

# ACHADO HISTOPATOLÓGICO DE LIPIDOSE HEPÁTICA EM FETOS DE GAMBÁ (*Didelphis sp.*) LACTENTES

FERNANDA FIGUEIREDO GARCIA<sup>1</sup>, CELINA ALMEIDA FURLANETTO MANÇANARES<sup>2</sup>, MARIA ANGÉLICA MIGLINO<sup>3</sup>, CARLOS EDUARDO AMBRÓSIO<sup>2</sup>, RICARDO ALEXANDRE ROSA<sup>4</sup>, ANA FLÁVIA DE CARVALHO<sup>2</sup>

- 1- Graduanda do curso de Medicina Veterinária UNIFEOB, São João da Boa Vista/SP
- 2- Professor do curso de Medicina Veterinária UNIFEOB, São João da Boa Vista/SP
- 3- Professor Titular – Universidade de São Paulo-FMVZ-USP, São Paulo/SP
- 4- Técnico laboratorial UNIFEOB, São João da Boa Vista/SP

**RESUMO:** Os gambás (*Didelphis sp.*) são marsupiais de alta reprodutibilidade, apresentam um período de gestação de aproximadamente 12 dias e uma extensa lactação. Os fetos recebem da mãe altos níveis de carboidrato e lipídios durante a lactação. O objetivo deste trabalho foi descrever a morfologia macro e microscópica dos fígados dos fetos de gambá (*Didelphis sp.*) em diferentes fases do seu desenvolvimento pós-natal. Foi utilizado um animal de idade (5 dias, 15 dias, 22 dias e 35 dias) para a verificação macroscópica e microscópica das estruturas hepáticas e conseqüente comparação com outras espécies domésticas. Os fígados dos animais foram processados e incluídos pelas técnicas de inclusão em parafina. Cada bloco foi cortado e os cortes foram corados com HE, picrossírius, reação histoquímica de PAS com fundo de hematoxilina, azul de toluidina e tricrômio de Masson para a observação das estruturas hepáticas. Os resultados macro e microscópicos indicam um prematuro desenvolvimento da espécie em estágio fetal, semelhante aos animais domésticos e curiosamente há presença de lipidose hepática em todos os animais.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Didelphis sp.*, lipidose hepática, lactação, gambá.

## INTRODUÇÃO

### CARACTERÍSTICA DA ESPÉCIE

Marsupiais são vivíparos, porém diferentes dos eutérios (placentários). Embora se forme uma placenta (cório-vitelina) com saco vitelino, a gestação é muito breve (média entre 12 a 13 dias) e as proles nascem em uma condição extremamente imaturas (o recém nascido do *Didelphis virginiana* mede 12,5 mm de comprimento e pesa 0,13g), portanto a mãe os mantém no marsúpio onde os amamentam e permitem a continuação de seu desenvolvimento, pode-se dizer até que os marsupiais trocam a placenta pelo teto da mãe (CURTIS *et al.*, 2000; BEHRINGER *et al.*, 2006; HULSEY *et al.*, 1975).

Os marsupiais apresentam características que lhes fazem modelos ideais para estudar o desenvolvimento. São diferentes dos mamíferos eutérios em sua modalidade da reprodução e de sua dependência maior do teto e da glândula mamária do que da placenta para o desenvolvimento. Nasce um jovem altricial que termina seu desenvolvimento quando unido fortemente a um teto (papila mamária), geralmente dentro do marsúpio. O neonato marsupial tem os sistemas circulatórios, digestivos e respiratórios bem desenvolvidos, porém as gônadas e genitálias ainda são indiferenciadas (RENFREE *et al.*, 2001).

Para lidar com este prematuro nascimento, os marsupiais neonatos são também precoces para certos aspectos do seu desenvolvimento. Por exemplo, eles têm um suficiente desenvolvimento neuromuscular nos braços e nos ombros para conseguirem mover-se até os tetos da mãe. Eles também podem respirar e realizar a digestão do leite (GARCIA *et al.*, 2007).

### PARTICULARIDADES DA LACTAÇÃO

Tanto os eutérios como os marsupiais possuem uma placenta que transfere nutrientes da mãe para o embrião e remove produtos de excreção do metabolismo do embrião. Os marsupiais têm um curto período de gestação comparado a uma extensa lactação e dão nascimento a filhotes muito imaturos que continuam seu desenvolvimento depois do nascimento no interior de uma bolsa externa no abdome da mãe. Estes marsupiais neonatos podem ser considerados fetos se comparados aos eutérios. Assim, a reprodução de marsupiais investe pouco na gestação, mas uma significativa importância na nutrição pós-natal

na forma de lactação. Na maior parte, esta nutrição pós-natal ocorre com o jovem inicialmente agarrado a um teto dentro da bolsa ou marsúpio localizado na porção ventral do corpo da mãe. Entretanto, não são todas as espécies de marsupiais que possuem bolsas. Em marsupiais sem marsúpio, os jovens também se fixam nos tetos da mãe, mas são diretamente expostos ao meio ambiente (POUGH *et al.*, 2003; BEHRINGER *et al.*, 2006).

Segundo POUGH *et al.* (2003), na origem da lactação, as glândulas mamárias secretavam substâncias (feromônios agregados) sinalizadoras aos filhotes, para que estes reconhecessem a mãe e para que ficassem próximos ao corpo na hora da amamentação.

A composição do leite dos marsupiais muda radicalmente de acordo com os estágios de lactação. No início da lactação, a concentração de carboidrato é alta (50% do total de sólidos). Enquanto que a concentração de lipídios é baixa (15% do total de sólidos), observa-se que há uma inversão das taxas de concentração na mudança de fase da lactação, podendo a concentração de lipídios exceder 60% (SAMOTO, 2003).

No *Monodelphis domestica*, os sólidos contidos no leite aumentam de 9% na primeira semana a um máximo de 34% em 11 semanas após o parto. Há mudanças nas proporções relativas da proteína, do lipídio e carboidrato em estágios diferentes da lactação. O Lipídio representou a maior fração dos sólidos à exceção de um período no meio da lactação quando havia um pico na concentração da proteína. As concentrações de sódio, potássio e magnésio eram relativamente constantes (GREEN *et al.*, 1991).

De acordo com SERNIA *et al.* (1997), os marsupiais recém nascidos não têm a glândula tireóide no nascimento. A glândula se desenvolve quando o jovem marsupial estiver no marsúpio da mãe. O jovem gambá *Trichosurus vulpecula* inicia a secreção de hormônios da tireóide de sua própria glândula em aproximadamente 65 dias após o parto. Entretanto, durante as primeiras três semanas da vida no marsúpio a tiroxina é passada da mãe aos jovens através do leite.

## LIPIDOSE HEPÁTICA

Lipidose hepática é o acúmulo de gordura ou triglicerídeos no citoplasma de hepatócitos. Inicialmente, a gordura é observada em forma de gotículas no citoplasma, essas gotículas podem estar presentes em pequena quantidade ou podem ser numerosas (JONES *et al.*, 2000).

Quando o índice de acumulação de triglicerídeos excede seus índices de degradação metabólica ocorre lipidose hepática. Isso pode ocorrer pela ingestão excessiva de gordura com a alimentação ou pelo aumento na mobilização de triglicerídeos do tecido adiposo (na lactação, períodos de fome e distúrbios endócrinos). Distúrbios endócrinos como hipotireoidismo pode produzir lipidose hepática em várias espécies, sendo a degeneração gordurosa uma manifestação do metabolismo anormal (MACLACHLAN e CULLEN, 1998).

A presença de gordura nem sempre indica um processo patológico. O acúmulo de gordura se acentua em seguida a uma refeição rica em gordura, e também no final da gestação. A hiperlipidemia é um achado de alguns dos distúrbios que levam ao “fígado gordo”, essa alteração é observada em distúrbios como Diabete melito, pancreatite, hiperadrenocorticismo e em animais que ingerem muita gordura (JONES *et al.*, 2000).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para a descrição da morfologia dos fígados de gambá (*Didelphis* sp.), foram utilizados nesta pesquisa 4 animais de diferentes idades e estágios de desenvolvimento (5 dias, 15 dias, 22 dias, 35 dias). Estes animais que foram estudados são provenientes de outro projeto de pesquisa (Iniciação científica) Fapesp, e já estavam mortos e fixados em formaldeído a 10%. Os fígados foram dissecados, descritos e fotografados com câmera fotográfica digital. Para a identificação das características microscópicas, os fígados foram processados e incluídos pelas técnicas rotineiras de inclusão em parafina (TOLOSA *et al.*, 2003). Os blocos e suas diferentes porções foram cortados em um micrótomo Leica RM 2165, com espessura média de 5 µm em cortes seqüenciais. Os cortes foram corados seguindo as técnicas de H.E. (TOLOSA *et al.*, 2003), picrossírius (JUNQUEIRA *et al.* 1979), reação histoquímica de P.A.S. (Ácido periódico de Shiff), com fundo de hematoxilina (LILLIE e FULMER, 1976), azul de Toluidina e tricrômio de Masson (TOLOSA *et al.*, 2003). O material foi analisado, mapeado, e fotografado através de um fotomicroscópio Leica DM 2000 onde será possível então descrever microscopicamente todas as porções dos órgãos desta espécie, contribuindo assim, para os estudos em embriologia animal e um entendimento da lipidose hepática em futuros estudos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### MACROSCOPIA DO FÍGADO

Os jovens gambás de 5, 15 e 22 dias apresentaram o fígado visivelmente desenvolvido e semelhante. O fígado é composto pelo processo caudado do lobo caudado, lobo hepático lateral, lobo hepático medial e vesícula biliar. Não há presença do lobo hepático quadrado. O processo caudado do lobo caudado se curva para a direita em direção lateral. O lobo hepático lateral esquerdo apresenta lobação independente do lobo hepático medial esquerdo e o lobo hepático lateral direito aparece fundido ao lobo hepático medial direito e ao lobo hepático medial esquerdo.

O fígado do gambá de 35 dias de idade é composto pelo processo caudado do lobo caudado, lobo hepático lateral, lobo hepático medial e vesícula biliar. Não há presença do lobo hepático quadrado. O processo caudado do lobo caudado se curva para a direita em direção medial. O lobo hepático lateral esquerdo aparece fundido ao lobo hepático medial esquerdo e o lobo hepático lateral direito apresenta lobação independente do lobo hepático medial direito.

### MICROSCOPIA DO FÍGADO

Histologicamente, os fígados se apresentam PAS positivo em todas as idades devido ao acúmulo de glicogênio intracelular. O fígado de todos os animais estudados possuía a estrutura histológica clássica: cordões hepáticos, veia centro lobular, tríade portal e sinusóides. O achado histopatológico observado foi a presença em todos os animais (5, 15, 22 e 35 dias após nascimento) de vacúolos intracelulares, sugerindo lipidose hepática. Somando-se 13 dias de gestação e mais 5 dias de nascimento, temos 18 dias. Imaginando-se que o fígado é desenvolvido na gastrulação temos aproximadamente 13 a 14 dias para que o metabolismo hepático comece a funcionar. A formação de uma lipidose hepática requer um tempo mais prolongado, porém MACLACHLAN e CULLEN (1998) afirmam que a lipidose hepática pode ocorrer em situações como na lactação e na deficiência dos hormônios tireóideos (SERNIA *et al.* 1997).

Segundo SERNIA *et al.* (1997), os marsupiais recém nascidos não têm a glândula tireóide no nascimento. A glândula se desenvolve quando o jovem marsupial estiver no marsúpio da mãe. O jovem gambá *Trichosurus vulpecula* inicia a secreção de hormônios da tireóide de sua própria glândula em aproximadamente 65 dias após o parto. Entretanto, durante as primeiras três semanas da vida no marsúpio a tiroxina é passada da mãe aos jovens através do leite.

### CONCLUSÃO

Após estes estudos em *Didelphis sp.*, pode-se concluir que macroscopicamente e microscopicamente os fígados dos fetos de diferentes idades (5 dias, 15 dias, 22 dias e 35 dias) assemelham-se com o dos animais domésticos, exceto a ausência do lobo hepático quadrado. A lipidose hepática é uma degeneração gordurosa do fígado que pode ocorrer em diversas ocasiões, como na lactação, na qual é passado para os filhotes, através da amamentação, altos níveis de lipídeos. Este fato parece justificar o achado histopatológico de lipidose hepática em fetos lactentes, porém a lipidose está presente nos animais devido a um fato fisiológico. Portanto, os *Didelphis sp.* possuem uma precocidade no desenvolvimento pós-natal e merecem ser estudados para o melhor esclarecimento da lipidose hepática.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEHRINGER, R. R.; EAKIN, G. S.; RENFREE, M. B. Mammalian diversity: gametes, embryos and reproduction. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 18, p. 99-107, 2006.
- CURTIS, H.; BARNES, N. S.; SCHNEK, A.; FLORES, G. **Biología**. 6.ed. Madrid: Panamericana, 2000. Cap. 34, p. 912-937.
- GARCIA, F. F.; MANÇANARES, C. A. F.; MIGLINO, M. A.; AMBRÓSIO, C. E.; ROSA, R. A.; CARVALHO, A. F. **Estudos bibliográficos relacionados à embriologia do gambá (*Didelphis sp.*)**. 8º encontro de produção acadêmica de medicina veterinária. São João da Boa Vista: Unifeob, 2007.

GRENN, B.; VANDEBERG, J. L.; NEWGRAIN, K. Milk composition in an American marsupial (*Monodelphis domestica*). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 99, n. 3, p. 663-665, 1991.

HULSEY, T. K.; PALOTAY, J. L.; DHINDSA, D. S. Development of the neonate opossum (*Didelphis virginiana*). **Biology of the Neonate**, v. 27, p. 177-183, 1975.

JONES, T. C.; HUNT, R. D.; KING, N. W. **Patologia veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. Cap. 23, p. 1063-1130.

JUNQUEIRA, L. C. V.; BIGNONAS, G.; BRETAN, R. P. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in the tissue sections. **Histochemical journal**, v. 11, p. 447-455, 1979.

LILLIE, R. D.; FULMER, H. M. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 4 ed. New York: McGraw-Hill, 1976. 942 p.

MACLACHLAN, N. J.; CULLEN, J. M. Fígado, sistema biliar e pâncreas exócrino. In: CARLTON, W. W.; GAVIN, M. D. **Patologia veterinária especial de Thomson**. 2.ed. Porto alegre: Artmed, 1998. p. 95-131.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A vida dos vertebrados**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2003. 699 p.

RENFREE, M. B.; PASK, A. J.; SHOW, G. Sex down under: the differentiation of sexual dimorphism during marsupial development. **Reproduction, Fertility and Development**, v. 13, n. 7-8, p. 679-690, 2001.

SAMOTO, V. Y. **Estudo morfofuncional das glândulas mamárias de *Didelphis sp*, associadas ao modelo de estudo marsupial**. 38p. Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) – Fundação de Ensino Octávio Bastos, Faculdade de Medicina Veterinária, São João da Boa Vista, 2003.

SERNIA, C.; ZENG, T.; GEMMELL, R. T. Ontogeny of thyroid hormone receptors in the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). **Reproduction, Fertility and Development**, v. 9, n. 5, p. 489-492, 1997.

TOLOSA, E. M. C.; RODRIGUES, C. J.; BEHMER, O. A.; NETO, A. G. F. **Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patológica**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2003. 331 p.