

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS DE CHAPADINHA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

ARMANDO REINALDO MARQUES SILVA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO PÂNCREAS DO
GAMBÁ *Didelphis marsupialis* (Linnaeus, 1758)**

CHAPADINHA - MA
2022

ARMANDO REINALDO MARQUES SILVA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO PÂNCREAS DO
GAMBÁ *Didelphis marsupialis* (Linnaeus, 1758)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas,
do Centro de Ciências de Chapadinha -
Universidade Federal do Maranhão, como um
dos requisitos para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho

CHAPADINHA - MA

2022

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Silva, Armando Reinaldo Marques.

ANÁLISE MORFOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO PÂNCREAS DO
GAMBÁ *Didelphis marsupialis* Linnaeus, 1758 / Armando
Reinaldo Marques Silva. - 2022.

37 f.

Orientador(a): Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho.

Curso de Ciências Biológicas, Universidade Federal do
Maranhão, Centro de Ciências de Chapadinha, 2022.

1. Didelphideos. 2. Glândula. 3. Marsupiais. 4.
Morfologia. I. Carvalho, Prof. Dr. Rafael Cardoso. II.
Título.

ARMANDO REINALDO MARQUES SILVA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA E ULTRAESTRUTURAL DO PÂNCREAS DO
GAMBÁ *Didelphis marsupialis* (Linnaeus, 1758)**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Ciências Biológicas,
do Centro de Ciências de Chapadinha -
Universidade Federal do Maranhão, como um
dos requisitos para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Alcício Matos Pereira (1º Examinador)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Profa. Dra. Daphinne Cardoso Nagib do Nascimento (2ª Examinadora)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho (Orientador)
Universidade Federal do Maranhão - UFMA

CHAPADINHA - MA

2022

*A Deus, antes de tudo. À minha esposa,
pelo companheirismo e força. Aos meus
pais, irmã e sobrinho.*

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir alcançar cada objetivo que Ele mesmo me fez sonhar.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rafael Cardoso Carvalho que mesmo em meio a tantas obrigações conseguiu estar presente e ser prestativo em todos os momentos. Obrigado pela oportunidade, confiança, ensinamentos e exemplo que guardarei comigo sempre.

À minha esposa, Sandra, pelo companheirismo, carinho e força, em todo o processo.

Aos meus pais Roseanne Marcia e João Batista por todo amor, apoio, confiança e todo sacrifício para que esse momento fosse possível.

A minha irmã Amanda, que sempre me apoiou e torceu por mim.

Aos meus queridos amigos de curso, Neon Albuquerque, Cleyres Abreu, Maria Aparecida, Alexandre Rodrigues e a todos os colegas de graduação, pelos momentos que passamos juntos.

Aos meus amigos Ester Hadassa e Romário Gomes que estiveram comigo em momentos muito importantes durante a graduação.

A todos os amigos do laboratório de Anatomia, Genival, Thamires, Lais, Rayanne, Luiza, Emanuelle e em especial a Bruna Pantoja e Barbara Carvalho pela colaboração, parceria e ensinamentos.

“Se eu vi mais longe, foi por estar sobre ombros de gigantes.”

(Isaac Newton)

RESUMO

Estudos morfológicos e funcionais voltados aos marsupiais contribuem com informações aplicáveis a própria biologia da espécie. Sabendo disto, e considerando-se que nos últimos anos o *Didelphis marsupialis* tem se apresentado como uma espécie sinantrópica, com modificações de seus hábitos alimentares, que isto pode modificar as características morfológicas dos constituintes anatômicos do sistema digestório, esta pesquisa objetivou estudar morfológicamente e ultraestruturalmente o pâncreas do *D. marsupialis*. Para tanto foram utilizados 05 animais adultos provenientes de capturas realizadas nas proximidades do Centro de Ciências de Chapadinha (CCC) - UFMA. Todos os protocolos experimentais desta pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais e do ICMBio. Após captura, os animais foram encaminhados ao Laboratório de Anatomia Animal e Comparada, seguindo-se de protocolo anestésico e de eutanásia. Procedeu-se então com o processo de fixação dos espécimes pela administração sistêmica de solução aquosa de formaldeído a 10%, via artéria carótida comum, e injeção da mesma solução na musculatura e cavidades corporais, além de imersão dos espécimes em mesma solução em caixas plásticas por um período de 48 horas. Após esse período, os espécimes foram lavados em água corrente, e a dissecação foi iniciada, mediante abertura da cavidade abdominal e dissecação das estruturas associadas ao pâncreas. Após as análises anatômicas *in situ*, os pâncreas foram retirados da cavidade abdominal e fragmentos de 2 cm² foram coletados para os estudos histológicos e ultraestruturais. Para as análises histológicas, os fragmentos dos pâncreas foram desidratados em séries crescentes de álcool etílico, diafanizados em xilol, incluídos em parafina, seccionados na espessura de 5 µm e corados em HE e Tricrômico de Masson. Para as análises ultraestruturais, as amostras foram seccionadas e lavadas em ultrassom por um período de 15 minutos e acondicionadas em álcool 70% overnight, com posterior desidratação em séries crescentes de álcool, secagem em ponto crítico e metalizados com ouro para análise no microscópio eletrônico de varredura. Os resultados demonstraram o pâncreas do *D. marsupialis* apresentou-se como órgão macio, de coloração marrom-claro, com lobação única, o que lhe confere um aspecto retangular. Microscopicamente, apresentou duas partes distintas: uma exócrina composta pelos ácinos, e outra endócrina, formada pelas ilhotas pancreáticas. Desta forma, pode-se concluir que este órgão apresenta similaridades morfológicas apresentadas para os animais domésticos e silvestres presentes descritas na literatura.

Palavras-chave: Didelphideos; glândulas; marsupiais; morfologia; ~~marsupiais; glândulas; Didelphideos.~~

ABSTRACT

Morphological and functional studies focused on marsupials contribute information applicable to species biology. Knowing this, and considering that in recent years *Didelphis marsupialis* has presented itself as a synanthropic species, with changes in its eating habits, which can modify the morphological characteristics of the anatomical constituents of the digestive system, this research aimed to study morphologically and ultrastructurally the pancreas of *D. marsupialis*. For that, 05 adult animals from captures carried out in the vicinity of the Chapadinha Science Center (CCC) - UFMA were used. After capture, the animals were sent to the Laboratory of Animal and Comparative Anatomy, followed by an anesthetic and euthanasia protocol. The Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA/UFMA) and ICMBio approved all experimental protocols for this research. After capture, the animals were sent to the Laboratory of Animal and Comparative Anatomy, followed by an anesthetic and euthanasia protocol. The specimens were then fixed by systemic administration of a 10% aqueous solution of formaldehyde via the common carotid artery and injection of the same solution into the musculature and body cavities, in addition to the immersion of the specimens in the same solution in plastic boxes for 48 hours. After this period, the specimens were washed in running water, and the dissection was started by opening the abdominal cavity and dissecting the structures associated with the pancreas. After anatomical analyses, histological and ultrastructural studies were performed. For histological analyses, the pancreas fragments were dehydrated in increasing series of ethyl alcohol, diaphanized in xylene, embedded in paraffin, sectioned at 5 µm thickness, and stained in HE and Masson's Trichrome. For the ultrastructural analyses, the samples were sectioned and washed in ultrasound for 15 minutes and conditioned in 70% alcohol overnight, with subsequent dehydration in increasing series of alcohol, drying at a critical point, and metalized with gold for analysis in the Scanning Electron Microscope. The results showed that the pancreas of *D.marsupialis* presented itself as a soft organ, light brown, with a single lobe, which gives it a rectangular appearance. Microscopically, the exocrine part was composed of the acini, and the pancreatic islets formed the endocrine part. Thus, it can be concluded that this organ presents morphological similarities to domestic and wild animals described in the literature.

Keywords: Didelphids; glands; marsupials; morphology.; ~~marsupials; glands;~~
~~Didelphids.~~

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Aparelho digestório (e Pâncreas em destaque) “*ex situ*” do *D. Marsupialis*, em vista dorsal 22
- Figura 2** - Vista anatômica da cavidade abdominal “*in situ*” do *D. marsupialis*”, em vista dorsal, após a abertura da cavidade abdominal e retirada do lobo hepático esquerdo23
- Figura 3** - Aparelho digestório do *D. marsupialis* “*ex situ*”, em vista dorso-lateral esquerda..... 24
- Figura 4** - Fotomicrografia do pâncreas do *D. Marsupialis* 26
- Figura 5** – Microscopia eletrônica de varredura do pâncreas do *D. Marsupialis*..... 28
- Figura 6** - Microscopia eletrônica de varredura do pâncreas do *D. Marsupialis* 28

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 JUSTIFICATIVA	13
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Didelphideos	14
3.2 Didelphideos e Marsupiais como modelos biológicos para estudos	15
3.3 Aspectos gerais do pâncreas	16
4 OBJETIVOS	18
4.1 Geral	18
4.2 Específicos	18
5 MATERIAL E MÉTODO	19
5.1 Animais e Aspectos Éticos	19
5.2 Análise anatômica do pâncreas	20
5.3 Análise histológica do pâncreas	20
5.4 Análise ultraestrutural do pâncreas	21
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
6.1 Anatomia do pâncreas	22
6.2 Histologia do pâncreas	25
6.3 Ultraestrutura do pâncreas	27
7 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30

1 INTRODUÇÃO

Os marsupiais representam um dos três principais grupos atuais de mamíferos, junto aos monotremados (ornitorrincos e equidnas) e placentários ou eutérios. Esta divisão se baseia principalmente no modo de reprodução, sendo os marsupiais caracterizados por uma gestação curta e lactação prolongada. Também são característicos por apresentarem placenta vitelínica (corioalantóica apenas em alguns casos, mas sem as vilosidades típicas dos eutérios), fêmeas com vagina e útero duplos, machos com saco escrotal anterior ao pênis (exceto em Notoryctidae), abertura urogenital comum, ossos epipúbicos associados à cintura pélvica (também presentes em monotremados), entre outros. A bolsa ou marsúpio está presente em muitas espécies, mas nos marsupiais sul-americanos ocorre apenas nas espécies de maior porte, como em *Didelphis*, e por vezes ela se desenvolve apenas no período reprodutivo, como em *Lutreolina* (EMMONS & FEER, 1997; NOWAK, 1999).

A espécie *Didelphis marsupialis*, ou gambá comum, distribui-se do Nordeste da Argentina e Sul do Brasil até o México, em Trinidad e Tobago e em ilhas das Pequenas Antilhas mais próximas do continente (HONACKI et al., 1982). No Brasil, devido à ampla distribuição geográfica dos marsupiais didelfídeos esta família apresenta-se representada em grande parte dos estudos de ecologia de comunidades e de populações de pequenos mamíferos realizados no país. Em consequência, o conhecimento sobre a ecologia dos membros desta família tem sido acrescido também de informações sobre seus hábitos alimentares (LESSA; GEISE, 2010).

Embora estejam distribuídos em todos os biomas brasileiros, a maior parte das informações sobre a esses didelfídeos no País, são da ordem de 10 estudos realizados em áreas de Mata Atlântica. Enquanto para outros Biomas como o Cerrado e a Amazônia as informações para espécie *D. Marsupialis* são bastante escipientes- (LESSA & GEISE, 2010).

Em linhas gerais, os marsupiais didelfídeos têm sido considerados, em sua grande maioria, como mamíferos de hábitos alimentares generalistas, com algumas exceções, podendo variar de “insetívoros/onívoros” a “frugívoros/onívoros” (PAGLIA et al., 2012). Algumas das principais compilações sobre hábitos alimentares, que incluem dados sobre a família Didelphidae, fazem uso de categorias tróficas, pela sua capacidade de condensação e simplificação das informações existentes para fins

comparativos (ROBINSON; REDFORD, 1989; REIS et al., 2010; PAGLIA et al., 2012).

Estudos generalizados sobre a ecologia alimentar dos marsupiais brasileiros não demonstram informações precisas e específicas para estudos diretamente relacionados com a ecologia e morfologia das espécies, estrutura trófica das comunidades e suas implicações ecológicas (LESSA; GEISE, 2010). Assim, o uso destes tipos de categorias tróficas pode ser contestável, sobretudo quando o conhecimento preciso sobre os hábitos alimentares e morfologia das espécies é escasso (HUME, 1999; VIEIRA; ASTÚA DE MORAES, 2003; LESSA; GEISE, 2010).

Os gambás, saruês, cassacos ou timbus são as espécies mais generalistas entre os Didelphidae e são consideradas frugívoras/onívoras (PAGLIA et al., 2012), incluindo em suas dietas pequenos vertebrados, invertebrados e frutos, usados de uma maneira oportunista. Os dados disponíveis, no entanto, concentram-se em *D. aurita*, *D. marsupialis* e *D. albiventris*, não existindo informações disponíveis sobre a dieta de *D. imperfecta*. Em mata de restinga, *D. aurita* inclui em sua dieta pequenos roedores (*Akodon cursor*), aves, lagartos (*Mabouya* e *Tropidurus*), serpentes, anfíbios anuros e uma grande diversidade de invertebrados, como Diplopoda e Chilopoda e, os insetos das ordens Blattodea, Formicidae e Orthoptera, e frutos (Araceae, Bromeliaceae, Cactaceae, Sapindaceae e Passifloraceae) (SANTORI et al., 1995).

Neste contexto, com base na diversidade alimentar que modifica a morfologia do sistema digestório dos vertebrados, e devido à escassez de dados sobre a anatomia e morfologia do trato digestório do *D. marsupialis*, esta pesquisa apresenta-se extremamente relevante, uma vez que, objetiva descrever morfológica e ultraestruturalmente o pâncreas destes gambás, uma das glândulas anexas do sistema digestório, glândula demasiadamente importante que atua diretamente na fisiologia da digestão.

Tem-se então o aumento do interesse pelos estudos morfofuncionais de animais silvestres, pois características morfológicas dos órgãos são elementos de pesquisa básica que podem ser aplicados a várias áreas das Ciências Biológicas. Especificamente, este estudo fornece bases anatômicas, e conseqüentemente contribui para o estudo da anatomia comparada de marsupiais, o que fundamenta a realização desta pesquisa.

2 JUSTIFICATIVA

O valor do marsupial como modelo de mamífero primitivo de interesse biomédico é incontestável. Pesquisas experimentais voltadas à captura, alimentação, manutenção em cativeiro e manuseio do mesmo na rotina laboratorial em anestésias (KRUPP; QUILLIN, 1964), coletas e amostragens de líquidos corporais (JURGELSKI, 1974; MOORE, 1984) e em perfusões para fixação histológica de tecidos (SPAGNOLI et al., 1979) são frequentes. Além disso, a relevância do estudo anatômico, funcional, evolutivo e filogenético dos marsupiais para o desenvolvimento da anatomia comparada é documentada, por exemplo, nos estudos do seu aparelho cardiovascular (BÜLL et al., 1992; SOUZA et al., 1982; FRAGOSO NETO, 1994; FRAGOSO NETO et al., 1997).

O gambá é uma espécie que permite o estudo da ontogênese de diferentes sistemas orgânicos e aspectos fisiológicos importantes, que fazem desse animal objeto de pesquisas que buscam soluções para questões relacionadas à saúde humana. Estudos ontogenéticos são facilitados pelo curto período de gestação, podendo-se neste período observar importantes diferenças entre as regiões proximal e distal do intestino delgado (NOGUEIRA, 1989). Os marsupiais do gênero *Didelphis* são utilizados com frequência como modelo no estudo das células enteroendócrinas, abordando aspectos da sua identificação, distribuição e quantificação (RIBEIRO et al., 2011) e ontogênese (KRAUSE et al., 1989; FONSECA et al. 2002).

Portanto, pela importância biológica desta espécie, e tomando-se como parâmetro a morfologia, ainda existem inúmeros aspectos que merecem estudos mais aprofundados, como os aspectos morfológicos do pâncreas, enfoque desta pesquisa. Este ponto, constitui-se um assunto de grande importância, uma vez que pode ser intimamente associado aos aspectos alimentares, ecológicos e morfológicos comparativos. Em relação a esta temática, os dados da literatura clássica são inexistentes, e mesmo em trabalhos específicos os achados são escassos, sendo alguns deles imprecisos. Com base no exposto, justifica-se a realização desta pesquisa.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Didelphideos

Cerqueira (1985) discute sobre a distribuição do gênero *Didelphis* na América do Sul como constituído por duas espécies: *D. marsupialis*, o gambá-de-orelha-preta e *D. albiventris*, o gambá de orelhas brancas. Os gambás pertencem à subclasse Theria, infraclasse Metatheria, ordem Marsupialia e Família Didelphidae (Luo et al., 2003). Gardner (2007) reconhece 95 espécies de marsupiais agrupadas em Didelphidae, a maioria das quais com ocorrência para a América do Sul, e Reis et al. (2006) listam cerca de 16 gêneros e 55 espécies para o Brasil.

Culau et al. (2010) descreveram o gambá como um animal onívoro, que se alimenta de pequenos roedores, aves, ovos, anfíbios, frutas e vegetais. McNamus (1970) citou estudos sobre os hábitos alimentares do gambá onde mostram que *D. Marsupialis* é um onívoro altamente oportunista, aceitando uma gama extremamente ampla de tipos de alimentos, incluindo uma variedade de mamíferos, principalmente roedores, pássaros, cobras, sapos, salamandras, insetos, minhocas, moluscos (lesmas), frutas e vegetais.

Em fragmentos de mata de Araucária do estado do Paraná, sua dieta inclui aves (*Turdus rufiventris*), roedores e serpentes (*Liotyphlops*), invertebrados (Blattodea, Coleoptera, Diplopoda, Hymenoptera – Formicidae, Opiliones, Decapoda e Gastropoda), e 21 espécies de frutos (principalmente *Melothria* – Cucurbitaceae, *Passiflora* - Passifloraceae, *Piper* - Piperaceae e *Solanum* - Solanaceae), com diversos itens apresentando variações sazonais (CÁCERES; MONTEIRO-FILHO, 2001).

Os membros da família Didelphidae possuem cabeças cônicas e grandes em relação ao corpo; focinho pontudo e nariz descoberto, olhos grandes e orelha membranosas e sem pelos. Com membros torácicos e pélvicos curtos, com cinco dedos em cada perna, onde o primeiro dedo dos membros posteriores é oponível, com cauda do tipo preênsil (STEIN & PATTON, 2008), o que lhes permite segurar objetos e melhorar sua capacidade de escalar (VONHOF, 2000). Alguns gêneros não possuem marsúpio (*Marmosa*, *Monodelphis*, *Metachirus*) ou possuem apenas um par de dobras laterais (SOLARI et al. 2001), e no gênero *Didelphis*, *Philander* e *Chironectes* é bem desenvolvida (PATTON et al., 2000).

Como descrito por Moussatché et al. (1981), Moussatché e Leonardi (1982), Domont et al. (1991) algumas espécies de Didelphideos possuem uma propriedade imune natural resistência aos venenos de diversas serpentes da família Crotalidae, como a *Bothrops jararaca*, *Bothrops alternatus*, *Bothrops cotiara*, *Bothrops jararacussu*, *Bothrops neuwiedi* e *Crotalus adamanteus*. São animais que possuem hábito noturno, sendo generalistas de habitats e ocupando principalmente o solo (OLIVEIRA et al., 2010). São encontrados em ocos de árvores, entre as raízes ou sob monte de folhas secas (CHEREM et al., 1996).

3.2 Didelphideos e Marsupiais como modelos biológicos para estudos

Historicamente animais silvestres têm sido reconhecidos como potenciais fontes de infecção para doenças em humanos. No entanto, a grave ameaça que a doença pode impor é cada vez mais reconhecida, assim como a importância da preservação da biodiversidade em ecossistemas de vida selvagem para prevenir e controlar doenças (TOMPSON et al., 2009).

Os marsupiais da família Didelphidae são apontados como as principais espécies de reservatórios no ambiente silvestre para Leishmaniose visceral. Para Leishmaniose cutânea, já foram registrados algumas espécies marsupiais, juntamente com roedores como *Bolomys lasiurus*, *Rattus rattus*, *Nectomys squamipes*, e canídeos silvestres, que parecem ter importância significativa na epidemiologia desta zoonose (QUINTAL, 2010). Roque & Jansen (2014) descreveram uma relação bastante antiga entre *Tripanossoma cruzi* e marsupiais, apontando os marsupiais do gênero *Didelphis*, como reservatórios naturais e vetores, ao mesmo tempo, para o *T. Cruzii*.

Animais pertencentes ao gênero *Didelphis* são constantemente encontrados em áreas urbanas (MICHALICK e GENARO, 2005). Diversos estudos detectaram a presença de *Leishmania spp.* em gambás nas cidades de Barra de Guarituba-RJ (CABRERA et al., 2003), em Amaraji-PE (BRANDÃO-FILHO et al., 2003), Manaus-AM (GUERRA et al., 2007), Belo Horizonte-MG (SCHALLING et al., 2007) e Bauru-SP (SANTIAGO et al., 2007). Observações, mostram taxas de infecção por triatomíneos de animais do gênero *Didelphis*, que variaram entre 11 e 90% entre animais coletados em diferentes localidades no estado do Rio de Janeiro (FERNANDES et al. 1999).

Pesquisas que integram observações características, parasitológicas e ecológicas demonstram que informações sobre esses marsupiais silvestres são essenciais para a compreensão da transmissão dessas doenças por hospedeiros naturalmente infectados, de ambientes silvestres, íntegros ou modificados (TRAVI et al., 1998). Estudos de potenciais reservatórios permite observar a abrangência de animais que podem participar na manutenção e/ou disseminação do parasita no ambiente, uma vez que não estão consideradas esgotadas todas as variáveis envolvidas no processo epidemiológico dessas doenças (ROQUE & JANSEN 2014).

O gambá, portanto, é uma espécie que permite o estudo da ontogênese de diferentes sistemas orgânicos e aspectos fisiológicos importantes, que fazem desse animal objeto de pesquisas que buscam soluções para questões relacionadas à saúde humana (NOGUEIRA, 1989).

3.3 Aspectos gerais do pâncreas

O pâncreas de vertebrados é uma glândula mista que contém tanto componentes exócrinos, responsáveis pela secreção de enzimas para o intestino, como endócrinos, que secretam hormônios na corrente sanguínea (THURLO, 1937). Anatomicamente, o pâncreas dos vertebrados é dividido em três regiões: duodenal (cabeça), ânulo (corpo) e esplênica (cauda), apresentando três componentes estruturais principais: os ácinos, o sistema de dutos e as ilhotas de Langerhans (NOMENCLATURA ANATÔMICA VETERINÁRIA ILUSTRADA 1999).

Além de enzimas, o pâncreas participa da atividade endócrina mediante a produção de hormônios. A sua porção exócrina abrange a maior parte do parênquima pancreático e atua na produção de enzimas digestivas (bicarbonato e mucinas) secretadas no lúmen intestinal (AHNFELT-RONNE et al., 2010). Em contrapartida, a porção endócrina desempenha a função sintetizadora hormonal que regula a absorção alimentar e o metabolismo celular do organismo (PAN & WRIGHT, 2011; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2013).

A porção exócrina, local de produção do suco pancreático, tem sua estrutura organizada por ácinos, e a porção endócrina, é responsável por sintetizar hormônios como a insulina e o glucagon, sendo composta por grupamentos de células denominadas

de ilhotas pancreáticas. A estrutura destas ilhotas pancreáticas consiste em diferentes células que secretam diversos hormônios e possuem um papel vital na manutenção da homeostase (YUKAWA, TAKEUCHI et al., 1999).

A distribuição, arranjo e proporção destas células endócrinas nas ilhotas pancreáticas variam conforme as espécies e podem diferir conforme a origem da ilhota ou até mesmo da idade do animal (MCEVOY, 1981). Nos marsupiais, o pâncreas é um órgão que completa o seu total desenvolvimento apenas na gestação “externa,” no período de desenvolvimento que dura aproximadamente noventa dias no marsúpio. Após o nascimento, à medida que o desenvolvimento progride, os componentes exócrinos e endócrinos tornam-se mais evidentes, através de ductos ácinares e ilhotas expansivas, que sustentarão as necessidades do indivíduo adulto (KING et al., 1978).

4 OBJETIVOS

4.1 Geral

- Caracterizar morfológicamente e ultraestruturalmente o pâncreas do *D. Marsupialis*;

4.2 Específicos

- Realizar o estudo anatomico, histológico e ultraestrutural do pâncreas do *D. marsupialis*;
- Estabelecer parâmetros morfológicos que contribuirão para o estudo da anatomia comparada e morfologia da espécie;
- Assentar bases morfológicas que poderão ser aplicados aos estudos aos estudos de ecologia, zoologia e áreas mais aplicadas dentro das Ciências Biológicas.

5 MATERIAL E MÉTODO

5.1 Animais e Aspectos Éticos

~~Os~~ Todos os procedimentos experimentais propostos nesta pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFMA, sob o protocolo nº 23115.013669/2017-26 e IBAMA sob o número 58272-1 SISBIO/IBAMA (documentação em anexo).

Foram utilizados neste estudo 05 gambás *D. marsupialis* adultos, de ambos os sexos (três machos e duas fêmeas), capturados, de forma aleatória, durante o período de execução da pesquisa (de agosto de 2018 a julho de 2019), nas proximidades do Centro de Ciências de Chapadina – CCC/UFMA, no município de Chapadina – MA (localizado na região Leste do Maranhão e na Microrregião de Chapadina, com população estimada em 78.348 habitantes, área territorial de 3.247,385 km², com temperatura média de 24°C e umidade relativa do ar de 75%), com a utilização de armadilhas do tipo Tomahawk, com isca de banana. Os detalhes sobre as técnicas de captura podem ser encontrados em Varejão & Valle (1982).

Após o recebimento captura, os animais foram anestesiados com a utilização de cloridrato de quetamina (100 mg/kg) e cloridrato de midazolam (15 mg/kg) e eutanasiados com overdose de Thiopental Sódico (100mg/kg) via intraperitoneal. O material após pesquisa é depositado no acervo do Laboratório de Anatomia Animal e Comparada do Centro de Ciências de Chapadina. ~~Os detalhes sobre as técnicas de captura podem ser encontrados em Varejão & Valle (1982). Todos os procedimentos experimentais propostos nesta pesquisa foram aprovados pela Comissão de Ética no uso de Animais – CEUA/UFMA, sob o protocolo nº 23115.013669/2017-26 e IBAMA sob o número 58272-1 SISBIO/IBAMA (documentação em anexo).~~

~~O estudo ocorreu entre os meses de agosto de 2018 a julho de 2019.~~ Após eutanásia, os espécimes foram lavados em água corrente, para evitar sujeira e em seguida, aferiu-se a biometria de todos os espécimes, sendo registrados os dados individuais referentes ao comprimento do ponto médio anterior da crista nugal ao extremo da última vertebra caudal, com posterior aferição de peso.

O processo de fixação dos espécimes foi realizado com utilização de formaldeído a 10%, o qual administrado via sistêmica - artéria carótida externa, após

dissecção da musculatura ventral do pescoço e canulação da mesma. Além disso, a mesma solução foi administrada em toda musculatura e cavidades corporais. O material foi então imerso em caixas plásticas por um período de 48 horas, e após esse tempo, as peças foram retiradas e lavadas em água corrente por 24 horas, para que o processo de dissecção fosse iniciado. Para tanto, os animais foram posicionados em decúbito dorsal, e após incisão na linha média sob a cavidade abdominal, procedeu-se o processo de dissecção dos pâncreas e estruturas topograficamente associadas a este órgão. Após as análises macroscópicas (*in situ*), fragmentos do pâncreas foram coletados para os estudos histológicos e ultraestruturais.

Para as análises histológicas e ultraestruturais, essa pesquisa contou com a parceria com o Laboratório de Anatomopatologia da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA) e com o Centro Avançado em Diagnóstico por Imagem (CADI) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (FMVZ/USP).

5.2 Análise anatômica do pâncreas

Para o estudo macroscópico do pâncreas foi observada a morfologia deste órgão mediante dissecção e inspeção visual. Os animais foram colocados em decúbito dorsal, e em seguida foi efetuada a abertura da cavidade abdominal mediante incisões pré-retroumbilical na linha branca e perpendiculares a esta, propiciando amplo rebatimento da parede abdominal lateral direita, permitindo a identificação e coleta da víscera em questão. O pâncreas foi retirado cuidadosamente, preservando-se a integridade de seu parênquima e ligamentos. Em seguida as peças foram lavadas em água corrente, procedendo-se simultaneamente, as seguintes observações: forma, medidas longitudinal e transversal, efetuadas com o auxílio de paquímetro digital, bem como a localização, meios de fixação e lobação desta glândula. Para documentação foram realizadas fotografias.

5.3 Análise histológica do pâncreas

Para as análises microscópicas do pâncreas, fragmentos com aproximadamente 2 cm² foram coletados e imersos em solução fixadora de formaldeído a 10% tamponado

com solução fosfato de sódio 0,1M, pH 7,2. Após fixação, procedeu-se com o protocolo de desidratação em uma série de etanóis em concentrações crescentes (de 70 a 100%), seguida de diafanização em xilol e inclusão em similar de parafina histológica – Ervplast. Foram obtidos cortes com 5µm de espessura em micrótomo, seguido de coloração com Hematoxilina-eosina e Tricômico de Masson. A coleta do material, os cortes histológicos, bem como a preparação e coloração das lâminas foram realizadas com base na metodologia descrita por (TOLOSA et al., 2005). O processamento foi realizado no Laboratório Anatomopatologia da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão. A documentação dos cortes histológicos foi realizada no departamento de Patologia da UEMA, em fotomicroscópio binocular Olympus CX31 acoplado à câmera Olympus SC-20.

5.4 Análise ultraestrutural do pâncreas

A análise de microscopia eletrônica de varredura foi realizada em parceria com o Centro Avançado em Diagnóstico por Imagem (CADI), do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ) da Universidade de São Paulo (USP). Posterior aos procedimentos de dissecação do pâncreas, a análise de microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para avaliação de estrutura física e arquitetônica tecidual.

Para este fim, as amostras do pâncreas, fixadas, foram lavadas em ultrassom por um período de 15 minutos em água destilada, trocada a cada lavagem (3 lavagens com duração de 5 minutos cada). As amostras foram acondicionadas em overnight no álcool 70% e em seguida, passaram por uma desidratação em séries crescentes de álcool, secagem em aparelho de ponto crítico (LEICA EM CPD 300*), e na sequência foram coladas em superfície de stubs, com cola de carbono e metalizados com ouro. Após análise dos resultados, os mesmos foram fotodocumentados através de microscópio eletrônico ME Leo 435 VP, para comprovação científica dos achados.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Anatomia do pâncreas

Macroscopicamente, o pâncreas do *D. marsupialis* apresentou-se como um órgão macio, de coloração marrom-claro, com lobação única, o que lhe confere um aspecto retangular, diferenciando-se quanto ao formato descrito na literatura para animais domésticos com os suínos, o qual assemelha-se à letra “Y”; carnívoros, com formato de “V” e nos felinos, com formato de “U” (KÖNIG & LIEBICH, 2011). No *D. marsupialis* é formado de lóbulos organizados em ramificações difusas, pouco espessas, entremeadas nos omentos e mesos, adjacente a porção cranial do duodeno (Figura 1). Esta característica, da organização anatômica, assemelha-se ao descrito para os pâncreas de animais silvestres, como a paca (*Cuniculus paca*), que pode ser atribuída pela semelhança do habitat que estes animais possuem (FIORI et al., 2019), uma vez que, pode-se atribuir a característica anatômica do sistema digestório aos hábitos alimentares das espécies.

Ainda nessa análise pode-se evidenciar a vascularização pancreática relacionada ao sistema porta-hepático. Em nossas análises, não foram observados os ductos pancreáticos relacionados ao colédoco ou até mesmo, as papilas pancreáticas no duodeno.

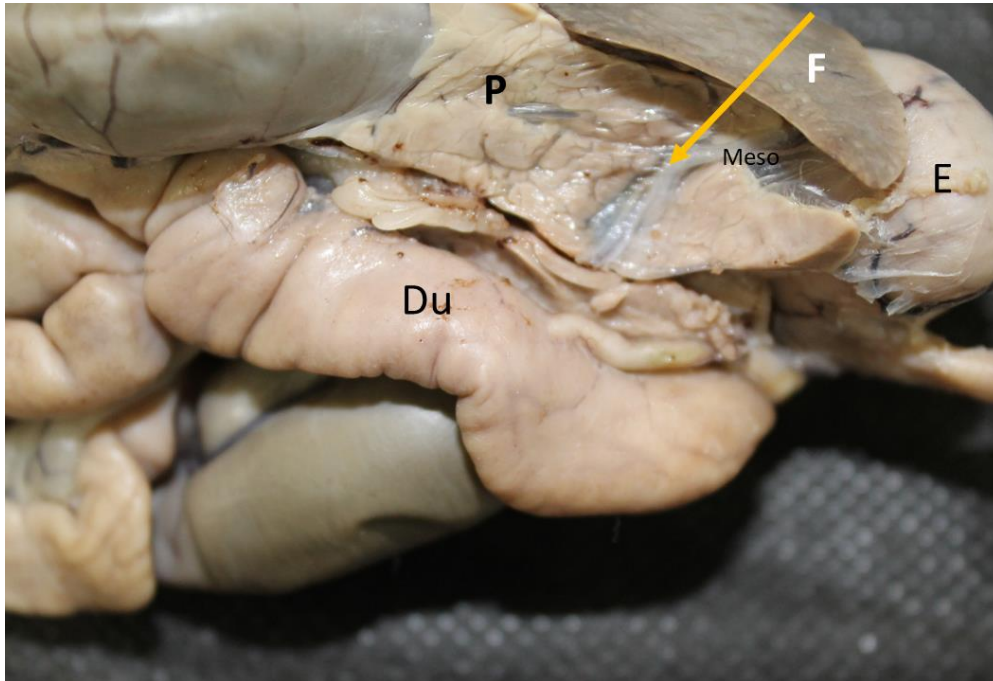


Figura 1 - Aparelho digestório (e Pâncreas em destaque) “ex situ” do *D. Marsupialis*, em vista dorsal. Podemos evidenciar o pâncreas (P), fígado (F), estômago (E) e duodeno (Du). Notar que o Pâncreas (P) encontra-se envolto pelas pregas do meso, membrana serosa de aspecto transparente que envolve os órgãos na cavidade abdominal. Observar a coloração, o aspecto lobulado e a posição adjacente deste órgão.

Quanto a sua localização, o pâncreas situou-se na região craniodorsal média da cavidade abdominal. Apresentou duas porções, uma cranial que se relaciona com o piloro e outra caudal, em sintopia com o duodeno, margeando o duodeno, estômago, fígado e baço, com projeções ventrais e caudais, acompanhando o omento maior e o mesoduodeno (Figura 2).

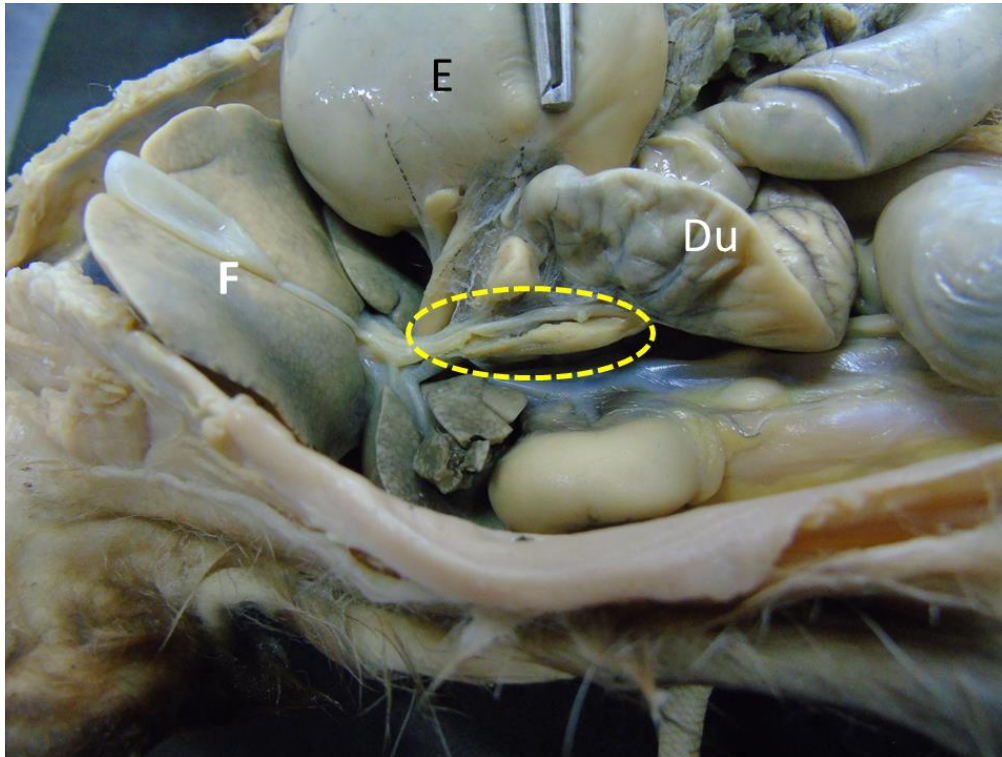


Figura 2 - Vista anatômica da cavidade abdominal “*in situ*” do *D. marsupialis*”, em vista dorsal, após a abertura da cavidade abdominal e retirada do lobo hepático esquerdo. Em destaque (amarelo) o pâncreas, onde pode-se observar as relações topográficas (sintopia) com os órgãos da cavidade abdominal. Notar a parte cranial deste órgão relacionando-se com o fígado, e a parte caudal com o duodeno. A localização do pâncreas evidencia relações topográficas com o fígado, estômago, duodeno e com o rim esquerdo. As membranas serosas (pregas de meso) estão presentes (membranas transparentes e translúcidas) envolvendo estes órgãos abdominais.

Anatomicamente, o pâncreas do *D. marsupialis* apresenta uma face gástrica (voltada ao estômago), na qual 2/3 deste órgão compõe uma borda livre que acompanha a curvatura maior do estômago, tal descrição não difere de autores como Iglesias (2014) que cita que o pâncreas acompanha a curvatura do ventrículo gástrico, em tamanduás-bandeira. A outra parte 1/3 desta glândula sobrepõe-se a curvatura inicial do duodeno, concordando com a descrição feita por Dyce (2010) onde, convencionalmente, em animais domésticos, o pâncreas é delimitado pelo duodeno. Este órgão também demonstrou uma face dorsolateral voltada para a cavidade abdominal (Figura 3). É importante destacar que a disposição anatômica desta glândula permite também que o pâncreas se relacione ventralmente com o rim esquerdo.

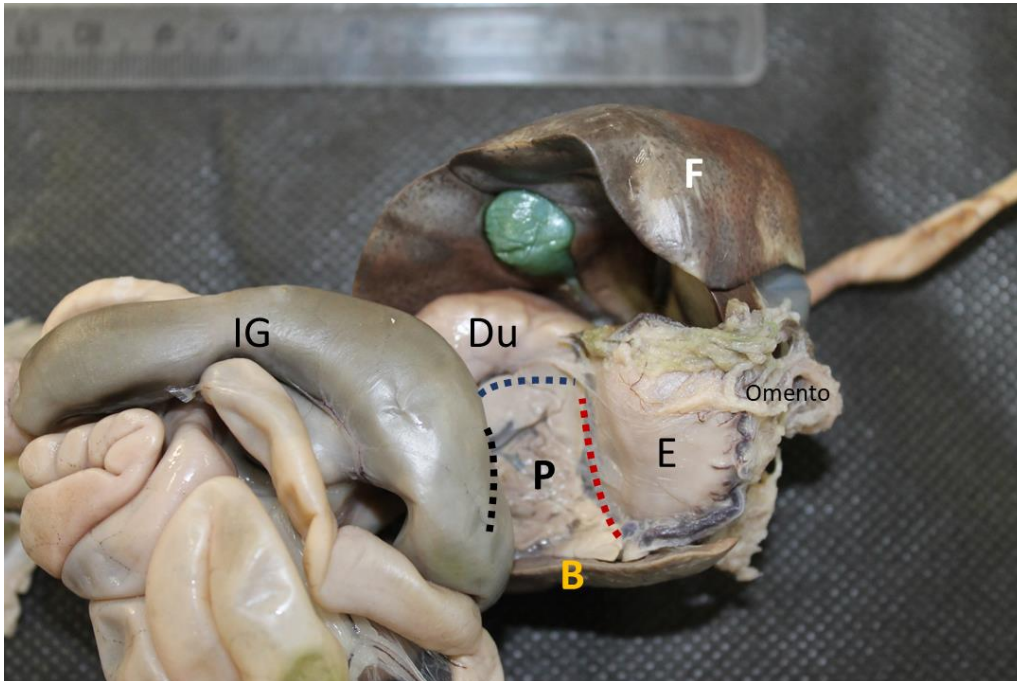


Figura 3 - Aparelho digestório do *D. marsupialis* “*ex situ*”, em vista dorso-lateral esquerda. Notar o pâncreas (P), com sua relação topográfica com o fígado (F), estômago (E) e baço. Observar que o Pâncreas (P) encontra-se envolto pelas pregas de meso e pelo omento. Em evidência as margens (faces) pancreáticas: face gástrica (tracejado vermelho), face duodenal (tracejado azul) e a face abdominal (tracejado preto) voltada aos demais órgãos da cavidade abdominal. IG- Intestino grosso.

6.2 Histologia do pâncreas

Histologicamente, o pâncreas do *D. marsupialis* assemelha-se ao pâncreas do Tamanduá-bandeira (*Myrmecophaga tridactyla*), que é coberto por uma delgada cápsula de tecido conjuntivo (Figura 4A), que se projeta para o interior da glândula por meio de septos, e estes, a subdividem em lóbulos, como descrito por Iglesias (2014).

De modo geral, a glândula apresentou duas partes distintas: uma exócrina composta pelos ácinos, e outra endócrina, formada pelas ilhotas pancreáticas (Figura 4B) nas mesmas características que os animais domésticos. Cada lóbulo contém um número variável de ácinos, que representam a parte exócrina, concordando com a descrição feita por Ozdemir (2005). Destaca-se que os ácinos pancreáticos representam a maior parte da glândula, e eram formados por células piramidais dispostas em camadas simples e ductos intralobulares. Os ácinos possuem formato ovalado compostos por células cúbicas em torno de um lúmen central. Os seus núcleos têm formato esférico e são basais. Pela coloração de HE, devido a característica basofílica,

sua coloração tem aspecto arroxeadado, enquanto no citoplasma apical destas células, pela característica acidofílica, apresentam característica rosa intensa (4B).

As ilhotas pancreáticas presentes em menor área do parênquima do órgão, e apresentaram-se altamente vascularizadas, com células claras apoiadas em tecido conjuntivo reticular. Estas apresentaram células poligonais e compactas. As ilhotas pancreáticas manifestaram-se de forma isolada, distribuídas em toda extensão do órgão estudado e o ducto excretor da glândula pode ser evidenciado (Figura 4C).

Destaca-se que pela coloração de Tricrômico de Masson pode-se demonstrar a presença de colágeno corado em azul (Figura 4D), no parênquima pancreático.

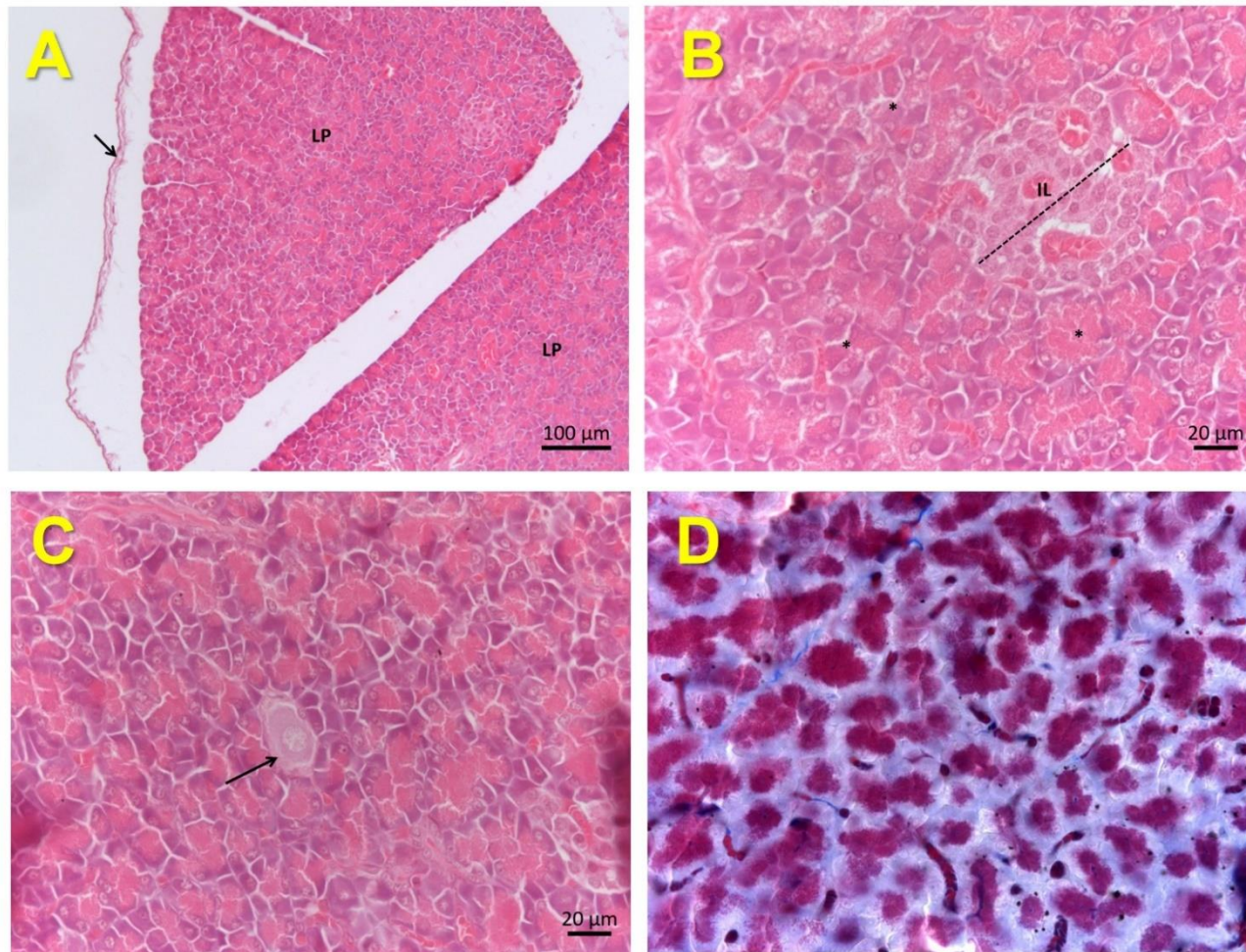


Figura 4 - Fotomicrografia do pâncreas do *D. Marsupialis*. Em A – Notar a cápsula de tecido conjuntivo (seta) e os lóbulos pancreáticos (LP). Em B – Observar o parênquima pancreático, composto por ácinos serosos (*) o qual representa a parte exócrina. Evidencia-se também uma ilhota de Langerhans, responsável pela parte endócrina. Em C – Em destaque, o ducto secretor (seta). Em D - Observar a presença de colágeno, marcado em azul, pela coloração de Tricrômico de Masson. Em A, B e C – coloração de Hematoxilina-Eosina.

6.3 Ultraestrutura do pâncreas

À microscopia eletrônica de varredura o pâncreas do *D. marsupialis* assim como a do tamanduá-bandeira, apresentou lóbulos pancreáticos divididos por septos de tecido conjuntivo, local onde foram localizados os vasos sanguíneos. Fibras colágenas compunham uma delgada camada que abrigava o parênquima pancreático. Estas estruturas estavam envoltas por uma cápsula de tecido conjuntivo. Ainda, puderam ser evidenciados os ácinos pancreáticos (Figura 5) que representam a parte exócrina da glândula parenquimatosa e as ilhotas pancreáticas (Figura 6) que representam a parte endócrina do pâncreas (IGLESIAS, 2014). Estas características estruturais também se assemelham as descritas para carnívoros domésticos (KÖNIG & LIEBICH, 2011).

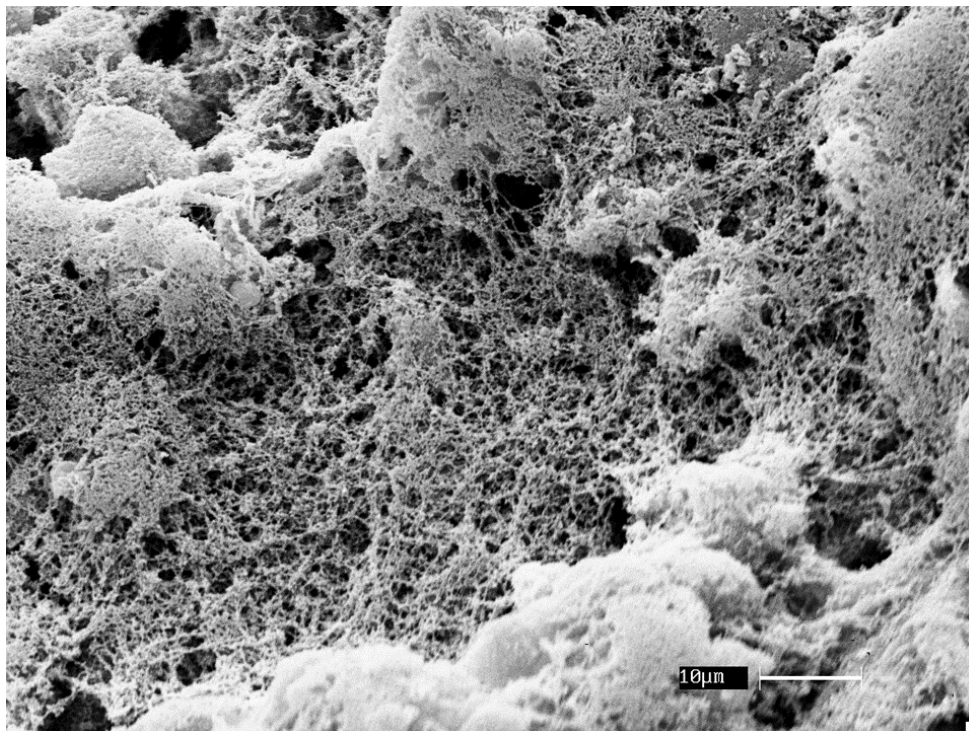


Figura 5 – Microscopia eletrônica de varredura do pâncreas do *D. marsupialis*. Notar os ácinos pancreáticos.

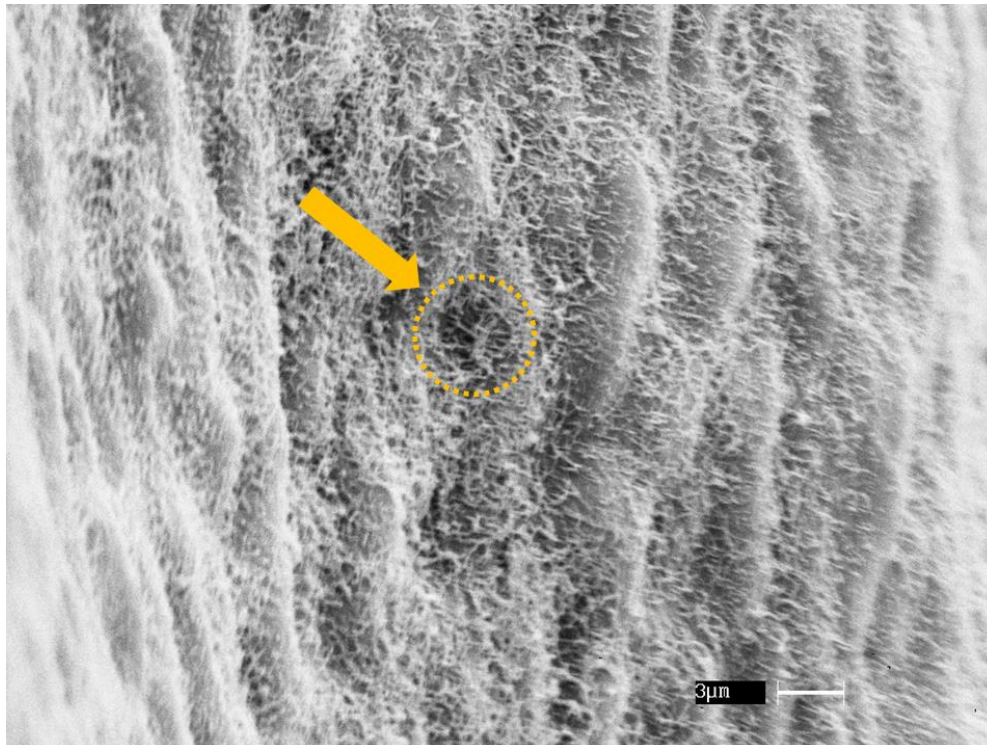


Figura 6 – Microscopia eletrônica de varredura do pâncreas do *D. marsupialis*. Seta amarela – área sugestiva de uma ilhota pancreática

7 CONCLUSÃO

De acordo com nossos achados podemos concluir que o pâncreas do *D.marsupialis* apresenta um padrão anatômico no que diz respeito a forma e lobação peculiar a espécie, diferenciando-se das descrições anatômicas apresentadas na literatura para animais domésticos, mesmo que apresente pequenas semelhanças com animais silvestres como a paca, tamanduá bandeira, porco espinho, e até aves silvestres como o ganso.

Podemos concluir ainda, que o pâncreas do *D.marsupialis* apresentou estruturas endócrinas e exócrinas nas mesmas características histológicas e ultraestruturais descritas para os animais domésticos e silvestres como o tamanduá-bandeira.

Entretanto, pela escassez de dados na literatura especializada em marsupiais ou até inexistência de descrições anatômicas deste órgão, para este grupo de vertebrados, não podemos inferir que nossos achados possam ser considerados o padrão anatômico desta glândula para os Didelphideos.

~~De acordo com nossos achados podemos concluir que o pâncreas do *D.marsupialis* apresentou estruturas endócrinas e exócrinas nas mesmas características morfológicas e ultraestruturais descritas para os animais domésticos e silvestres. Entretanto, pela escassez de dados na literatura especializada em marsupiais ou até inexistência de descrições anatômicas deste órgão, para este grupo de vertebrados, não podemos inferir que nossos achados possam ser considerados o padrão anatômico desta glândula para os Didelphideos.~~

REFERÊNCIAS

AHNFELT-RONNE, J.; RAVASSARD, P.; PARDANAUD-GLAVIEUX, C.; SCHARFMANN, R.; SERUP, P. **Mesenchymal bone morphogenetic protein signaling is required for normal pancreas development.** *Diabetes*, v. 59, n. 8, p. 1948-1956, 2010.

ASHFORD, R.W Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clinics in dermatology.** v. 14, p. 523-532, 1996.

BRANDÃO-FILHO, S.P.; BRITO, M.E.; CARVALHO, F.G.; ISHIKAWA, E.A.; CUPOLILLO, E.; FLOETER-WINTER, L.; SHAW, J.J. Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 97, p. 291-296, 2003.

BÜLL, M. L., SEULLNER, G., FRAGOSO NETO, R. A. Vascularização arterial do braço do gambá (*Didelphis albiventris* Ihering, 1914 - Mammalia, Marsupialia, Didelphidae). **Acta Biol. Leopold.**, v. 14, n.2, p. 109 - 122, 1992.

CABRERA, M.A.A.; PAULA, A.A.; CAMACHO, L.A.B.; MARZOCHI, M.C.A.; XAVIER, S.C.; SILVA, A.V.M.; JANSEN, A.M. **Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: Assessment of risk factors**. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, v. 45, p. 79-83, 2003.

CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Food habits, home range and activity of *Didelphis aurita* (Mammalia, Marsupialia) in a forest fragment of southern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, v.36, p.85-92, 2001.

CÁCERES, N. C.; MONTEIRO-FILHO, E. L. A. Germination in seed species ingested by opossums: Implications for seed dispersal and forest conservation. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v.50, p.921-928, 2007.

CERQUEIRA, R. **The distribution of *Didelphis* in South America (Polyprotodontia, Didelphidae)**. Journal of Biogeography, v.12, p.135-145, 1985.

CHEREM, J.J.; GRAIPEL, M.E.; MENEZES, M.E. & SOLDATELI, M. **Observações sobre a biologia do gambá (*Didelphis marsupialis*) na ilha de Ratonos Grandes, Estado de Santa Catarina, Brasil**. Biotemas, 9(2): 47-56. 1996.

CULAU, P. O. V.; RECKZIEGEL, S. H.; GOLTZ, L. V., ARAÚJO, A. C. P. A artéria celíaca em *Didelphis albiventris* (gambá). **Acta Scientiae Veterinariae**, v.38, p. 121-125, 2010.

DOMONT, G. B.; PERALES, J.; MOUSSATCHÉ, H. **Natural anti-snake veno proteins**. **Toxicon**, v. 29, p. 1183-1194, 1991.

EMMONS L, FEER F. **Neotropical rainforest mammals. A field guide**. USA: University of Chicago. 281 p. 1990.

EMMONS, L. & FEER, F. 1997. Mamíferos da floresta tropical neotropical: um guia de campo . (Segunda edição.) University of Chicago Press, Chicago, Illinois 60637, EUA.

FERNANDES O, MANGIA RH, LISBOA CV, PINHO AP, MOREL CM, ZINGALES B, CAMPBELL DA & JANSEN AM. **The complexity of the complexity of the**

sylvatic cycle of *Trypanosoma cruzi* in Rio de Janeiro State revealed by non-transcribed spacer of the mini exon gene. Parasitol 118: 161-166. 1999.

FIORI, L. C. et al. Morfologia do pâncreas da paca (*Cuniculus paca*, Linnaeus, 1766). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 71, p. 571-576, 2019.

FONSECA, C. C.; NOGUEIRA, J. C.; BARBOSA, A. J. A. Diâmetro das ilhotas pancreáticas do gambá *Didelphis albiventris* em desenvolvimento intramarsupial. 2002

FRAGOSO NETO, R. A. Estudo anatômico da veia porta e suas tributárias no gambá (*Didelphis albiventris*). Botucatu, 1994. 104 p. **Tese** (Doutorado em Ciências Biológicas) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista.

FRAGOSO NETO, R. A., SEULLNER, G., CAMPOS, V. J. M. Gross anatomy of the portal vein and its tributaries in the opossum (*Didelphis albiventris*). **Anat. Histol. Embryol.**, v. 26, p. 227 - 229, 1997.

GARDNER, A.L. (Ed.) 2007. **Mammals of South America. Volume 1 Marsupials, Xenarthrans, Shrews, and Bats.** University of Chicago Press, Chicago, 667p.

GUERRA, J.A.O.; PAES, M.G.; COELHO, L.I.A.R.; BARROS, M.L.B.; FÉ, N.F.; BARBOSA, M.G.V.; GUERRA, M.V.F. Estudo de dois anos com animais reservatórios em área de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana humana em bairro de urbanização antiga na cidade de Manaus-AM, Brasil. **Acta Amazônica**, v. 37, p. 133-138, 2007.

HONACKI, J. H.; KINMAN, K. E.; KOEPPL, J. W. **Mammal species of the world: a taxonomic and geographic reference.** Allen Press: Lawrence Kansas, 1982. 694p.

HUME, I. D. **Marsupial nutrition.** New York, N.Y.: Cambridge University Press. xi, 434 p. 1999.

JUNQUEIRA, LC; CARNEIRO, J. **Histologia básica.** 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

JURGELSKI, W., Jr. (1974). O gambá (*Didelphis virginiana*) como modelo biomédico. I. Perspectiva de pesquisa, técnicas de manejo e laboratório.

KING, F.C, KRAUSE, W.J., CUTTS. 1978. **Postnatal development of the pancreas in the opossum.** Acta Anatomica 101: 259-274.

KÖNIG, H.E.; LIEBICH, H.G. *Anatomia dos animais dos animais domésticos – texto e atlas colorido/órgão e sistemas.* Porto Alegre: Artmed, 2011.

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

KRAUSE, W. J.; YAMADA, J.; CUTTS, H. Enteroendocrine cells in the developing opossum small intestine and colon. **Journal of Anatomy**, v. 162, p.83-96, 1989.

KRUPP, J. H., QUILLIN, R. A review of the use of the opossum for research husbandry, experimental techniques, and routine health measures. **Lab. Anim. Care**, v. 14, n. 3, p. 189 - 194, 1964

LESSA, L.G.; GEISE, L. hábitos alimentares de marsupiais didelfídeos brasileiros: Análise do estado de conhecimento atual. **Oecologia Australis**, v.14, n.4.p. 901-910. 2010.

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

LYRA-JORGE, PIVELLO, V.R., MEIRELLES, S.T. & VIVO, M. 2001. Riqueza e abundância de pequenos mamíferos em ambientes de cerrado e floresta, na Reserva Cerrado Pé-de-Gigante, Parque Estadual de Vassununga (Santa Rita do Passa Quatro, SP). **Naturalia**, 26 : 287-302, p.294, 2001.

MCEVOY, R. C. **Changes in the volumes of the A-, B-, and D-cell populations in the pancreatic islets during the postnatal development of the rat.** Diabetes, v.30, n.10, Oct, p.813-7. 1981.

MCMANUS, J. J. **Behavior of Captive Opossums, *Didelphis marsupialis virginiana*.** American Midland Naturalist, 84(1), p. 144. 1970.

MICHALICK, M. S. M.; GENARO, O. Leishmaniose visceral americana. In: NEVES D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia Humana.** Atheneu, São Paulo, 2005.

MOORE, D. M. A simple technique for blood collection in the opossum (*Didelphis virginiana*). **Lab. Anim**, v. 18, n. 1, p. 52 - 54, 1984.

MOUSSATCHÉ, H.; YATES, A.; LEONARDI, F.; BORCHE, L. **Mechanisms of resistance of the opossum to some snake venoms.** **Toxicon**, v. 17, p. 130, 1979.

MOUSSATCHÉ, H.; LEONARDI, F.; MANDELBAUM, F. **Inhibición por una proteína aislada del suero de *Didelphis marsupialis* a la acción hemorrágica producida por una fracción del veneno de *Bothrops jararaca*.** **Acta. Cient. Venezolana**, v. 32, Suppl.1, 1981.

MOUSSATCHÉ, H.; LEONARDI, F. **Estudios de protección con sueros de mamíferos y reptiles a los venenos de serpientes Crolalidae.** **Acta. Cient. Venezolana**, v. 33, p. 151, 1982.

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

NOMENCLATURA ANATÔMICA VETERINÁRIA ILUSTRADA. 1999. Editora Manoli. São Paulo. 614p.

NOWAK, RM (1999) Walker's Mammals of the World (Volume 1). 6ª Edição, Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1166-1170.

Patton JL, Da Silva MNF, Malcolm JR. **Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia.** **Bull Am Mus Nat Hist** 244: 1-306. 2000.

OLIVEIRA, M. L.; FERREIRA, R. M.; GOMES, M. P.; ILHA, D. S.; LORENZON, C.S.; DUARTE, M.B. Estudo populacional de gambás, *Didelphis albiventris* (*Mammalia, Didelphidae*), em um pequeno fragmento florestal. **Mastozoología Neotropical**. v.17, n.1. p. 161-165, Mendoza, 2010. Disponível em: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed>. Acesso em: 13 de julho de 2022.

OZDEMIR, D. Pancreas morphology of the porcupine (*Hystrix cristata*). **Rev. Méd. Vét.**, v.3, p.135-137, 2005.

PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; HERRMANN, G.; AGUIAR, L. M. S.; CHIARELLO, A. G.; LEITE, Y. L. R.; COSTA, L. P.; SICILIANO, S.;

KIERULFF, M. C. M.; MENDES, S. L.; TAVARES, V. C.; MITTERMEIER, R. A.; PATTON, J. L. Lista Anotada dos Mamíferos do Brasil / Annotated Checklist of Brazilian Mammals. 2ª Edição / 2nd Edition. **Occasional Papers in Conservation Biology**, v.6, p.1-76, 2012.

PAN, F.C.; WRIGHT, C. **Pâncreas organogenesis: from bud to plexus to gland**. *Developmental Dynamics*, v. 240, n. 3, p. 530-565, 2011

QUINTAL, Amanda Pifano Neto. **Leishmania spp. em Didelphis albiventris e micoureus paraguayanus (Mammalia: Didelphimorphia)**. 2010. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11449/94695>. Acesso em: 13 de julho de 2022.

REIS, N.R.; SHIBATA, O.A.; PERACCHI, A.L.; PEDRO, W.A. & LIMA, I.P. 2006. Sobre os mamíferos do Brasil. In: N. R. REIS; A.L. PERACCHI; W.A. PEDRO & I.P. Lima (eds) **Mamíferos do Brasil**. Londrina, 437p.

REIS, N. R.; PERACCHI, A. L.; FREGONEZI, M. N.; ROSSANEIS, B. K. **Mamíferos do Brasil**. Rio de Janeiro: Technical Books, 2010.

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

ROBINSON, J. G.; REDFORD, K. H. Body size, diet, and population variation in Neotropical Forest mammal species: predictors of local extinction? In: REDFORD, K. H.; EISENBERG, J. F. (Eds.). **Advances in Neotropical Mammalogy Gainesville: Sandhill Crane Press**, p. 567-594, 1989.

ROQUE, André Luis Rodrigues; JANSEN, Ana Maria. Reservatórios do Trypanosoma cruzi e sua relação com os vetores. In: GALVÃO, C., org. **Vetores da doença de chagas no Brasil** [online]. Curitiba: Sociedade Brasileira de Zoologia, 2014, 289 p. Zoologia: guias e manuais de identificação series.

SANTIAGO, M.E.B.; VASCONCELOS, R. O.; FATTORI, K.R.; MUNARI, D.P.; MICHELIN, A.F.; LIMA, V.M.F. An investigation of *Leishmania spp.* in *Didelphis ssp.* from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). **Veterinary Parasitology**, v. 150, p. 283-290, 2007.

SANTORI, R. T.; ASTÚA DE MORAES, D.; CERQUEIRA, R. Diet composition of *Metachirus nudicaudatus* and *Didelphis aurita* (Didelphimorphia, Didelphidae). **Mammalia**, v.59, p.511-516, 1995. Disponível em: <https://books.scielo.org/id/mw58j>. Acesso em: 13 de julho de 2022.

SCHALLING, H.D.F.H.; DA SILVA, E.S.; VAN DER MAIDE, W.F.; SCHOONE, G.J.; GONTIJO, C.M.F. *Didelphis marsupialis* (Common Opossum): A potential reservoir host for zoonotic leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte (Minas Gerais, Brazil). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 7, p. 387-393, 2007.

SOLARI S, VIVAR E, VELAZCO PM, RODRIGUEZ JJ. Small mammals of the Southern Vilcabamba region, Peru. En: Alonso LE, Alonso A, Schulenberg TS, Dallmeier F (eds). **Biological and social assessments of the Cordillera de Vilcabamba**, Peru. RAP Working Papers 12 and SIMAB Series 6. Conservation International. Washington DC. p 110-116. 2001.

SOUZA, W. M., MIGLINO, M. A., ALBUQUERQUE, J. F. G. Contribuição ao estudo dos colaterais calibrosos do arco aórtico no gambá (*Didelphis aurita*). **Arq. Biol. Tecnol.**, Curitiba, v. 25, n.2, p. 207 - 209, 1982.

SPAGNOLI, D. B., FIDLER, S. F., CARMICHAEL, S. W., CULBERSON, J. L. Perfusion fixation of the newborn opossum: Equipment and Techniques. **Lab. Anim. Sci.**, v. 29, n.2, p. 246 - 248, 1979.

STEIN BR, PATTON JL. GENUS LUTREOLINA O. THOMAS, 1910. En: Gardner AL (ed). **Mammals of South America. Marsupials, xenarthrans, shrews, and bats**. USA: University of Chicago. p 25-27 2008.

STEVENS, C. E.; HUME, I. D. **Comparative physiology of the vertebrate digestive system**. 2ed. New York: Cambridge. University Press. 1995. 420p

TOLOSA, E. M. C; PEREIRA, P. R. B.; MARGARIDO, N. F. Metodização Cirúrgica: Conhecimento e Arte. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

TOMPSON, A.R.C.; KUTZ, S.J.; SMITH, A. Parasite zoonoses and wildlife: emerging issues. **International Journal of Environment Research and Public Health**, v. 6, p. 678-693, 2009.

THURLO, T. B. **Cellular components of the mammalian islet of Langerhans.** Am. J. Anat, v.62, p.31-57. 1937.

TRAVI, B.L.; OSORIO, Y.; GUARÍN, N.; CADENA, H. *Leishmania (Leishmania) chagasi*: Clinical and parasitological observations in experimentally infected *Didelphis 50 marsupialis*, reservoir of New World visceral leishmaniasis. **Experimental Parasitology**, v. 88, 73-75, 1998a.

VAREJÃO, J. B. M; VALE, C. M. A. Contribuição ao estudo da distribuição geográfica e biologia do gênero *Didelphis* (Mammalia, Marsupialia) no estado de Minas Gerais, Brasil. **Lundiana: International Journal of Biodiversity**. V2 N. 1, 1982

VIEIRA, E. M.; ASTÚA DE MORAES, D. Carnivory and insectivory in Neotropical marsupials. In: JONES, M. E.; DICKMAN, C. R.; ARCHER, M. (Eds.). **Predators with pouches: the Biology of Carnivorous Marsupials**. Collingwood: CSIRO Publishing, p. 271-284, 2003.

VIEIRA, E. M.; IZAR, P. Interactions between aroids and arboreal mammals in the Brazilian Atlantic rainforest. **Plant Ecology**, v.145, p.75-82, 1999.

VONHOF, M. J. **Rhogeessa tumida**. Mamm Species 633: 1-3. 2000.

YUKAWA, M., T. TAKEUCHI, et al. **Proportions of Various Endocrine Cells in the Pancreatic Islets of Wood Mice (*Apodemus speciosus*)** **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v.28, n.1, p.13-16. 1999.