

**KATIA APARECIDA DA SILVA VIEGAS**

**CARACTERIZAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DA  
ESTEATOSE HEPÁTICA EM PERDIZ (*RHYNCHOTUS RUFESCENS*  
TEMMINCK, 1815)**

Relatório de Pós-doutorado realizado na  
Universidade Estadual Paulista (UNESP),  
Instituto de Biociências, Departamento de  
Biologia Estrutural e Funcional, Botucatu.

Supervisor: Prof. Dr. André Luís Filadelpho

Cossupervisora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Camila Contin  
Diniz de Almeida-Francia

**Botucatu**

**2024**

## Sumário

|                                                                     |           |
|---------------------------------------------------------------------|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                 | 2         |
| 2. REVISÃO DA LITERATURA .....                                      | 3         |
| 2.1 Morfologia do fígado em aves .....                              | 3         |
| 2.2 Metabolismo lipídico e lipidose .....                           | 3         |
| 2.3 Caracterização da lipidose hepática .....                       | 4         |
| 3. OBJETIVOS.....                                                   | 5         |
| 3.1 Objetivo geral .....                                            | 5         |
| 3.2 Objetivos específicos.....                                      | 5         |
| 4. MATERIAL E MÉTODOS .....                                         | 6         |
| 4.1 Animais, coleta e fixação do material.....                      | 6         |
| 4.2 Análises Histológica e Histomorfométrica .....                  | 7         |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                                     | 8         |
| 5.1 Avaliação Macroscópica .....                                    | 8         |
| 5.2 Avaliação Microscópica.....                                     | 10        |
| 5.3 Avaliação Morfométrica.....                                     | 17        |
| 6. CONCLUSÃO .....                                                  | 21        |
| 7. REFERÊNCIAS.....                                                 | 22        |
| <b>ANEXOS.....</b>                                                  | <b>27</b> |
| ANEXO I – Atestado do CEUA – Comitê de Ética em Uso de Animais..... | 27        |
| ANEXO II – Link do Repositório UNESP.....                           | 28        |
| ANEXO III – Avaliação do Supervisor .....                           | 29        |

## Resumo

O presente estudo teve como objetivo caracterizar histologicamente e histomorfometricamente a lipidose hepática em fígados de perdizes (*Rhynchotus rufescens*) mantidas em cativeiro. A lipidose hepática, caracterizada pelo acúmulo anormal de lipídios nos hepatócitos, compromete a função hepática e pode levar a distúrbios metabólicos graves. Foram analisados fígados de 15 perdizes adultas, utilizando colorações com Hematoxilina e Eosina (H.E.) e Tricrômico de Masson, além de análises morfométricas realizadas com o software ImageJ. Os resultados mostraram vacuolização significativa dos hepatócitos, particularmente nas zonas periacinares, onde o acúmulo lipídico foi mais acentuado, em comparação com as zonas periportais, que apresentaram menor grau de vacuolização. A análise dos diâmetros dos hepatócitos revelou variações entre as regiões periportais e periacinares. As áreas periacinares apresentaram diâmetros maiores e maior quantidade de vacúolos, sugerindo um estágio mais avançado de lipidose nessa zona, associada a menor oxigenação e maior vulnerabilidade ao estresse metabólico. Em contraste, as regiões periportais mostraram hepatócitos com diâmetros menores e menos vacúolos, indicando menor comprometimento estrutural. Além disso, foi observada compressão dos sinusoides hepáticos, desorganização dos cordões de hepatócitos, e infiltrados inflamatórios em algumas regiões, o que sugere um estágio progressivo de lipidose que pode evoluir para fibrose e esteato-hepatite. A análise morfométrica confirmou a heterogeneidade do acúmulo lipídico entre as diferentes zonas hepáticas, evidenciando o impacto da lipidose na morfologia e função celular. Este estudo fornece dados importantes sobre a lipidose hepática em aves de cativeiro, ressaltando a importância de estratégias nutricionais e de manejo para prevenir a doença. Os resultados servem como base para futuras investigações e para o desenvolvimento de protocolos preventivos e terapêuticos em aves de criação.

**Palavras-chave:** lipidose hepática; metabolismo lipídico; histopatologia; patologia animal; aves.

## 1. INTRODUÇÃO

A esteatose, também conhecida como transformação gordurosa, lipidose ou doença hepática gordurosa não alcoólica, é uma condição degenerativa caracterizada pela acumulação anormal e reversível de lipídeos no citoplasma de células parenquimatosas, como hepatócitos e fibras do miocárdio, onde normalmente não seriam encontrados histologicamente. Isso resulta na formação de vacúolos devido a desequilíbrios na síntese, utilização ou mobilização de lipídeos. Devido ao fígado ser o responsável pelo metabolismo lipídico, a esteatose é mais comumente encontrada nesse órgão (BEAUFRÈRE *et al.*, 2019; HERMIER, 1997; MIDDENDORF *et al.*, 2021).

A lipidose hepática é uma doença comum em aves domésticas, incluindo galinhas, patos, gansos e perus (BEAUFRÈRE *et al.*, 2019; DONELEY, 2011; HERMIER *et al.*, 1999; MIDDENDORF *et al.*, 2021; PERUSSI, 2019). É caracterizada pelo acúmulo excessivo de lipídios no fígado, levando a uma disfunção hepática grave (MIDDENDORF *et al.*, 2021). Essa condição pode ser causada por vários fatores, incluindo dieta rica em gordura, obesidade, imobilidade e deficiências nutricionais. A lipidose hepática é uma preocupação significativa para a produção avícola, já que pode levar a perda de produção e mortalidade significativa (BEAUFRÈRE *et al.*, 2019; MIDDENDORF *et al.*, 2019, 2021; VISSCHER *et al.*, 2017).

Alguns estudos vêm mostrando que a lipidose hepática afeta, principalmente, aves de postura (MAHARJAN *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2017). As aves afetadas geralmente apresentam sintomas clínicos, como fraqueza, anorexia, perda de peso e produção de ovos reduzida (APPLEGATE; ANGEL, 2014; AWAD *et al.*, 2019; MAHARJAN *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2017).

A prevenção da lipidose hepática é a melhor abordagem para evitar a doença. Uma dieta balanceada com baixo teor de gordura e rica em nutrientes é crucial para a prevenção da lipidose hepática em aves (APPLEGATE; ANGEL, 2014; BAKER; HAN, 1994). De acordo com um estudo realizado por Li *et al.* (2018), a suplementação de antioxidantes, como selênio e vitamina E, pode ajudar a prevenir a lipidose hepática em aves (LI *et al.*, 2018).

A confirmação diagnóstica é realizada por meio de exames laboratoriais, incluindo exames de sangue e biópsia hepática (RITCHIE *et al.*, 1994). No entanto, uma vez que a lipidose hepática é diagnosticada, o tratamento é necessário para evitar complicações graves. Em geral, a abordagem terapêutica da lipidose hepática em aves inclui mudanças na dieta, administração de medicamentos e suporte nutricional. Em casos graves, a remoção cirúrgica do fígado pode ser necessária.

A implementação de programas de manejo adequados é fundamental para a prevenção da lipidose hepática em aves. A manutenção da higiene, ventilação e espaço adequados são importantes para garantir a saúde das aves. O controle do estresse também é importante para evitar a lipidose hepática, já que o estresse pode afetar negativamente o metabolismo lipídico em aves.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Morfologia do fígado em aves

O fígado, nos vertebrados, é a maior glândula do corpo, constituindo cerca de 1 a 2% do peso corpóreo total do adulto (FAILS, 2019). O número de lobos e a localização intra-abdominal precisa é um pouco variável entre as espécies. Nas aves consiste nos lobos direito e esquerdo unidos cranialmente na linha média, sendo o direito maior que o esquerdo, com cada lóbulo tendo várias pequenas processos. O órgão está envolvido por uma fina e ligeiramente cápsula elástica de tecido conjuntivo, permitindo sua expansão. O sangue é fornecido ao fígado pelo lado direito e artérias hepáticas esquerdas e veias portais hepáticas. As vênulas e arteríolas portais terminais desembocam sinusoides entre placas de hepatócitos, permitindo a estes absorver moléculas do sangue (FAILS, 2019; RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994).

Uma tríade portal de arteríola, vênula portal e dúctulos biliares, associados a hepatócitos, canalículos biliares e sinusoides, forma a base funcional unidade do fígado: o ácino hepático (FAILS, 2019; KÖNIG *et al.*, 2021). As células hepáticas – hepatócitos – que fecham essas tríades de portais, são chamadas de periportais. Aqueles mais distantes, perto das vênulas hepáticas, são chamados periacinares. A área intermediária é chamada de zona intermediária. Os hepatócitos nestas diferentes áreas, embora morfológicamente iguais, são bioquimicamente diferentes e reagem de maneira diferente aos produtos químicos recebidos e metabólitos (DONELEY, 2011; KÖNIG *et al.*, 2021).

### 2.2 Metabolismo lipídico e lipidose

A principal função digestiva do fígado é a produção e secreção de sais biliares que desempenham um papel importante na digestão e absorção de lipídios, especialmente triglicerídeos, sendo a via hepática a principal no metabolismo energético e no catabolismo do colesterol nos vertebrados (FAILS, 2019; HERMIER, 1997; RUSSELL, 2003). Além disso, durante a digestão de uma refeição, um aumento na concentração dos sais biliares no sangue portal é o principal estímulo para a secreção

de sais biliares pelos hepatócitos levando também à eliminação do excesso de colesterol proveniente da dieta por meio da bile(RUSSELL, 2003).

Problemas no catabolismo da gordura hepática e a dieta podem ter como consequência o acúmulo excessivo de gordura no fígado, condição essa denominada lipídose ou esteatose, resultando em uma redução na função hepática e uma série de problemas de saúde (RITCHIE; HARRISON; HARRISON, 1994).

A esteatose, também referida como degeneração gordurosa, infiltração gordurosa, metamorfose gordurosa ou lipídose (COELHO, 2002), é uma condição que resulta do desequilíbrio entre a absorção hepática de ácidos graxos e sua utilização (JONES; HUNT; KING, 2000). A doença é caracterizada pelo acúmulo excessivo de lipídios no fígado e ocorre quando a taxa de armazenamento de triglicerídeos excede sua taxa de degradação metabólica ou liberação como lipoproteínas (MACLACHLAN; CULLEN, 1998).

A lipídose hepática é uma doença metabólica comumente observada em aves mantidas em cativeiro, especialmente em aves domésticas, como galinhas, perus e patos(PERUSSI, 2019). Pode ser desencadeada por uma variedade de fatores como: obesidade, falta de exercício, dieta inadequada e estresse (AWAD *et al.*, 2019; PIOCHE *et al.*, 2020). Quando as aves são mantidas em condições de estresse ou sobrecarregadas com uma dieta rica em gordura, o fígado tenta metabolizar os ácidos graxos, produzindo grandes quantidades de triglicerídeos. Se o fígado não conseguir metabolizar e remover esses triglicerídeos adequadamente, eles começam a se acumular no tecido hepático, levando aos acúmulos gordurosos(AWAD *et al.*, 2019).

A lipídose hepática pode levar à inflamação e ter efeitos graves sobre a saúde da ave, incluindo diminuição na produção de ovos, falha renal, danos hepáticos permanentes e morte (DE BOEVER *et al.*, 2009; FRENCH *et al.*, 2020; LIN *et al.*, 2021).

### 2.3 Caracterização da lipídose hepática

A lipídose hepática em aves é comumente diagnosticada através de exames de sangue e de imagem. A elevação dos níveis de enzimas hepáticas no sangue e o aumento do tamanho do fígado podem indicar a presença da doença, pois a biópsia hepática é invasiva, sujeita a amostragem e variabilidade inter-observador e impraticável para se executar em grandes criações animais (DONELEY, 2011; JONES; HUNT; KING, 2000).

Entre 2006 e 2011, na Alemanha, uma série de doenças caracterizadas por aumento da mortalidade e distúrbios hepáticos ocorreram em perus para corte, sem

antes terem sinais clínicos específicos, porém, a análise *post mortem* mostrou que os fígados estavam inchados, marmorizados, com manchas pretas e vermelhas e áreas amareladas (POPP *et al.*, 2014). Os achados histopatológicos mostraram degenerações gordurosas, característica da lipidose que, em geral, ocorre esporadicamente em perus, e análises por microscopia eletrônica mostraram partículas virais (POPP *et al.*, 2014). Porém, a lipidose parece, neste caso, não estar diretamente relacionada às infecções.

A lipidose hepática também pode ter como consequência a hemossiderose – depósito de ferro nos tecidos (VISSCHER *et al.*, 2017) – inclusive em consequência de intoxicação por poluentes, fato este descrito na literatura, principalmente, em peixes (CAMPOS; MORAES; MORAES, 2008; WU *et al.*, 2019). A idade e a castração em galos e perdizes também alteram o perfil lipídico e as características histológicas dos hepatócitos (ZAWACKA; MURAWSKA; GESEK, 2017).

Sendo assim, a caracterização histológica e a compreensão do processo de desenvolvimento das alterações morfológicas hepáticas e seus reflexos na fisiologia do metabolismo lipídico em aves de criação como a perdiz, pode trazer benefícios para o desenvolvimento de alternativas de alimentação com menor teor lipídico em criadouros.

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Caracterizar histologicamente a lipidose em fígados de perdizes mantidas em criadouros.

#### 3.2 Objetivos específicos

- 1) Analisar histologicamente fígados de perdizes utilizando a coloração de Hematoxilina e Eosina;
- 2) Caracterizar histologicamente a lipidose hepática em perdizes;
- 3) Verificar por microscopia ótica as possíveis alterações na morfologia dos hepatócitos;
- 4) Quantificar histomorfometricamente possíveis alterações morfológicas dos hepatócitos.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Animais, coleta e fixação do material

Foram utilizados fígados de 15 espécimes de perdiz (*Rhynchotus rufescens*)<sup>1</sup> (figura 1), adultas, machos e fêmeas, mantidas nos planteis de criação com dieta sólida e água “*ad libitum*”, com condições de higiene controladas, e abatidas com cerca de 365 dias de idade. As aves procederam do Departamento de Melhoramento e Nutrição Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp – Campus Botucatu.



**Figura 1** – Espécime de perdiz (*Rhynchotus rufescens*). Fonte: <https://ebird.org/species/rewtin1/BR-PR>

Para a realização da coleta dos tecidos, as perdizes foram anestesiadas mediante uma mistura de cloridrato de quetamina (20 mg/kg) e cloridrato de xilazina (1,5 mg/kg), aplicada por via intramuscular, obtendo-se a eutanásia. Em seguida, foi realizada a laparotomia, evisceração do trato gastrointestinal e coletado o fígado de cada animal. As amostras foram fixadas em solução aquosa de formalina tamponada (tampão fosfato, pH 7,2, 0.1M) e fixador de Bouin (solução saturada de ácido pícrico, formalina 30-40% e ácido acético glacial). O material coletado e fixado está incluído em parafina para as análises histológicas e histomorfométricas.

Os procedimentos utilizados para a coleta do material foram submetidos ao Comitê de Ética e Uso de Animais e Experimentação (CEUA) da Faculdade de Medicina

---

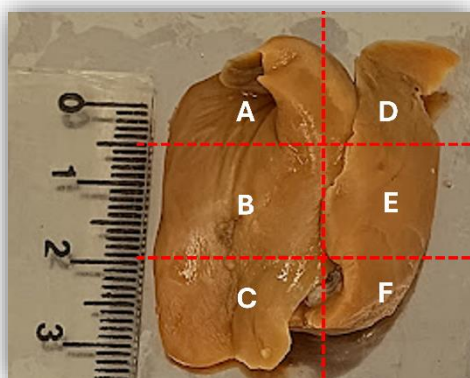
<sup>1</sup> *Rhynchotus rufescens* é também conhecida como Inhambu-de-asa-vermelha.

Veterinária e Zootecnia da UNESP - Campus de Botucatu e aprovados no Protocolo CEUA sob nº 0489/2023 (Anexo I).

#### 4.2 Análises Histológica e Histomorfométrica

No tecido hepático incluído em parafina, foi realizada a microtomia com cortes de 4 µm. As lâminas foram coradas com Hematoxilina e Eosina (H.E.), para verificação da integridade celular dos hepatócitos, e Tricrômico de Masson, para verificar possíveis alterações em fibras colágenas e elásticas. No projeto inicial foi sugerido submeter o material às colorações de Sudan Black e de Oil Red para identificação de lipídeos neutros nos hepatócitos, porém, devido ao enrijecimento do tecido, não foi possível a execução da técnica.

O fígado foi dividido em seis regiões para a realização da inclusão em parafina, seguida da microtomia, conforme demonstrado na figura 2.



▪ Letra = região do fígado

- A → superior direita
- B → média direita
- C → inferior direita
- D → superior esquerda
- E → média esquerda
- F → inferior esquerda

**Figura 2** – Regiões selecionadas do fígado de perdiz para a execução dos procedimentos histológicos.

Os cortes histológicos foram analisados em microscópio ótico Olympus BX-41 (Olympus®, Japão) e fotodocumentado com câmera digital DP-12 (Olympus®). A histomorfometria foi feita em segmentos transversais das regiões A, B, C, D, E e F do parênquima hepático, fixados nas lâminas microscópicas e submetidos às diferentes colorações descritas para a obtenção dos valores de área e diâmetro de hepatócitos, e quantidade de vacúolos lipídicos por área.

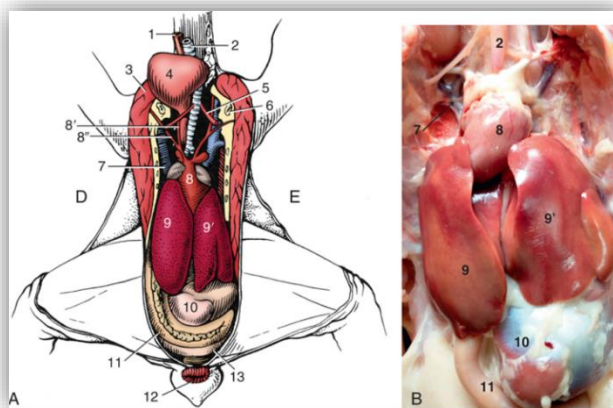
As análises histomorfométricas foram realizadas com o software ImageJ (NIH - National Institutes of Health, USA), e os valores obtidos tratados estatisticamente por métodos paramétricos: valores de médias aritméticas e desvios-padrão.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Avaliação Macroscópica

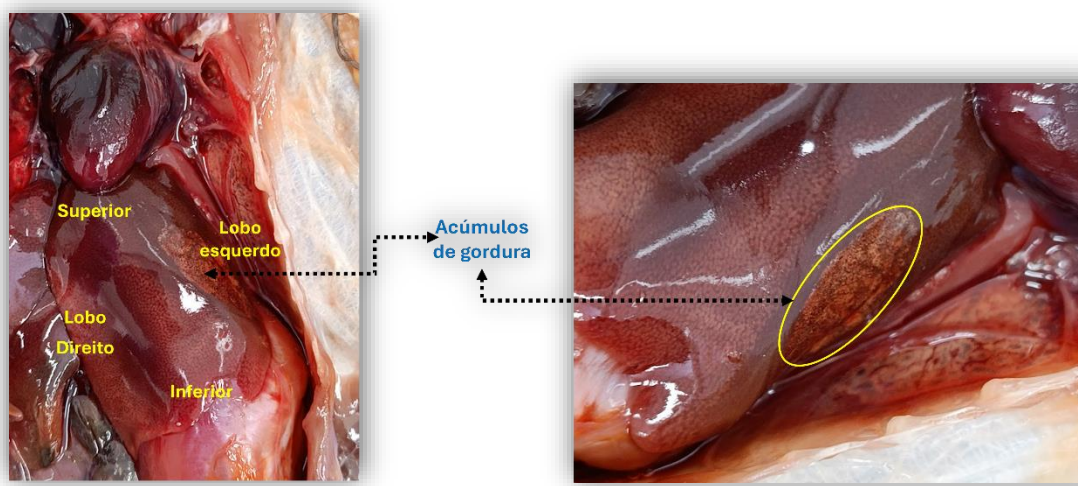
A perdiz (*R. rufescens*) mede em torno de 36 a 40 cm e seu fígado (figura 2) apresentaram as seguintes medidas médias: altura do lobo direito = 4,12 cm; altura do lobo esquerdo = 3,66 cm; largura do lobo direito = 2,10 cm; largura do lobo esquerdo = 1,40 cm.

O fígado das aves é castanho escuro, exceto nas primeiras duas semanas após a eclosão, em que possui coloração amarelada devido aos pigmentos da gema, que continuam a ser absorvidos dos intestinos antes que ocorra a regressão do saco vitelino. É composto pelos lobos direito e esquerdo, conectados cranialmente por uma ponte dorsal ao coração. Como não há diafragma, os lobos do fígado envolvem a parte caudal do coração (figura 3). O lobo direito do fígado, maior, contém a vesícula biliar e é atravessado pela veia cava caudal; o lobo esquerdo é dividido. A face parietal convexa está junto às costelas e ao esterno, sendo exposta na necropsia. O fígado é envolto por um saco peritoneal, que pode conter tecido adiposo e transudado em algumas doenças. Os lóbulos hepáticos são indistintos, exceto no hilo, pela ausência de tecido conjuntivo perilobular. A face visceral côncava contata o baço, proventrículo, moela, duodeno, jejuno e ovário (ou testículo). Dois ductos biliares desembocam no duodeno, sendo o do lobo direito ligado à vesícula biliar (figura 3). Essa anatomia descrita é comum às aves, exceto nos pombos, algumas espécies de papagaios, periquitos-australianos e estrutioniformes, que não possuem vesícula biliar (SINGH, 2019).



**Figura 3** – Vista ventral das vísceras. **(A)** Esquemática. **(B)** Vísceras após a remoção da parede corporal ventral, vista ventral. E, Esquerdo; D, direito; 1, Esôfago; 2, traqueia; 3, peitoral, seccionado; 4, papo; 5, esternotraqueal; 6, osso coracoide, seccionado; 7, veia cava cranial direita; 8, coração; 8', artéria carótida comum; 8'', artéria subclávia; 9 e 9', lobos direito e esquerdo do fígado, respectivamente; 10, moela (seu saco cego caudal); 11, alça do duodeno, envolvendo o pâncreas; 12, vento; 13, um dos cecos. Fonte: (SINGH, 2019)

Na coleta do material foi possível observar, a olho nu, acúmulos de gorduras (figura 4).

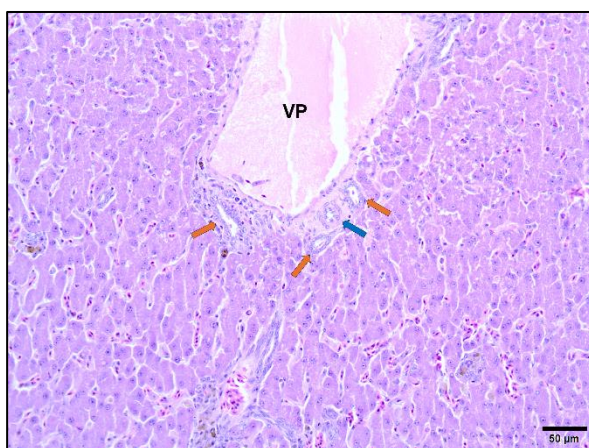


**Figura 4** – Fígado de perdiz com acúmulos de gordura (círculo amarelo) observados *in situ*.

O acúmulo de gordura no fígado de aves, conhecido como lipídose hepática, está frequentemente associado a uma dieta inadequada e a distúrbios metabólicos (BEAUFÈRE *et al.*, 2019; POPP *et al.*, 2014; WILDMANN *et al.*, 2022). Esta condição é caracterizada pela infiltração de triglicerídeos nas células hepáticas, podendo ser desencadeada por uma alta ingestão de alimentos ricos em gorduras ou carboidratos, bem como por disfunções no metabolismo lipídico (MIDDENDORF *et al.*, 2021; VISSCHER *et al.*, 2017). Em aves de cativeiro, como papagaios, uma dieta à base de sementes oleaginosas (como girassol) é uma causa comum (BARBOZA *et al.*, 2023; SALAVATI *et al.*, 2023). Diagnósticos são feitos por exames bioquímicos, como níveis de triglicerídeos e enzimas hepáticas, bem como através de exames de imagem como ultrassonografia, sendo a biópsia hepática um método definitivo, embora invasivo, para confirmar a condição. O tratamento geralmente envolve ajustes na dieta e o uso de suplementos que ajudam a melhorar a função hepática e reduzir o acúmulo de gordura no fígado (PERUSSI, 2019).

## 5.2 Avaliação Microscópica

Na fotomicrografia da amostra histológica da região A (de acordo com a figura 2), que corresponde à área periportal, corada com Hematoxilina e Eosina (H.E.) do fígado da perdiz (figura 5), observou-se os hepatócitos, dispostos em cordões celulares, o que é típico da arquitetura hepática, com núcleos geralmente redondos ou ovais. Alguns se mostram binucleados, o que é característico de células hepáticas em regeneração ou estresse (MALARKEY *et al.*, 2005; OZAKI, 2020). Entre cordões de hepatócitos há lacunas claras que correspondem aos sinusoides hepáticos, que são espaços por onde o sangue flui através do fígado. Ainda, observa-se a tríade portal, constituída pela veia porta, artéria portal e ductos biliares (figura 5).

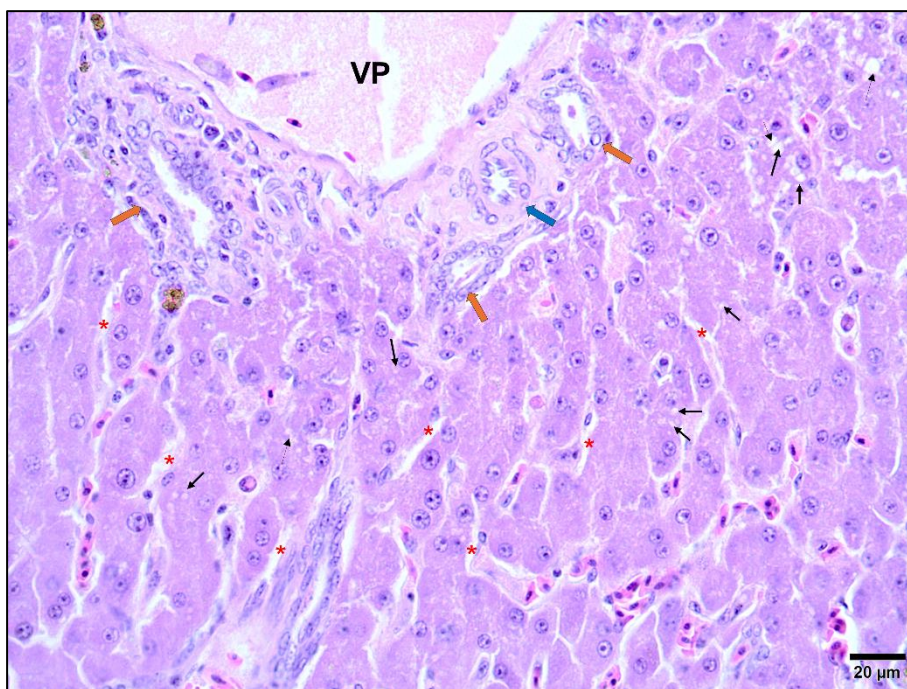


**Figura 5** – Estrutura geral do tecido hepático periportal do corte histológico da região A. veia porta (VP); arteríola hepática (seta azul); ductos biliares (setas laranja). Coloração: H.E.

Foram observadas, na mesma região A, áreas de degeneração celular nos hepatócitos. Nestes há uma ligeira desorganização, ou mudanças na morfologia celular, que sugerem algum grau de dano celular. Nesta área observou-se extensa vacuolização dos hepatócitos (figura 6). Na lipidose hepática, os hepatócitos tendem a apresentar vacúolos claros no citoplasma, representando depósitos de gordura (BROWN; KLEINER, 2016). Na fotomicrografia do fígado da perdiz várias áreas com espaços claros dentro das células hepáticas foram observadas, indicando serem vacúolos lipídicos. Esses vacúolos podem deslocar o núcleo para a periferia, causando uma aparência de "anel de sinete" nas células. Ainda, ficou evidente o aumento do volume celular, consequência da infiltração lipídica.

Foi relatado que as galinhas poedeiras desenvolvem um fígado gorduroso quando o transporte de lipoproteínas é interrompido, e a superprodução de lipoproteínas pelo fígado leva a distúrbios do metabolismo lipídico (PENG *et al.*, 2019), podendo levar à síndrome hemorrágica do fígado gorduroso que é um tipo de distúrbio do metabolismo lipídico, que afeta a saúde das aves, causando uma queda na produção de ovos, e até óbito repentino (AYDIN, 2005).

O acúmulo de lipídios nos hepatócitos pode levar à compressão dos sinusoides hepáticos. Na imagem, há áreas onde os sinusoides parecem mais estreitos ou comprimidos, o que pode ser resultado da expansão dos hepatócitos ao redor.

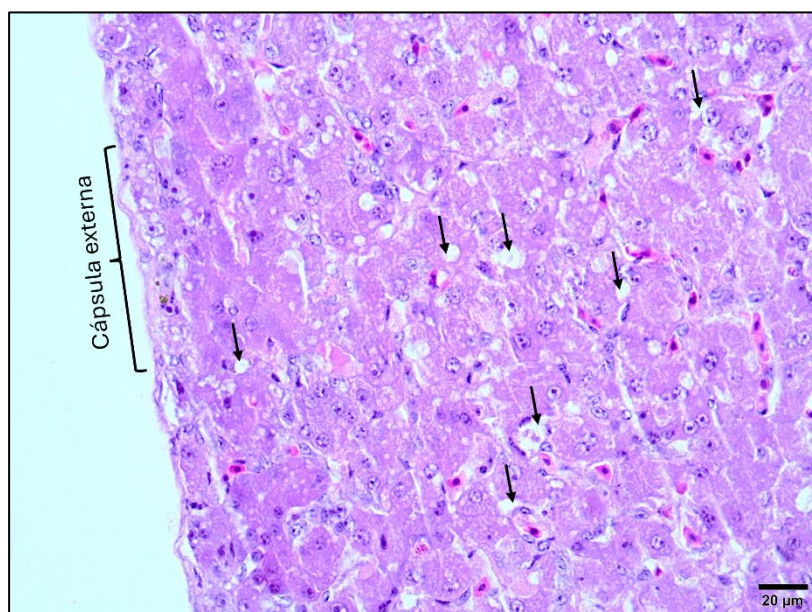


**Figura 6** – Corte histológico mostrando o tecido hepático periportal da região A, mostrando vacuolização dos hepatócitos indicando acúmulos de gordura (seta preta). veia porta (VP); arteríola hepática (seta azul); ductos biliares (setas laranja); Sinusoides (\* vermelhos). Coloração: H.E.

Em humanos, anormalidades histológicas afetando os sinusoides hepáticos e a vasculatura periportal, caracterizando uma condição denominada distúrbio vascular porto-sinusoidal, podendo ter como consequência a hipertensão portal (DE GOTTARDI; SEMPOUX; BERZIGOTTI, 2022). Alterações relacionadas à idade ocorrem nas células endoteliais sinusoidais do fígado em humanos (HUNT *et al.*, 2019), sendo um sinal de envelhecimento hepático, porém, nossos resultados foram obtidos em perdizes jovens, indicando que, de fato, a compressão dos sinusoides foi devido ao acúmulo de gorduras no citoplasma dos hepatócitos.

As células endoteliais sinusoidais do fígado são altamente especializadas. Localizadas na interface entre o sangue derivado do intestino e o tecido adiposo de um lado, e outras células do fígado do outro lado, em condições fisiológicas, mantêm a homeostase hepática. Estas células exibem propriedades anti-inflamatórias e antifibrinogênicas, pois impedem a ativação das células de Kupffer e das células estreladas hepáticas e, ainda, regulam a resistência vascular intra-hepática e a pressão portal (HAMMOUTENE; RAUTOU, 2019).

Na periferia da região A, a vacuolização do citoplasma dos hepatócitos periácinares e perivenosos foi ainda mais extensa (figura 7), mostrando ser o local de acúmulo mais proeminente de lipídeos do que a região periportal.



**Figura 7** – Tecido hepático de perdiz obtido da região A periférica mostrando os cordões de hepatócitos periácinares e perivenosos com vacuolização extensa correspondente à acúmulos de lipídeos (setas pretas). Coloração: H.E.

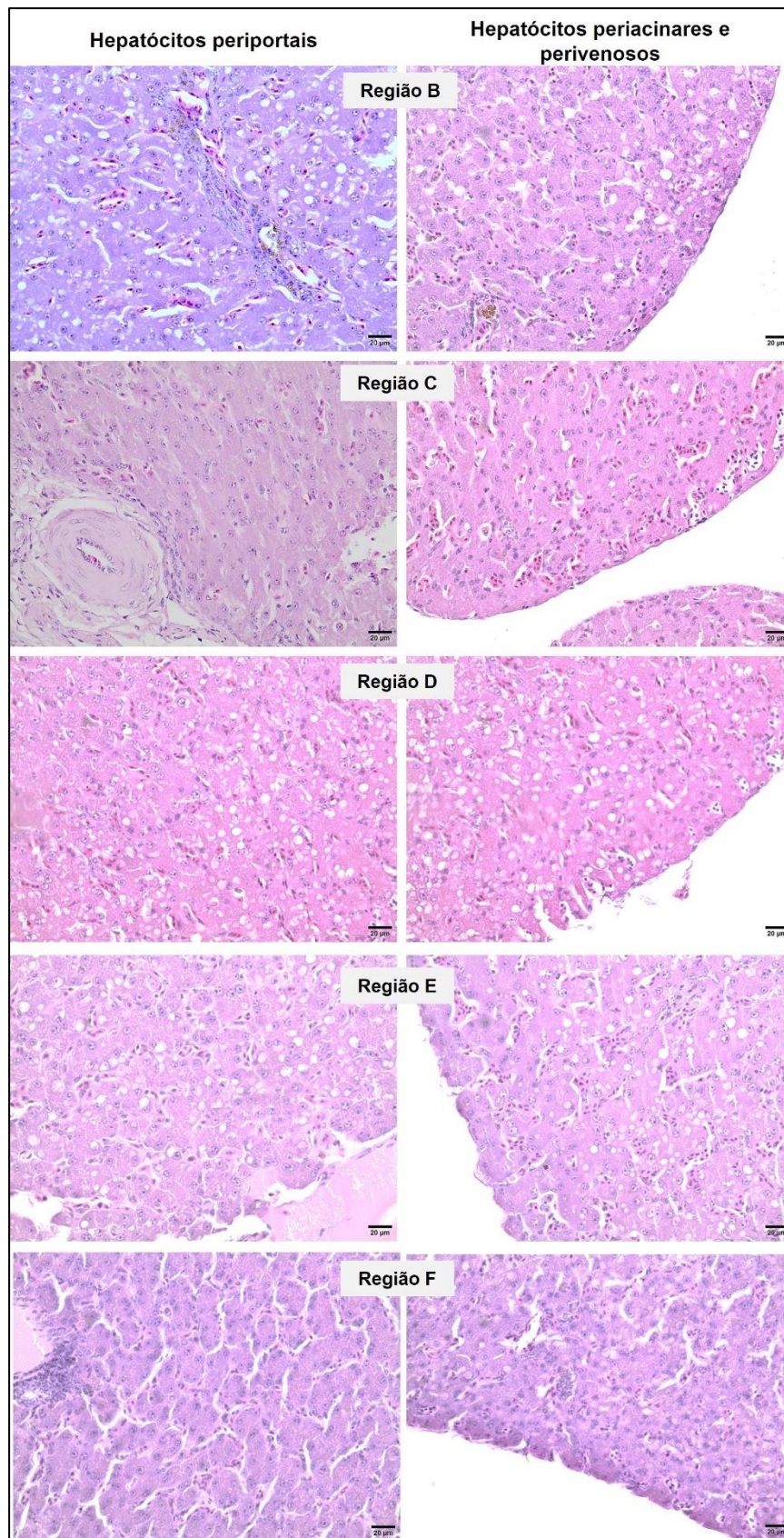
Os hepatócitos das áreas periportais e periácinares, embora morfologicamente iguais, são bioquimicamente diferentes e reagem de maneira diferente aos produtos químicos recebidos e metabólitos (BAZOTTE; BERTOLINI; SOUZA, 2017; DONELEY, 2011; KÖNIG *et al.*, 2021). A maioria das funções fisiológicas do fígado é realizada pelos hepatócitos, que compõem mais de 80% das células do órgão. Durante a digestão de uma refeição, um aumento na concentração dos sais biliares no sangue portal é o principal estímulo para a secreção de sais biliares pelos hepatócitos levando também à

eliminação do excesso de colesterol proveniente da dieta por meio da bile (RUSSELL, 2003).

Os hepatócitos desempenham diversas funções que variam de acordo com sua localização dentro do lóbulo hepático. A heterogeneidade funcional dessas células está intimamente relacionada à sua posição anatômica no lóbulo. Com base na proximidade com a tríade portal, o ácino hepático, que constitui uma sexta parte do lóbulo, é dividido em três zonas distintas: zona 1, também conhecida como periportal, está localizada próxima à tríade portal, na periferia do lóbulo; zona 2, intermediária, encontra-se no meio do lóbulo; zona 3, denominada perivenosa, está localizada mais distante da tríade portal, no centro do lóbulo hepático (BAZOTTE; BERTOLINI; SOUZA, 2017; DONELEY, 2011).

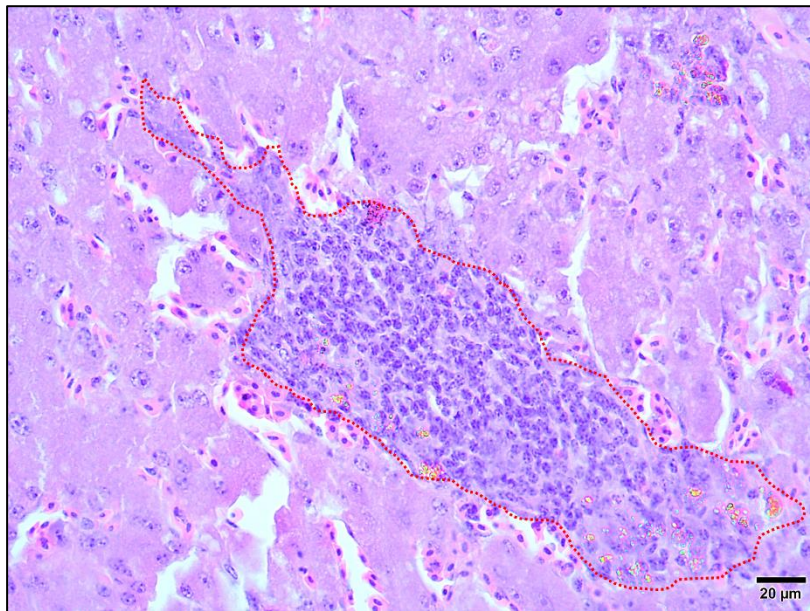
A função predominante da zona 3 está associada à síntese de glicogênio e lipídeos. Essa região desempenha um papel crucial na produção e armazenamento dessas substâncias, contribuindo para a regulação do metabolismo e o equilíbrio energético do organismo. Por meio dessa heterogeneidade funcional dos hepatócitos, o fígado pode exercer diversas atividades essenciais para a manutenção da saúde do corpo (BAZOTTE; BERTOLINI; SOUZA, 2017).

Interessantemente, todas as regiões traçadas para este estudo sobre o fígado da perdiz mostraram o mesmo padrão de vacuolização tanto periportal como periacinar. Com exceção das regiões C e F (figura 8), que correspondem ao lobo inferior direito e esquerdo, respectivamente (figura 2). Estas mostraram-se com poucas áreas correspondentes à acúmulos de gordura e os sinusoides não aparentam estar tão comprimidos (figura 8) como na região A (figuras 6 e 7) e nas regiões B-E (figura 8). No entanto, não temos na literatura estudos que corroborem com essa regionalidade.



**Figura 8** – Diferentes regiões dos cordões hepáticos periportais, periacinares e perivenosos, mostrando o grau de vacuolização e a estruturação e disposição dos sinusoides. Coloração: H.E.

Existem algumas áreas com presença de infiltrado celular (provavelmente células inflamatórias) (figura 9), o que pode sugerir um processo inflamatório em curso, mas seria necessária uma avaliação mais detalhada como, por exemplo, uma marcação imuno-histoquímica, para identificarmos os tipos celulares deste infiltrado e determinarmos se há uma inflamação aguda ou crônica perante a existência dos acúmulos de lipídeos encontrados. Ainda, observou-se células com aspecto mais condensado, o que pode sugerir que um processo crônico já estava se estabelecendo o que poderia resultar em necrose celular.



**Figura 9** – Corte histológico do fígado de perdiz mostrando um grande infiltrado inflamatório (área pontilhada em vermelho) entre os cordões de hepatócitos. Coloração: H.E.

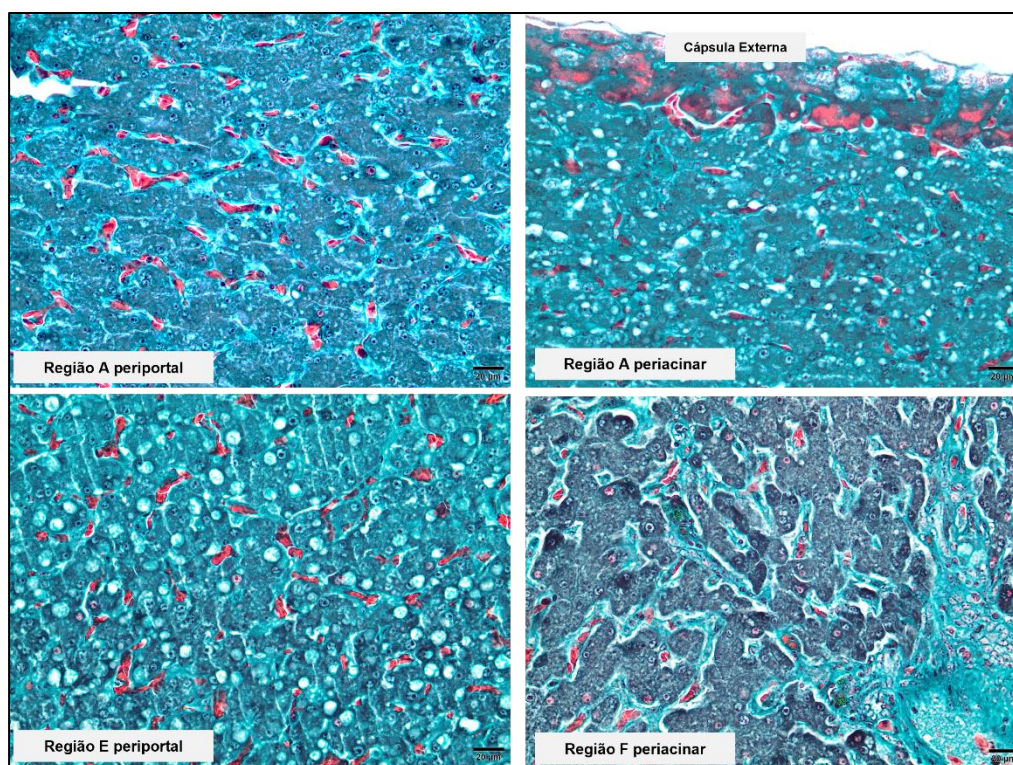
Na fotomicrografia do fígado de perdiz, utilizando a coloração tricrômico de Masson (figura 10), alguns aspectos importantes foram observados. Presença de fibras colágenas (coradas em verde e azul) nos espaços portais e ao redor de vasos sanguíneos, sugerindo o desenvolvimento de fibrose, uma resposta cicatricial comum em lesões hepáticas crônicas (ZHANG *et al.*, 2023).

A fibrose hepática é uma resposta a lesões e reparos que ocorrem em quase todos os tipos de doenças hepáticas crônicas, incluindo infecções virais, doenças hepáticas alcoólicas, esteato-hepatite não alcoólica e doenças autoimunes ou pode ser de origem idiopática (OCHIAI; HANDHARYANI; UMEMURA, 2002). Pode ser, ainda, induzido em aves, como exemplo codornas, por exposição à inseticidas (HAN *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2021; LV *et al.*, 2020).

Diversas células apresentam vacúolos claros (não corados), que indicam lipidose (acúmulo de gordura nos hepatócitos). Esses vacúolos, característicos de degeneração gordurosa, estão distribuídos por todo o parênquima hepático.

Assim como na coloração de H.E., foi possível observar com o tricrômico de Masson áreas de infiltrado inflamatório. A coloração vermelha nas áreas periportais e em torno de algumas veias centrais pode indicar regiões de infiltrado inflamatório, especialmente ao longo dos tratos portais. A presença de infiltrado inflamatório em áreas específicas pode estar associada à resposta do organismo à lesão hepática induzida pela sobrecarga lipídica, indicando uma possível progressão para esteato-hepatite (lipidose com inflamação). Isso reforça a correlação previamente discutida entre a presença de inflamação e a degeneração lipídica. Já a fibrose sugere um estágio mais crônico de doença hepática.

A arquitetura hepática geral parece desorganizada em algumas áreas devido ao acúmulo de gordura nos hepatócitos e à possível fibrose, o que altera a disposição normal dos cordões hepáticos e dos sinusoides.



**Figura 10** – Imagens representativas das regiões periportal e periácinar, mostrando em azul e verde a deposição de colágeno. Coloração: Tricrômico de Masson

Como na maioria dos outros órgãos, a inflamação hepática ocorre para proteger os hepatócitos de lesões. Porém, a inflamação pode ser prejudicial ao fígado, dependendo da intensidade e duração. Respostas leves e transitórias promovem a reparação do tecido e a homeostase. No entanto, inflamação excessiva e persistente pode levar à perda de hepatócitos e agravar condições como lesão de isquemia-reperfusão, doenças metabólicas, hepatite alcoólica e intoxicação, resultando em danos irreversíveis, como fibrose e câncer. Células hepáticas residentes e recrutadas liberam sinais pró-inflamatórios, como citocinas e espécies reativas de oxigênio, que causam morte celular e ativam o sistema imunológico, gerando um ciclo de inflamação e lesão contínuas (BRENNER *et al.*, 2013; DE BOEVER *et al.*, 2009).

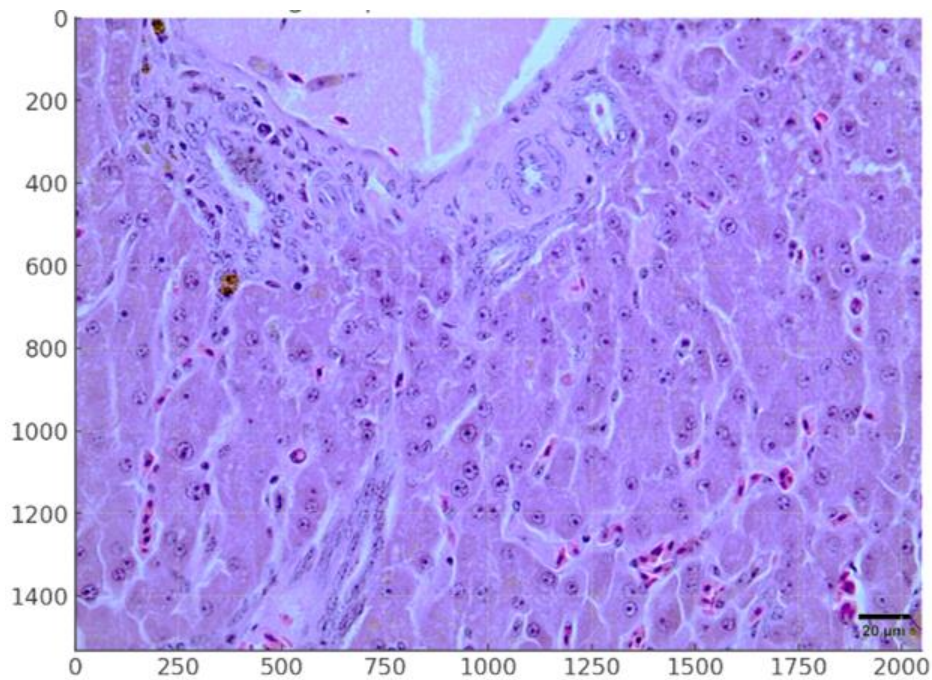
### 5.3 Avaliação Morfométrica

Com base em uma análise visual das fotomicrografias, observou-se que os vacúolos lipídicos variam bastante em tamanho, quantidade por hepatócito e entre as regiões (A-F) determinadas para o estudo (ver figura 2). A maioria dos hepatócitos na zona periportal, apresenta entre 1 e 6 vacúolos, com um média de 4 por uma área de aproximadamente 270  $\mu\text{m}$ ; e entre 2 e 11 na zona periacinar e perivenosa, com um média de aproximadamente 7 vacúolos por uma área de 678  $\mu\text{m}$ , com muitas variações entre as células devido à desorganização do tecido causada pela degeneração gordurosa (figuras 12 e 13).

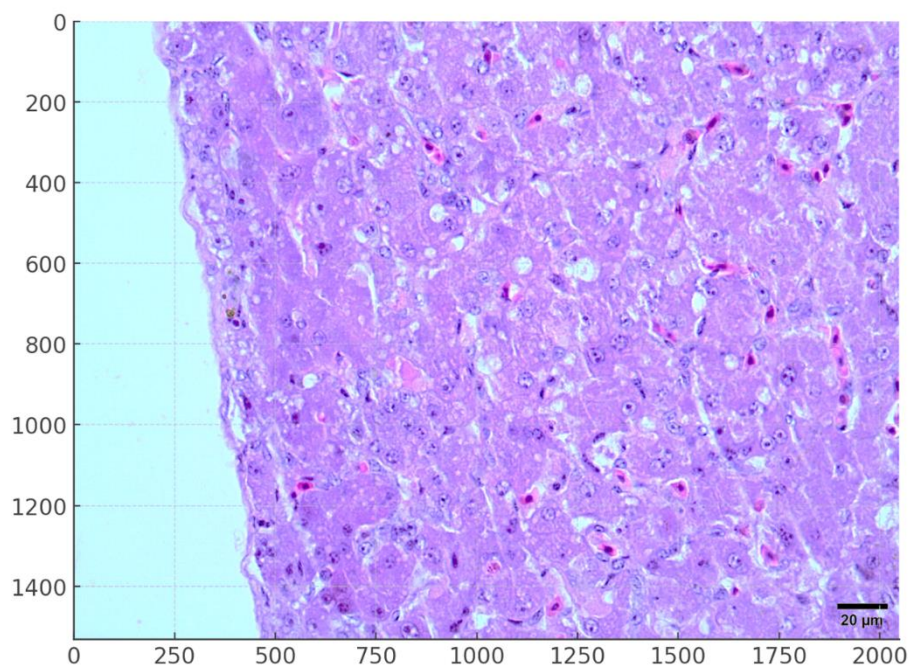
A quantidade de vacúolos e o tamanho destes pode indicar diferentes estágios de acúmulo lipídico e grau de esteatose, sendo que hepatócitos com múltiplos vacúolos ou um grande estão em fases mais severas da lipidose.

O diâmetro dos vacúolos varia muito, com alguns vacúolos maiores atingindo aproximadamente 3 a 5  $\mu\text{m}$  de diâmetro, e vacúolos menores com cerca de 1 a 2  $\mu\text{m}$ . Esta variação está associada ao grau de vacuolização e de degeneração lipídica presente.

Em relação à área dos hepatócitos ocupada pelos vacúolos, considerando uma média, os maiores podem ocupar uma área aproximada de 7 a 10  $\mu\text{m}^2$ , enquanto os menores podem variar entre 1 a 4  $\mu\text{m}^2$ . Há variação notável entre os vacúolos periportais (figura 11) e periacinares (figura 12), sugerindo possíveis diferenças no processo de acúmulo gorduroso por zonas na extensão da degeneração lipídica.



**Figura 11** – Secção histológica da zona periportal do fígado de perdiz, destacando os hepatócitos e suas características citoplasmáticas. Os vacúolos claros indicam a presença de lipídios, típicos da lipidose hepática. As coordenadas dos eixos X e Y representam a localização em pixels da imagem, servindo como referência para análise das áreas. Coloração: H.E.



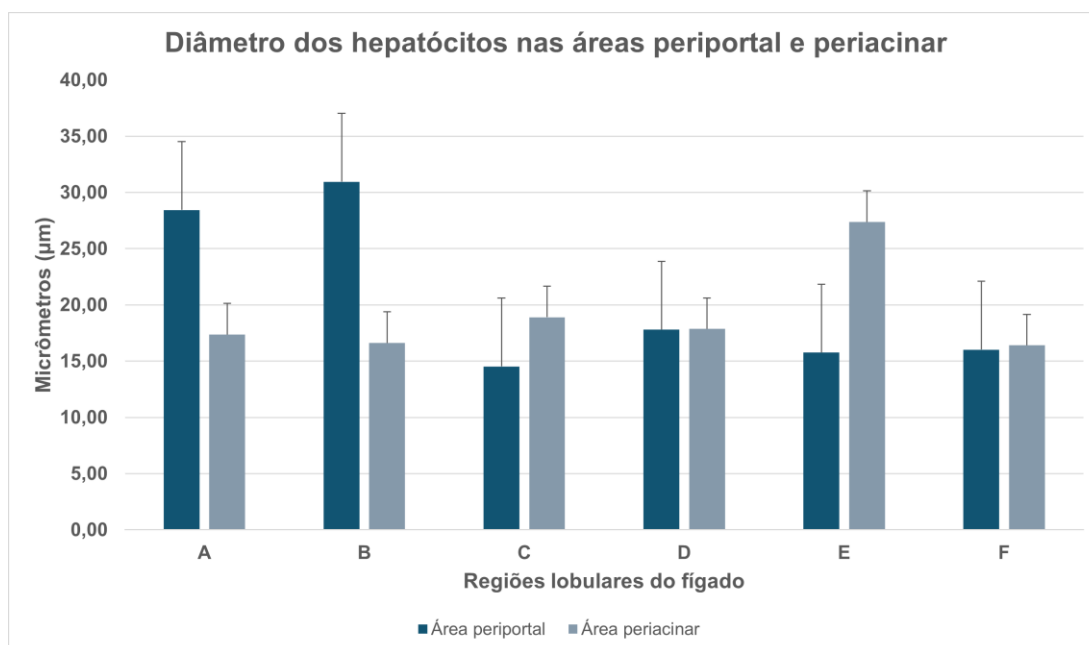
**Figura 12** – Secção histológica da zona periacinar do fígado de perdiz, destacando os hepatócitos. Os vacúolos citoplasmáticos claros indicam a presença de lipídios. As coordenadas dos eixos X e Y representam a localização em pixels da imagem, servindo como referência para análise das áreas. Coloração: H.E.

É evidente a diferença visual na quantidade de vacúolos entre a áreas periportal (zona 1) e periacinar (zona 3). A literatura corrobora com os resultados apresentados: a zona 1, geralmente, é menos afetada pelo acúmulo de lipídios, pois recebe melhor suprimento de oxigênio e nutrientes diretamente da veia porta (BAZOTTE; BERTOLINI; SOUZA, 2017). Nas fotomicrografias, parece que a área periportal tem menos vacúolos por hepatócito, sugerindo que essa região está relativamente preservada em comparação à zona periacinar (figuras 6, 7, 8 e 10). Ainda assim, há células com vacúolos, mas em menor quantidade e tamanhos menores. A área periacinar (zona 3), normalmente é a mais suscetível ao acúmulo de lipídios em casos de lipidose hepática. Isso ocorre devido à menor concentração de oxigênio e nutrientes, o que resulta em maior vulnerabilidade ao estresse metabólico (BAZOTTE; BERTOLINI; SOUZA, 2017). Nas imagens, a quantidade de vacúolos é mais significativa na área periacinar, com alguns hepatócitos apresentando vacúolos grandes e múltiplos, o que sugere um acúmulo lipídico mais severo nessa região.

Muitos hepatócitos exibem um vacúolo grande e centralizado, porém, foram observados vários com múltiplos vacúolos com gotículas de gordura acumulados no citoplasma, sugerindo um estágio mais avançado da lipidose, o que é típico de esteatose microvesicular, sendo esta a característica principal da doença hepática quando há uma alteração ou inibição da  $\beta$ -oxidação mitocondrial (FROMENTY; BERSON; PESSAYRE, 1997; HAUTEKEETE; DEGOTT; BENHAMOU, 1990), levando ao acúmulo de ácidos graxos (gordura) no citoplasma na forma de triglicérides. Esse acúmulo resulta na formação de pequenas gotículas no citosol dos hepatócitos, empurrando o núcleo para a periferia da célula, podendo ser um importante marcador da gravidade de esteatose (GERMANO *et al.*, 2023).

Em relação à média dos diâmetros dos hepatócitos medidos nas zonas periportal e periacinar nas amostras das regiões lobulares (A-F), percebemos variações interessantes. A zona periportal em A e B mostraram-se com hepatócitos de diâmetros bem maiores (figura 13) do que os das outras regiões. A zona periacinar manteve diâmetros muito parecidos entre as regiões, com exceção de região E que, intrigantemente, mostrou-se bem maior que o restante. Já as regiões C, D e F mostraram os menores valores de diâmetro nas duas zonas e não havendo variações importantes entre elas. Essa informação pode ser comparada com os diâmetros normais dos hepatócitos, que geralmente variam entre 15 e 30  $\mu\text{m}$  em aves, dependendo da espécie. Isso sugere que, no material analisado, os hepatócitos podem não estar significativamente aumentados em algumas áreas. No entanto, é possível que a lipidose esteja presente sem causar um aumento extremo do volume celular nesta zona, mas

sim alterações na composição citoplasmática (vacuolização) e bioquímicas que devem ser investigadas com outras técnicas.



**Figura 13** – Gráfico mostrando o diâmetro dos hepatócitos nas áreas periportal e periacinar das regiões lobulares do fígado (A-F) traçadas para o estudo.

Comparando-se a morfometria com a análise microscópica, percebemos que as regiões lobulares A (figura 7) e B (figura 8), mostram uma desorganização celular muito maior do que as outras regiões e vacúolos muito grandes, o que pode explicar os diâmetros maiores. Ainda, as regiões C e F mostram uma melhor organização tecidual, menos vacúolos e sinusoides mais íntegros, o que, possivelmente, melhora a oxigenação da área e, conseqüentemente, a oxidação lipídica.

Não encontramos na literatura estudos com as quais se pudessem comparar esses achados. Em geral, faz-se a zoneação tecidual hepática, em três zonas, de acordo com a proximidade da tríade portal, e não lobular. Como já discutido anteriormente (páginas 13 e 19).

## 6. CONCLUSÃO

A análise histológica e histomorfométrica do fígado das perdizes (*Rhynchotus rufescens*) revelou características típicas da lipidose hepática, como a presença de vacuolização lipídica nos hepatócitos, desorganização tecidual e variação na quantidade e tamanho dos vacúolos entre as zonas periportais e periacinares. Esses achados sugerem que o acúmulo de lipídios nos hepatócitos afeta significativamente a estrutura e função do fígado, com maior comprometimento nas áreas periacinares, onde o suprimento de oxigênio é menor, tornando-as mais vulneráveis ao estresse metabólico.

A identificação de infiltrados inflamatórios e sinais de fibrose indica que o processo de esteatose (lipidose) pode estar evoluindo para um estágio mais avançado, como esteato-hepatite, o que corrobora com a literatura existente. As alterações morfológicas observadas, especialmente a compressão dos sinusoides hepáticos, evidenciam o impacto potencial da lipidose sobre a circulação hepática, podendo levar a complicações metabólicas mais severas.

Esse estudo contribui para a compreensão dos efeitos da lipidose hepática em perdizes mantidas em cativeiro, ressaltando a importância de estratégias de manejo nutricional e ambiental, com redução do estresse, que possam prevenir o acúmulo excessivo de lipídios no fígado. Além disso, os resultados obtidos podem servir de base para futuros estudos sobre intervenções terapêuticas e dietéticas voltadas para a melhoria da saúde hepática em aves de criação.

## 7. REFERÊNCIAS

- APPLEGATE, T. J.; ANGEL, R. Nutrient requirements of poultry publication: History and need for an update. **Journal of Applied Poultry Research**, v. 23, n. 3, p. 567–575, 2014. Acesso em: 18 jun. 2023.
- AWAD, E. A.; ZULKIFLI, I.; SOLEIMANI, A. F.; LAW, F. L.; RAMIAH, S. K.; MOHAMED-YOUSIF, I. M.; HUSSEIN, E. A.; KHALIL, E. S. Response of broilers to reduced-protein diets under heat stress conditions. **World's Poultry Science Journal**, v. 75, n. 4, p. 583–598, 1 dez. 2019. Acesso em: 18 jun. 2023.
- AYDIN, R. Type of fatty acids, lipoprotein secretion from liver and fatty liver syndrome in laying hens. **Volume 4, Issue 11, Pages 917 - 919**, v. 4, n. 11, p. 917–919, 2005. Acesso em: 4 out. 2024.
- BAKER, D. H.; HAN, Y. Ideal amino acid profile for chicks during the first three weeks posthatching. **Poultry science**, v. 73, n. 9, p. 1441–1447, 1994. Acesso em: 18 jun. 2023.
- BARBOZA, T. K.; SUSTA, L.; ZUR LINDEN, A.; GARDHOUSE, S.; BEAUFRÈRE, H. Association of plasma metabolites and diagnostic imaging findings with hepatic lipidosis in bearded dragons (*Pogona vitticeps*) and effects of gemfibrozil therapy. **PLOS ONE**, v. 18, n. 2, p. e0274060, 1 fev. 2023.
- BAZOTTE, R. B.; BERTOLINI, G. L.; SOUZA, H. M. de. Fígado e suas Funções. Em: CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia Básica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2017. p. 630–644.
- BEAUFRÈRE, H.; REAVILL, D.; HEATLEY, J.; SUSTA, L. Lipid-Related Lesions in Quaker Parrots (*Myiopsitta monachus*). **Veterinary Pathology**, v. 56, n. 2, p. 282–288, 1 mar. 2019. Acesso em: 18 jun. 2023.
- BRENNER, C.; GALLUZZI, L.; KEPP, O.; KROEMER, G. Decoding cell death signals in liver inflammation. **Journal of hepatology**, v. 59, n. 3, p. 583–594, set. 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23567086/>>. Acesso em: 3 out. 2024.
- BROWN, G. T.; KLEINER, D. E. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis. **Metabolism: clinical and experimental**, v. 65, n. 8, p. 1080–1086, 1 ago. 2016.
- CAMPOS, C. M.; MORAES, J. R. E.; MORAES, F. R. Histopathology of liver, kidney and spleen of *Piaractus mesopotamicus*, *Prochilodus lineatus* and *Pseudoplatystoma fasciatum* infected by myxosporean parasite, caught in Aquidauana River, State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista brasileira de parasitologia veterinária = Brazilian journal of veterinary parasitology : Orgao Oficial do Colegio Brasileiro de Parasitologia Veterinaria**, v. 17, n. 4, p. 200–205, out. 2008. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19265578/>>. Acesso em: 24 jun. 2023.
- COELHO, H. E. **Patologia Veterinária**. São Paulo: Manole, 2002.
- DE BOEVER, S.; CROUBELS, S.; MEYER, E.; SYS, S.; BEYAERT, R.; DUCATELLE, R.; DE BACKER, P. Characterization of an intravenous lipopolysaccharide inflammation model in broiler chickens. **Avian Pathology**, v. 38, n. 5, p. 403–411, out. 2009. Acesso em: 23 jun. 2023.

- DE GOTTARDI, A.; SEMPOUX, C.; BERZIGOTTI, A. Porto-sinusoidal vascular disorder. **Journal of hepatology**, v. 77, n. 4, p. 1124–1135, 1 out. 2022.
- DONELEY, Bob. **Avian medicine and surgery in practice: companion and aviary birds**. [s.l.] Manson/Veterinary Press, 2011. 336 p.
- FAILS, A. D. Anatomia do Sistema Digestório. *Em: Frandson - Anatomia e Fisiologia dos Animais de Produção*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 284–289.
- FRENCH, C. E.; SALES, M. A.; ROCHELL, S. J.; RODRIGUEZ, A.; ERF, G. F. Local and systemic inflammatory responses to lipopolysaccharide in broilers: new insights using a two-window approach. **Poultry Science**, v. 99, n. 12, p. 6593–6605, 1 dez. 2020. Acesso em: 23 jun. 2023.
- FROMENTY, B.; BERSON, A.; PESSAYRE, D. Microvesicular steatosis and steatohepatitis: role of mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation. **Journal of hepatology**, v. 26 Suppl 1, n. 1, p. 13–22, 1997. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9138124/>>. Acesso em: 4 out. 2024.
- GERMANO, C. W.; MEGA, P. F.; MATTOSINHO, T. J. A. P.; DIAS, L. L. C.; GESTIC, M. A.; UTRINI, M. P.; CHAIM, F. D. M.; CALLEJAS-NETO, F.; CHAIM, E. A.; CAZZO, E. Microvesicular Steatosis in Individuals with Obesity: a Histological Marker of Non-alcoholic Fatty Liver Disease Severity. **Obesity surgery**, v. 33, n. 3, p. 813–820, 1 mar. 2023. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36694089/>>. Acesso em: 4 out. 2024.
- HAMMOUTENE, A.; RAUTOU, P. E. Role of liver sinusoidal endothelial cells in non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of hepatology**, v. 70, n. 6, p. 1278–1291, 1 jun. 2019.
- HAN, B.; LV, Z.; ZHANG, X.; LV, Y.; LI, S.; WU, P.; YANG, Q.; LI, J.; QU, B.; ZHANG, Z. Deltamethrin induces liver fibrosis in quails via activation of the TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway. **Environmental Pollution**, v. 259, 1 abr. 2020. Acesso em: 4 out. 2024.
- HAUTEKEETE, M. L.; DEGOTT, C.; BENHAMOU, J. P. Microvesicular steatosis of the liver. **Acta Clinica Belgica**, v. 45, n. 5, p. 311–326, 1990. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2177300/>>. Acesso em: 4 out. 2024.
- HERMIER, D. Lipoprotein metabolism and fattening in poultry. **Journal of Nutrition**, v. 127, n. 5 SUPPL., 1997. Acesso em: 28 maio. 2023.
- HERMIER, D.; SALICHON, M. R.; GUY, G.; PERESSON, R. Differential channelling of liver lipids in relation to susceptibility to hepatic steatosis in the goose. **Poultry Science**, v. 78, n. 10, p. 1398–1406, 1999. Acesso em: 28 maio. 2023.
- HUNT, N. J.; KANG, S. W. (Sophie); LOCKWOOD, G. P.; LE COUTEUR, D. G.; COGGER, V. C. Hallmarks of Aging in the Liver. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 17, p. 1151–1161, 1 jan. 2019.
- JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia Veterinária**. São Paulo: Editora Manole, 2000.
- KÖNIG, H. E.; SÓTONYI, P.; SCHÖPPER, H.; LIEBICH, H. G. Sistema digestório (apparatus digestorius). *Em: HORST ERICH KÖNIG; HANS-GEORG LIEBICH*.

**Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorido.** Porto Alegre: Grupo A, 2021. p. 384–389.

LI, J. L.; ZHANG, L.; YANG, Z. Y.; ZHANG, Z. Y.; JIANG, Y.; GAO, F.; ZHOU, G. H. Effects of Different Selenium Sources on Growth Performance, Antioxidant Capacity and Meat Quality of Local Chinese Subei Chickens. **Biological trace element research**, v. 181, n. 2, p. 340–346, 1 fev. 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28516388/>>. Acesso em: 18 jun. 2023.

LI, S.; ZHENG, X.; ZHANG, X.; YU, H.; HAN, B.; LV, Y.; LIU, Y.; WANG, X.; ZHANG, Z. Exploring the liver fibrosis induced by deltamethrin exposure in quails and elucidating the protective mechanism of resveratrol. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 207, 1 jan. 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33254389/>>. Acesso em: 4 out. 2024.

LIN, C. W.; HUANG, T. W.; PENG, Y. J.; LIN, Y. Y.; MERSMANN, H. J.; DING, S. T. A novel chicken model of fatty liver disease induced by high cholesterol and low choline diets. **Poultry Science**, v. 100, n. 3, p. 100869, 1 mar. 2021. Acesso em: 23 jun. 2023.

LV, Y.; BING, Q.; LV, Z.; XUE, J.; LI, S.; HAN, B.; YANG, Q.; WANG, X.; ZHANG, Z. Imidacloprid-induced liver fibrosis in quails via activation of the TGF- $\beta$ 1/Smad pathway. **Science of the Total Environment**, v. 705, p. 135915, 25 fev. 2020. Acesso em: 4 out. 2024.

MACLACHLAN, N. J.; CULLEN, J. M. Fígado, Sistema Biliar e Pâncreas Exócrino. Em: CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M. D. **Patologia Veterinária Especial de Thonson**. Porto Alegre: ARTMED, 1998.

MAHARJAN, P.; MARTINEZ, D. A.; WEIL, J.; SUESUTTAJIT, N.; UMBERSON, C.; MULLENIX, G.; HILTON, K. M.; BEITIA, A.; COON, C. N. Review: Physiological growth trend of current meat broilers and dietary protein and energy management approaches for sustainable broiler production. **Animal**, v. 15, p. 100284, 1 dez. 2021. Acesso em: 18 jun. 2023.

MALARKEY, D. E.; JOHNSON, K.; RYAN, L.; BOORMAN, G.; MARONPOT, R. R. New insights into functional aspects of liver morphology. **Toxicologic pathology**, v. 33, n. 1, p. 27–34, 2005. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15805053/>>. Acesso em: 4 out. 2024.

MIDDENDORF, L.; RADKO, D.; DÜNGELHOEF, K.; SIEVERDING, E.; WINDHAUS, H.; MISCHOK, D.; VISSCHER, C. Amino acid pattern in the liver and blood of fattening turkeys suffering from hepatic lipidosis. **Poultry Science**, v. 98, n. 9, p. 3950–3962, 1 set. 2019. Acesso em: 18 jun. 2023.

MIDDENDORF, L.; SCHMICKE, M.; DÜNGELHOEF, K.; SIEVERDING, E.; WINDHAUS, H.; MISCHOK, D.; RADKO, D.; VISSCHER, C. Hepatic lipidosis: Liver characteristics and acute phase proteins in affected turkeys. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**, v. 105, n. S2, p. 70–78, 1 nov. 2021. Acesso em: 18 jun. 2023.

OCHIAI, K.; HANDHARYANI, E.; UMEMURA, T. Idiopathic hepatic fibrosis with cholestasis in broiler chickens: immunohistochemistry of hepatic stellate cells. **Avian pathology: journal of the W.V.P.A**, v. 31, n. 5, p. 425–428, out. 2002. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12427335/>>. Acesso em: 4 out. 2024.

- OZAKI, M. Cellular and molecular mechanisms of liver regeneration: Proliferation, growth, death and protection of hepatocytes. **Seminars in cell & developmental biology**, v. 100, p. 62–73, 1 abr. 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31669133/>>. Acesso em: 4 out. 2024.
- PENG, G.; HUANG, E.; RUAN, J.; HUANG, L.; LIANG, H.; WEI, Q.; XIE, X.; ZENG, Q.; HUANG, J. Effects of a high energy and low protein diet on hepatic and plasma characteristics and Cidea and Cidec mRNA expression in liver and adipose tissue of laying hens with fatty liver hemorrhagic syndrome. **Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho**, v. 90, n. 2, p. 247–254, 1 fev. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30523654/>>. Acesso em: 4 out. 2024.
- PERUSSI, P. R. **LIPIDOSE HEPÁTICA EM AVES**. 2019. Universidade Tuiuti do Paraná, 2019.
- PIOCHE, T.; SKIBA, F.; BERNADET, M. D.; SEILIEZ, I.; MASSIMINO, W.; HOUSIER, M.; TAVERNIER, A.; RICAUD, K.; DAVAIL, S.; SKIBA-CASSY, S.; GONTIER, K. Kinetic study of the expression of genes related to hepatic steatosis, glucose and lipid metabolism, and cellular stress during overfeeding in mule ducks. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 318, n. 2, p. R453–R467, 1 fev. 2020. Acesso em: 28 maio. 2023.
- POPP, C.; HAUCK, R.; VAHLENKAMP, T. W.; LÜSCHOW, D.; KERSHAW, O.; HOFERER, M.; HAFEZ, H. M. Liver Pathology Associated with Increased Mortality in Turkey Breeder and Meat Turkey Flocks. **<https://doi.org/10.1637/10675-092413-Case.1>**, v. 58, n. 3, p. 474–481, 17 fev. 2014. Disponível em: <<https://bioone.org/journals/avian-diseases/volume-58/issue-3/10675-092413-Case.1/Liver-Pathology-Associated-with-Increased-Mortality-in-Turkey-Breeder-and/10.1637/10675-092413-Case.1.full>>. Acesso em: 23 jun. 2023.
- RITCHIE, B. W.; HARRISON, G. J.; HARRISON, L. R. **Avian medicine: principles and application**. [s.l.] Wingers Pub, 1994. 1384 p.
- RUSSELL, D. W. The Enzymes, Regulation, and Genetics of Bile Acid Synthesis. **<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161712>**, v. 72, p. 137–174, 28 nov. 2003. Disponível em: <<https://www.annualreviews.org/doi/abs/10.1146/annurev.biochem.72.121801.161712>>. Acesso em: 23 jun. 2023.
- SALAVATI, A.; TALEBI, Z.; MAHDIPOUR, M.; SHOJAEI, I.; PEIGHAMBARI, S. M. Diagnosis and treatment of hepatic lipidosis in a 42-year-old gray parrot: A case report. **Journal of Poultry Sciences and Avian Diseases**, v. 1, n. 1, p. 34–39, 1 out. 2023.
- SILVA, J. H. V. da; JORDÃO FILHO, J.; SILVA, E. L. da; COSTA, F. G. P.; NAVES, P. E. G.; FIGUEIREDO-LIMA, D. F.; SIQUEIRA, J. C. de; LIMA, R. B. Growth curves, body nutrients deposition and determination of protein requirement for light and semi heavy hen pullets. **Scientia Agraria Paranaensis**, p. 78–87, 5 abr. 2017. Disponível em: <<https://saber.unioeste.br/index.php/scientiaagraria/article/view/14006>>. Acesso em: 18 jun. 2023.
- SINGH, Baljit. **Dyce, Sack e Wensing - Tratado de Anatomia Veterinária**. Rio de Janeiro: Gen Guanabara Koogan, 2019.
- VISSCHER, C.; MIDDENDORF, L.; GÜNTHER, R.; ENGELS, A.; LEIBFACHER, C.; MÖHLE, H.; DÜNGELHOEF, K.; WEIER, S.; HAIDER, W.; RADKO, D. Fat content,

fatty acid pattern and iron content in livers of turkeys with hepatic lipidosis. **Lipids in Health and Disease**, v. 16, n. 1, 30 maio 2017. Acesso em: 18 jun. 2023.

WILDMANN, A. K.; CUSHING, A. C.; PFISTERER, B. R.; SULA, M. J. M. Retrospective review of morbidity and mortality in a population of captive budgerigars (*Melopsittacus undulates*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, v. 53, n. 2, p. 433–441, 1 jun. 2022.

WU, J. P.; PENG, Y.; ZHI, H.; CHEN, X. Y.; WU, S. K.; TAO, L.; ZENG, Y. H.; LUO, X. J.; MAI, B. X. Contamination of organohalogen chemicals and hepatic steatosis in common kingfisher (*Alcedo atthis*) breeding at a nature reserve near e-waste recycling sites in South China. **The Science of the total environment**, v. 659, p. 561–567, 1 abr. 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31096385/>>. Acesso em: 24 jun. 2023.

ZAWACKA, M.; MURAWSKA, D.; GESEK, M. The effect of age and castration on the growth rate, blood lipid profile, liver histology and feed conversion in Green-legged Partridge cockerels and capons. **Animal**, v. 11, n. 6, p. 1017–1026, 1 jan. 2017. Acesso em: 24 jun. 2023.

ZHANG, C.; SHAO, Q.; LIU, M.; WANG, X.; LOOR, J. J.; JIANG, Q.; CUAN, S.; LI, X.; WANG, J.; LI, Y.; HE, L.; HUANG, Y.; LIU, G.; LEI, L. Liver fibrosis is a common pathological change in the liver of dairy cows with fatty liver. **Journal of dairy science**, v. 106, n. 4, p. 2700–2715, 1 abr. 2023. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36823013/>>. Acesso em: 3 out. 2024.

## ANEXOS

### ANEXO I – Atestado do CEUA – Comitê de Ética em Uso de Animais



## ATESTADO

**Atesto** que o Projeto "Caracterização histológica e histomorfométrica da esteatose hepática em perdiz (*Rhynchotus rufescens* Temminck, 1815)" **Protocolo CEUA 0489/2023**, a ser conduzido por Katia Aparecida da Silva Viegas, responsável/orientador André Luis Filadelpho, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

|                                              |                                  |
|----------------------------------------------|----------------------------------|
| <b>Finalidade</b>                            | PESQUISA CIENTÍFICA              |
| <b>Vigência do projeto</b>                   | 15/08/2023 a 16/02/2024          |
| <b>Nome Comum / Espécie / Linhagem</b>       | AVE / RHYNCHOTUS RUFESCENS /     |
| <b>Raça</b>                                  |                                  |
| <b>Nº de animais machos</b>                  | 0                                |
| <b>Nº de animais fêmeas</b>                  | 0                                |
| <b>Nº de animais sexo indefinido</b>         | 30                               |
| <b>Peso médio de animais machos</b>          | ~ 700 g                          |
| <b>Peso médio de animais fêmeas</b>          | ~ 800 g                          |
| <b>Peso médio de animais sexo indefinido</b> | 0                                |
| <b>Idade</b>                                 | 1 ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s). |
| <b>Procedência</b>                           | Departamento Produção Animal     |

**Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 04/08/2023**

**JULIANY GOMES QUITZAN**  
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia  
Seção Técnica Acadêmica  
Rua Prof. Dr. Walter Maurício Corrêa, s/n  
UNESP - Campus de Botucatu/SP - Cep 18618-681  
(14) 3880-2176 - patrizia@fmvz.unesp.br - www.fmvz.unesp.br

## ANEXO II – Link do Repositório UNESP

Link para o repositório da UNESP: <https://repositorio.unesp.br/workflowitems/138753/view>

REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL UNESP

Comunidades e Coleções Tudo no Repositório ▾



Início • Produção acadêmica e cie... • Relatório de pós-doc • Botucatu - IBB - Instituto ... • Visualização dos itens em ...

### Caracterização histológica e histomorfométrica da esteatose hepática em perdiz (*Rhynchotus rufescens* Temminck, 1815)

|                            |                                           |
|----------------------------|-------------------------------------------|
| dc.contributor.advisor     | Filadelpho, André Luis                    |
| dc.contributor.author      | Viegas, Katia Aparecida da Silva          |
| dc.contributor.coadvisor   | Almeida-Francia, Camila Contin Diniz de   |
| dc.contributor.institution | UNESP, Instituto de Biociências, Botucatu |
| dc.date.issued             | 2024-10-05                                |

REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL UNESP

Comunidades e Coleções Tudo no Repositório ▾



Início • Status da submissão

### Status da submissão

**Título:** Caracterização histológica e histomorfométrica da esteatose hepática em perdiz (*Rhynchotus rufescens* Temminck, 1815)

**ID do workflow:** 138753

**ID do item (após aprovado):** db113fe7-08de-48ea-8f65-3d4f485b357b

**Enviado por:** Andre Luis Filadelpho ([andre.filadelpho@unesp.br](mailto:andre.filadelpho@unesp.br))

**Última modificação:** 05/10/2024, 19:53

Submissão 1

  
Submissão

  
Aguardando

  
Em revisão

  
Aprovado

Botucatu, outubro de 2024.

**À Seção Técnica Acadêmica-STA, UNESP – Botucatu**

Prezados membros da Comissão,

Venho por meio desta carta manifestar minha avaliação do trabalho desenvolvido pela Dra. Katia Aparecida da Silva Viegas, intitulado **“Caracterização histológica e histomorfométrica da esteatose hepática em perdiz (*Rhynchotus rufescens* Temminck, 1815) mantida em cativeiro”**. Ao longo do período de realização deste projeto de pós-doutorado, a Dra. Katia demonstrou um nível elevado de competência científica, comprometimento e habilidades técnicas.

O projeto teve como objetivo principal investigar a lipidose hepática em perdizes, utilizando abordagens histológicas e histomorfométricas para caracterizar a morfologia hepática e os impactos do acúmulo lipídico. A Dra. Katia conduziu a coleta de amostras com rigor ético, seguindo os protocolos aprovados pelo Comitê de Ética em Uso de Animais (CEUA). A execução do trabalho prático foi eficiente, com uso adequado das técnicas de coloração histológica, e a análise dos resultados foi bem estruturada.

Destaco o cuidado e a atenção aos detalhes demonstrados na análise histomorfométrica, o que resultou em dados quantitativos robustos, especialmente na comparação das zonas periportal e periacinar dos fígados estudados. A Dra. Katia também soube lidar com limitações técnicas imprevistas, como a impossibilidade de utilização das colorações lipídicas Sudan Black e Oil Red, ajustando o projeto de maneira eficaz sem comprometer a qualidade dos resultados.

Sua capacidade de interpretar dados complexos, relacionando os achados histológicos com o contexto metabólico da lipidose hepática em aves de cativeiro, foi notável. As discussões apresentadas no relatório demonstram domínio do tema e uma visão crítica sobre os desafios e implicações da lipidose para a produção e manejo de aves.

Em resumo, a Dra. Katia conduziu um projeto de grande relevância científica, cujos resultados certamente contribuirão para futuras pesquisas na área de patologia hepática em aves. Recomendo fortemente a aprovação deste trabalho, considerando seu mérito acadêmico e a qualidade científica apresentada.

Atenciosamente,

  
**Prof. Dr. André Luís Filadelpho**  
Supervisor de Pós-Doutorado  
Departamento de Biologia Estrutural e Funcional,  
UNESP – Botucatu