



UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

LUANA FÉLIX DE MELO

**Desenvolvimento embrionário do fígado do Tubarão-azul, *Prionace glauca*
(Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes**

São Paulo

2017

LUANA FÉLIX DE MELO

**Desenvolvimento embrionário do fígado do Tubarão-azul, *Prionace glauca*
(Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em Ciências.

Departamento:

Departamento de Cirurgia

Área de concentração:

Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres

Orientador:

Profa. Dr^a. Rose Eli Grassi Rici

São Paulo

2017

Autorizo a reprodução parcial ou total desta obra, para fins acadêmicos, desde que citada a fonte.

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO

(Biblioteca Virginie Buff D'Ápice da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo)

T. 3599 FMVZ	Melo, Luana Félix de Desenvolvimento embrionário do fígado do Tubarão-azul, <i>Prionace glauca</i> (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes / Luana Félix de Melo. – 2017. 41 f. : il.
	Dissertação (Mestrado) – Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia. Departamento de Cirurgia, São Paulo, 2018.
	Programa de Pós-Graduação: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres. Área de concentração: Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres. Orientadora: Profa. Dra. Rose Eli Grassi Ricci.
	1. Fígado. 2. Embriologia. 3. Microscopia. 4. Morfologia. 5. Lipídios. I. Título.

**CERTIFICADO**

Certificamos que a proposta intitulada "Desenvolvimento Embrionário do fígado do Tubarão-azul, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes", protocolada sob o CEUA nº 5021090816, sob a responsabilidade de Rose Eli Grassi Ricci e equipe; Luana Félix de Melo - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (CEUA/FMVZ) na reunião de 01/09/2016.

We certify that the proposal "Embryologic development of the blue shark liver, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes", utilizing 30 fishes (males and females), protocol number CEUA 5021090816, under the responsibility of Rose Eli Grassi Ricci and team; Luana Félix de Melo - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was approved by the Ethic Committee on Animal Use of the School of Veterinary Medicine and Animal Science (University of São Paulo) (CEUA/FMVZ) in the meeting of 09/01/2016.

Finalidade da Proposta: **Pesquisa**

Vigência da Proposta: de **08/2016** a **08/2018**

Área: **Anatomia dos Animais Domésticos E Silvestres**

Origem: **Não aplicável biotério**

Espécie: **Peixes**

sexo: **Machos e Fêmeas**

idade: **1 a 9 meses**

N: **30**

Linhagem: ***Prionace glauca***

Peso: **5 a 40 g**

Resumo: O Tubarão azul (*Prionace glauca*), popularmente conhecido como cação-azul dentre todas as espécies de tubarão é a mais abundante no ambiente marinho, podendo ser encontrado em todos os mares. Com a diversidade das espécies, a descrição de qualquer fígado específico, dificilmente poderá ser utilizada como um modelo. Juntamente com essa variabilidade, algumas características fisiológicas dos peixes contribuem para ampliar seu polimorfismo hepático. O fígado dos peixes aparece como em todos os outros vertebrados, como um órgão chave que vai controlar muitas funções vitais e realizar um papel preeminente na fisiologia dos peixes, tanto no anabolismo (proteínas, lipídios e carboidratos) e no catabolismo (nitrogênio, glicogenólise e desintoxicação). O fígado do peixe desenvolve um importante papel na vitelogenese. Por outro lado, o fígado do peixe deve ser considerado com um órgão alvo para muitos parâmetros biológicos e ambientais que podem alterar a estrutura e o metabolismo do fígado, como por exemplo, a alimentação, toxinas, parasitas e microorganismos. Neste estudo será analisado a morfologia estrutural do desenvolvimento do fígado nos diferentes tamanhos de embriões de *Prionace glauca* e comparar com o adulto, pela microscopia de luz e eletrônica.

Local do experimento: Departamento de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

São Paulo, 17 de outubro de 2017

Profa. Dra. Anneliese de Souza Trabli
Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

Claudia Madalena Cabrera Mori
Vice-Presidente
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade
de São Paulo

FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: Melo, Luana Félix

Titulo: **Desenvolvimento embrionário do fígado do Tubarão-azul, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de mestre em Ciências.

Data: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

Prof. Dr. _____
Instituição: _____ Julgamento: _____

DEDICATORIA:

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida.

Ao meu pai João Marcos, minha mãe Luiza Félix e a minha irmã Luara Félix, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que eu chegasse até esta etapa da minha vida. Eu amo vocês.

AGRADECIMENTOS:

Aos meus pais João Marcos de Melo e Luiza Félix da Silva Melo meu eterno agradecimento. Por estarem ao meu lado em todos os momentos, me ouvindo, aconselhando e principalmente, compartilhando todas as glórias e dificuldades. Sem vocês nada disso seria possível.

A minha irmã, Luara Félix de Melo, por sempre estar ao meu lado me ajudando, a sua presença é essencial para mim. Você me fez ver a vida com mais alegria.

A minha orientadora Dr^a Rose Eli Grassi Rici, pela sua imensa paciência, dedicação e competência. Muito obrigado por me receber e por me acompanhar durante essa etapa da minha vida.

Ao meu namorado Lourenço Proença Ruivo, por todo carinho, companheirismo, paciência, atenção e conselhos.

Aos meus colegas de pós-graduação, pelo incentivo e ajuda. Os momentos com vocês foram especiais.

Aos amigos do IBIMM e do IP-Santos, onde pude realizar coletas e me incentivaram nessa jornada.

Ao técnico do laboratório Ronaldo Agostinho, pelos ensinamentos e confiança durante o uso do seu laboratório.

A todos os professores do programa de Anatomia dos Animais Domésticos e Silvestres.

MUITO OBRIGADA!

**“Sharks don’t have voice, so you’ll never stop hearing mine”
(Desconhecido)**

RESUMO:

MELO, L. F. **Desenvolvimento embrionário do fígado do tubarão azul (*Prionace glauca*) (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes.** 2017. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

O Tubarão azul (*Prionace glauca*), popularmente conhecido como cação-azul dentre todas as espécies de tubarão é a mais abundante no ambiente marinho, podendo ser encontrado em todos os mares. Com a diversidade das espécies, a descrição de qualquer fígado específico, dificilmente poderá ser utilizada como um modelo. Juntamente com essa variabilidade, algumas características fisiológicas dos peixes contribuem para ampliar seu polimorfismo hepático, entretanto pode ser considerado o ponto inicial para os estudos comparativos e filogenéticos entre os vertebrados. O fígado dos peixes aparece como em todos os outros vertebrados, como um órgão chave que vai controlar muitas funções vitais e realizar um papel proeminente na fisiologia dos peixes, tanto no anabolismo (proteínas, lipídios e carboidratos) e no catabolismo (nitrogênio, glicogenólises e desintoxicação). Por outro lado, deve ser considerado como um órgão alvo para muitos parâmetros biológicos e ambientais que podem alterar a estrutura e o metabolismo do fígado, como por exemplo, a alimentação, toxinas, parasitas, microrganismos e metais pesados acumulados. Nos peixes o fígado é localizado ventralmente na cavidade celomática, ajustando-se ao espaço disponível na cavidade do corpo. Foi realizada através da microscopia de luz e eletrônica de varredura a morfologia estrutural do desenvolvimento do fígado do tubarão azul nos 33 espécimes, divididos em diferentes tamanhos de embriões e fetos de 4 cm até 45 cm, comparados com um indivíduo adulto fêmea de 2 metros. A contagem de hepatócitos e vacúolos de gordura foi pela morfometria, através da técnica de pontos em fotomicrografias aleatórias. Nos resultados obtidos, pode-se notar que o fígado ocupava 20% do tamanho do animal. Microscopicamente, observou a presença de diferentes tamanhos de vacúolos de armazenamento de lipídio nos hepatócitos, diferença nas proporções de hepatócitos, linfócitos e vasos sanguíneos que diminui à medida que aumenta a estocagem de lipídios, conseqüentemente diminuindo a visibilidade da estrutura do fígado. Maior visualização de vacúolos translúcidos intracitoplasmáticos microgoticular aumentando gradativamente para macrogoticulares. Sugerindo assim que a presença de lipídios seja para manutenção dos filhotes, flutuabilidade e reserva energética do animal, indicando que ele armazena gordura em seu fígado desde o início da embriogênese.

Palavras-chave: Fígado. Embriologia. Microscopia. Morfologia. Lipídios.

ABSTRACT:

MELO, L .F. **Embrionic development of the blue shar liver (*Prionace glauca*) (Linnaeus, 1758), Elasmobranchii, Carcharhiniformes.** 2017. 41 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The blue shark (*Prionace glauca*), popularly known as blue dogfish among all shark species is the most abundant in the marine environment, and can be found in all seas. With the diversity of species, the description of any specific liver can hardly be used as a model. Together with this variability, some physiological characteristics of the fish contribute to increase its hepatic polymorphism, however, it can be considered the starting point for comparative and phylogenetic studies among vertebrates. Fish liver appears as in all other vertebrates as a key organ that will control many vital functions and play a prominent role in fish physiology, both in anabolism (proteins, lipids and carbohydrates) and in catabolism (nitrogen, glycogenolysis and detoxification). On the other hand, it should be considered as a target organ for many biological and environmental parameters that can alter the structure and metabolism of the liver, such as food, toxins, parasites, microorganisms and accumulated heavy metals. In fish, the liver is located ventrally in the coelomic cavity, adjusting to the available space in the body cavity. The structural morphology of blue shark liver development in 33 specimens divided into different sizes of embryos and fetuses from 4 cm to 45 cm was compared to a female adult of 2 meters, using light microscopy and scanning electron microscopy. The counts of hepatocytes and fat vacuoles were by morphometry, using the technique of points in random photomicrographs. In the results obtained, it can be noted that the liver occupied 20% of the size of the animal. Microscopically, it observed the presence of different sizes of lipid storage vacuoles in hepatocytes, a difference in the proportions of hepatocytes, lymphocytes and blood vessels that decreases as lipid storage increases, consequently decreasing the visibility of the liver structure. Greater visualization of microcyticular intracytoplasmic translucent vacuoles gradually increasing for macrocyticulares. Thus suggesting that the presence of lipids is for the maintenance of the puppies, buoyancy and energy reserve of the animal, indicating that it stores fat in its liver from the beginning of embryogenesis.

Keywords: Liver. Embryology. Microscopy. Morphology. Lipids.

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Quadro comparativo macroscópico dos espécimes de tubarão azul	22
----------	---	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Tubarão aberto para visualização da sua cavidade celomática	21
Figura 2	Gráfico comparativo entre tamanho do animal e órgão entre macho e fêmeas.....	29
Figura 3	Gráfico estatístico das análises dos resultados macroscópicos.....	30
Figura 4	Fotomicrografia de fígado de embrião de tubarão de 4 cm.....	30
Figura 5	Fotomicrografia de fígado de embrião de tubarão de 8,5 cm.....	31
Figura 6	Fotomicrografia de fígado de embrião de tubarão de 13 cm.....	31
Figura 7	Fotomicrografia de fígado de embrião de tubarão de 18cm.....	32
Figura 8	Fotomicrografia de fígado de embrião de tubarão de 26 cm.....	32
Figura 9	Fotomicrografia de fígado de feto de tubarão de 45 cm.....	33
Figura 10	Fotomicrografia de fígado de espécime adulto de aproximadamente 2 metros.....	33
Figura 11	Fotomicrografia demonstrativa do sistema de pontos.....	34
Figura 12	Boxplot dos hepatócitos.....	34
Figura 13	Boxplot dos vacúolos.....	35
Figura 14	Estatística das análises microscópicas.....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVO	14
3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA	15
3.1 PRIONACE GLAUCA	15
3.2 FÍGADO	16
4. MATERIAL E METODOS	19
5. RESULTADOS	21
6. DISCUSSÃO	37
7. CONCLUSÃO	38
8. REFERENCIAS	38

1. INTRODUÇÃO e JUSTIFICATIVA

Tubarões e Raias pertencem à classe dos Chondrichthyes, por serem animais que possuem esqueleto cartilaginoso (HAMLETT, 1999). O Tubarão azul (*Prionace glauca*), popularmente conhecido como cação-azul dentre todas as espécies de tubarão é a mais abundante no ambiente marinho, podendo ser encontrado em todos os mares (NAKANO e SEKI, 2002; BORNATOWISK *et al.*, 2008 e QUAGGIO *et al.*, 2008; LEGAT e VOOREN, 2008).

Estes animais são mais comuns na região da plataforma continental, próximo a praias, em águas superficiais (VASKE-JUNIOR *et al.*, 2009; KOTAS, 2010). São espécies de tamanhos relativamente grandes podendo chegar a até 3 metros de comprimento total quando adultos em ambos os sexos (KOHLENER, 2002).

O *P. glauca* é facilmente capturado por embarcações que operam em alto mar (KAKANO e SEKI, 2002; QUAGGIO *et al.*, 2008). Principalmente em pescaria com grandes navios nos Oceanos Pacíficos e Atlântico, onde geralmente já chegam mortos (CAMPANA *et al.*, 2009). Esta espécie é fonte de alimentação no Brasil e em alguns países da América do Sul, geralmente são vendidos em postas em mercados e feiras livres (CAMPANA *et al.*, 2009).

Durante o desenvolvimento embrionário, o fígado aparece como uma evaginação ventral, ou divertículo hepático, do assoalho do trato digestivo que cresce para frente no mesênquima circundante. O mesênquima não contribui diretamente para o fígado, mas induz a endoderme do divertículo hepático a proliferar, ramificar e se diferenciar em hepatócitos (KARDONG, 2011; LIEM *et al.*, 2013).

O fígado dos peixes está diretamente envolvido na produção de eritrócitos no início do desenvolvimento embrionário. Quando o animal já está desenvolvido esse órgão possui a função de destruição dos eritrócitos senis, desintoxicação e remoção de substâncias tóxicas do sangue (KARDONG, 2011).

Neste órgão também é encontrado a vesícula biliar, sendo aderido ao fígado e responsável pela produção de bilirrubina, que quando liberada no intestino possui a função de emulsificar as gorduras ou quebrá-las em gotas menores (KARDONG, 2011).

O fígado é um dos órgãos do corpo mais intensamente vascularizados, sendo abastecido com sangue arterial através da artéria hepática e veia porta hepática (KARDONG, 2011). A estrutura e as funções do fígado estão intimamente relacionadas aos sistemas digestivo e circulatório (LIEM *et al.*, 2013).

Os peixes são animais piscilotérmicos, ou seja, animais de “sangue frio”, possuindo assim características fisiológicas como mudanças substanciais no metabolismo relacionado com a variação da temperatura através dos anos. Os peixes são telolécitos, ou seja, que possuem ovos ricos em vitelo sintetizado de vitelogenese através da atividade do fígado. Conseqüentemente existem diferenças nas estruturas do fígado entre fêmeas e machos, bem como entre peixes maduros e imaturos (BRUSLÉ e ANADON, 1996).

2. OBJETIVO

O Objetivo do trabalho é descrever morfologicamente o desenvolvimento embrionário do fígado do tubarão-azul (*Prionace glauca*).

2.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Análisar a macroscópia externa observando: forma e tamanho do animal nos diferentes tamanhos (cm).
- Comparar as estruturas encontradas na fase embrionária e fetal com a do animal adulto.
- Análise quantitativa do número de células hepáticas nos diferentes tamanhos.

3. REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Os tubarões assim como as raias pertencem à ordem Selachii. Diferenciando-se uns dos outros quanto aos hábitos e anatomia (HILDEBRAND *et al.*, 2006). Muitos tubarões são predadores ativos com corpos fusiformes, caudas grandes e fortes. Possuem nadadeiras pareadas que apresentam bases restritas. Ao contrário dos peixes ósseos, os tubarões possuem fendas branquiais posicionadas lateralmente. (HILDEBRAND *et al.*, 2006).

Os elasmobrânquios têm uma história evolutiva de mais de 400 milhões de anos, com várias adaptações ao seu favor como órgãos sensitivos e complexos modos reprodutivos (CARRIER *et al.*, 2004).

***Prionace glauca* (Tubarão-azul)**

O Tubarão-azul (*Prionace glauca*), também conhecido como cação-azul (BORNATOVISK, 2008), é a espécie de tubarão mais abundante no ambiente marinho, frequenta águas tropicais e subtropicais. (COMPAGNO, 1988; NAKANO e SEKI, 2002; BORNATOWISK *et al.*, 2008 e QUAGGIO *et al.*, 2008; LEGAT e VOOREN, 2008).

É uma espécie altamente migratória, que podem variar desde a plataforma continental à região pelágica, possui padrões complexos relacionados com a reprodução e distribuição de suas presas (QUAGGLIO *et al.*, 2008; KOTAS *et al.*, 2010).

É o tubarão mais abundante na costa brasileira (HAZIN e LESSA, 2005), sendo comumente capturado na pesca de espinhel de atum e espadarte na região Sul do Brasil e principalmente na região de Santos, Sudeste do país (MOURATO, 2007; VASKE *et al.*, 1998; HAZIN e LESSA, 2005; HAZIN *et al.*, 1994).

O tubarão azul é fonte de alimentação no Brasil e em alguns países da América do Sul, este tubarão geralmente chega morto nas capturas de pescarias (CAMPANA *et al.*, 2009). Pode ser encontrado em profundidades de 150m a 400m. (BORNATOWISK *et al.*, 2008; LEGAT e VOOREN, 2008; KOTAS, 2010), com uma migração nictimeral vertical para cada animal, em temperaturas de 5° C a 27° C, conforme a latitude e profundidade onde é encontrado (VASKE-JUNIOR e RINCÓN-FILHO, 2008; NAKANO e SEKI, 2002; WALSH e KLEIBER, 2001).

O *P. glauca* é pouco abundante em águas equatoriais (QUAGGLIO *et al.*, 2008), segundo Vaske-Junior *et al.* (2009), são encontrados próximos a praia, em águas superficiais.

O tubarão-azul, *Prionace glauca* é vivíparo placentário, ou seja, apresenta uma conexão entre o feto e o útero em um determinado estágio embrionário através do cordão umbilical (HAMLETT, 1999; BONE e MOORE, 2008). O período de gestação desta espécie é estimado de 9 a 12 meses (COMPAGNO, 2001; SUDA, 1953; PRATT, 1979;). O número de embriões pode variar de 4 a 135 por fêmea (GUBANOV, GREDOR YEV, 1975; PRATT, 1979).

Fígado

O fígado é segundo maior órgão nos mamíferos, superado em tamanho apenas pela pele. No início da vida fetal, o fígado está diretamente envolvido na produção de eritrócitos e depois está envolvido na destruição dos eritrócitos senis. Durante a vida, desintoxica e remove substâncias tóxicas do sangue. A bile fabricada no fígado é liberada no intestino para emulsionar as gorduras, ou quebra-las em gotas menores (HILDEBRAND *et al.*, 2006; KARDONG, 2011).

Nos peixes, o fígado tem função muito parecida com vertebrados terrestres como um importante papel no metabolismo do lactato em piruvato. Esse órgão pode armazenar até um oitavo do total de reservas de glicogênio que são consumidos durante algum exercício físico, sendo utilizado como fonte de energia, ou até mesmo na alimentação quando há escassez de alimento (STOSKOPF, 1993).

É um dos órgãos do corpo mais intensamente vascularizados, sendo abastecido com sangue arterial através da artéria hepática (KARDONG, 2011). Os ramos das veias hepáticas e artéria hepática (sistema portal) estão localizados periféricamente a cada lóbulo hepático. As sinuosidades hepáticas passam entre as placas hepáticas, e através delas, o sangue é transportado da artéria hepática e veia porta hepática para a veia centrolobular (LIEM *et al.*, 2013).

O fígado é composto por lâminas de hepatócitos separadas por seios venosos, através desses seios venosos, o sangue das veias voltam do intestino e o sangue arterial da artéria hepática (KARDONG, 2011).

A estrutura e as funções do fígado estão intimamente relacionadas aos sistemas digestório e circulatório. No fígado os eritrócitos quando entram em estado de senescência, são destruídos no baço, porém as moléculas de hemoglobina liberadas são transportadas para o fígado através do sistema porta hepático e consecutivamente absorvidas pelos hepatócitos (LIEM *et al.*, 2013).

Durante o desenvolvimento embrionário, o fígado aparece como uma evaginação ventral, ou divertículo hepático, do assoalho do trato digestório que cresce para frente no mesênquima circundante. O mesênquima não contribui diretamente para o fígado, mas induz a endoderme do

divertículo hepático a proliferar, ramificar e se diferenciar em hepatócitos, células glandulares do fígado (ROMER e PARSON, 1985; KARDONG, 2011; LIEM *et al.*, 2013).

Esse órgão se desenvolve a partir de dois divertículos hepáticos do tubo digestório, estes situados logo atrás do estômago. O divertículo mais caudal forma a vesícula biliar e o divertículo cranial, sendo par na maioria dos peixes, ramifica-se e se expande para originar o fígado (HILDEBRAND *et al.*, 2006).

Todos os vertebrados possuem um fígado, sendo volumoso e situado na cavidade abdominal, nos peixes o fígado é localizado ventralmente na cavidade celomática (COSTA, 2007)ajustando-se ao espaço disponível na cavidade do corpo. Embora os detalhes sejam diferentes, a estrutura microscópica do fígado é basicamente semelhante em todos os vertebrados. É composto por lamínas de hepatócitos separadas por seios venosos, através dos quais corre o sangue venoso que volta dos intestinos e o sangue arterial da artéria hepática (KARDONG, 2011; LIEM *et al.*, 2013).

A hepatologia dos vertebrados é baseada no conhecimento adquirido de estudos do fígado de mamíferos, especialmente roedores e humanos. Embora menos conhecido, o fígado dos peixes pode ser considerado o ponto inicial para os estudos comparativos e filogenéticos entre os vertebrados (BRUSLÉ e ANADON, 1996).

Com a diversidade das espécies, a descrição de qualquer fígado específico, dificilmente poderá ser utilizada como um modelo. Juntamente com essa variabilidade, algumas características fisiológicas dos peixes contribuem para ampliar seu polimorfismo hepático.

O fígado dos peixes aparece como em todos os outros vertebrados, como um órgão chave que vai controlar muitas funções vitais e realizar um papel proeminente na fisiologia dos peixes, tanto no anabolismo (proteínas, lipídios e carboidratos) e no catabolismo (nitrogênio, glicogenólises e desintoxicação). O fígado do peixe desenvolve um importante papel na vitelogenese. Por outro lado, o fígado do peixe deve ser considerado como um órgão alvo para muitos parâmetros biológicos e ambientais que podem alterar a estrutura e o metabolismo do fígado, como por exemplo, a alimentação, toxinas, parasitas e microrganismos (BRUSLÉ e ANADON, 1996).

Os peixes são animais pecilotérmicos, ou seja, animais de “sangue frio”, possuindo assim características fisiológicas como mudanças substanciais no metabolismo relacionado com a variação da temperatura através dos anos. Os peixes telolécitos, ou seja, que possuem ovos ricos em vitelo sintetizado de vitelogenese através da atividade do fígado. Consequentemente existem diferenças nas estruturas do fígado entre fêmeas e machos, bem como entre peixes maduros e imaturos (BRUSLÉ e ANADON, 1996).

Em tubarões pelágicos, o fígado contém alta concentração de lipídeos, servindo como um órgão de armazenamento de nutrientes. Em alguns Scombridaees esse órgão possui rede mirabili, o que melhora a eficiência do órgão pela alta quantidade de vasos na região (ZAVALA-CAMIN, 2004).

Nos condricthyes, o fígado apresenta o formato de uma ferradura. Os lóbulos direito e esquerdo são iguais e ligados por um istimo. A vesícula biliar é alongada e normalmente inclusa no lóbulo direito. Nos teleósteos a lobação desse órgão é muito variável, podendo em algumas espécies possuir de um a três lobos hepáticos (GRASSÉ, 1958).

Nos peixes em geral esse órgão possui coloração marrom avermelhado devido a sua rica vascularização, porém, quando possui alto nível de gordura armazenado, o fígado apresenta coloração amarelada (BRUSLÉ e ANADON, 1996).

Na maioria dos vertebrados o fígado é composto por uma região de hepatócitos em forma uniforme, compostos de tecido conjuntivo próximo aos ductos biliares e vasos.

Na maioria das espécies o fígado é composto por uma região uniforme de hepatócitos (COSTA, 2007). Os hepatócitos possuem características mitóticas, sendo que a sua função é de síntese, secreção, armazenamento e metabolismo. As células de Kupffer são células do sistema macrofágico que revestem as regiões sinusóides hepáticas. As atividades fagocíticas do fígado e estão ligadas às funções destas células de Kupffer (BANKS, 1992). As células associadas com os sinusóides são células de armazenamento de gordura e células endoteliais (COSTA, 2007).

O fígado nos vertebrados superiores também desempenha papel na função imunológica, sendo responsável pela produção de proteína C reativas e componentes que compõem a cascata de eventos desencadeada pelo sistema complemento. Fletcher (1981) estudou os mecanismos de defesa em peixes, e observou que o fígado realiza papel similar ao descrito na literatura referente ao sistema imunológico dos mamíferos (FALCON, 2007).

Microscopicamente o fígado é formado por muitos grupos ou lóbulos de placas hepáticas situadas a cada lóbulo. Estas placas são organizadas ao redor de uma veia centrolobular que é uma tributária da veia hepática, que desembocara na veia porta inferior, fazendo conexão com a veia cava levando o sangue para o coração (LIEM *et al*, 2013).

É constituído de túbulos altamente anastomosados, ou seja, se dividem aleatoriamente, estes com origem a partir da organização de vasos, formando assim uma espécie de placa. Cada placa apresenta hepatócitos com uma face sinusoidal com função de absorção e uma face biliar de excreção. A diferença na organização do fígado dos peixes se deve a complexidade da organização hepática que necessita de uma abordagem tridimensional, levando em conta os planos de cortes histológicos, um cordão monocelular localizado em torno do vaso será visto

quando os cortes são perpendiculares, é possível visualizar cordões bicelulares em contraste quando os cortes são paralelos (BRUSLÉ e ANADON, 1996).

MATERIALE METODOS

Animais

Os fígados foram obtidos de animais de diferentes tamanhos utilizado na tese de doutorado do aluno Carlos Eduardo Malavasi Bruno aprovado pela Comissão de Ética da FMVZ-USP nº 9396271113, bem como aprovados novamente sob o número de protocolo: 5921090816. O total de animais disponíveis é de 33 espécimes, que se dividem em embriões de 4 cm até 36 cm, fetos de até 45 cm, e foram comparados a um indivíduo adulto fêmea de 2 metros.

Análise Macroscópica

Após abertura da linha Alba, e exposto o fígado o mesmo foi fotografado, medido e observado o formato e tamanho do fígado do tubarão-azul.

Microscopia de Luz

As amostras se encontravam fixadas em solução de formol 10%. Foram recortadas em sua porção medial, desidratadas em série de etanóis em concentrações crescentes (70 a 100%) e diafanizadas em xilol, com posterior inclusão em parafina histológica. Cortes de 5µm de espessura foram realizados no micrótomo (Leika, German) e corados com hematoxilina-eosina. As imagens obtidas através do microscópio de luz Nikon Eclipse E- 80i, do Centro Avançado em Diagnóstico por Imagem - CADI- FMVZ-USP.

Cortes semi-fino

As amostras fixadas em formol a 10%, foram recortadas na região medial do fígado, desidratadas em série de etanóis em concentrações crescentes (50 a 100%), colocado em oxido de propileno, emblocado em resina Spurr. Os blocos foram seccionados em cortes semi-finos de 300nm e corados com azul de toluidina. Analisados no microscópio de luz Nikon Eclipse E- 80i do Centro Avançado em Diagnóstico por Imagem - CADI- FMVZ-USP.

Microscopia eletrônica de varredura

As amostras fixadas foram pós-fixadas em tetróxido de Ósmio a 1%, desidratado em séries crescentes de alcoóis em concentrações de 50%, 70%, 90% e 100%, secas em aparelho de ponto crítico LEICA EM CPD300 (FMVZ-USP) colados com cola de carbono em bases

metálicas de alumínio (stub) e metalizados (“sputting”) com prata no aparelho metalizador EMITECH K550 (FMVZ-USP), sendo analisadas e fotografadas em microscópio eletrônico de varredura LEO 435VP (FMVZ-USP).

Análise quantitativa das células hepáticas

Foi realizado a análise quantitativa das células hepáticas nos espécimes de tamanhos 13cm, 26cm e 45cm. Foi utilizado 3 espécimes por tamanho. As amostras foram emblocadas em resina e os cortes semifinos corados com azul de toluidina. Foram realizados 6 cortes por espécime divididos em 3 laminas, ficando 2 cortes por lamina. As laminas foram fotografadas em microscópio de luz Nikon Eclipse E- 80ina objetiva de 100x. Para avaliar a porcentagem media equivalente de cada região do parênquima hepático, foram determinados para a quantificação as seguintes áreas: Hepatocitos (*) Vacuolos (setas), constituído de cápsula hepática, veia centro lobular e lóbulos hepáticos (figura 9). Em microscópio de luz, sob aumento de 100X, foi realizado o estudo de 18 fotos aleatórias por tamanho de animais através da aquisição de imagem computadorizada, posicionando frente ao monitor do computador um sistema de pontos contendo 1148 pontos equidistantes a 0,5cm. Os resultados morfométricos foram pela ANOVA (ZAR, 1984) pelo programa GraphPad Prism 7.03, utilizando o teste de comparações pelo método de Tukey. A homogeneidade de variância foi verificada e os resultados expressos como média \pm desvio padrão. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. A partir das análises ANOVA, TUKEY e correlação de Pearson, pode-se obter os resultados estatísticos que comprovam a diferença ou semelhança entre a quantidade de pontos dos hepatocitos para cada tamanho dos animais selecionados.

4. Resultados

Análise Macroscópica

A coleta dos fígados foi realizada após a abertura do animal pela linha alba, sentido caudo-cranial, para exposição do órgão e possível retirada para a análise macroscópica e posterior microscopia. Dessa forma, em visualização macroscópica, pode-se notar um padrão onde os fígados apresentavam dois lobos compridos e pontiagudos, apresentando impressões dos órgãos que estavam aderidos, com variações em tamanhos entre lobo direito e esquerdo onde crescem de acordo com o espaço disponível preenchendo o celoma, correspondendo a 20% do tamanho do animal (Quadro 1).

Na figura 1 está representado um espécime de embrião de tubarão azul com 18 cm de comprimento, com abertura pela linha alba sentido caudo – cranial, para exposição do fígado e sua disposição na cavidade celomática (Fig. 1, A e B).

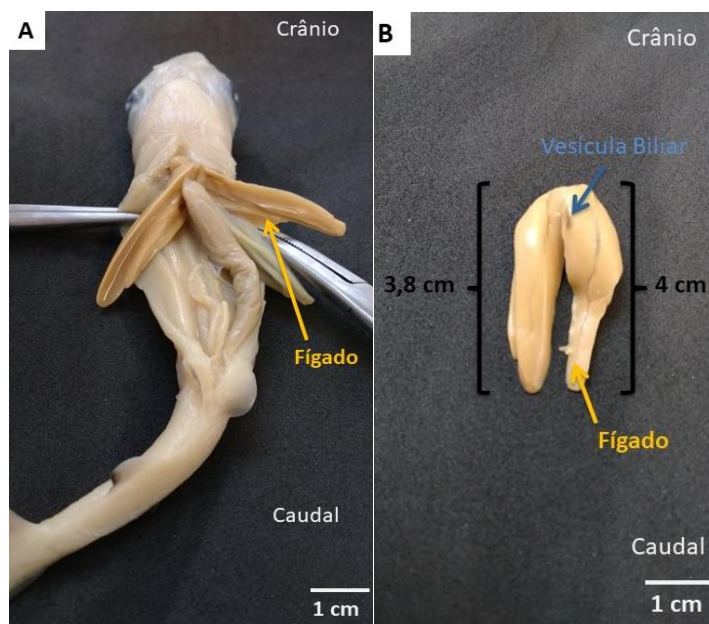














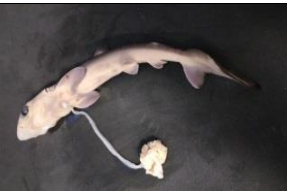


























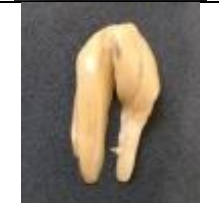


Figura 1 - A: Fotografia de embrião de *P. glauca* com 18 cm, mostrando a disposição do fígado na cavidade celomática. B: Fígado retirado do animal, evidenciando os dois lóbulos compridos e pontiagudos, lóbo esquerdo mede 4,3cm e direito com 3,8cm e presença da vesícula biliar.









Quadro 1: Quadro comparativo de análises macroscópicas do *Prionace glauca* (Tubarão azul).



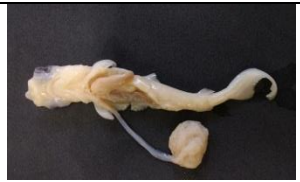





Animal	Sexo	Tamanho	Órgão	Tam. Órgão	Formato	Características
	Fêmea	2 metros Animal adulto		Face celomática Porção de 6 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Fígado parcial de uma coleta de tubarão adulto
	Fêmea	45 cm feto		Face celomática LD. 10 cm LE. 7 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cordão umbilical
	S/I	~ 45 cm feto		Face celomática Porção de 3,5 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Fígado parcial de uma coleta de feto de tubarão
	S/I	~ 45 cm feto		Face celomática Porção de 3,5 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Fígado parcial de uma coleta de feto de tubarão



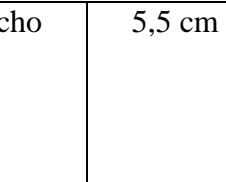
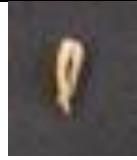


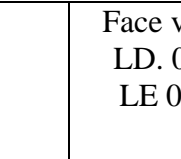
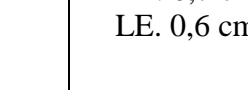
	Macho	26 cm		Face celomática LD. 5 cm LE. 4,5 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de placenta - Pigmentação do animal mais forte -
	Macho	25,8 cm		Face celomática LD. 5 cm LE. 4,3 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de placenta
	Macho	25,5 cm		Face celomática LD. 5 cm LE. 4,5 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cordão umbilical
	Macho	24,5 cm		Face celomática LD. 4,4 cm LE. 3,8 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de placenta
	Fêmea	24 cm		Face celomática LD. 5,3 cm LE. 4,0 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cicatriz umbilical
	Fêmea	23,3 cm		Face celomática LD. 5 cm LE. 4,8 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cicatriz umbilical

	Macho	23 cm		Face celomática 3 cm (apenas um lóbulo)	2 lobos compridos e pontiagudos	- Apenas um lobo (animal já aberto)
	Fêmea	~22 cm (sem o rosto)		Face celomática Simétricos com 5 cm cada	2 lobos compridos e pontiagudos	- Animal sem rosto -
	Macho	21 cm		Face celomática LD. 4 cm LE. 4,5 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de placenta
	Macho	21 cm		Face celomática Simétricos com 4,5 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de placenta
	Fêmea	21 cm		Face celomática LD. 4,3 cm LE. 3,8 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cicatriz umbilical
	S/I	20,5 cm		Face celomática LD. 3 cm LE. 2,2 cm (falta um pedaço)	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cordão umbilical - Fígado com 2 lobos , faltando um pedaço do esquerdo

	Macho	20,5 cm		Face celomática Simétricos com 4 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cordão umbilical
	Fêmea	20,5 cm		Face celomática LD. 4,3 cm LE. 3,7 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cordão umbilical
	Fêmea	19,5 cm		Face celomática Simétricos com 4 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de placenta
	Fêmea	18 cm		Face celomática LD. 4 cm LE. 3,8 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cicatriz umbilical
	Fêmea	13 cm		Face celomática LD. 2,5 cm LE. 2,3 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Presença de cordão umbilical Embrião amarelado (sem pig.) lev. translucido Fendas branquiais com peq. Porção exposta

	Macho	12 cm		Face celomática LD 1,7cm LE 2,3 cm	2 lobos compridos e pontagudos	- Lobo direito com extremidade dobrada - Presença de cordão umbilical
	Macho	12 cm		Face celomática LD. 2,5 cm LE. 2,3 cm	2 lobos compridos e pontagudos	Embrião amarelado (sem pig) lev translucido Fendas branquiais com peq. Porção exposta Presença de cordão umbilical ligado ao saco vitelínico liso e rugoso (placenta)
	Fêmea	11,5 cm		Face celomática LD. 2,3 cm LE. 2 cm	2 lobos compridos e pontagudos	- Presença de cordão umbilical ligado ao saco vitelínico liso e rugoso (placenta)
	Macho	11 cm		Face celomática LD. 2,5 cm LE. 2 cm	2 lobos compridos e pontagudos	Embrião amarelado (sem pig) lev translucido Fendas branquiais com peq. Porção exposta Presença de cordão umbilical ligado ao saco vitelínico liso e rugoso (placenta)

	Fêmea	11 cm		Face celomática LD. 2,4 cm e LE. 2,1 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	- Presença de cordão umbilical e saco vitelínico liso - Animal amarelado (s/pig.) lev. Translucido
	Macho	11 cm		Face celomática LD. 2,2 cm LE. 2 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Embrião amarelado (sem pig) lev translucido Fendas branquiais com peq. Porção exposta Presença de cordão umbilical ligado ao saco vitelínico liso e rugoso (placenta)
	Macho	8,5 cm		Face celomática LD. 1,8 cm LE 1,6 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Embrião amarelado (sem pig) lev translucido Fendas branquiais com peq. Porção exposta Presença de cordão umbilical
	Macho	7,5 cm		Face celomática LD. 1,5 cm LE. 1,4 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Embrião amarelado (sem pig) lev translucido Fendas branquiais exposta Presença de cordão umbilical

	Macho	5,5 cm		Face visceral LD. 0,7 cm LE 0,7 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Embrião amarelado (sem pig) lev translucido Fendas branquiais exposta Presença de cordão umbilical
	Fêmea	5 cm		Face celomática LD. 1 cm LE. 0,9 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Embrião translucido Fendas branquiais exposta Presença de cordão umbilical
	Fêmea	4 cm		Face celomática LD. 0,7 cm LE. 0,6 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Embrião translucido Fendas branquiais exposta Presença de cordão umbilical
	Fêmea	4 cm		Face celomática LD. 0,8 cm LE. 0,7 cm	2 lobos compridos e pontiagudos	Embrião translucido Fendas branquiais exposta Presença de cordão umbilical

Observou uma diferença não significativa nos tamanhos do fígado de indivíduos fêmeas e machos (Gráfico 1).

Gráfico Análise Macroscópica

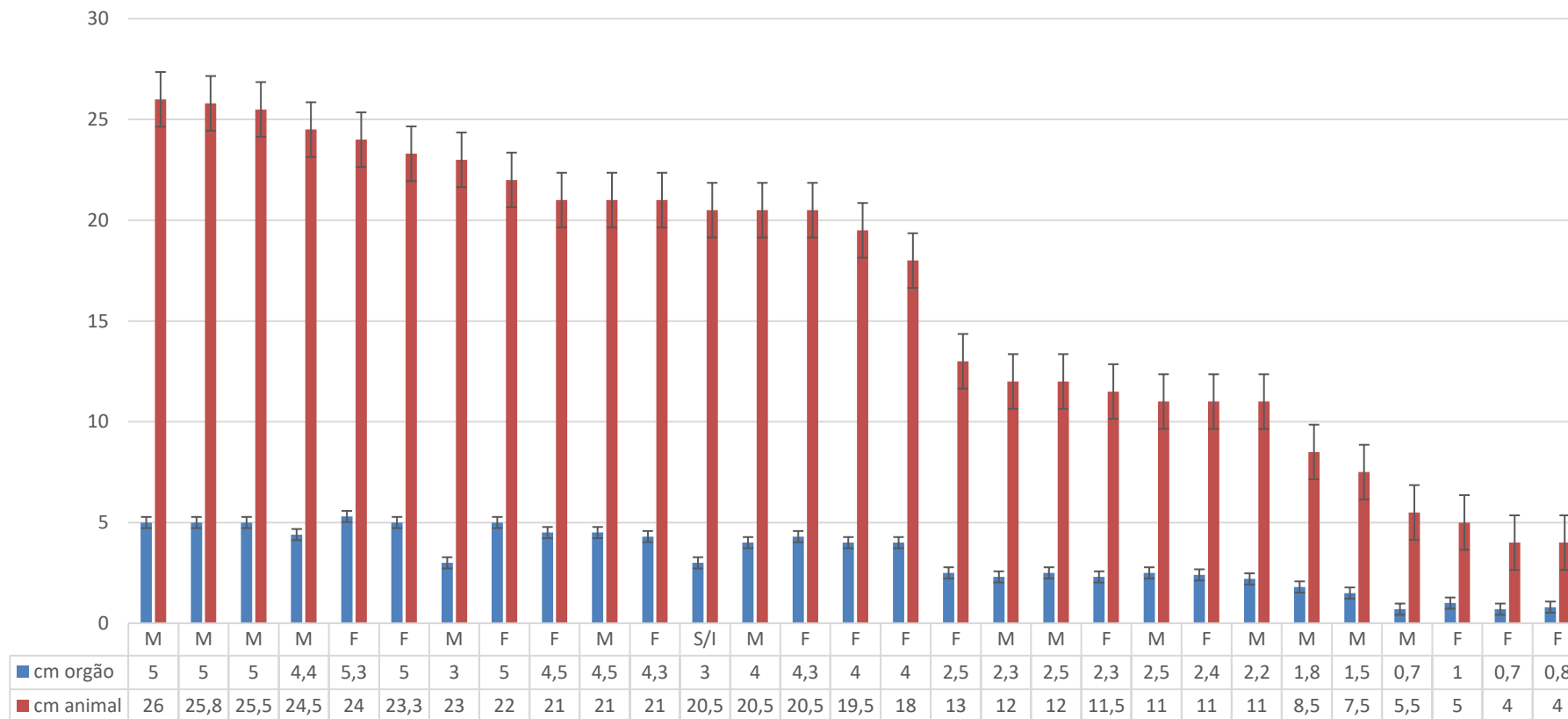


Gráfico 1: Demonstrativo do quadro macroscópico dos animais, evidenciando e comparando tamanho do espécime e tamanho do fígado retirado, onde em laranja temos o tamanho do animal e em azul tamanho do órgão.

Ao agruparmos tamanhos e analisarmos o gráfico estatisticamente, notamos que as fêmeas tendem a serem maiores que os machos, mas o resultado não é significativo (Gráfico 2).

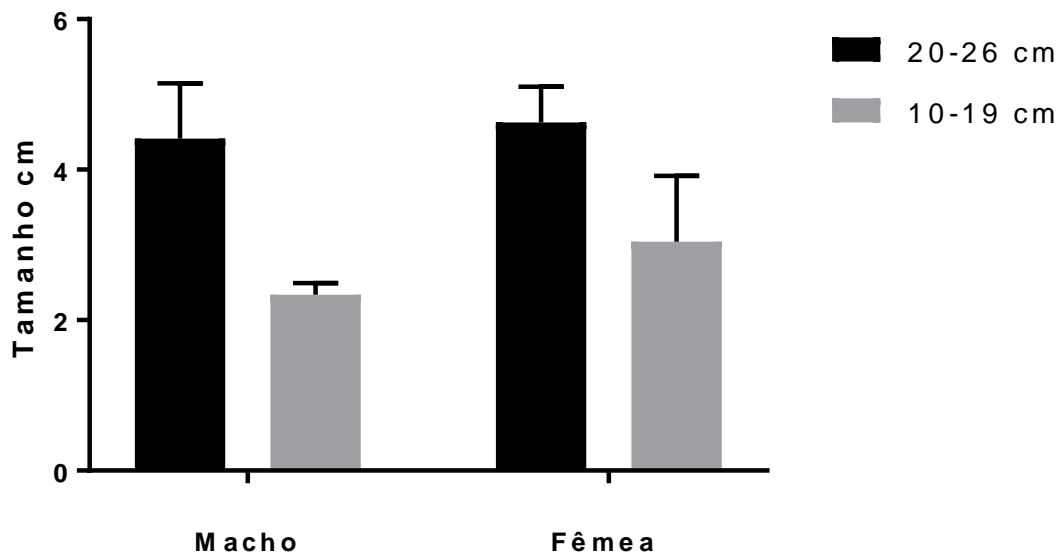


Gráfico 2: Análise estatística em grupos de embriões de tamanhos de 10 a 19 cm e 20 a 26 cm, comparando machos e fêmeas.

Análise Microscópica

Nos embriões de 4 a 6 cm de comprimento foi possível observar micro gotículas (pequeno tamanho) de vacúolo de gordura nos hepatócitos, o núcleo das células centralizado, observado nas fotomicrografia (Fig. 2, A, B e C).

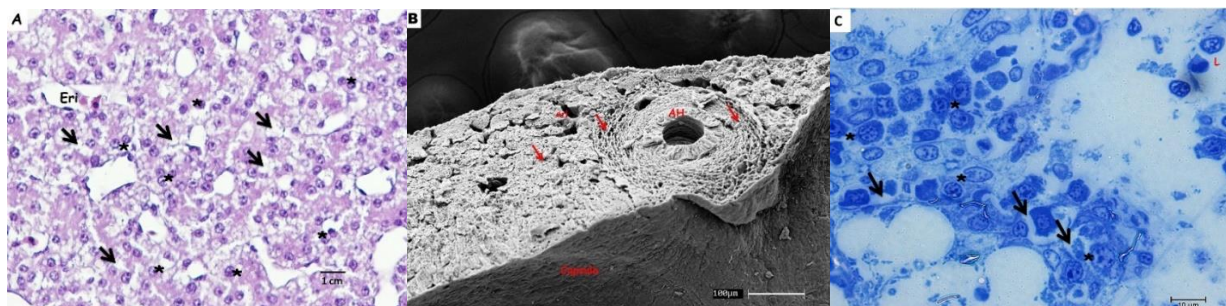


Figura. 2- Fotomicrografia do fígado do embrião de 4 cm de comprimento: A: disposição dos hepatócitos (*) e vacúolos de gordura (setas). coloração HE. B: microscopia eletrônica de varredura, evidenciando a cápsula envoltória do fígado, com presenças de vacúolos de gordura (setas) e visualização da artéria hepática (AH). C: corte semi-fino corados com azul de toluidina evidenciando os vacúolos de estocagem de gordura (setas), hepatócitos (*) e linfócitos (L).

Na microscopia dos embriões de 7 a 12 cm de comprimento foi possível notar a presença dos hepatócitos, eritrócitos nucleados e vacúolos de gordura em maior quantidade comparado ao estágio anterior, observa o núcleo da célula centralizado (Fig. 3 A, B e C).

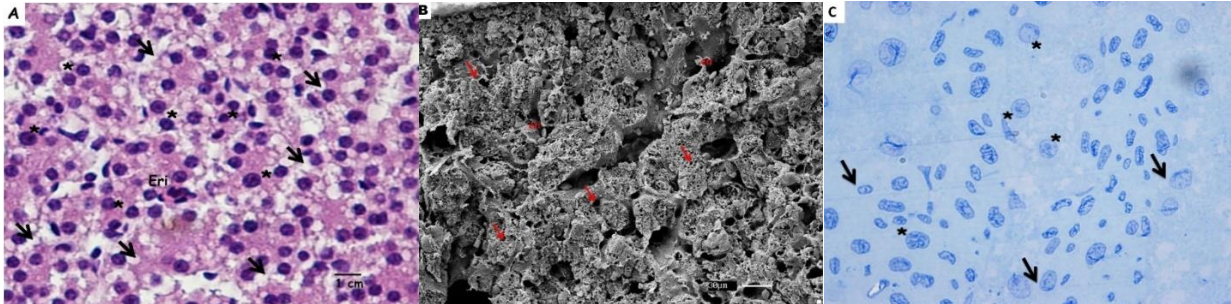


Figura 3 – Fotomicrografia de embrião 8,5 cm. A: notar a disposição dos hepatócitos (*), com vacúolos de gordura (setas) em maior quantidade comparado ao estágio anterior, e presença de eritrócitos nucleados. Coloração: HE. B: evidenciando a presença de eritrócitos (eri) e vacúolos de gordura (setas) dispersos por todo o órgão. C: corte semi – finos corados com azul de toluidina evidenciando os vacúolos de estocagem de gordura (setas), hepatócitos (*).

Na microscopia dos embriões com 13 a 18 cm foi possível notar um aumento gradativo dos vacúolos de gordura nos hepatócitos (Fig. 4 A, B e C).

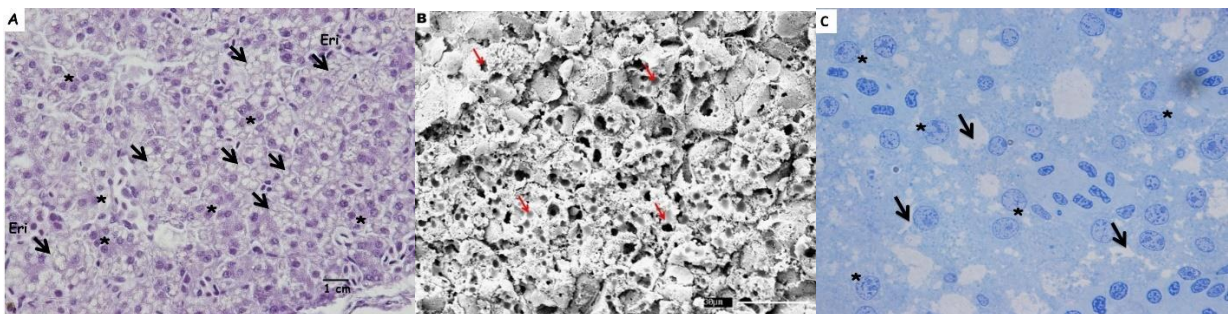


Figura 4– Fotomicrografia de embrião 13 cm: A: presenças vacúolos de gordura (setas), presença de hepatócitos (*) e eritrócitos nucleados (eri), HE. B: microscopia eletrônica de varredura evidenciando os vacúolos preenchidos com gordura (setas). C: corte semi – finos corados com azul de toluidina evidenciando os vacúolos de estocagem de gordura (setas), hepatócitos (*).

No intervalo de crescimento dos embriões de 19 a 25 cm, pode-se notar que a presença de vacúolos de gordura está praticamente em todas as células hepáticas, as células se encontram formato balônico. Com a presença de vasos sanguíneos observado melhor nesta fase, núcleo marginalizado em algumas células hepáticas (Fig. 5 – A, B e C).

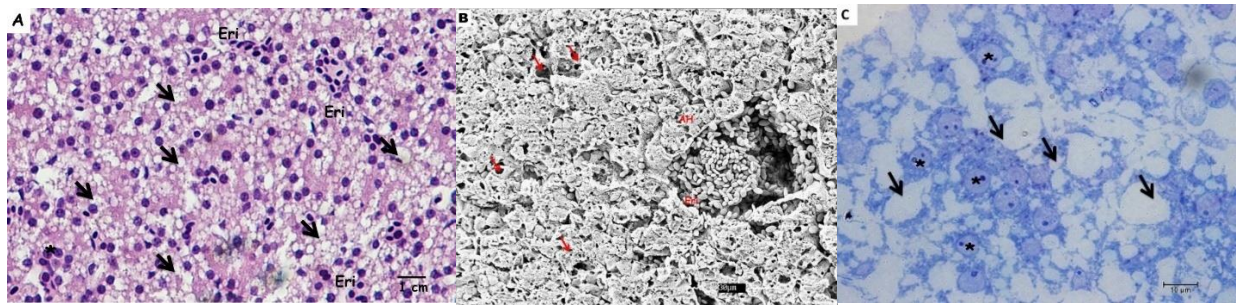


Figura 5 –Fotomicrografia de microscopia de embrião de 19 cm. A: observa-se uma quantidade de hepatócitos (*) sem vacúolos e com vacúolos de gordura (setas) perfazendo 1:1, presença da artéria hepática (AH) e vasos sanguíneos evidenciados pelo acúmulo de eritrócitos (eri) e alguns linfócitos (L) dispersos entre os hepatócitos. Coloração: HE. B: fotomicrografia de microscopia eletrônica de varredura mostrando os vacúolos de gordura (setas) e artéria hepática (AH) com presença de eritrócitos nucleados (eri). C: Fotomicrografia de microscopia de luz com corte semi – finos corados com azul de toluidina evidenciando os vacúolos de estocagem de gordura (setas), hepatócitos (*).

Na microscopia do últimoestágio embrionário até 36cm, os fígados dos embriões apresentam um acúmulo de vacúolos provocando um formato balônico nos hepatócitos (Fig. 6 A B e C).

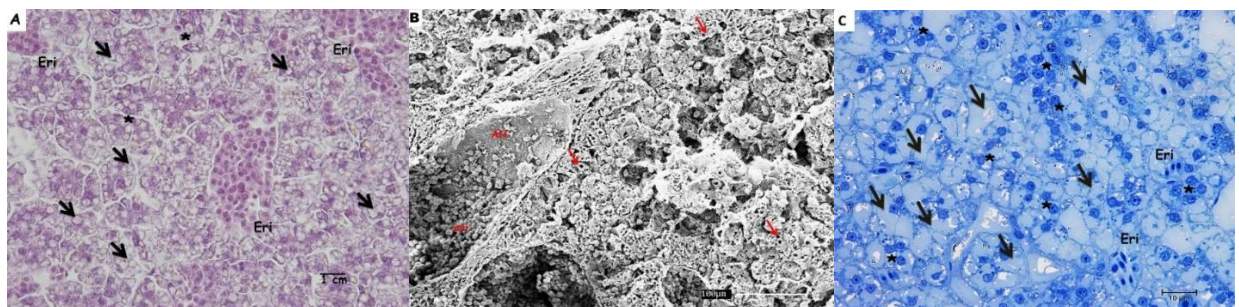


Figura6 – Fotomicrografia de embrião de 26 cm A: hepatocitos (*) formato balonico provocado pelo preenchimento de gordura, vacúolos (setas), presença de eritrócitos (eri). Barra: 1cm. Coloração: HE. B:fotomicrografia de microscopia eletrônica de varredura evidenciando a grande quantidade de vacúolos de gordura (setas), presença de artéria hepática (AH) e eritrócitos (eri). C: Fotomicrografia de microscopia de luz com corte semi – finos corados com azul de toluidina evidenciando os vacúolos de estocagem de gordura (setas), hepatócitos (*), eritrócitos (eri).

Na fase fetal, com os indivíduos no tamanho de 36 a 45 cm,a quantidade de vacúolo de gordura estocada dentro dos hepatócitos atinge praticamente, observando nas fotomicrografia, 60% do fígado. Deixando suas células balonizadasdeslocando o núcleo e as organelas para a periferia da célula. (Fig. 13, A, B e C).

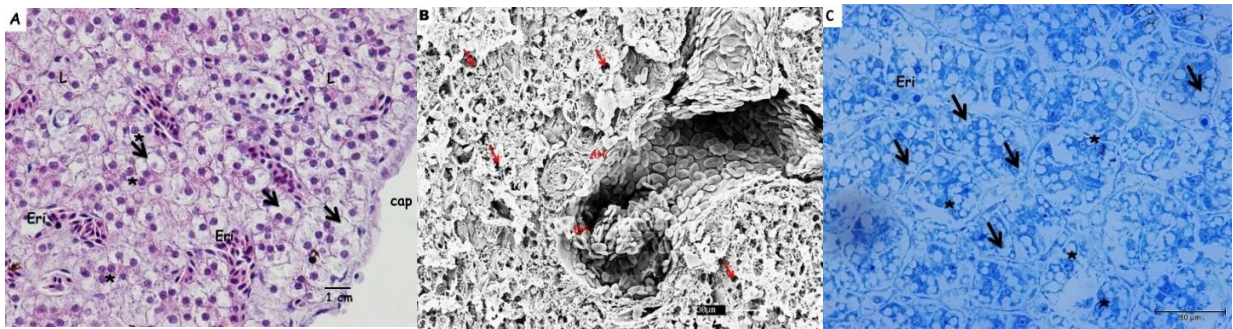


Figura 7 – Fotomicrografia de feto de 45 cm. A: hepatócitos (*) com vacúolos de gordura (setas) numa concentração muito superior ao estágio anterior, presença de eritrócitos nucleados (eri). Barra: 1 cm. Coloração: HE. B: fotomicrografia de microscopia eletrônica de varredura de feto de 45 cm evidenciando a grande quantidade de vacúolos de gordura (setas) por todo o órgão, presença de artéria hepática (AH) e eritrócitos (eri). C: corte semi – finos corados com azul de toluidina evidenciando os vacúolos de estocagem de gordura (setas), hepatócitos (*).

Na microscopia, em indivíduos adultos, ao observarmos o fígado, notamos que a disponibilidade da visualização dos hepatócitos é quase nula, devido ao grande acúmulo de vacúolo no fígado, empurrando as organelas e núcleo para a periferia, dependendo do corte não se observa o núcleo das células. (Fig. 8 - A, B e C).

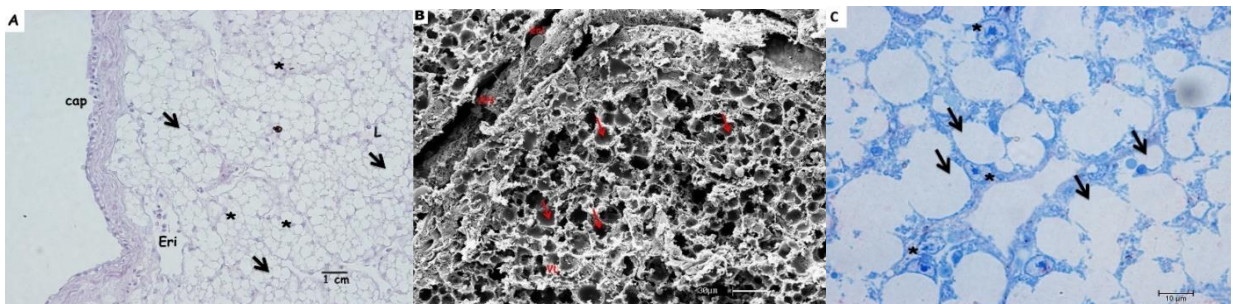


Figura 8 – Fotomicrografia de luz de fígado de tubarão de aproximadamente 2 metros A: nota-se a presença de hepatócitos (*) vacuolizados em toda a extensão do órgão, (setas), vasos com presença de eritrócitos (eri). Barra: 1 cm. Coloração: HE. B: fotomicrografia de microscopia eletrônica de varredura de um indivíduo adulto, mostrando um tecido todo composto apenas por vacúolos de estocagem de gordura (setas), algumas fibras colágenas e presença de eritrócitos nucleados (eri) nos vasos sanguíneos e artéria hepática (AH). C: Fotomicrografia de microscopia de luz com corte semi – finos corados com azul de toluidina evidenciando os vacúolos de estocagem de gordura (setas), hepatócitos (*).

Análise Morfométrica

Na figura 9 fotomicrografia com o sistema ponto, evidenciando as áreas da contagem, de hepatócito e vacúolos de gordura.

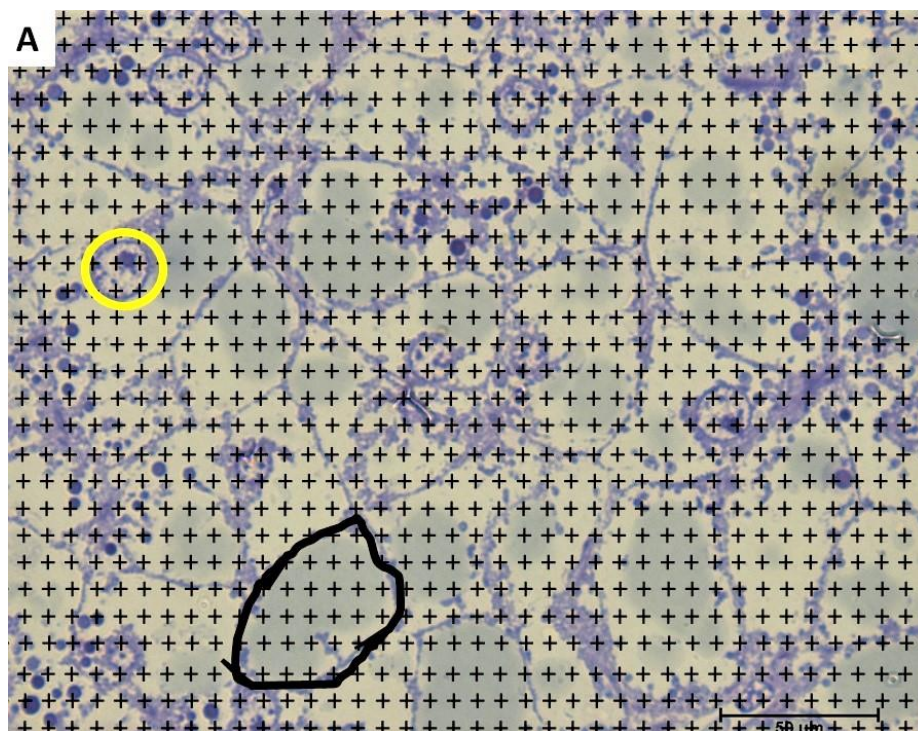


Figura 9: Fotomicrografia: corte semi-fino de feto de 45 cm de comprimento, com sobreposição do sistema ponto (+), em amarelo as áreas contadas para o hepatocito e a região delimitada em preto as áreas contada para os vacuolos de gordura.

Com os valores obtidos pelo teste de pontos, pode-se realizar análises estatísticas por ANOVA e TUKEY para avaliar a sua significância.

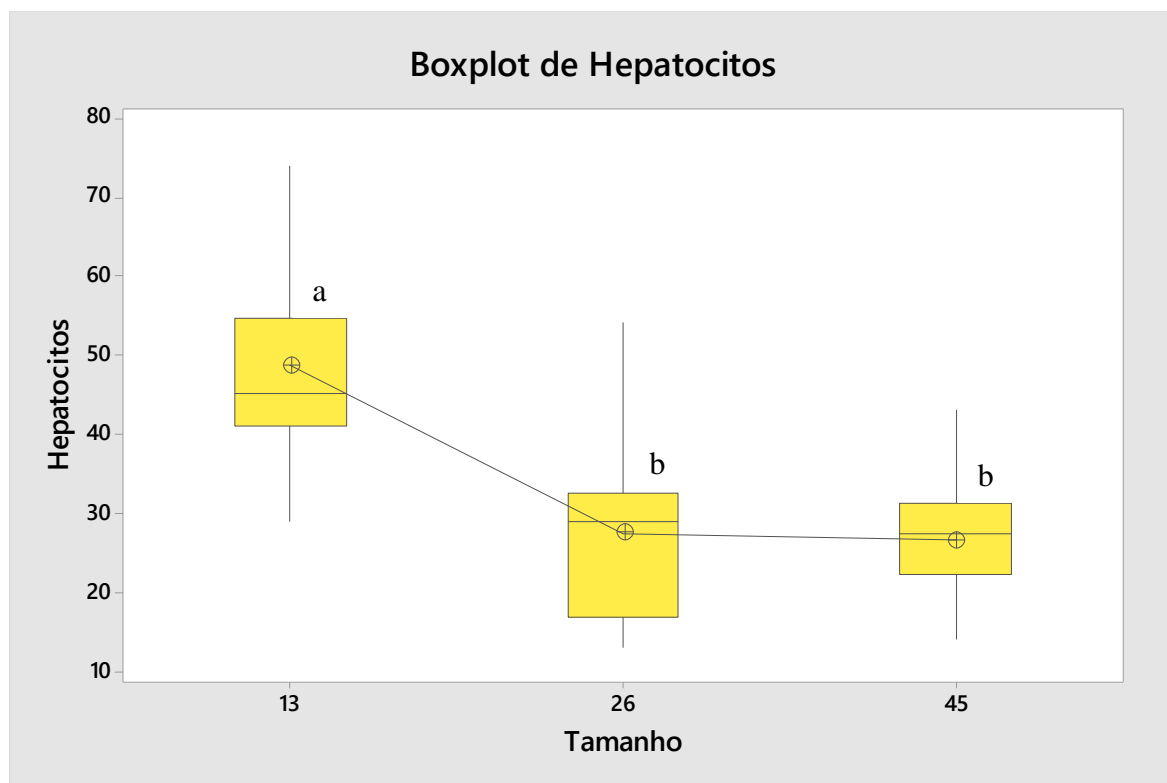


Figura 10: demonstrando a diferença nas proporções dos hepatócitos nos tamanhos de 13, 26 e 45 cm respectivamente, comparando embriões e fetos, houve diferença porem não foi considerada significativa. Nota-se uma correlação inversamente proporcional, onde com o aumento do tamanho dos animais existe a diminuição dos hepatócitos. Diferença estatística foram obtidas pela análise de variância (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

Durante as análises morfoquantitativas pode-se notar um aumento gradativo dos vacúolos translúcidos intracitoplasmáticos micro e macrogoticulares, durante a contagem dos pontos do sistema teste aumentaram significativamente, durante o desenvolvimento nos estágios embriogênicos e fetais (Figura 11).

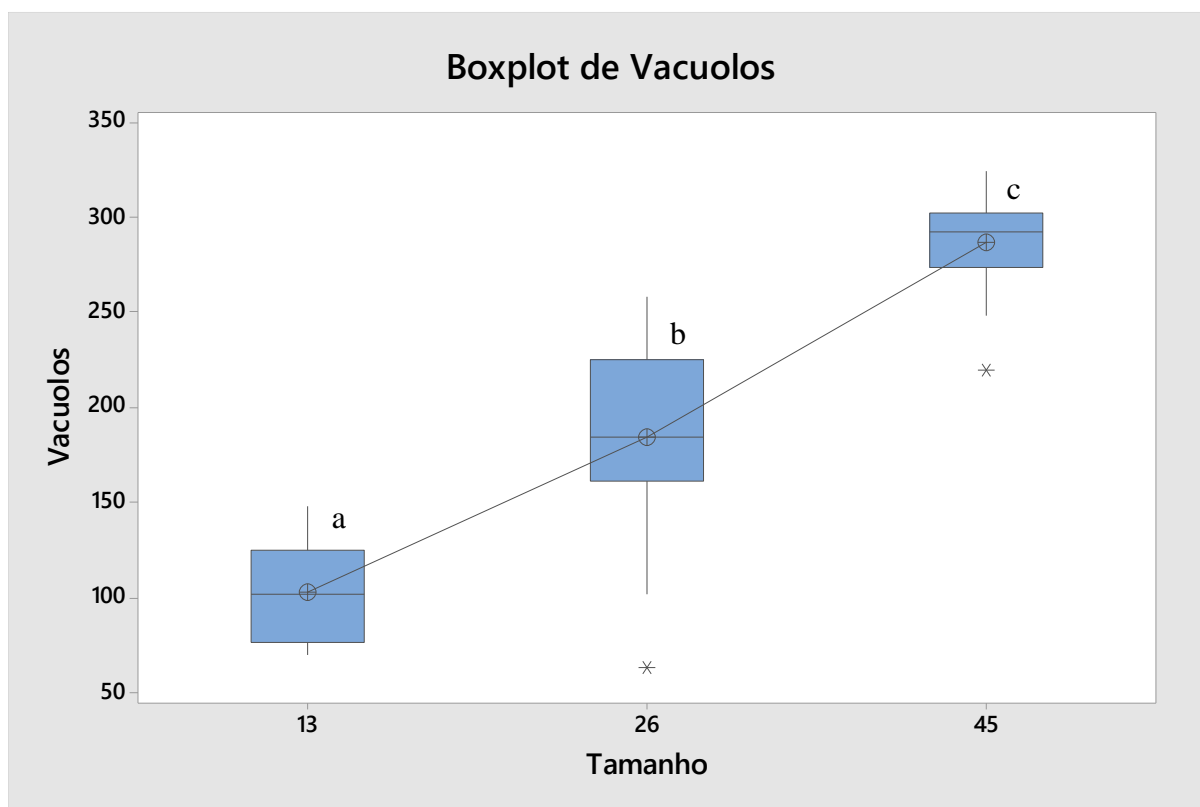


Figura 11: demonstrando a diferença na contagem das proporções dos vacuolos nos tamanhos de 13, 26 e 45 cm respectivamente, comparando embriões e fetos. Nota-se a correlação diretamente proporcional, onde com o aumento do tamanho do animal existe o aumento dos vacuolos de lipídios, $p < 0,001$. Diferença estatística foram obtidas pela análise de variância (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

Abaixo, figura 12, representação estatística da quantidade de hepatócito e vacuolo no desenvolvimento do animal. O numero de vacuolos foi significamente maior, $p < 0,001$, com o crescimento do animal.

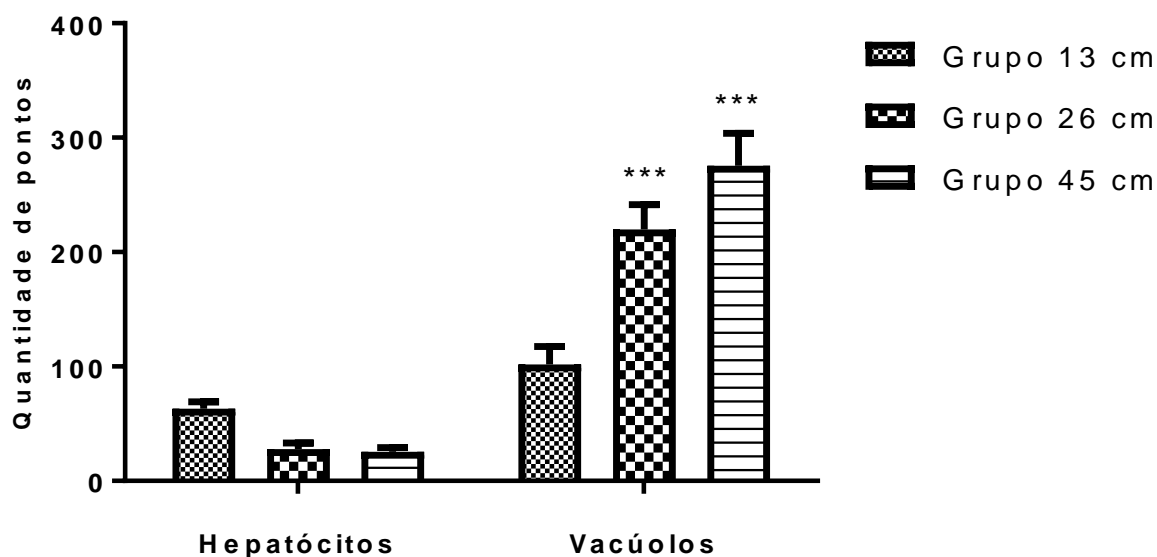


Figura 12: Representação estatística da proporção de hepatócitos e vacuolos presentes no fígado do tubarão nos grupos de tamanhos 13 cm, 26 cm e 45 cm. . Diferença estatística foram obtidas pela análise de variância (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$).

5. Discussão

Os tubarões como peixes cartilagosos, não possuem bexiga natatória sendo obrigados a permanecerem em constante movimento para não afundarem (SUZUKI, 1986). A densidade média do fígado está relacionada com a quantidade de lipídios nele contido, sendo que o alto teor de óleo permite que estes animais flutuem com maior facilidade na coluna d'água, atuando como um órgão hidrostático (VAN VLEET, 1984) corroborando com os achados do trabalho, onde o fígado apresentou 20% do tamanho do animal notando-se macroscopicamente o tamanho, formato e disposição do seu evidente fígado preenchendo o espaço disponível na cavidade celomática do tubarão.

Nos mamíferos o distúrbio de acúmulo de gordura dentro das células do fígado, os hepatócitos, é característico de uma condição patológica, a esteatose hepática, e quando há gordura em excesso e por muito tempo, as células do fígado podem sofrer danos, ficando inflamadas (SANTOS, 2001). Já nos tubarões, é uma condição saudável e necessária, uma vez que os tubarões utilizam esse estoque de gordura como uma adaptação para auxiliar em sua flutuabilidade, além de servir como estoque de glicogênio para transformar em glicose para energia, já que são animais que possuem um grande gasto energético. Outra função da gordura do seu fígado é a importância durante a vitelogênese, onde as fêmeas utilizam essa gordura para

a manutenção e nutrição dos filhotes. De forma que com o tempo, esse acúmulo de gordura empurra o núcleo do hepatócito para a periferia da membrana, ação característica da esteatose hepática (SANTOS, 2001).

O tamanho e o peso do fígado variam em função da espécie, idade e estação do ano, mas quase sempre correspondem a um quinto do seu peso total e podem acumular até 90% em óleo. (KREUZER e AHMED, 1978). Segundo BRUSLÉ e ANADON, (1996) existem diferenças nas estruturas do fígado entre fêmeas e machos, bem como entre peixes maduros e imaturos, porém em nosso trabalho, pudemos notar uma diferença não significativa entre os fígados de embriões machos e fêmeas.

Os tubarões dispõem de uma enorme concentração de gordura em seu fígado, em estado oleico, denominado esqualene (SIMOPOULOS, 1986). Onde neste estudo pudemos notar que essa estocagem de gordura começa desde o começo da sua fase embrionária, os hepatócitos acumulam gordura em seu citoplasma de acordo com o crescimento do embrião, comprovado estatisticamente pela análise de variância onde $p < 0,001$.

6. Conclusão

O fígado apresenta um tamanho de 20% do tamanho do animal. Os embriões e fetos de tubarão-azul acumulam gradativamente gordura em seu fígado, de forma que ao atingir a idade adulta é composto quase que totalmente por gordura, cerca de 80 a 90%.

7. Referências

- BANKS, W, J. Histologia veterinária aplicada. 2ed. São Paulo Editora Manole Ltda. 629p, 1992.
- BORNATOWSKI, H.; SCHWINGEL, P. R. Alimentação e reprodução do tubarão-azul, *Prionace glauca* (Linnaeus 1758), capturado na costa sudeste e sul do Brasil. **Arquivos de Ciência do Mar**.v. 41, n. 1, p. 98-103, 2008.
- BONE, Q.; MOORE, R. H. **Biology of Fishes**.3. ed. Nova York: Taylor & Francis, 2008.
- BRUSLÉ, J. e ANADON, G. G.The Structure and Function of Fish Liver. In: Fish Morphology. Science Publishers, 1996. pp 77-93.

CAMHI, M. SHARKS on the line: a state-by-state analysis of sharks and their fisheries. National Audubon Society, New York, USA. 1998

CAMHI, M., FOWLER, S., MUSICK, J., BRAUTIGAM, A. AND FORDHAM, S. Sharks and their relatives – ecology and conservation. Occasional Paper of the IUCN Species Survival Commission No. 20. IUCN/SSC Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.1998.

CAMPANA, S. E.; JOYCE, W.; FRANCIS, M. P.; MANNING, M. J. Comparability of blue shark mortality estimates for the Atlantic and Pacific longlinefisheries. **Marine Ecology Progress Series**, Kilbirnie, v. 396, p. 161-164, 2009.

CARRIER, J.C.; MUSICK, J. A. HEITHAUS, M. R. **Biology of sharks and Their Relatives**. Florida: Boca Raton, 2004.

COMPAGNO, L.J.V. & DANDO, M. & FOWLER, S. Sharks of the World. **Princeton University Press**. 2005.

COMPAGNO, L.J.V. Sharks of the World. An annotated and illustrated catalogue of the shark species known to date. Volume 1 2 e 3. **FAO Species Catalogue for Fisheries Purposes** No. 1, Vol.2. FAO, Rome. 2001.

COSTA, G. M. **Estudo histomorfológico e análise dos perfis celulares do ri rim cefálico, fígado, baço e timo do *Piaractusmesopotamicus* (Holmberg, 1887,Teleósteo, characidae), pacu**. Dissertação de mestrado (mestrado em ciências) Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, p. 134, 2007.

FALCON, D.R. **β -glucano e vitamina C no desempenho produtivo e parâmetros fisiopatológicos em juvenil de tilápia do Nilo: nível de suplementação e tempo de administração**. Tese de doutorado, Pós-Graduação em Aqüicultura, Centro de Aqüicultura, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, p. 158, 2007.

FLETCHER, T. C. Non-antibody molecules and the defense mechanisms of fish. In: Pickering, A.D. (Ed.). **Stress and Fish**. New York: Academic Press, p.171-183, 1981.

GRASSÉ, P.P. Traité de Zoologie. Anatomie, Systématique, Biologie. Tome XIII. Agnathes et Poissons. Ed. Masson. Paris. 1958.

GUBANOV, Y.; GRIGOR'YEV, V. N. Observations on the distribution and biology of the blue shark *Prionace glauca* (Carcharhinidae) of the Indian Ocean. **Journal of Ichthyology**. v. 15, p. 37-43, 1975

HAMLETT, W.C.. Sharks, skates and rays. The biology of elasmobranch fishes. Ed, Baltimore Johns Hopkins University. 1999

HAZIN, Fabio H.V.; BOECKMAN, Elizabeth C. Leal; LESSA, Rosangela P.T.; KIHARA, Kohei; OTSUKA, Kazuyuki. Distribution and relative abundance of the Blue Shark, *Prionace glauca*, in the Southwestern Equatorial Atlantic Ocean. **Fishery Bulletin**. Vol. 92 n° 2 pp: 474 - 480. 1994

HAZIN, Fábio; LESSA, Rosangela. Synopsis of biological information available on Blue Shark, *Prionace glauca*, from the Southwestern Atlantic Ocean. **Col. Vol. Sci. Pap. ICCAT**. Vol. 58 n° 3 pp: 1179-1187. 2005

HALLGREN, B.; STALLBERG, G.; BOERYD, B. Occurrence synthesis and biological effects of substituted glycerol ethers. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*, v. 16, p. 45-58, 1978.

HILDEBRAND, M. e GOSLOW, G.E.. Análise da estrutura dos vertebrados. Ed. Atheneu. 2006.

KARDONG, K.V.. Vertebrados. Anatomia comparada, função e evolução. Ed. Roca. 2011.

KOHLER, N.; TURNER, P.; HOEY, J.; NATANSON, L.; BRIGGS, R. Tag and recapture data for three pelagic shark species, blue shark (*Prionace glauca*), shortfin mako (*Isurus paucus*), and porbeagle (*Lamna nasus*) in the North Atlantic Ocean. **International Commission for the Conservation of Atlantic Tuna. In: Collection Volume of Scientific Papers**. v. 54, n. 4, p. 1231-1260, 2002.

KOTAS, J. E.; LIN, C. F.; ALBANEZ, F. F. Observações biológicas do tubarão-azul, *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), em cruzeiros de prospecção pesqueira na zona econômica exclusiva do Sudeste-Sul do Brasil. **Revista CEPSUL - Biodiversidade e Conservação Marinha**. v. 1, n. 1, p. 43-60, 2010.

LEGAT, J. F. A.; VOOREN, C. M. Distribuição e abundância relativa do Tubarão-Azul, *Prionace glauca*, no sul do Brasil. **Boletim do Instituto de Pesca**.v. 34, n. 3, p. 425-432, 2008.

LIEM, K.F.; BEMIS, W.E.; WARKER, W.F.; GRANDE, L.. Anatomia funcional dos vertebrados. Uma perspectiva evolutiva. 3ª Ed. Editora Norte Americana. 2013.

LUKAS T.S. TJAN; **Squalene, The miraculous essential omega 2 oil. Secrets from the sea.**History Sharkliveroil. 2009.

MOURATO, Bruno Leite; **Padronização da captura por unidade de esforço de espadarte, *Xiphiasgladius* L., 1758 e de Tubarão-Azul, *Prionace glauca* (L., 1758) capturados pela frota atuneira brasileira no Oceano Atlântico.** – Dissertação de Pós-graduação (Instituto de Pesca), 91p. 2007

NAKANO, H.; SEKI, Michael, P. Synopsis of biological data on the blue shark *Prionace glauca* Linnaeus. **Bulletin of Fisheries Research Agency**.v.6, p. 18-55, 2003.

NAVARRO-GARCIA, G.; PACHECO-AGUILAR, R.; VALLEJO-CORDOVA, B.; RAMIREZ-SUAREZ, J. C.; BOLANOS, A. Lipid composition of the liver oil of shark 57 species from the Caribbean and Gulf of California water. *Journal of Food Composition and Analysis*, v. 13. p. 791-798, 2000.

PRATT, H. L. Jr..Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. **Fishery Bulletin**. v. 77, n. 2, p. 445-470, 1979.

QUAGGIO, A. L. C.; KOTAS, J. E.; HOSTIM, M. As capturas do tubarão-azul, *Prionace glauca* Linnaeus (Elasmobranchii, Carcharhinidae), na pescaria de espinhel de superfície (monofilamento), sediada em Itajaí (SC), Brasil. **Pan-American Journal of Aquatic Sciences**. v. 3, n. 1, p. 61-74, 2008.

ROMER, A.S.; PARSON, T.S. Anatomia comparada dos vertebrados. Ed. Saunders, Philadelphia. 1993

SANTOS VN, LEITE-MÓR MMB, PARISE ER *et al.* Concentração sérica das proteínas da membrana basal e do ácido hialurônico no diagnóstico não-invasivo da fibrose do FGNA. **GED**, 20: S21, 2001.

SUDA, A. Ecological study on the blue shark (*Prionaceglauca*Linné). **South Sea Area Fisheries Research Laboratory**.Supplement 1, n. 26.P. 1-11, 1953.

SIMOPOULOS AP. Historical perspective, conference conclusions and recommendations, and actions by federal agencies. In: Simopoulos AP, Kifer RR, Martin RE, editors. **Health Effects of Polyunsaturated Fatty Acids in Seafoods**.Orlando, FL; **Academic Press**, 3–29.1986.

VASKE-JÚNIOR, Teodoro; RINCÓN-FILHO, Getúlio. Conteúdo estomacal dos Tubarões Azul (*Prionace glauca*) e Anequim (*Isurusoxyrinchus*) em águas oceânicas no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**. Vol. 58 n° 3 pp: 445-452.; 1998

VASKE-JUNIOR, T.; LESSA, R. P.; GADIG, O. B. F. Feeding habits of the blue shark (*Prionaceglauca*) off the coast of Brazil. **Revista Biota Neotrópica**. v. 9, n. 3, 2009.

WALSH, C.J. e LUER, C.A. Elasmobranch hematology: Identification of cell types and practical applications. In: SMITH, M. F. L.; WARMOLTS, D.; THONEY, D.; HUETER, R. **The Elasmobranch Husbandry Manual: Captive Care of Sharks, Rays, and their Relatives**. Columbus: Ohio SpecialPublication of The BiologicalSurvey, p.307-323. 2004

ZAVALA-CAMIN, L.A. O planeta água e seus peixes. Edição do autor. Santos. 2004.