.2.1. Colorações Especiais**

Na avaliação da morfologia microscópica da Glândula de Sal foram utilizadas as técnicas histoquímicas de Tricômico de Gomori, Ácido Periódico-Schiff e

Picrosirius Red. Todas as técnicas de coloração utilizadas seguem os protocolos descritos no Capítulo de Técnicas Histológicas do livro de Conceitos e Métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde (MOLINARO *et al.*, 2010).

#### 3.2.1.1. Tricômico de Gomori

Os cortes corados pelo método de Tricômico de Gomori foram utilizados para determinar a localização de fibras colágenas, tecidos musculares e tecido conjuntivo. Nesta técnica as fibras colágenas exibem uma coloração azulada, assim como o tecido conjuntivo, e os tecidos musculares exibem uma coloração avermelhada.

#### 3.2.1.2. Ácido Periódico-Schiff

Os cortes corados pelo método de PAS foram utilizados para evidenciar as membranas basais celulares e determinar a localização das células produtoras de mucopolissacarídeos. Nesta técnica essas estruturas supracitadas se apresentam com uma coloração em tons fortes de vermelho.

#### 3.2.1.3. Picrosirius Red

Os cortes corados por este método e examinados sob luz polarizada foi utilizado para fazer uma avaliação qualitativa do tipo de colágeno predominante nas regiões Gomori positivas e sua distribuição pelo órgão. Nesta técnica foi possível realizar a diferenciação entre fibras colágenas do tipo I e do tipo III. As fibras do tipo I exibem uma coloração vermelho a vermelho-alaranjado, e as fibras do tipo III exibem tonalidades variando do amarelo ao amarelo-esverdeado.

### 3.3. PROCESSAMENTO DAS AMOSTRAS PARA MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As amostras da Glândula de Sal foram lavadas 3 vezes durante 5 minutos cada em Tampão Salina Fosfato (PBS, pH 7,2), realizada após fixação na proporção de 1:1 de Tetróxido de Ósmio e Ferricianeto de Potássio durante 30 minutos, sendo

realizadas 2 lavagens em PBS de 5 minutos cada. Após essas etapas, as amostras foram desidratadas em série crescentes de etanol: 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 100% e duas vezes no etanol super seco, por 30 minutos cada etapa. Em seguida, as amostras foram secas em câmaras de ponto crítico Bal - Tec CPD 030 Critical Point Dryer, montadas em stubs, pulverizadas com paládio (metalização) no aparelho Sputter Coater SDC 050, no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual do Centro de Biociências e Biotecnologia (LBCT/CBB).

### 3.4. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DO ORGÃO

As lâminas foram confeccionadas e analisadas sob microscopia óptica e de luz polarizada para identificação dos diferentes tecidos e células presente no órgão, assim como suas organizações. Para esta análise e realização das fotomicrografias será utilizado um microscópio óptico Nycon Eclipse 80i, Kurobane Nikon Co., Ltd, Otawara, Tochigi, Japan) using the NIS – Elements – BR software program.

Para obtenção das imagens para caracterização morfológica pela microscopia eletrônica de transmissão foi utilizado um Microscópio de Varredura Zeiss DSM – 962 a 15 KV.

## 4. RESULTADOS

Entre todas as glândulas de sal dos animais avaliados, machos e fêmeas, não foi observada variação em sua morfologia relacionada ao sexo dos animais. A caracterização morfológica descrita a seguir é equivalente para ambos os sexos da espécie estudada.

A glândula de sal é um órgão multilobulado, em que cada lóbulo é formado por inúmeras unidades excretoras (UE) distribuídas por toda a extensão dos lóbulos (Figura 06). Estes lóbulos são individualizados entre si por um tecido conjuntivo frouxo, no qual é observado a presença de vasos – vênulas interlobulares, arteríolas interlobulares e vasos linfáticos – que fazem a vascularização do órgão (Figura 06 e 07).

### 4.1. CARACTERIZAÇÃO DO PARÊNQUIMA DA GLÂNDULA DE SAL

Visivelmente é possível dividir a região do parênquima de cada lóbulo em duas regiões: periférica e central. Na região periférica é observada maior concentração celular, com células de formato cuboide, citoplasma escasso, núcleos com a cromatina densa e citoplasma basofílico (Figura 09). Esta característica proporciona a esta região maior adensamento celular. Na região central observamos células com maior volume citoplasmático, formado basicamente pelas células que compõem as unidades excretoras (Figura 08).

As unidades excretoras são constituídas por um epitélio glandular composto tubular ramificado, formado por células serosas de formato cilíndrico a triangular. Nos terços mais apicais das células está localizada a porção excretora, com vacúolos levemente corados pela HE, e no terço basal está localizado o núcleo de formato esférico com a cromatina frouxa e o citoplasma de coloração mais uniforme, sem presença de vacúolos. Com relação bem íntima à região basal das células excretoras, foram observadas células com citoplasma eosinofílico e muito escasso, com núcleo fusiforme, que não apresentaram um padrão diferencial à coloração Tricômica de Gomori (Figura 10).

Estas UE são delimitadas, entre si, pelas membranas basais, evidenciadas na coloração especial de PAS, escasso septo de tecido conjuntivo denso e por um rico

leito capilar que se entremeia pelas UE por todo o lóbulo (Figura 11). Estes capilares são provenientes das arteríolas que se encontram no tecido conjuntivo da região central do lóbulo.

#### 4.2. CARACTERIZAÇÃO DO ESTROMA DA GLÂNDULA DE SAL

Foi observada presente por todo o órgão a presença de dois tipos de tecido conjuntivo, apresentando diferença em sua estrutura e composição conforme a região em que eles estão localizados – o tecido conjuntivo interlobular e o tecido conjuntivo centrolobular (Figura 06 e 08).

O tecido conjuntivo interlobular possui características morfológicas de tecido conjuntivo frouxo, com a presença de fibroblastos e poucas fibras colágenas, identificadas após a realização da coloração especial Tricômio de Gomori. Nele encontramos vasos sanguíneos, as vênulas interlobulares e as arteríolas interlobulares, e a presença de vasos linfáticos (Figura 06).

O tecido conjuntivo centrolobular apresenta características morfológicas de tecido conjuntivo denso não modelado, com a presença de poucos fibroblastos e rico em fibras colágenas, identificadas após a realização da coloração especial Tricômio de Gomori, dispostas sem um padrão de organização (Figura 12). Nele é observada a presença das arteríolas centrolobulares, que são ramificações das arteríolas interlobulares. As arteríolas centrolobulares se ramificam conforme adentram o parênquima da glândula, em direção à periferia, originando um rico leito de capilares que se entremeiam às UE, até alcançar as vênulas interlobulares (Figura 08).

Realizada a prova histoquímica específica para diferenciação do tipo de colágeno presente, a coloração Picrosirius Red, foi observada alta concentração de colágeno do tipo I na região ao redor do ducto central, no tecido conjuntivo centrolobular (Figura 13). Esta avaliação, quando realizada no tecido conjuntivo interlobular, observou uma variação em relação ao tipo do colágeno encontrado, no qual foi encontrado, em proporções relativamente iguais, a presença de colágeno do tipo I e III (Figura 14).

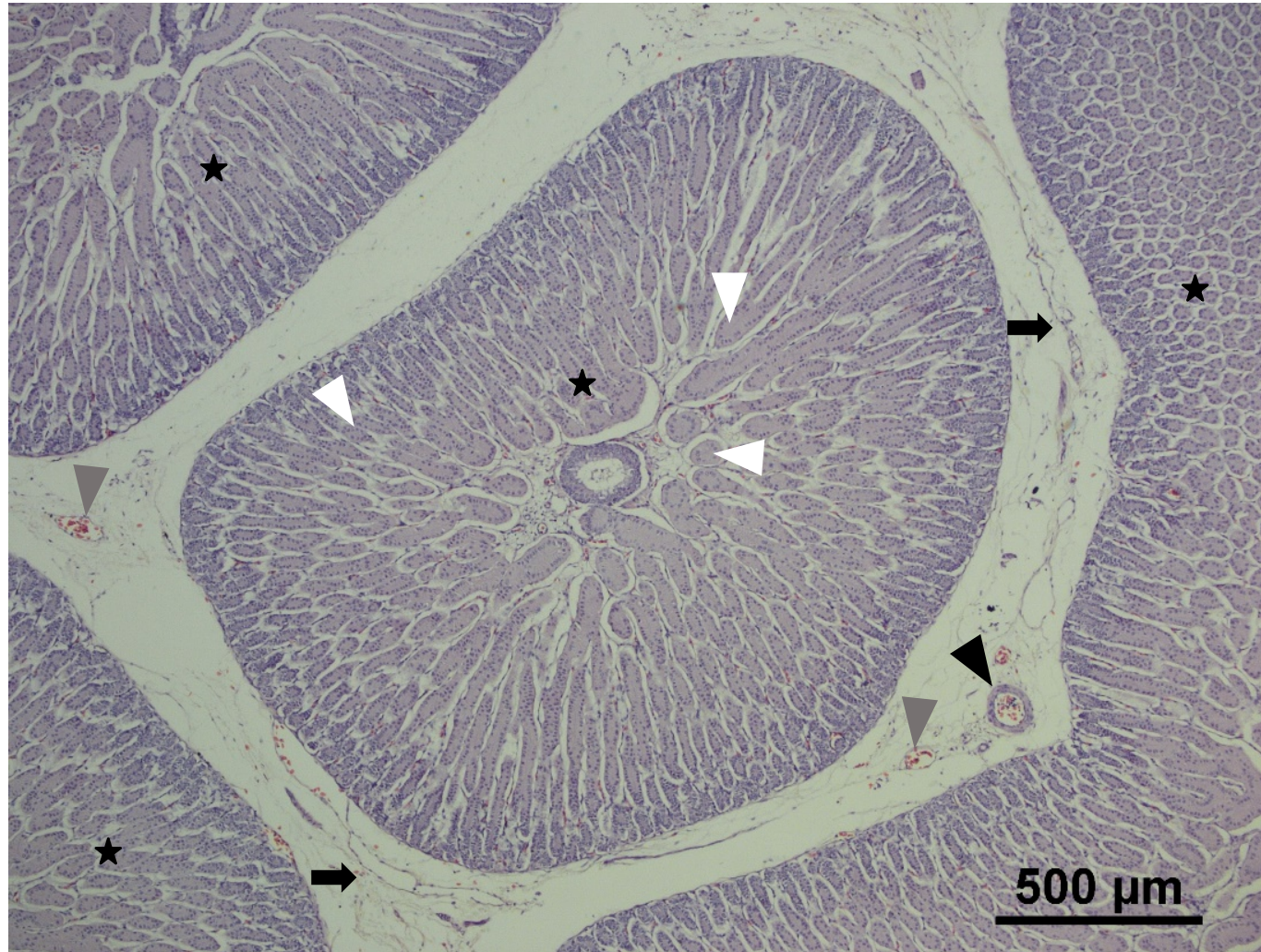
Em alguns animais pôde ser encontrada a presença de melanócitos entremeados ao tecido conjuntivo da região centrolobular (Figura 15).



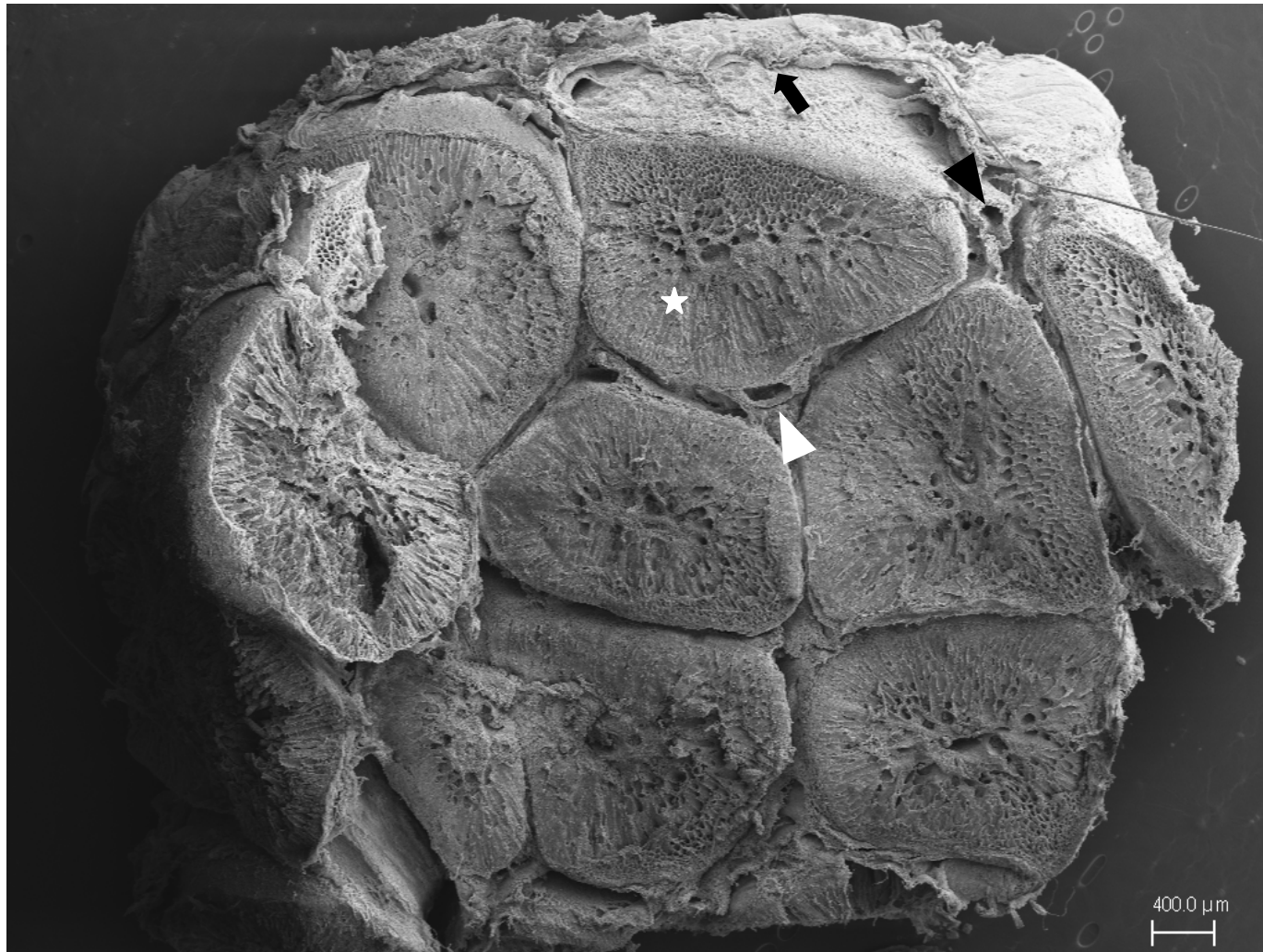
#### 4.3. CARACTERIZAÇÃO DA REDE DE DUCTOS E DO CANAL CENTRAL

Auxiliando no processo de escoamento da secreção produzida pelas UE, uma rede de ductos excretorios, que se iniciam a partir do lúmen de cada UE (Figura 16), vai confluindo e se agrupando em direção ao ducto central (Figura 17).

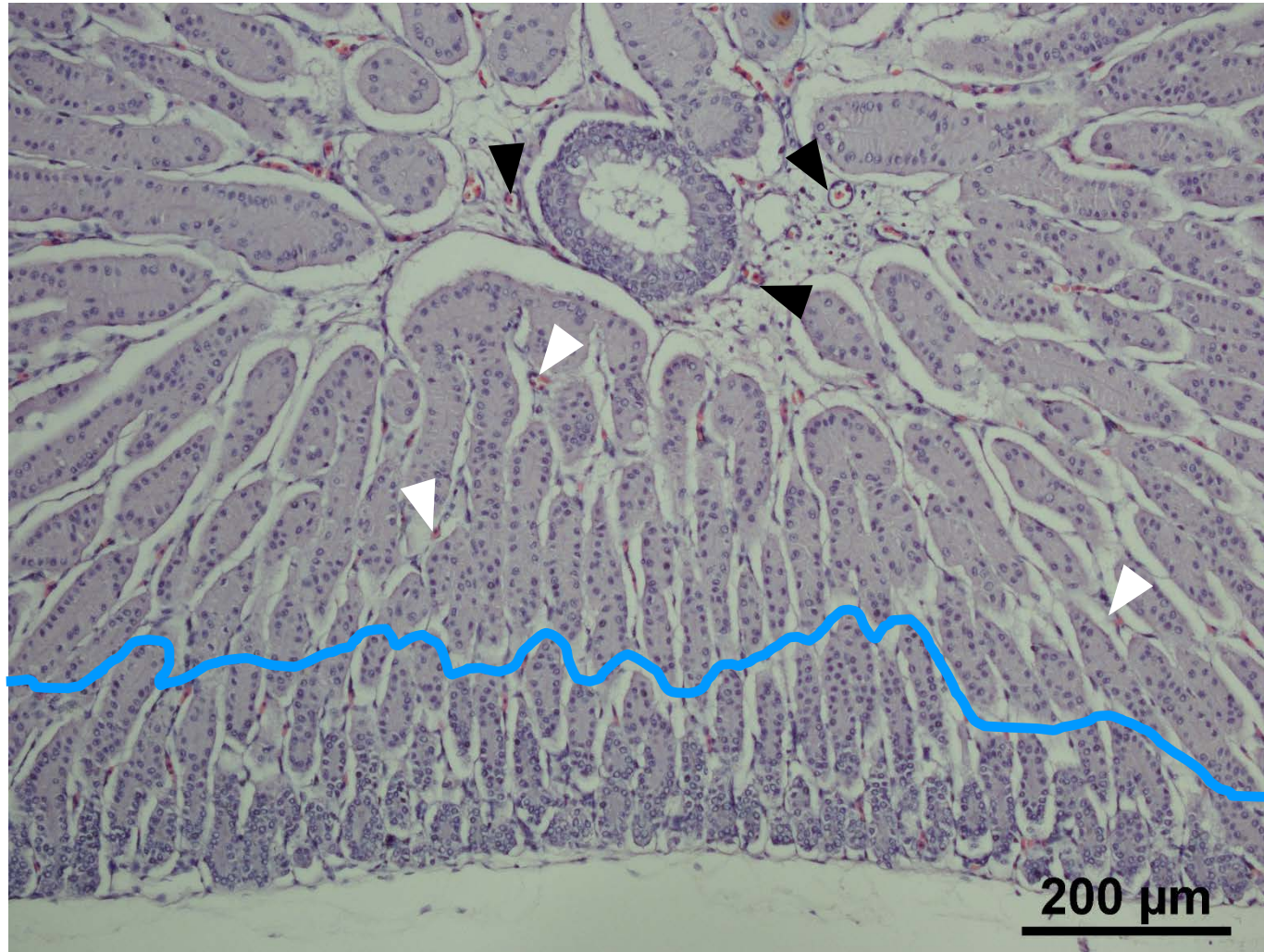
Estes túbulos, assim como os ductos centrais, são revestidos por dois tipos celulares: um epitélio cilíndrico pseudoestratificado, com citoplasma escasso e basofílico na coloração de Hematoxilina-eosina, e núcleos esféricos e centrais; além de uma camada de células apicais, colunares, com citoplasma fracamente corado pela HE, com o núcleo esférico em seu terço basal (Figura 18). Estas células apicais quando submetidas à técnica histoquímica pelo PAS evidenciaram um padrão de coloração vermelho intenso em seu citoplasma, identificando a presença de mucopolissacarídeos (Figura 19).



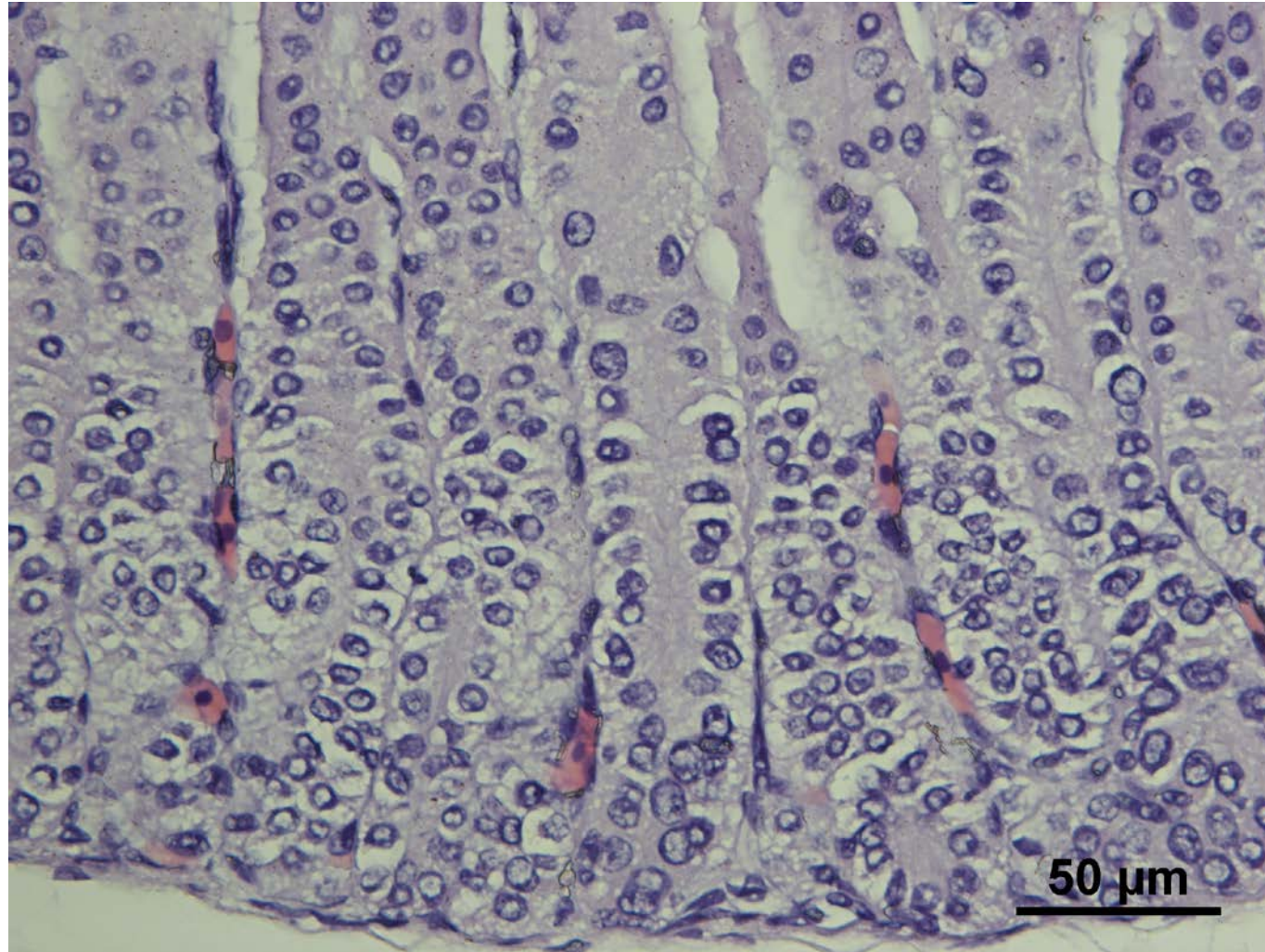
**Figura 06:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*). Estrela: Lóbulos da Glândula; Pontas de seta branca: Unidades excretoras; Ponta de seta preta: arteríola interlobular; Ponta de seta cinza: vênulas interlobulares; Seta preta: tecido conjuntivo frouxo interlobular. (Coloração: Hematoxilina-eosina, aumento de 4x. Imagem do arquivo pessoal).



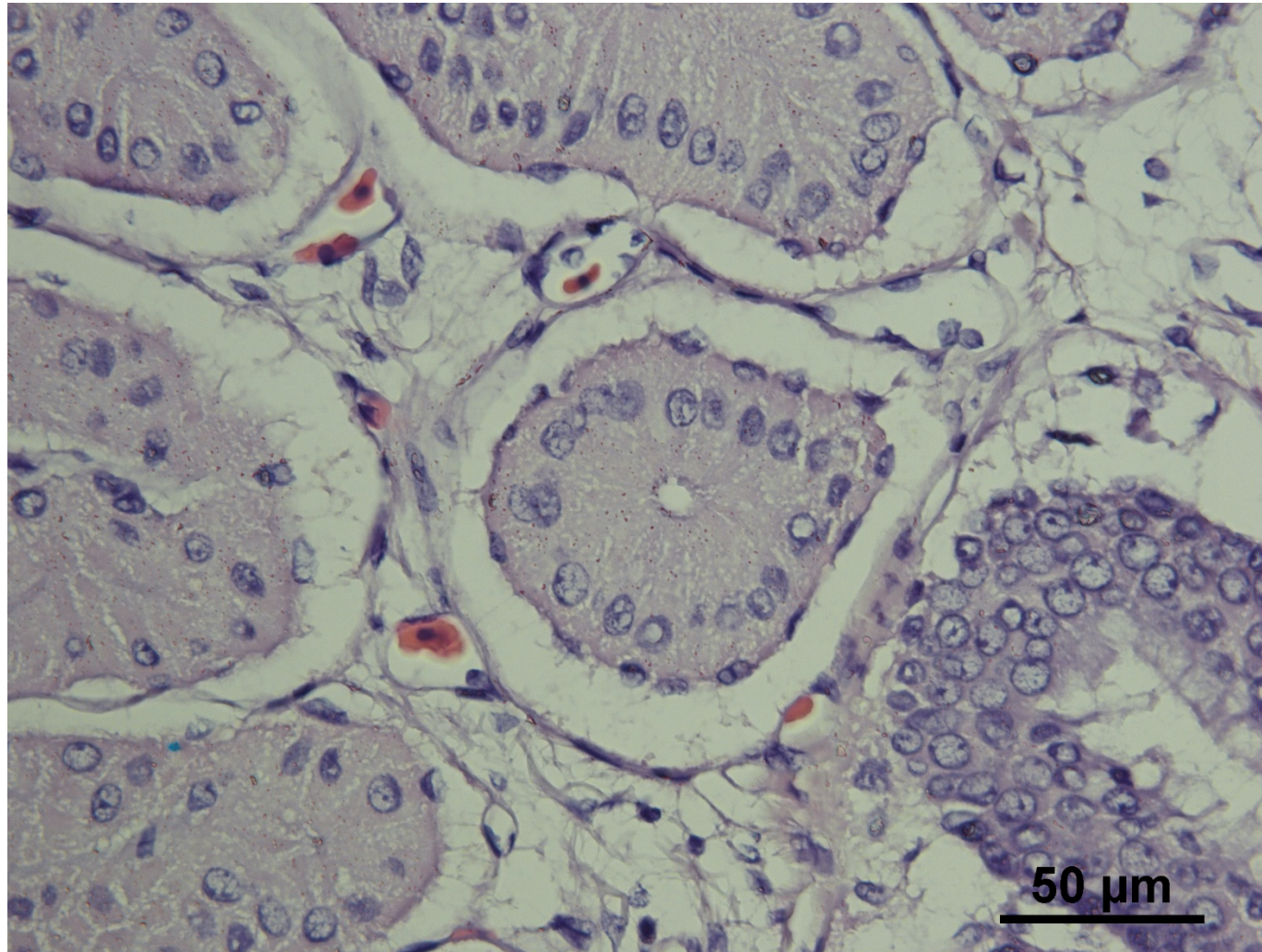
**Figura 07:** Fotomicrografia eletrônica de varredura da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*). Estrela: Lóbulo da Glândula; Ponta de seta branca: Vênula interlobular; Ponta de seta preta: arteríola interlobular Seta preta: tecido conjuntivo frouxo interlobular. (Barra: 400  $\mu$ m. Imagem do arquivo pessoal).



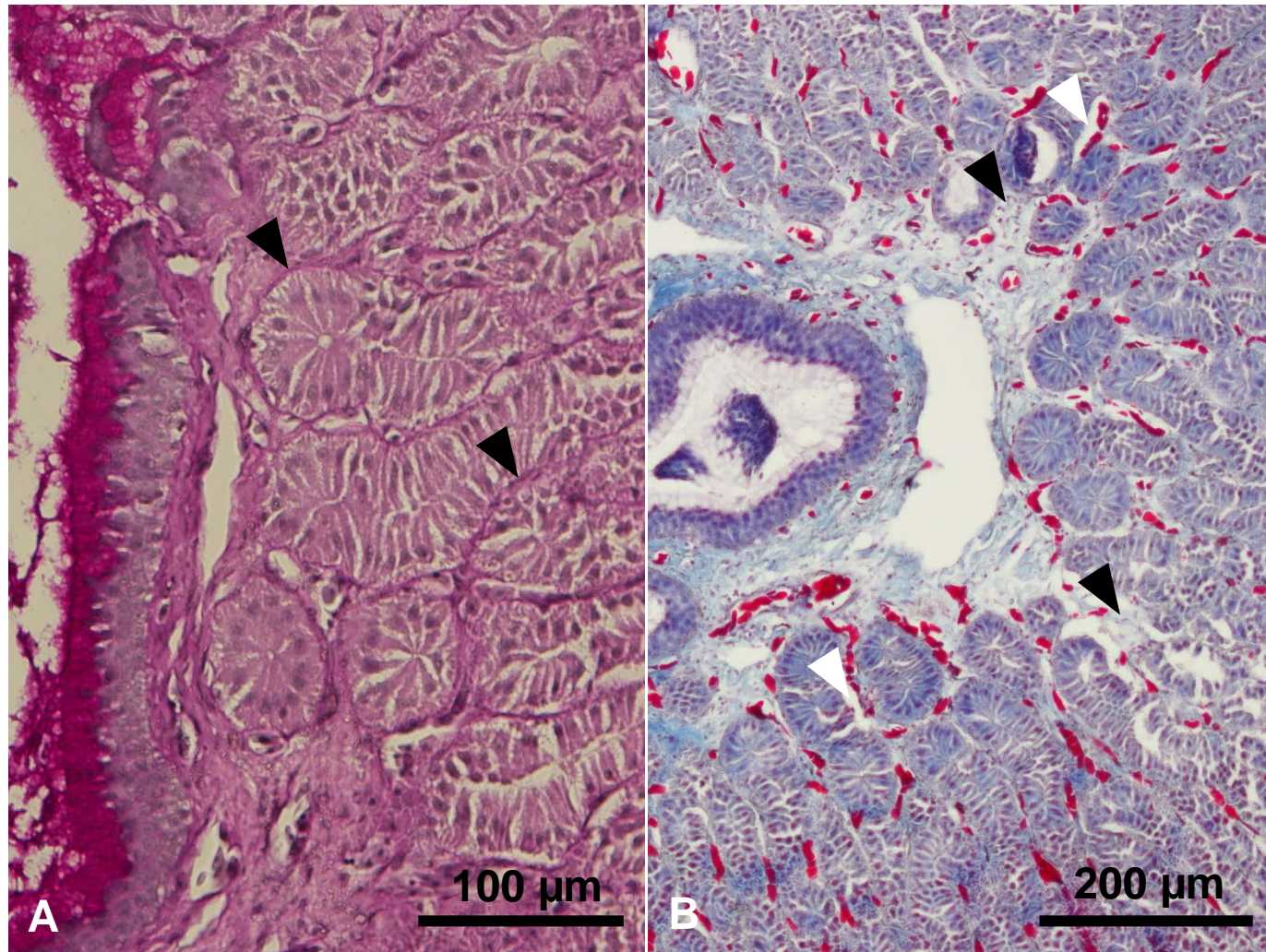
**Figura 08:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) evidenciando a região periférica com maior adensamento celular e a região central – linha azul fazendo a delimitação das duas regiões. Ponta de seta preta: Arteríolas centrolobulares; Ponta de seta branca: Seios capilares perialveolar (Coloração: Hematoxilina-eosina, aumento de 10x. Imagem do arquivo pessoal).



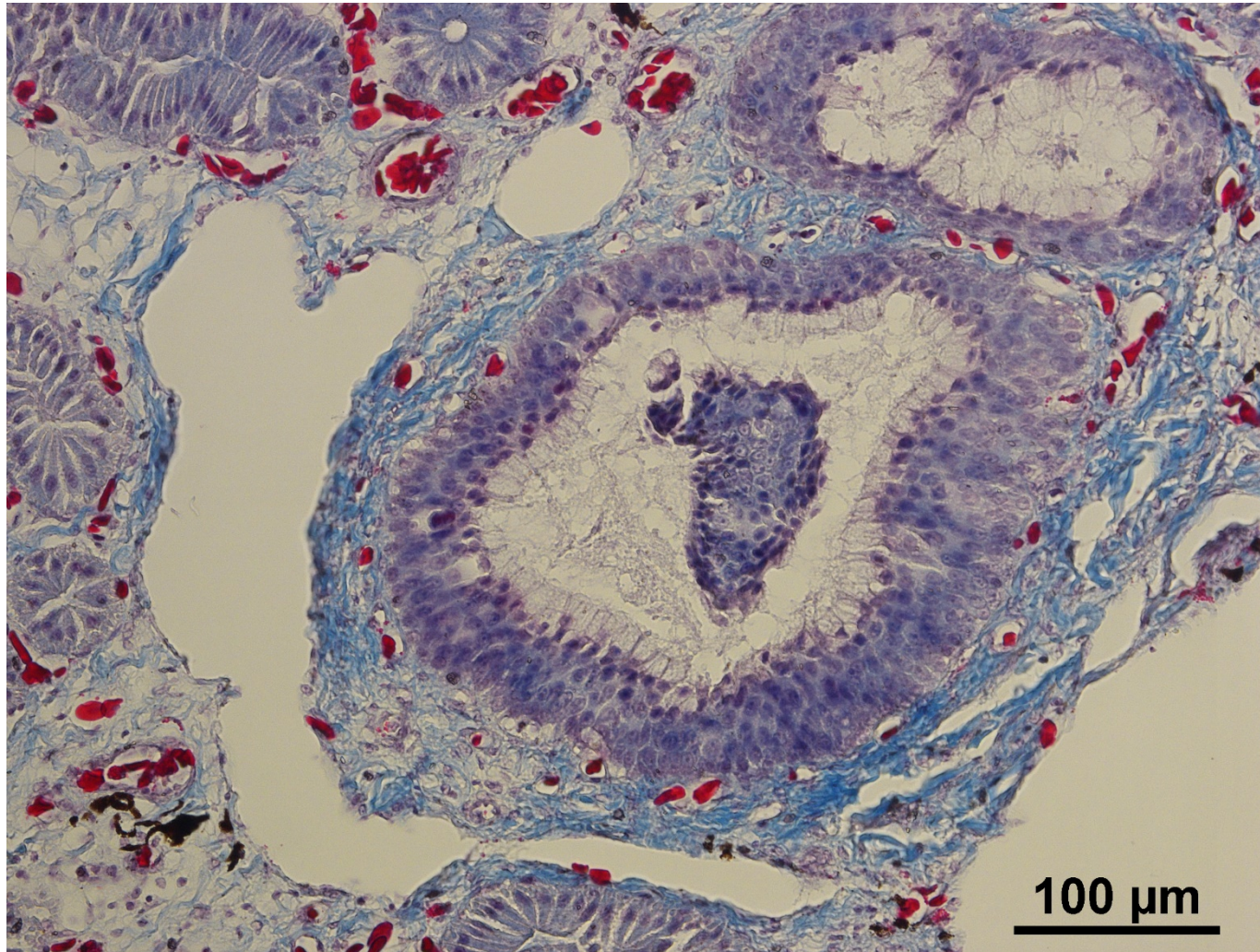
**Figura 09:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) evidenciando as células da região periférica: células com formato cúbico, citoplasma homogêneo e ligeiramente basofílico, e núcleos esféricos com a cromatina densa (Coloração: Hematoxilina-eosina, aumento de 10x. Imagem do arquivo pessoal).



**Figura 10:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) demonstrando a morfologia celular das unidades excretoras. São formadas por células triangulares, com núcleo esférico localizado no terço basal, e com presença de vacúolos na extremidade apical (Coloração: Hematoxilina-eosina, aumento de 40x. Imagem do arquivo pessoal).

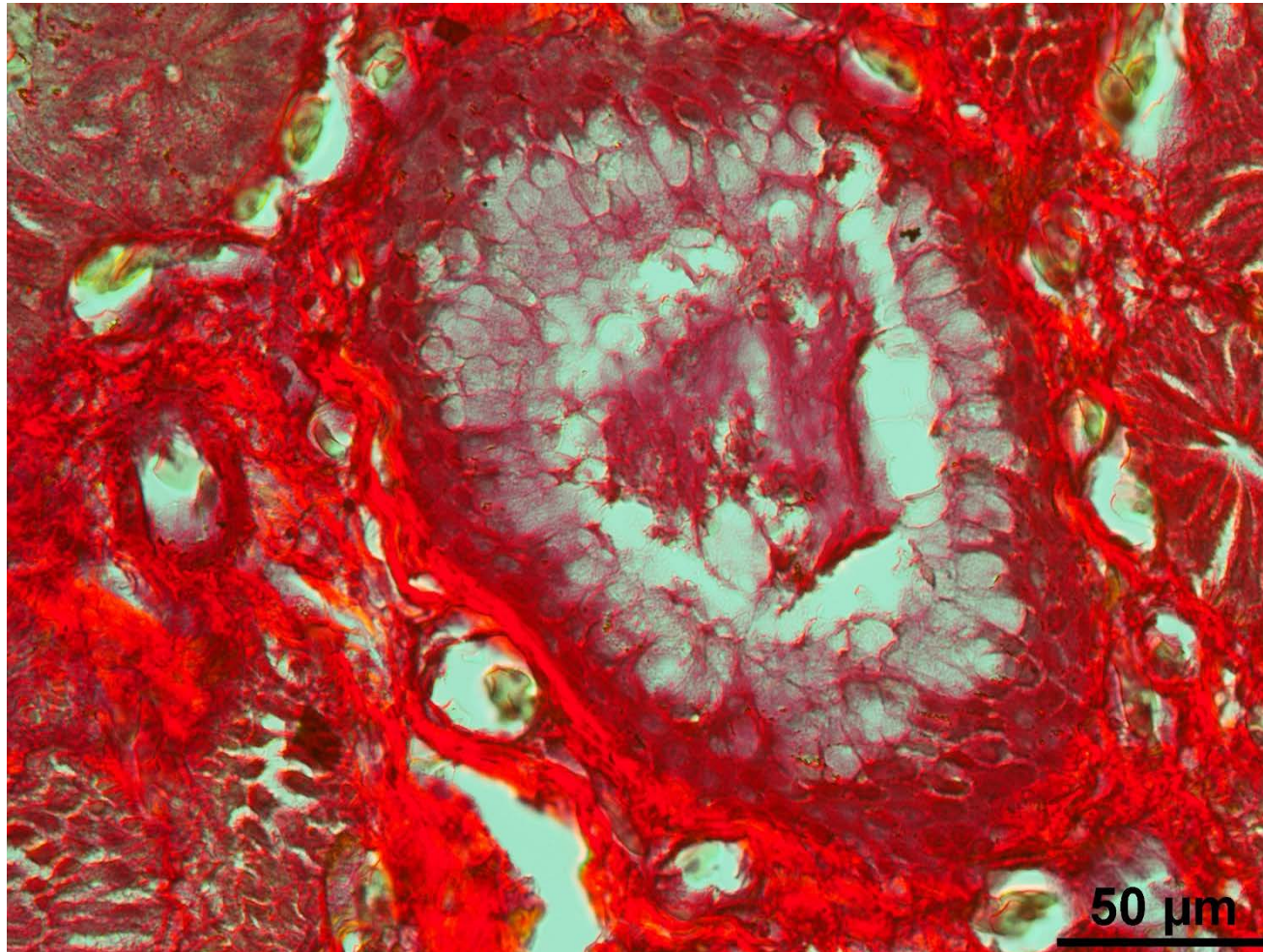


**Figura 11:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) A: Imagem evidenciando a membrana basal das UE (Ponta de seta); B: Imagem evidenciado a presença do septo de tecido conjuntivo (Ponta de seta preta) e o leito capilar (Ponta de seta branca) entre as UE (Coloração: Ácido Periódico-Schiff (A) e Tricrômio de Gomori (B), aumento de 20x (A) e 10x (B). Imagem do arquivo pessoal).

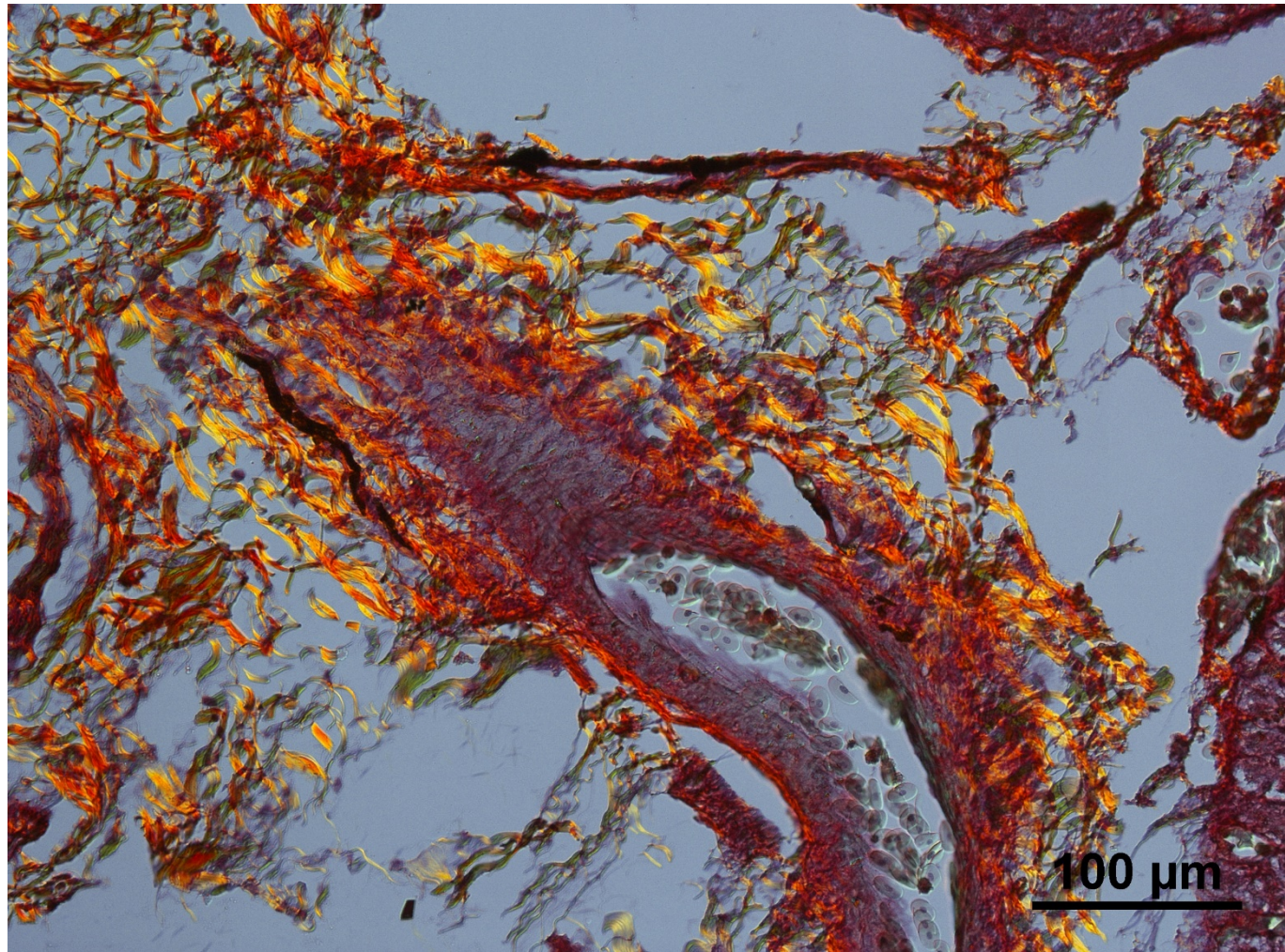


**Figura 12:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) demonstrando a presença de fibras colágenas de coloração azulada no tecido conjuntivo centrolobular. (Coloração: Tricrômio de Gomori, aumento de 20x. Imagem do arquivo pessoal).

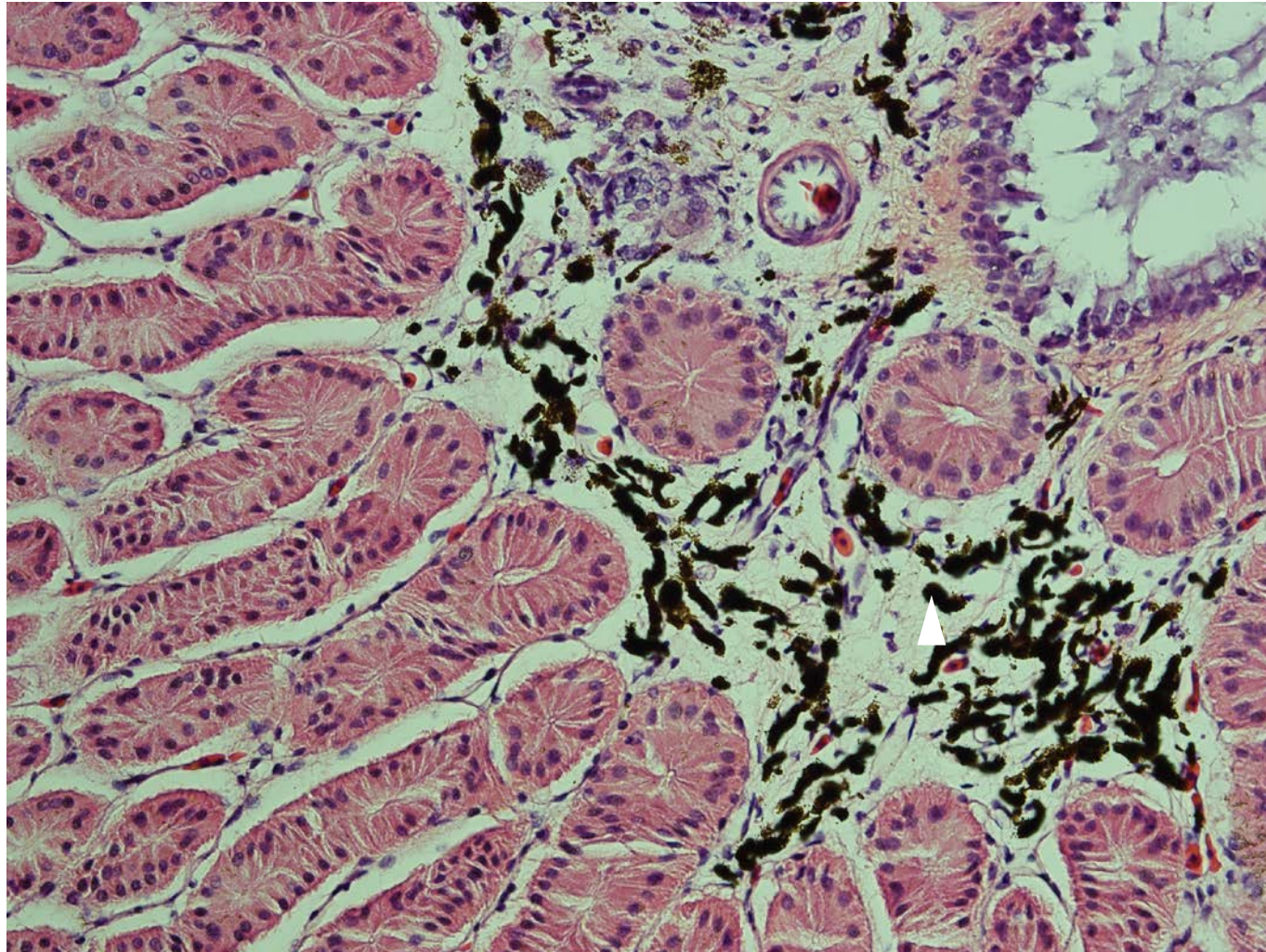




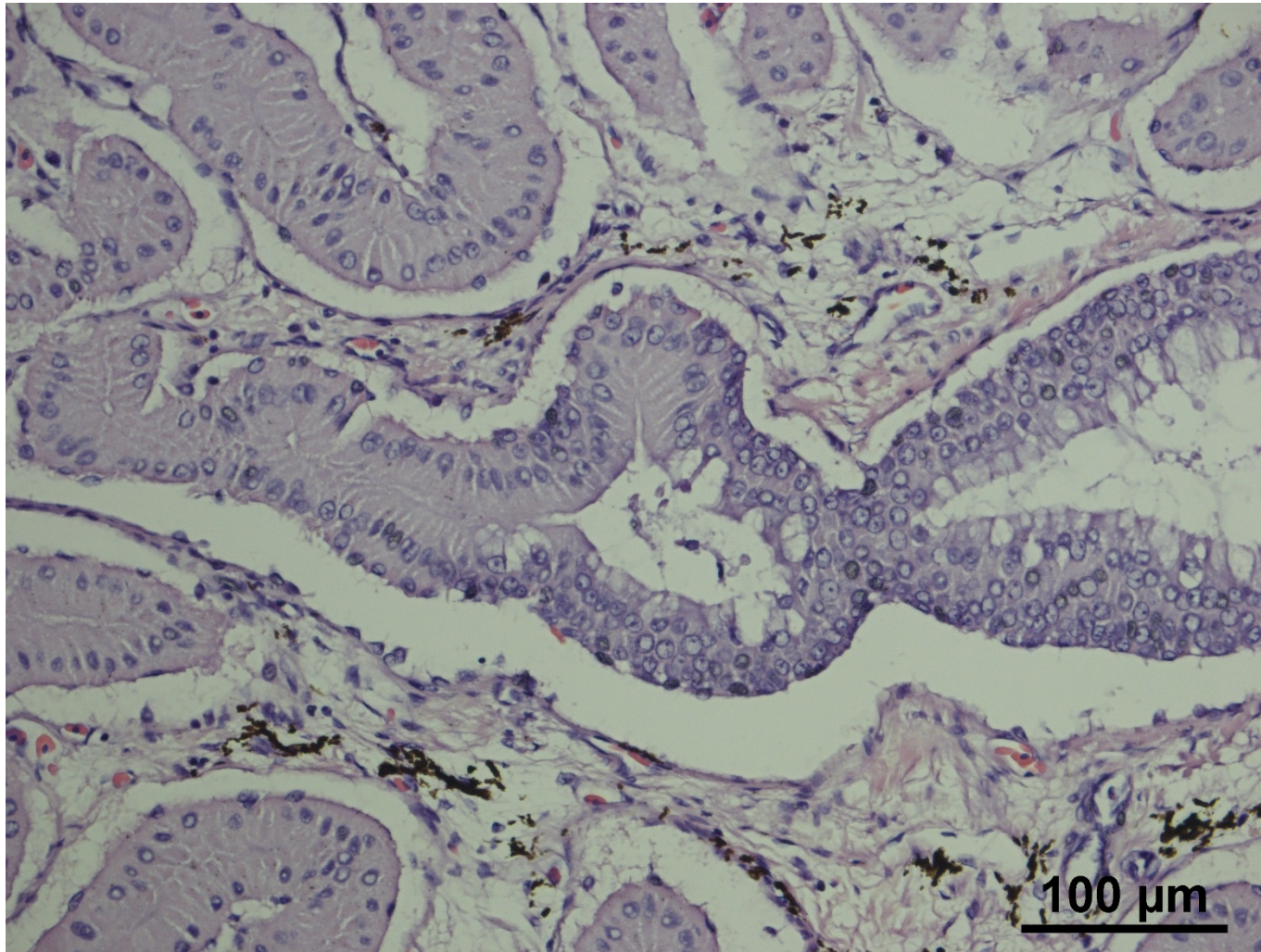
**Figura 13:** Fotomicrografia óptica sob luz polarizada da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) evidenciando a presença de alta concentração de fibras colágenas do tipo I (coloração vermelha) no tecido conjuntivo centrolobular (Coloração: Picrosirius Red, aumento de 40x. Imagem do arquivo pessoal).



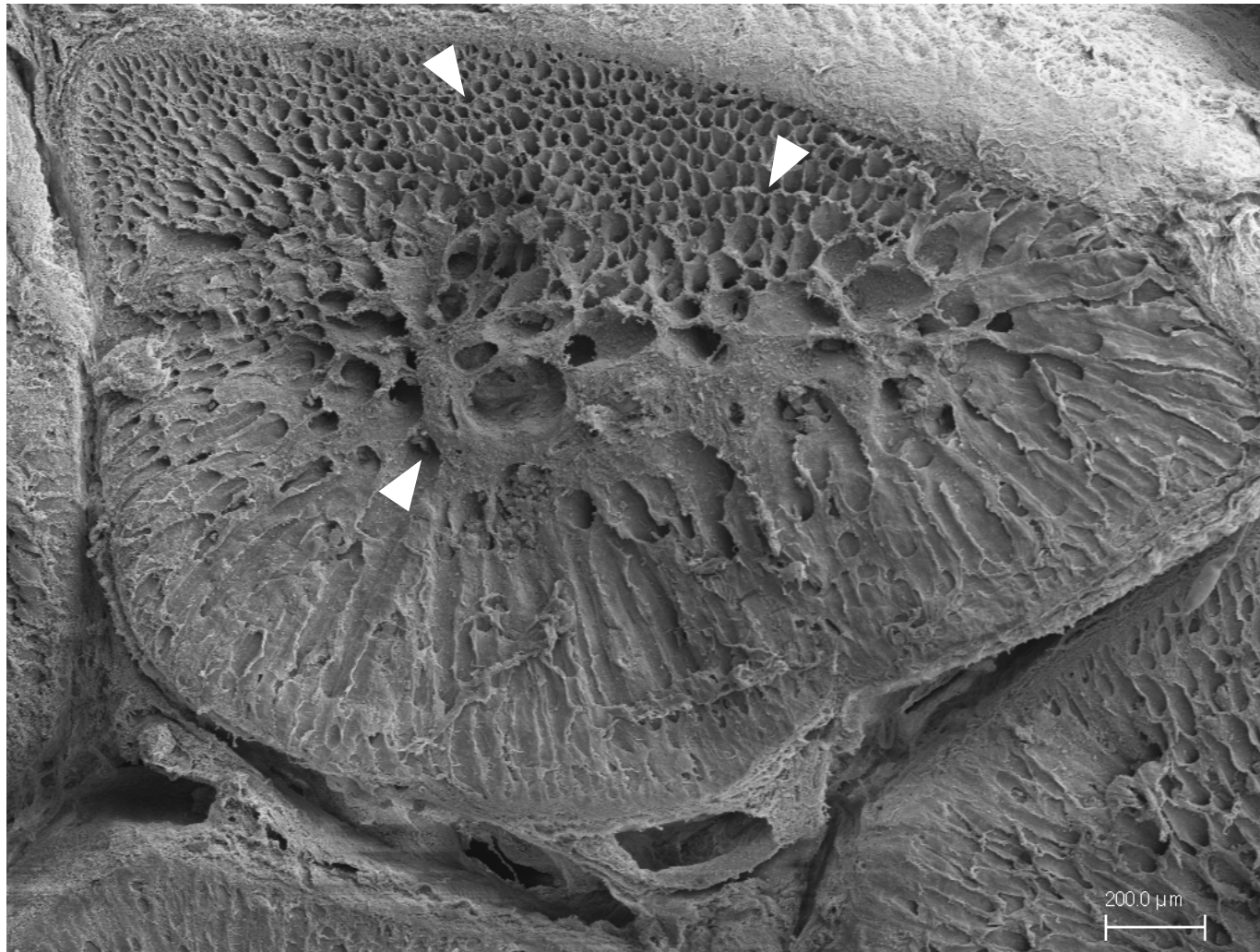
**Figura 14:** Fotomicrografia óptica sob luz polarizada da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) evidenciando a presença majoritariamente de fibras colágenas do tipo III (coloração amarela) e de moderada quantidade de fibras do tipo I (coloração vermelho-alaranjado) no tecido conjuntivo interlobular (Coloração: Picrosirius Red, aumento de 40x. Imagem do arquivo pessoal).



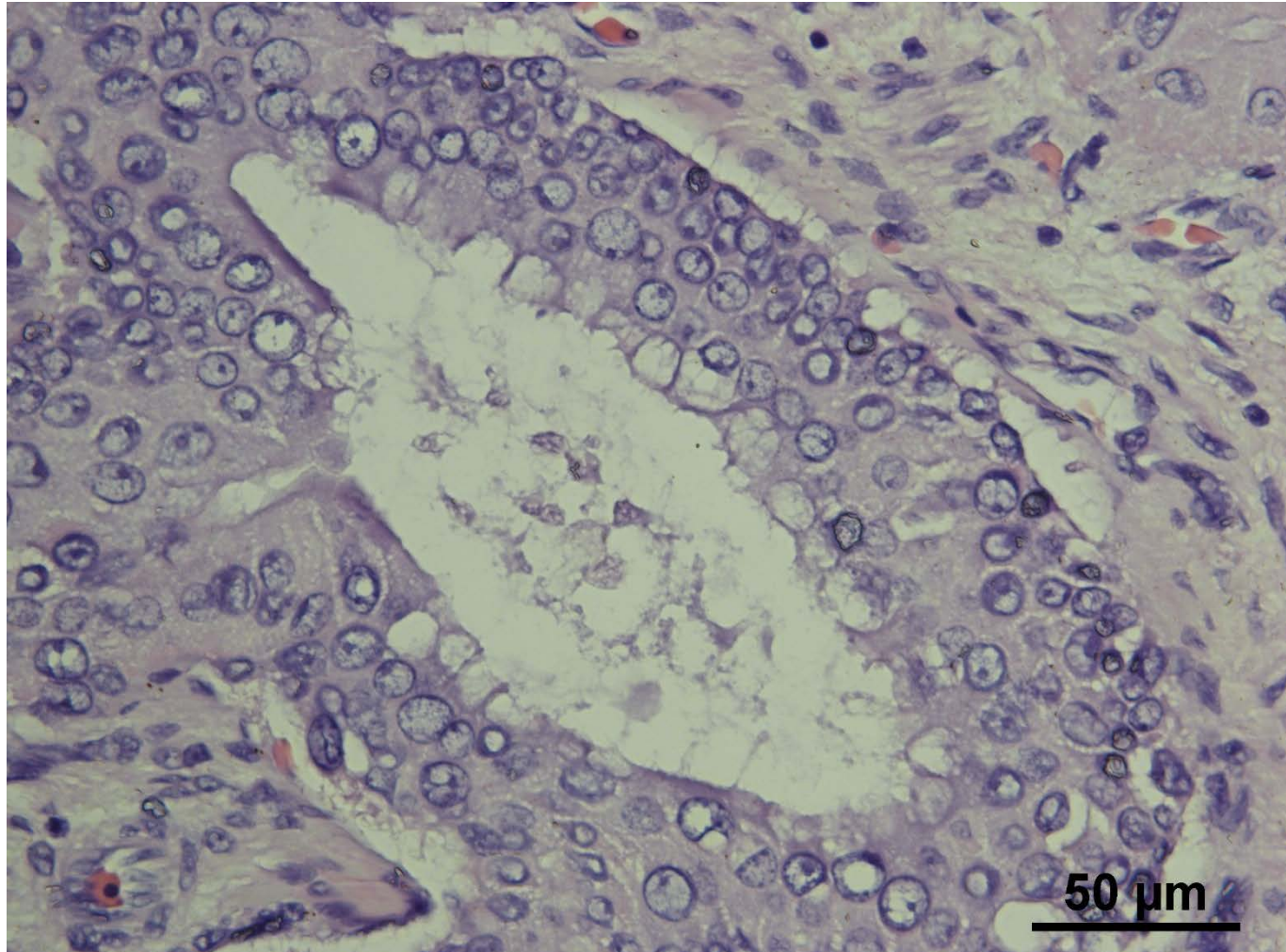
**Figura 15:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) evidenciando a presença de melanócitos (Ponta de seta branca) no tecido conjuntivo da região centrolobular do órgão (Coloração: Hematoxilina-eosina, aumento de 20x. Imagem do arquivo pessoal).



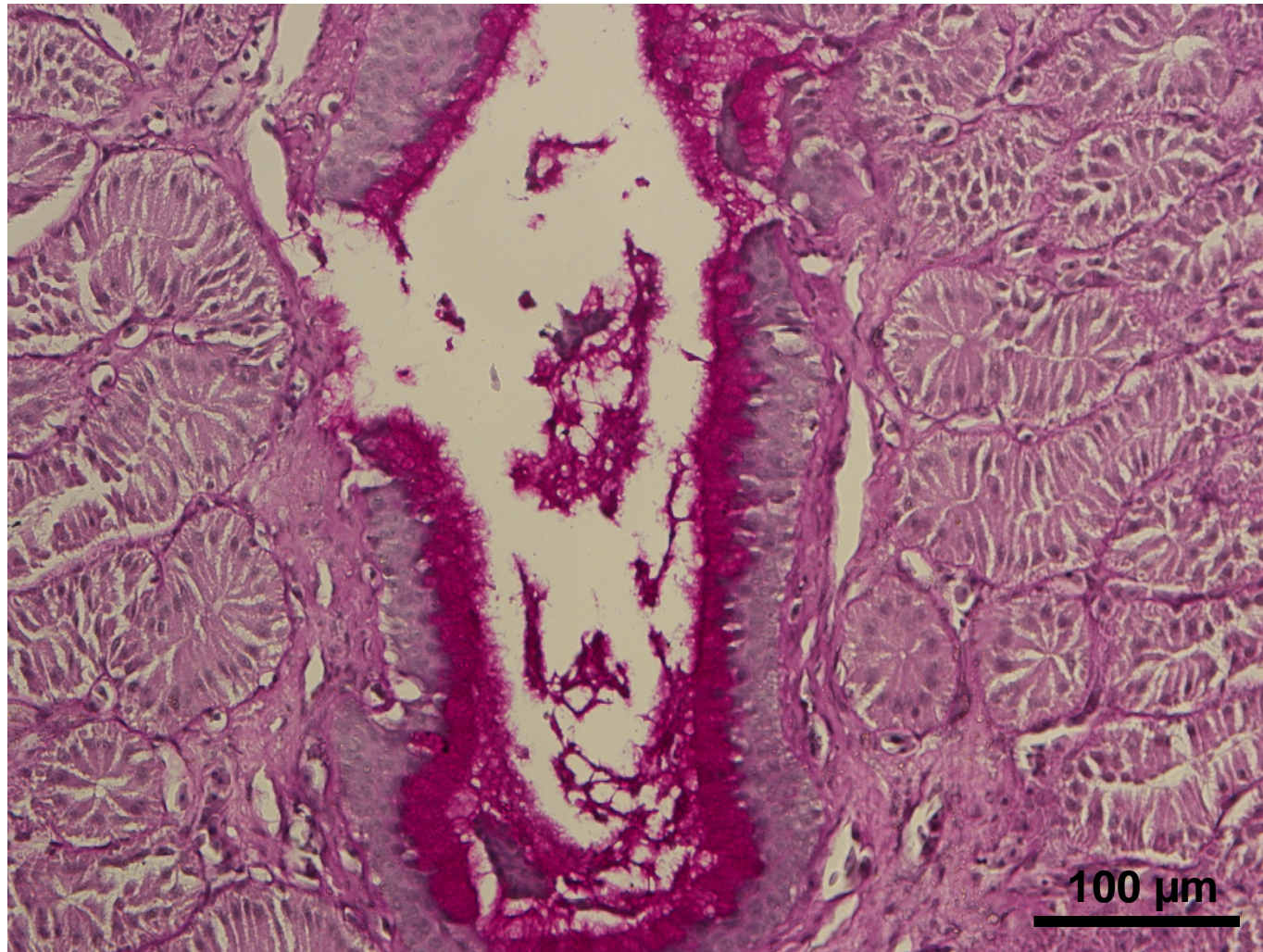
**Figura 16:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) evidenciando, no centro da imagem, a intersecção entre a UE e o túbulo excretor (Coloração: Hematoxilina-eosina, aumento de 20x. Imagem do arquivo pessoal).



**Figura 17:** Fotomicrografia eletrônica de varredura da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) demonstrando os ductos excretores convergindo em direção ao centro do lóbulo glandular (Seta branca). (Barra: 200 μm. Imagem do arquivo pessoal).



**Figura 18:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) demonstrando a morfologia das células do canal central. As células predominantes são formadas por um epitélio cúbico estratificado de citoplasma escasso com núcleo esférico e centralizado, e as células apicais são colunares com citoplasma mais abundante e fracamente corado, com núcleo esférico e basal (Coloração: Hematoxilina-eosina, aumento de 40x. Imagem do arquivo pessoal).



**Figura 19:** Fotomicrografia óptica da Glândula de Sal de Tartaruga-Verde (*Chelonia mydas*) evidenciando a presença de mucopolissacarídeos (coloração vermelha) no citoplasma das células apicais do canal central (Coloração: Ácido Periódico-Schiff, aumento de 20x). Imagem do arquivo pessoal).

## 5. DISCUSSÃO

Descrita primeiramente por Schmidt-Nielsen e Fange (1958) em seu estudo sobre as Glândulas de Sal de répteis marinhos, analisando a histologia e composição da secreção da glândula, e posteriormente caracterizada histoquimicamente e por microscopia eletrônica por Abel e Ellis (1966), foi definido que se trata de uma grande glândula, vermelho-amarronzada, dividida em lobos, que são subdivididos em lóbulos separados por tecidos conectivos, e compostos por um tecido glandular tubular ramificado. Estas características supracitadas corroboram com os resultados obtidos no nosso trabalho. Ao microscópio óptico, utilizando um pequeno aumento, a observação das unidades secretoras se apresentando de forma alongada nos mostra esta característica tubular, orientada no eixo que percorre da região periférica à região central do lóbulo.

As células que compõem este tecido glandular podem ser divididas em dois tipos celulares que diferem em sua morfologia e localização anatômica, porém pertencem à mesma estrutura, a unidade excretora. Esta denominação relacionada à função excretora da célula, vai de encontro ao que é disposto na literatura, pois mesmo sendo considerada uma glândula exócrina, elas são classificadas como unidades secretoras (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O termo secreção é corretamente aplicado a produtos celulares que serão utilizados pelo próprio organismo, ao contrário do que ocorre com o produto produzido pelas células do parênquima da glândula de sal, que é encaminhado para ser excretado por meio da rede de ductos e canais, que ao final, desemboca no canal lacrimal e é eliminado do organismo. Este tipo de produto é caracterizado como excreção, portanto o termo mais adequado aplicado a este grupo celular é unidade excretora.

O grupo celular que se encontra nas regiões mais próximas às porções terminais das unidades excretoras, região mais periférica do lóbulo, apresenta características morfológicas que sugerem não participar de forma efetiva na função excretória do órgão, mas pode estar relacionado a um aporte em relação à renovação do epitélio glandular.

Holmes e Phillips (1985) denominaram estas células como células periféricas em seu estudo sobre glândula de sal de aves marinhas, atribuindo a elas a função



de divisão e reposição celular, o mesmo já explicado por Abel e Ellis (1966), que ao avaliar a ultraestrutura e realizar testes citoquímicos destas células observaram uma pequena quantidade de mitocôndrias, pouca atividade oxidativa, maiores concentrações de glicogênio e da atividade da fosforilase e monoamino oxidase, e a presença de tonofilamentos, sendo estes filamentos encontrados, caracteristicamente, em células basais.

Essa maior concentração de glicogênio e maior atividade enzimática é observada em células com alta capacidade germinativa, favorecendo a síntese de proteínas e conseqüentemente a divisão celular. Rousset *et al.* (1984), em seu trabalho, avaliaram a influência de enzimas fosforilativas e do glicogênio em culturas de células tumorais, observando que estas apresentavam um maior índice de atividade fosforilativa nos picos de crescimento celular, em contrapartida a uma menor concentração de glicogênio, e o oposto era observado quando a proliferação celular estava diminuída. Assim como Rousset *et al.* (1984), Nagy *et al.* (2018) também constataram que esta atividade fosforilativa interfere de forma incisiva na sobrevivência e reposição das células.

O segundo tipo celular observado na constituição da UE, as células de maior prevalência no órgão, apresenta características morfológicas relacionadas à função exercida pelo mesmo, a retirada do excesso de sais do organismo do animal. Estas células, em estudos prévios, foram denominadas como células principais, e no presente trabalho, foram observados vacúolos intracitoplasmáticos nos dois terços mais apicais desta célula. Estes vacúolos, segundo descritos por Abel e Ellis (1966) e Brian e Cowan (1970), estão frequentemente associados às cisternas do Complexo de Golgi, que fica localizado supranuclearmente, estendendo-se até a porção apical da célula. Eles possuem um diâmetro aproximado de 2 microns, uma única membrana, e seu conteúdo é eletro-denso.

Esta eletrodensidade do conteúdo vacuolar é devida a sua composição rica em íons. Segundo Nicolson e Lutz (1989) e Reina *et al.* (2002), os íons que compõem são o sódio e cloro, em concentrações semelhantes à água do mar, e íons magnésio. Também relatam a presença de tampão bicarbonato, e ausência de proteínas.

Anexa às células das EU foram observadas células mais alongadas com núcleos de formato fusiforme. Normalmente, agrupada às unidades secretoras das glândulas, observa-se a presença de um tipo de célula epitelial especializada em contração, para auxiliar a eliminação do conteúdo glandular, estas células são denominadas células mioepiteliais e se coram em vermelho nas colorações especiais para evidenciação de células musculares (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). No presente trabalho esta diferenciação do padrão de coloração na coloração especial de Tricrômio de Gomori não foi observada nessas células, não identificadas como células mioepiteliais. Este mesmo padrão também foi observado por outros autores que realizaram a caracterização do órgão (ABEL; ELLIS, 1966; BRIAN; COWAN, 1970; HOLMES; PHILLIPS, 1985), não sendo observada a presença das células mioepiteliais.

Após ser excretada, a solução produzida segue para os túbulos excretores, que posteriormente desembocam no canal central. Todo o epitélio que reveste esta rede de túbulos e do canal, possui em sua região mais apical, a presença de células mucosas PAS-positivas. Estas células, produtoras de mucopolissacarídeos, podem estar envolvidas na impermeabilização e proteção deste epitélio luminal, pois a alta concentração de solutos no fluido tubular pode gerar lesões celulares.

Estes danos celulares ocorrem devido ao efluxo hídrico promovido pela alta concentração de solutos no fluido extracelular, podendo acarretar a desidratação com consequente perda de volume celular. Essa perda hídrica culmina em alterações morfofuncionais devido a alterações na atividade enzimática nos processos metabólicos celulares (BROCKER *et al.*, 2012).

Abaixo desta camada celular, o epitélio pseudoestratificado observado, relatado também por outros pesquisadores (SCHMIDT-NIELSEN e FANGE, 1958; ABEL e ELLIS, 1966; BRIAN; COWAN, 1970), mas caracterizado mais precisamente por Marshal e Saddler (1989), teria como função o revestimento de todo o túbulo e canal central, como também a função de reposição celular, da renovação do epitélio.

Margeando todas estas estruturas, de túbulos, canais, unidades secretoras, e lóbulos, está o tecido estromal rico em fibras colágenas. O estroma encontrado na região interlobular é composto por um tecido conjuntivo frouxo que possui basicamente a função de sustentação. As fibras observadas nesta área caracterizam

um tecido maduro, pois estas são fibras colágenas largas, e não são tão abundantes. Através do teste histoquímico para diferenciação de colágeno podemos classificar estas fibras como pertencentes às fibras do tipo III, e, em menor quantidade, do tipo I. Segundo Gelse *et al.* (2003) as fibras colágenas do tipo III estão intimamente ligadas às fibras do tipo I e as fibras reticulares, ricamente presentes nos tecidos epiteliais. Além de fornecerem uma capacidade adaptativa para resistir às forças de tensão, eles atuam também na fibrilogênese do colágeno do tipo I.

Quando observado o tecido estromal da região centrolobular da glândula, verificamos a presença de um tecido conjuntivo denso irregular, abundante em fibras colágenas. Apesar de exercer função semelhante ao tecido conjuntivo interlobular, a tipificação das fibras colágenas foi distinta. Nesta localização o tipo de colágeno majoritariamente presente foi do tipo I, com rara observação de colágeno do tipo 3. Outra característica marcante é a abundância desse tipo de fibra na região, o que implica em uma maior sustentação e proteção contra forças mecânicas de todas as estruturas ali presentes.

Esta caracterização estromal, com análise da sua composição e identificação da densidade normal das fibras colágenas é de grande importância, pois alterações nestas características podem estar ligadas a processos patológicos, às vezes, anterior a outras alterações no parênquima do órgão. Exemplificando isso, temos um trabalho realizado por Drifka *et al.* (2015), em que verificou-se que a quantificação das fibras colágenas presentes no estroma dos ductos pancreáticos pode auxiliar na diferenciação de duas afecções, adenocarcinoma ductal pancreático e pancreatite crônica, que, dependendo do estágio, ao avaliar somente o tecido parenquimatoso, podem ser confundidos.

## 6. CONCLUSÃO

A glândula de sal é um órgão multilobulado, com a presença de um tecido conjuntivo frouxo, escasso em fibras colágenas, sendo elas do tipo I e III, individualizando cada lóbulo. Em cada lóbulo encontramos as unidades excretoras, que compõem o parênquima da glândula, que é composta por dois tipos de células epiteliais, uma com função de reposição celular e renovação do epitélio, situada na periferia de todo o lóbulo, e o outro tipo celular composto por células epiteliais serosas, com presença de vacúolos que exercem a função depurativa do órgão, situada entre a região periférica e a central do lóbulo.

Nesta região central e permeando todo o interior do lóbulo, temos a presença de um tecido conjuntivo denso não modelado rico em colágeno do tipo I, e a presença do canal central que advém de vários ductos excretores nas EU, que levarão o fluido glandular para o exterior do corpo do animal. Estes ductos e o canal central são compostos por dois tipos celulares, uma mais basal, com células epiteliais pseudoestratificadas com função de reposição celular, e uma camada de células produtoras de muco na região luminal, cuja função é de impermeabilização para proteção e facilitar a excreção do fluido glandular.

## REFERÊNCIAS

- ABEL, J. H.; ELLIS, R. A. Histochemical and electron microscopic observations on the salt secreting lachrymal glands of marine turtles. **American Journal of Anatomy**, n. 118, 1966. p. 337-358.
- BELLINI, C.; MARCOVALDI, M. A.; SANCHES, T. M.; GROSSMAN, A.; SALES, G. Atol das Rocas Biological Reserve: second largest Chelonia rookery. **Marine Turtle Newsletter**, n. 72, 1996. p. 1-2.
- BELLINI, C.; SANCHES, T. M. Reproduction and feeding of marine turtles in the Fernando de Noronha Archipelago, **Marine Turtle Newsletter**, n. 74, 1996. p. 12-13.
- BRIAN, F.; COWAN, M. The ultrastructure of the lachrymal 'salt' gland and the Harderian gland in the euryhaline *Malaclemys* and some closely related stenohaline emydines. **Canadian Journal of Zoology**, n. 49, 1971.
- BROCKER, C.; THOMPSON, D. C.; VASILOU, V. The role of hyperosmotic stress in inflammation and disease. **Biomol Concepts**, n. 3, 2012. p. 345-364.
- BUGONI, L. Diet of sea turtles in southern Brazil. **Chelonian Conservation and Biology**, n. 4, 2003. p. 685-688.
- DRIFKA, C. R.; TOD, J.; LOEFFLER, A. G.; LIU, Y.; THOMAS, G. J.; ELICEIRI, K. W.; JOHN, K. W. Periductal stromal collagen topology of pancreatic ductal adenocarcinoma differs from that of normal and chronic pancreatitis. **Modern Pathology**, n. 28, 2015. p. 1470-1480.
- ELLIS, R. A.; ABEL, J. H. Intercellular channels in the salt-secreting glands of marine turtles. **Science**, n. 144, 1964. p. 1340-1343.
- ERNEST, C. H.; BARBOUR, R. W. **Turtles of the world**. Washington, D.C. Smithsonian Institution Press, 1989, 313p.
- FORMIA, A. Population and genetic structure of the green turtle (*Chelonia mydas*) in West and Central Africa; implications for management and conservation. **Thesis for Doctor of Philosophy**, Cardiff University, United Kingdom, 2002.
- GELSE, K.; PÖSCHL, E.; AIGNER, T. Collagens – structure, function, and biosynthesis. **Advanced Drug Delivery**, n. 55, 2003. p. 1531-1546.
- HIRTH, H. F. **Synopsis of the biological data on Green Turtle *Chelonia mydas* (Linnaeus 1758)**. E.U.A. Fish and Wildlife Service, 1997.

- HOLMES, W. N.; PHILLIPS, J. G. The avian salt gland. **Biological Review**, n. 60, 1985 p. 213-256.
- IUCN. **Red List of Threatened Species**. IUCN, 2006
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica: texto e atlas**. Guanabara Koogan, 12<sup>o</sup> ed, 2013.
- MARCOVALDI, M. A.; MARCOVALDI, G. G. **Projeto Tamar: área de desova, ocorrência e distribuição das espécies, época de reprodução, comportamento de postura e técnicas de conservação das tartarugas marinhas no Brasil**. IBDF, Min. Agricultura, Brasília, 1985. 46p.
- MARCOVALDI, M. A.; MARCOVALDI, G. G. Marine turtles of Brazil: the history and structure of Projeto Tamar-Ibama. **Biological Conservation**, 91, 1999. p. 35-41.
- MARSHAL, A. T.; COOPER, P. D. Secretory capacity of the lachrymal salt gland of hatchling sea turtles, *Chelonia mydas*. **Journal of Comparative Physiology B**, 1988, n. 157. p. 821-827.
- MARSHAL, A. T.; SADDIER, S. R. The duct system of the lachrymal salt gland of a green sea turtle, *Chelonia mydas*. **Cell and Tissue Research**, 1989, n. 257. p. 399-404.
- MOLINARO, E.; CAPUTO, L.; AMENDOEIRA, R. **Conceitos e Métodos para formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Escola Politécnica de Saúde Joaquim Venâncio / Fundação Oswaldo Cruz, 2010. vol. 02. p. 254.
- MOREIRA, L. M. P.; BAPTISTOTTE, C.; SCALFONI, J.; THOMÉ, J. C.; Almeida, A. P. L. S. Occurrence of *Chelonia mydas* on the island of Trindade. **Marine Turtle Newsletter**, 70, 1995.
- MORTIMER, J. A. Feeding ecology of sea turtles, p. 103-109. In: Bjorndal, K.A. **Biology and Conservation of Sea Turtles**. Smithsonian Institution Press, 1991.
- NAGY, L.; MÁRTON, J.; VIDA, A.; KIS, G.; BOKOR, E.; KUN, S.; GÖNCZI, M.; DOCSA, T.; TÓTH, A.; ANTAL, M.; GERGELY, P.; CSÓKA, B.; PACHER, P.; SOMSÁK, L.; BAI, P. Glycogen phosphorylase inhibition improves beta cell function. **British Journal of Pharmacology**, n. 175, 2018. p. 301-319.

- NARO-MACIEL, E.; BECKER, J. H.; LIMA, H. S. M.; MARCOVALDI, M. A.; DESALLE, R. Testing Dispersal Hypotheses in Foraging Green Sea Turtles (*Chelonia mydas*) of Brazil. **Journal of Heredity**, n. 98, 2007. p.29-39.
- NICOLSON, S. W.; LUTZ, P. L. Salt gland function in the green sea turtle *Chelonia mydas*. **Journal of Experimental Biology**, 1989, n.144. p. 171–184.
- POUGH, F. H.; HEISER, J. B.; JANIS, C. M. **A vida dos vertebrados**. São Paulo, Editora Atheneu, 2003.
- PRANGE, H. D. Renal and Extra-renal Mechanisms of Salt and Water Regulation of Sea Turtles: A Speculative Review. **American Society of Ichthyologists and Herpetologists**, n. 3, 1985. p. 771-776.
- PRITCHARD, P. C. H. Evolution, Phylogeny and Current Status, In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. **Biology of Sea Turtles**, 1997, CRC Press, 432p.
- PROIETTI, M. C.; LARA-RUIZ, P.; REISSER, J. W.; PINTO, L. S.; DELLAGOSTIN, O. A.; MARINS, L. F. Green turtles (*Chelonia mydas*) foraging at Arvoredo Island in Southern Brazil: Genetic characterization and mixed stock analysis through mtDNA control region haplotypes. **Genetics and Molecular Biology**, n. 32, 2009. p. 613-618.
- PROPHET, E. B.; MILLS, B.; ARRINGTON, B. J.; SOBIN, L. H. **Métodos Histotecnológicos**. Registro de Patologia dos Estados Unidos da América, Whashington, D.C, 1995. 280 p.
- REINA, R. D.; JONES, T. T.; SPOTILA, J. R. Salt and water regulation by leatherback sea turtle *Dermochelys coriacea*. **Journal of Experimental Biology**, n. 205, 2002. p. 1853-1860.
- ROUSSET, M.; PARIS, H.; CHEVALIER, G.; TERRAIN, B.; MURAT, J. C.; ZWEIBAUM, A. Growth-related enzymatic control of glycogen metabolism in cultured human tumor cells. **Cancer Research**, n. 44, 1984. p. 154-160.
- SCHMIDT-NIELSEN, K.; R. FÄNGE. Salt glands in marine reptiles. **Nature**, n. 182, 1958. p. 783-785.
- SILVA, J. F. M.; VALLOTA, L. A. Mecanismos de Osmorregulação em Animais. In: XAVIER, G. F. **Tópicos em Fisiologia Comparativa**. Departamento de Fisiologia do Instituto de Biociências – USP, 2006.
- WYNEKEN, J. **Sea Turtle Anatomy**. E.U.A. Department of Commerce NOAA Technical Memorandum NMFS-SEFSC-470, 2001. 172p.

- WYNEKEN, J. Sea turtle locomotion: Mechanics, Behaviour and Energetics.  
In: LUTZ, P. L.; MUSICK, J. A. **The Biology of Sea Turtles**. CRC Press, 1997. 432p.