

Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*

Maria Terezinha Siqueira Bombonato*, Sabrina Santos Rochel, Carlos Alberto Vicentini e Irene Bastos Franceschini Vicentini

Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual Paulista, Av. Eng. Luiz Edmundo Carrijo Coube, 14-01, 17033-360, Bauru, São Paulo, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: mtsb@fc.unesp.br

RESUMO. O presente trabalho objetivou análise macroscópica e histológica do fígado de *Leporinus macrocephalus* para avaliar a estrutura do tecido hepático. Os peixes provenientes de um pesqueiro da região de Bauru, Estado de São Paulo, foram anestesiados, mortos, e os fígados foram retirados e encaminhados à rotina histológica, com inclusão em paraplast. A macroscopia mostrou um fígado de estrutura homogênea, de coloração marron-avermelhada, localizado na região medial do corpo, caudalmente ao coração e posterior às brânquias, apresentando três lóbulos de forma piramidal, sendo um central e dois laterais direito e esquerdo. A análise histológica revelou o tecido hepático constituído por cordões duplos de hepatócitos circundados por sinusóides, denominado de “muralla dupla”. Revelou, ainda, um sistema biliar disperso pelo parênquima hepático mostrando ductos com epitélio cúbico simples, circundado por fibras musculares e tecido conjuntivo. Células do tecido pancreático exócrino foram observadas, margeando vasos sanguíneos, organizando-se em ácinos apresentando grânulos de zimogênio. Além disso, existem centros melanomacrófagos distribuídos ao longo de todo parênquima, preferencialmente próximos aos vasos sanguíneos, formados por células que acumulam materiais como melanina e lipofuscina, podendo sua presença estar relacionada com o estado nutricional do peixe.

Palavras-chave: morfologia, fígado, teleósteos, *Leporinus macrocephalus*.

ABSTRACT. Morphological study of the hepatic tissue of *Leporinus macrocephalus*.

The objective of this work was to analyze the liver of *Leporinus macrocephalus* at the macroscopic and histologic level by evaluating the characteristics of the hepatic tissue. The fishes from a fishery in Bauru, S.P., were collected and sacrificed by destroying the spinal cord; afterwards the collected hepatic tissue was fixed and followed by histological routine. Macroscopic analysis of *L. macrocephalus* liver showed an organ of homogeneous structure, with red-brown color, located in the medial region of the body, caudal to heart and after the gills. It showed 3 pyramidal lobes, one central and two lateral right and left. The histological analysis showed the hepatic tissue constituted by hepatocytes cords surrounded by sinusoids, named “muralium duplex”. It yet revealed the diffused, distribution bile system by hepatic parenchyma, showing ducts with simple cubic epithelium, surrounded by muscular fibres and connective tissue. Cells of the exocrine pancreatic tissue were observed surrounding blood vessels in acinar arrangement as zymogen granules. Furthermore, there are melanomacrophages centers distributed along the hepatic parenchyma, preferably next to the blood vessels, constituted by cells accumulating material, such as melanin and lipofuscin, whose presence may be related to the nutritional status of the fish.

Key words: morphology, liver, teleostei, *Leporinus macrocephalus*.

Introdução

O fígado de peixes se apresenta, como em outros vertebrados, como um órgão chave, o qual controla muitas funções vitais e tem papel importante na fisiologia do animal. Além disso, segundo Caballero *et al.* (1999), o uso do fígado como órgão indicador de estado nutricional e fisiológico em peixes é bem conhecido e, de acordo com Al-Youseif *et al.* (2000), o tecido hepático em peixe é mais frequentemente recomendado como indicador ambiental do que

qualquer outro organismo.

Nos peixes, o fígado é um órgão denso, localizado ventralmente na região cranial da cavidade corporal. Seu tamanho, forma e volume estão adaptados conforme o espaço viável entre os demais órgãos viscerais, e sua coloração é geralmente marrom-avermelhada. Na maioria das espécies de teleósteos, está geralmente dividido em três lóbulos hepáticos, porém em alguns peixes podem apresentar variações de lobação (Bruslè e Anadon, 1996).

As particularidades quanto ao arranjo e disposição dos lóbos variam de espécie para espécie e até mesmo entre indivíduos da mesma espécie. Pode-se dizer que o fígado acomoda sua forma àquelas das outras vísceras, expandindo-se em qualquer parte da cavidade abdominal não utilizada por outras estruturas (Santos, 2003).

O parênquima hepático é constituído de duas placas celulares circundadas por sinusóides. Cada placa apresenta hepatócitos polarizados com uma face sinusoidal para a absorção e uma face biliar para excreção (Hinton et al., 1972; Kendall e Hawkins, 1975; Hinton e Pool, 1976; Bruslè e Anadon, 1996; Vicentini et al., 2005). Esta “muralla dupla” difere da “muralla simples” dos mamíferos, a qual apresenta uma única placa celular que separa os sinusóides (Bruslè e Anadon, 1996).

As células perisinusoidais hepáticas do sistema retículo-endotelial são escassas no fígado de peixes e quando presentes, elas se caracterizam pela atividade fagocítica. Consiste de uma categoria especial de macrófago, o melanomacrófago, muito comum nos peixes. Os melanomacrófaos estão localizados próximos às regiões portais e organizam-se formando *centros melanomacrófagos* (MMCs). Segundo Hartley et al. (1996), os MMCs são elementos críticos do sistema imune de peixes, incluindo resposta imune contra materiais de origem externa. Variações no tamanho, número e histologia dos MMCs podem ser devidas à idade, status nutricional, doença e condições ambientais (Ferguson, 1989; Hartley et al., 1996).

Além disso, células de tecido pancreático também podem ser encontradas dispersas no tecido hepático dos teleósteos. Este tecido pode ser diferenciado do tecido hepático por apresentar arranjo acinar e também pelo septo de tecido conjuntivo separando-o dos hepatócitos (Bruslè e Anadon, 1996).

Embora *L. macrocephalus*, seja uma espécie de interesse para a pesca esportiva, pouco se conhece sobre sua biologia. Tendo em vista que o fígado em peixes pode ser considerado um órgão alvo para estudos ambientais, sendo recomendado principalmente como indicador de poluição aquática, são necessárias novas investigações sobre a morfologia hepática. Assim sendo, o presente trabalho objetivou analisar anatômica e histologicamente o fígado de *L. macrocephalus*, uma vez que se trata de um peixe bastante explorado em cativeiro, adaptado muito bem às rações artificiais, tornando-se uma espécie atrativa para a piscicultura intensiva.

Material e métodos

Foram utilizados 15 exemplares adultos de *L.*

macrocephalus provenientes de um pesqueiro da região de Bauru, Estado de São Paulo. Os exemplares foram anestesiados e mortos através de secção da medula espinhal, em seguida foi realizada uma incisão longitudinal na porção ventral do animal. Posteriormente o fígado foi retirado e encaminhado para análises macroscópicas e histológicas.

Análises dos aspectos anatômicos do fígado de *L. macrocephalus* foram realizadas com auxílio de estereomicroscópio Olympus, e a seguir o material foi documentado com máquina fotográfica Pentax P30.

Para as análises histológicas, fragmentos do fígado foram fixados com solução de formol tamponado a 10%. Em seguida levados à rotina histológica de inclusão em paraplast (Oxford-USA®) e submetidos a microtomia (secções de 5 µm). As secções histológicas foram encaminhadas para rotina de colorações com Hematoxilina/Eosina (Bancroft e Stevens, 1996) visando à observação e análise da organização do parênquima hepático. As análises e fotodocumentação do material foram realizadas em fotomicroscópio Olympus BX 50.

Resultados

A análise anatômica do fígado de *L. macrocephalus* revelou um órgão denso, de estrutura homogênea, com coloração marrom-avermelhada, devido à sua rica vascularização. Este se localiza na região medial do corpo, caudalmente ao coração, e posterior as brânquias. Apresenta-se dividido em três lóbos hepáticos, de formato piramidal, sendo o primeiro lóbo central e os outros dois laterais, direito e esquerdo (Figuras 1 e 2). Os ápices dos lóbos estão voltados à região caudal, e estão normalmente aderidos às outras estruturas do aparelho digestório, como intestino e vesícula biliar.

A análise histológica do parênquima hepático de *L. macrocephalus* revelou que não é possível distinguir subdivisões hexagonais, caracterizando os lóbulos hepáticos, assim como não foi possível evidenciar as tríades portais. Assim sendo, o fígado de *L. macrocephalus* não apresenta divisões em lóbulos hepáticos, sendo este órgão constituído de hepatócitos organizados em placas celulares, circundadas por sinusóides. Os hepatócitos são células arredondadas com citoplasma claro, apresentando um núcleo esferoidal, basófilo, situado na porção centro-basal da célula e de limites nítidos (Figuras 3 e 4). Apresentam, ainda, nucléolo único, bem evidente e central. Estes hepatócitos estão arranjos em túbulos, quando em cortes transversais ou oblíquos, formando os canalículos biliares (Figura 3), local onde secretam a bile produzida no hepatócito. Quando em cortes longitudinais, estes aparecem como lâminas de duas

células sobrepostas, circundadas por sinusóides. Essa organização estrutural é conhecida como “muralha dupla” (Figura 4).

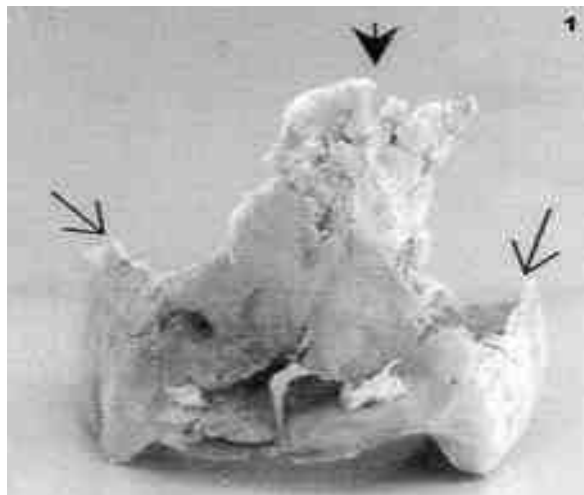


Figura 1. Fígado de *Leporinus macrocephalus* mostrando os três lóbulos hepáticos: laterais (→) e central (↗), vista superior.

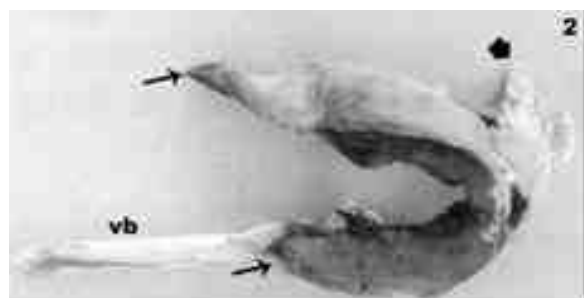


Figura 2. Fígado de *Leporinus macrocephalus* mostrando os três lóbulos hepáticos: vista anterior. Notar vesícula biliar (vb).

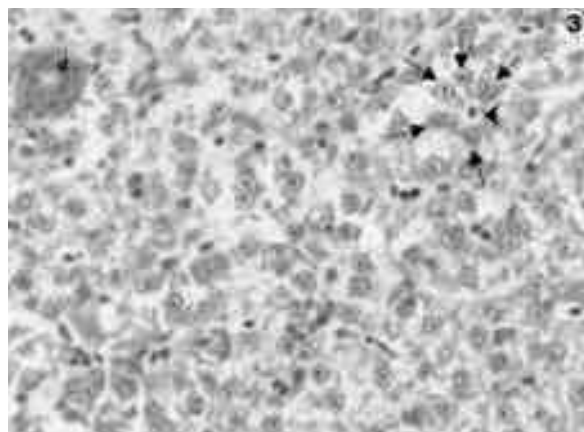


Figura 3. Hepatócitos de *Leporinus macrocephalus* situados ao redor de um canalículo biliar (setas) com célula pré-ductular no interior do canalículo (cabeça de seta). Ductulo biliar (d) organizado mostrando epitélio cúbico simples e tecido conjuntivo adjacente. H/E x1000.

O sistema biliar é constituído por canalículos, ductulos e ductos biliares (Figura 3),

respectivamente. Os canalículos biliares dos exemplares estudados estão circundados por células hepáticas e, em seu interior, apresentam células alongadas que diferem dos hepatócitos (Figura 3). Os ductos biliares apresentam-se aleatoriamente distribuídos no parênquima hepático e mostraram-se constituídos por epitélio cúbico simples.

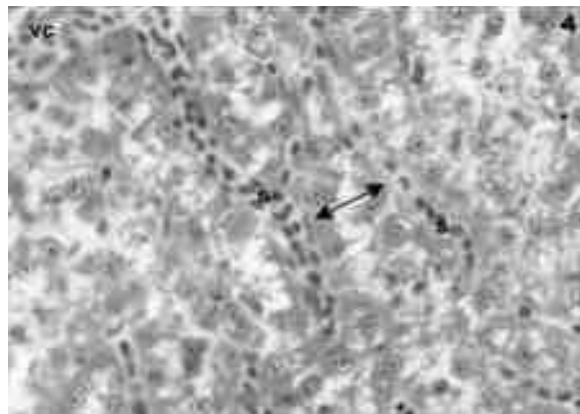


Figura 4. Histologia do parênquima hepático mostrando arranjo de sinusóides (s), separado por cordões de hepatócitos (↔). H/E x1000.

O parênquima hepático de *L. macrocephalus* revelou, também, a presença de Centros Melanomacrófagos (CMMs), localizados na periferia de vasos sanguíneos (Figura 5), e formados por células que acumulam diferentes materiais em seu interior, os quais podem estar relacionados com o estado nutricional dos peixes.

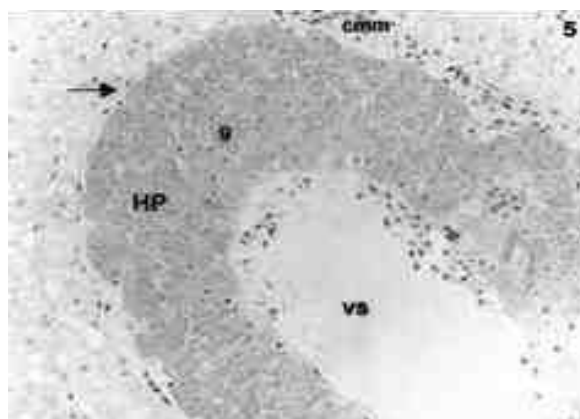


Figura 5. Organização do tecido pancreático intra-hepático exócrino (HP) com distribuição de grânulos de zimogênio (g) ao redor de vaso sanguíneo (vs). Notar presença de centros melanomacrófagos (cmm). H/E x 200.

O tecido pancreático exócrino apresenta-se distribuído pelo parênquima hepático, circundando vasos sanguíneos. Estas células mostram variações nas suas formas, sendo encontradas células de

formas cúbicas a cilíndricas. Uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo separa as células pancreáticas do parênquima hepático. As células pancreáticas organizam-se em ácinos e podem apresentar grânulos citoplasmáticos em seu interior, localizados na região apical. O citoplasma apresenta-se basófilo na região basal, devido à síntese de proteína próxima do núcleo e na região apical concentram-se os grânulos citoplasmáticos de zimogênio. O núcleo é acidófilo e encontra-se localizado na região basal da célula (Figura 5).

Discussão

As características anatômicas encontradas no fígado de *L. macrocephalus* são similares aos descritos na literatura, para teleósteos em geral, segundo Bruslè e Anadon (1996). Entretanto, segundo estes autores o tecido hepático também pode apresentar coloração pálida ou amarelada, devido ao acúmulo de lipídio no interior das células hepáticas. Fígado com este padrão de coloração foi encontrado em *Anguilla anguilla*, *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata* quando alimentadas com ração artificial, devido à acumulação de lipídios (Bac et al., 1983 apud Bruslè e Anadon, 1996). No presente trabalho não foi observado nenhum animal com tal característica, sugerindo que o fígado dos exemplares coletados encontrava-se com aparência saudável.

A análise histológica do parênquima hepático de *L. macrocephalus* revelou que este tecido não apresenta divisões em lóbulos hepáticos, não sendo possível distinguir subdivisões hexagonais, que os caracterizam, como evidenciado em muitos teleósteos (Hampton et al., 1985; González et al., 1993). Também não foi possível evidenciar as tríades portais, as quais são constituídas por ramificações da veia porta, da artéria hepática e ducto biliar, e que são características do fígado de mamíferos. Segundo Bruslè e Anadon (1996), as tríades portais são indistintas, se não ausentes, em quase todos os teleósteos. No entanto, González (1992) apud Bruslè e Anadon (1996), estudando tecido hepático de *Caranx* ssp. e *Lutjanus bohar* observou algumas tríades.

O fígado é um órgão constituído de hepatócitos organizados em placas celulares, circundadas por sinusóides, conforme encontrado em muitos teleósteos (Kendall e Hawkins, 1975; Hinton e Pool, 1976; González et al., 1993; Vicentini et al., 2005). Essa organização estrutural é conhecida como “muralha dupla” e foi descrita segundo Bruslè e Anadon (1996), estudando tecido hepático de teleósteos em geral. Entretanto, estrutura semelhante a esta foi também descrita por Hampton et al. (1985), estudando trutas

arco-íris (*Salmo gairdneri*).

A presença de Centros Melanomacrófagos (CMMs), no parênquima hepático de *L. macrocephalus* formados por células que acumulam diferentes materiais em seu interior, podem estar relacionados com o estado nutricional dos peixes. Segundo Hartley et al. (1996), os CMMs são elementos críticos do sistema imune de peixes, incluindo resposta imune contra materiais de origem externa. Acredita-se que os CMMs acumulam pigmentos no interior de suas células, tais como lipofucsina, melanina, ceróide e hemossiderina entre outras substâncias. Pesquisadores relatam que variações no tamanho, número e histologia dos CMMs podem ocorrer devido à idade, estado nutricional, doença e condições ambientais (Ferguson, 1989; Hartley et al., 1996).

Nos peixes são conhecidos acúmulos de CMMs na presença de condições adversas, incluindo poluição. O pigmento melanina pode ter um efeito protetor contra estes poluentes, e níveis elevados de melanina e lipofucsina podem proteger contra danos celulares, pois absorvem radicais livres, os quais são elementos tóxicos às células (Hartley et al., 1996).

O tecido pancreático exócrino de *L. macrocephalus* apresentou certa semelhança com o descrito em outros teleósteos (Kendall e Hawkins, 1975; Hinton e Pool, 1976; Marconi Stipp et al., 1980; Beccaria et al., 1992; Vicentini et al., 2005).

Estudos com tilápias, realizados por Eppl e Brinn (1986), descreveram que é comum concentração de tecido pancreático exócrino entre o tecido hepático, em teleósteos. Este tecido pancreático intra-hepático, algumas vezes chamado de hepatopâncreas, invade o tecido hepático circundando ramos da veia porta tornando, assim, sua distribuição difusa. Sabe-se que o tecido pancreático intra-hepático é responsável pela produção de enzimas digestivas que atuam no intestino, auxiliando na digestão dos alimentos (Hinton e Pool, 1976; González et al., 1993).

Conclusão

A análise morfológica do fígado de *L. macrocephalus* evidenciou a presença de três lóbulos hepáticos e uma organização histológica constituída de cordões duplos de hepatócitos circundados por sinusóides, similar ao encontrado em outros teleósteos. Entretanto, não foram observados lóbulos hepáticos e tríades portais. Outra característica relevante evidenciada em *L. macrocephalus* foi a presença de tecido pancreático exócrino intra-hepático, associado com vasos sanguíneos aferentes. Cabe destacar, que estudos prévios têm indicado, em

peixes teleósteos, que o tecido pancreático pode permanecer extra-hepático ou penetrar pelo parênquima, dependendo da espécie.

Referências

- AL-YOUSEIF, M.H. *et al.* Trace metals in liver, skin and muscle of *Lethrinus lentjan* fish species in relation to body length and sex. *Sci. Total Environ.*, Michigan, v. 256, p. 87-94, 2000.
- BANCROFT, J.D.; STEVENS, A. *Theory and practice of histological techniques*. New York: Churchill Livingstone, 1996.
- BECCARIA, C. *et al.* Effects of dietary conditions on the exocrine pancreas of the sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. (Teleostei). *Aquaculture*, Amsterdam, v. 101, p. 163-176, 1992.
- BRUSLÈ, J.; ANADON, G.G. The Structure and function of fish liver. In: MUNSHI, J.S.D.; DUTTA, H.M. (Ed.). *Fish morphology horizon of new research*. Lebanon: Science Publishers Inc., 1996. p. 77-93.
- CABALLERO, M.J. *et al.* Combined effect of lipid level and fish meal quality on liver histology of gilthead seabream (*Sparus aurata*). *Aquaculture*, Amsterdam, v. 179, p. 277-290, 1999.
- EPPLÉ, A.; BRINN, J.E. Pancreatic Islets. In: PANG, P.K.T.; SCHEREIBMAN, M. (Ed.). *Vertebrate endocrinology: fundamental and biochemical implications*. New York: Academic Press, 1986. cap. 1, p. 279-317.
- FERGUSON, H. *Systemic pathology of fish: a text and atlas of comparative tissue responses in diseases of teleosts*. Iowa: Iowa State University Press, 1989.
- GONZÁLEZ, G. *Contribution à la connaissance des processus ciguatériques*. 1992. Thèse de Doctorat (Specialité Oceanologie)-Université de Persignan, Persignan, 1992.
- GONZÁLEZ, G. *et al.* Histo-cytological study of the liver of the cabrilla sea bass, *Serranus cabrilla* (Teleostei, Serranidae), an available model for marine fish experimental studies. *J. Fish Biol.*, British Isles, v. 43, p. 363-373, 1993.
- HAMPTON, J.A. *et al.* Functional Units in Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*) Liver: I. Arrangement and Histochemical Properties of Hepatocytes. *The Anatomical Record*, California, v. 213, p. 166-175, 1985.
- HARTLEY, W.R. *et al.* Liver Lesions in Gar Fish (Lepisosteidae) as Biomarkers of Exposure. *Mar. Environ. Res.*, Oxford, v. 42, p. 217-221, 1996.
- HINTON, D.E. *et al.* Morphology and enzyme histochemistry in the liver of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, Nanaimo, v. 29, p. 531-534, 1972.
- HINTON, D.E.; POOL, C.R. Ultrastructure of the liver in channel catfish *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). *J. Fish Biol.*, British Isles, v. 8, p. 209-219, 1976.
- KENDALL, M.W.; HAWKINS, W.E. Hepatic morphology and acid phosphatase localization in the channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, Nanaimo, v. 32, p. 1459-1464, 1975.
- MARCONI STIPP, A.C. *et al.* Fine structural analysis of a teleost exocrine pancreas cellular components-A freeze-fracture and transmission electron microscopic study. *Anat. Anz.*, Verhandlungen, v. 147, p. 147-60, 1980.
- SANTOS, A.S. *Análise histológica e ultraestrutural do tecido hepático de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) tratada com ração contendo diferentes níveis de cobre*. 2003. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura)-Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2003.
- VICENTINI, C.A. *et al.* Morphological study of the liver in the teleost *Oreochromis niloticus*. *Int. J. Morphol.*, Temuco, v. 23, n. 3, p. 211-216, 2005.

Received on October 27, 2006.

Accepted on March 27, 2007.