



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE  
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE  
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

THATIANY LOUISE CARLOS DE CARVALHO MAURÍCIO

**Histologia hepática com ênfase nas células de kupffer do *Leptodactylus macrosternum* (Anura: Leptodactylidae)**

CUITÉ/PB

2016

THATIANY LOUISE CARLOS DE CARVALHO MAURÍCIO

Histologia hepática com ênfase nas células de kupffer do *Leptodactylus macrosternum* (Anura: Leptodactylidae)

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Centro De Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

**Orientador:** Professor: MSc. Márcio Frazão Chaves

CUITÉ/PB

2016



Biblioteca Setorial do CES.

Junho de 2021.

Cuité - PB

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE  
Responsabilidade Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

M455h Maurício, Thatiany Louise Carlos de Carvalho.

Histologia hepática com ênfase nas células de Kupffer do *Leptodactylus macrosternum* (ANURA: *Leptodactylidae*). / Thatiany Louise Carlos de Carvalho Maurício. – Cuité: CES, 2016.

34 fl.

Monografia (Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas) – Centro de Educação e Saúde / UFPG, 2016.

Orientador: Márcio Frazão Chaves.

1. Anfíbios. 2. Células de Kupffer. 3. Morfometria. 4. Hepatossomático. 5. Caatinga. I. Título.

Biblioteca do CES - UFPG

CDU 59

THATIANY LOUISE CARLOS DE CARVALHO MAURÍCIO

**Histologia hepática com ênfase nas células de kupffer do *Leptodactylus macrosternum* (Anura: Leptodactylidae)**

Monografia apresentada ao Curso de Ciências Biológicas do Centro De Educação e Saúde da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito obrigatório para obtenção do Grau de Licenciada em Ciências Biológicas.

Aprovada em \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>o</sup>. MSc. Márcio Frazão Chaves (Orientador)

---

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Michelle Gomes Santos

---

Givanilson Brito de Oliveira

MSc Givanilson Brito Oliveira

Dedico meu trabalho de conclusão de curso aos meu pais, José Wellington e Rita Carlos. E aos meus irmãos, Ana Thatiely e Rondinely Carlos. Os amo incondicionalmente!

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu bom Deus misericordioso, que me amparou principalmente nos momentos em que mais precisei, quando minha mente e meu corpo estavam enfraquecidos, Deus foi a minha força.

Agradeço imensamente a minha família, ao meu generoso e lindo pai, José Wellington, por todo incentivo e investimento, a minha linda e doce mãe, Rita Carlos, por todos os conselhos, e sempre se fazendo presente no meu dia-a-dia, mesmo na distância.

Aos meus adorados irmãos, Ana Thatiely e Rondinely Maurício, que sempre foram meus protetores, muito me ajudaram no decorrer da minha formação como pessoa, como também no decorrer da minha graduação, hoje me espelho neles. Aos meus três amados sobrinhos João Victor, Antônio Neto e Ana Sofia, eles me incentivam a ser um ser humano melhor e tão puro quanto eles.

Aos meus colegas e amigos da turma de Ciências Biológicas 2012.1, pelo convívio durante esses quatro de curso.

Em máxima à minha segunda família, Gêssica Tavares (Gess), Sabrina Kayne (Brinas), Joseph Neves (Joow) e Morgana Gomes (Morga), longe de casa foi com eles que dividi momentos únicos, surreais de descobertas, lições, apoio, sorrisos e lágrimas, lembrarei sempre das noites em claro estudando e tomando sempre um bom café quente, até de quando nos reuníamos simplesmente para conversar, tocar violão e beber um bom vinho gelado, de ir e voltar sempre juntos para a universidade, ou seja, para onde quer que um fosse os outros iriam junto, comigo levarei para sempre nosso laço de amizade e o melhor abraço coletivo do mundo. Agradeço imensamente a cada um dos quatro, por terem feito parte da melhor fase da minha vida, e isso só foi possível por que estiveram sempre comigo.

Meu agradecimento também ao meu amigo, companheiro e amor Navarro Nunes, com quem dividi diariamente momentos difíceis e felizes, que sempre esteve ao meu lado me apoiando, me incentivando e aplaudindo minhas vitórias. Agradeço cada conselho, toda preocupação e paciência. Com ele ao meu lado o percurso se fez mais leve.

Ao meu orientador Márcio Frazão Chaves, por ter me aceito na equipe do projeto LABAN, aos meus colegas “sapólogos” Leomyr Sângelo, Alexsandra Simões, Dyego Costa, Thais Henrique, Jhonantan Freire, Joseph Neves, Sabrina Kayne, Morgana Gomes, Luan Medeiros e Lucas Araújo, com quem compartilhei momentos em laboratório e em campo, que renderam grandes frutos de pesquisa e de risadas.

A Professora Caroline Zabendzala que é uma pessoa íntegra e iluminada, foi bem mais que uma professora, desde o primeiro período, no Yoga de toda semana, no convívio diário devido ao Projeto de Extensão Restauração do Horto Florestal Olho D'água da Bica, subprojeto em Trilhas Interpretativas, que fiz parte junto a uma maravilhosa equipe, em particular à Gisliane Kallyne, Dioginys César, Amanda Dias e Dayane Medeiros, com eles dividi memoráveis momentos de constante alegrias e descontração às sextas à noite no meu apartamento regado com muita música e arte! (sem esquecer dos agregados que participavam das nossas reuniões, Rayran Praxedes e Ruana Carolina, vocês são Urban!).

À todos os profissionais que compõem o Centro de Educação e Saúde, desde os jardineiros por serem sempre muito cordiais e prestativos, principalmente Iraildo, Edilson e Antônio, os vigias e porteiros sempre preocupados com a minha segurança e de todos, em especial a Fabinho e Seu Vital, aos técnicos do Laboratório de Biossistemática de Anuros que me auxiliaram diversas vezes, especialmente Fernanda e Giva que sempre me ajudaram não só na parte técnica no laboratório, mas também com palavras amigas de incentivo. A cada professor que contribuiu diretamente com a minha formação de caráter e profissionalismo, sobretudo aos docentes que fizeram parte da minha trajetória, Caroline Zabendzala, Marcus Lopes, Michelle Santos, Marisa Apolinário, Francisco Victor, Carina Scanoni, Maria Franco, Flávia Lins, Renato Cristiano, Júlia Beatriz e Eron Neves.

*“Porque eu, o Senhor teu Deus, te tomo pela mão direita, e te digo: Não temas, eu te ajudo”*

*- Isaías 41:13 -*



## RESUMO

Os anfíbios são animais de extrema importância nas relações ecológicas, permitindo o equilíbrio nas condições de sobrevivência de incontestáveis espécies. A família Leptodactylidae é amplamente distribuída pelas Américas e bastante diversificada. É representada por cinco gêneros, sendo *Leptodactylus* o mais representativo com 88 espécies. O *Leptodactylus macrosternum* é uma rã de médio porte que tolera uma ampla gama de habitats, sendo encontrada tanto em ambientes de florestas tropicais úmidas e áreas abertas, como em ambientes de savana e campos. O fígado é o segundo maior órgão do corpo e a maior glândula. É um órgão no qual os nutrientes absorvidos no trato digestivo são processados e armazenados para utilização por outros órgãos. Portanto esse trabalho tem como objetivo geral analisar os aspectos histomorfológicos do fígado de *Leptodactylus macrosternum*. Os fígados são provenientes dos animais coletados da cidade de Catolé do Rocha-PB, os quais foram fixados em formol, permanecendo no mesmo por 24 horas. Posteriormente, o órgão foi clivado, obtendo-se fragmentos, os quais em seguida foram desidratados em álcool etílico (concentrações crescentes), diafanizados pelo xilol, impregnados e incluídos em parafina. Em sequência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração histológica Hematoxilina-Eosina, analisados em microscópio de luz, da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50. A análise morfométrica do fígado, utilizando uma quadrícula com 100 pontos-teste foi realizada, colocada sobre os cortes das lâminas histológicas coradas pela Hematoxilina-Eosina. A contagem foi feita nas lâminas preparadas, onde foram contados 10 campos, utilizando a objetiva de 40x. Todos os dados foram analisados por meio de testes não paramétricos de Kruskal-Wallis com o post hoc de Dunn ( $p < 0,05$ ). Os resultados aqui apontados demonstram esta dependência entre a Relação Hepatosomática (RWL) de *Leptodactylus macrosternum* e a variação climática da área de estudo. Contudo, o regime de chuvas não interferiu significativamente na concentração das células de Kupffer. Já a variação de temperatura da área demonstrou ser mais significativa na distribuição destas células no tecido hepático. As funções do fígado podem mudar de acordo com a temperatura animal.

**Palavras-Chave:** Anfíbios, Células de Kupffer, Morfometria, Hepatossmática, Caatinga.

## ABSTRACT

The amphibians are extremely important animals in ecological relationships, allowing the balance in conditions of survival for incontestable species. The Leptodactylidae is broadly distributed by the America's and very diverse. It is represented by five genres, being the Leptodactylus the most representative with 88 species. Leptodactylusmacrosternum is a frog of medium postage that tolerates a large gamma of habitats, being found both in enviroments of wet tropical florests and open areas, like in environment of savana and fields. The liver is the second largest organ of the body and is the largest gland. Is the organ in which the nutrients absorved in the gastro intestinal tract are processed and stored to be utilized by other organs. Therefore this study have as general objective analyze the histomorphological aspects of the liver of Leptodactylusmacrosternum. The livers are from animalscolected in the city of Catolé do Rocha-PB, which were fixated in formalin, remained on it for 24 hours. Posteriorly, the organ was cleaved,obtained fragments, then they were dehydrated in etilic alcohol (increasing concentrations), diaphanized by xylene, impregnated and included on paraffin. Then the cuts have been submitted to a hematoxylin-eosin coloration histologic technique, analized on microscope of light, of brand OLYMPUS BX-49 and photographed on a photomicroscope OLYMPUS BX-50. The morfometric analysis of the liver, was performed using a quadricule with 100 test points, placed under the histologic cuts colored by ematoxylin-eosin. The count was made from the prepared blades, where were counted 10 fields, using the 40x objective. All the data were analized by non parametric tests of Kruskal-Wallis with the post hoc of Dunn ( $P((0,05)$ ). The results here pointed have demonstrated this dependency between the hepatosomatic relation (RWL) of Leptodactylusmacrosternum and the climatic variation of the area of study. however, the rain regime have not interfered significantly on the concentration of kupffer cells. Already the temperature variation of the area of study have shown have been more significative on the distribution of these cells on the hepatic tissue. thefuncions of the liver can change acording to the animal's temperature.

**Key-words:**Amphibians; Kupffer cells; Morphometry; hepatosomatic; Caatinga.

## LISTA DE SIGLAS

<b>AESA</b> -	Agência Executiva de Gestão das Águas do Estado da Paraíba
<b>Dc</b> -	Densidade celular
<b>H&amp;E</b> -	Hematoxilna Eosina
<b>IBAMA</b> -	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
<b>LABAN</b> -	Laboratório de Biossistemática de Anfíbios
<b>PC</b> -	Peso Corporal
<b>RWL</b> -	Relação Hepatossomática

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - <i>Leptodactylus macrosternum</i> , coletado nos meses de novembro de 2013 à junho de 2014, município Catolé do Rocha.....	21
<b>Figura 2</b> - <i>Leptodactylus macrosternum</i> , indivíduo eutanasiado, para coleta de dados biométricos.....	21
<b>Figura 3</b> -Análise Histológica do <i>Leptodactylus macrosternum</i> .....	24

## LISTA DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1</b> - Média e desvio padrão da Densidade das células de Kupffer.....	25
<b>Gráfico 2</b> - Relações entre a Densidade das células de Kupffer e a variação da Pluviosidade de <i>Leptodactylus macrosternum</i> .....	26
<b>Gráfico 3</b> - Relações entre a Densidade das células de Kupffer e a variação da Temperatura de <i>Leptodactylus macrosternum</i> .....	26
<b>Gráfico: 4</b> - Relações entre a Relação Hepatossomática (RWL) e a variação da Pluviosidade de <i>Leptodactylus macrosternum</i> .....	27
<b>Gráfico 5</b> - Relações entre a Relação Hepatossomática (RWL) e a variação da Temperatura de <i>Leptodactylus macrosternum</i> .....	27

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	14
<b>1.OBJETIVOS</b> .....	16
1.1 OBJETIVO GERAL .....	16
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
<b>2. HIPÓTESE</b> .....	17
<b>3. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	18
3.1 Ordem Anura .....	18
3.2 A espécie.....	19
3.3 Biologia de anuros na caatinga .....	19
3.4 Morfologia do Fígado .....	20
<b>4.MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	22
4.1 Coleta dos animais .....	22
4.2 Preparação dos cortes histológicos do fígado .....	23
4.3 Análise morfométrica do fígado .....	23
4.4 Dados climáticos.....	24
4.5 Análise dos dados .....	24
<b>5.RESULTADOS</b> .....	25
<b>6.DISSCUSSÃO</b> .....	30
<b>7.CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	31
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	32

## 1. INTRODUÇÃO

Devido às características particulares apresentadas neste ecossistema, estudos sobre a história, ecologia e evolução dos anfíbios na caatinga, são extremamente necessários no auxílio do entendimento dos padrões de distribuição e principalmente ocupação de nicho de anuros em áreas abertas RODRIGUES, (2003).

*L. macrosternum* é uma espécie generalista e bem adaptada a áreas perturbadas, apresenta um grande porte em relação às outras espécies que ocorrem no Brasil sendo utilizada para fins de produção, como alternativa ao uso de espécies exóticas na ranicultura Riva, de L. e Maldonado, (1999). Assim, este trabalho adotou a espécie *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) como modelo biológico para a interpretação da dinâmica energética de anuros em região da caatinga do Estado da Paraíba. Os anfíbios são animais de extrema importância nas relações ecológicas, permitindo o equilíbrio nas condições de sobrevivência de incontestáveis espécies Vieira (2007).

O fígado é o segundo maior órgão do corpo e a maior glândula, desempenhando um importante papel na estocagem de nutrientes para utilização por outros órgãos (Hipólito, 2001). Nos vertebrados, desempenha um importante papel nos processos de estocagem de nutrientes, sendo desta forma o principal órgão envolvido no metabolismo energético animal, sendo a maior glândula dos vertebrados HILDEBRAND; GOSLOW, (2006). Está localizado na parte superior da cavidade abdominal, tendo como funções a liberação e regulação de substâncias químicas no organismo, armazenamento de substâncias, secreção de bile e desintoxicação (HILDEBRAND; GOSLOW, 2006).

O arranjo do tecido hepático está diretamente relacionado com as características fisiológicas do animal, tais como ectotermia e reprodução Bruslè e Anadon, (1996), relacionados principalmente com a mobilização das reservas energéticas necessárias para o processo de reprodução como também de preparação para um período de baixa disponibilidade alimentar NAVARRO et al, (2005).

Em áreas de caatinga, o padrão de distribuição de chuvas determina a atividade energética dos anfíbios anuros. Durante a estiagem, as espécies de anuros que ocorrem nesta região apresentam adaptações fisiológicas e comportamentais às variações térmicas, de escassez de alimentos e água nos corpos aquáticos PRADO et al., (2000); Bertoluci; Rodrigues, (2002).

A caatinga ocupa aproximadamente 800.000 Km<sup>2</sup>, sendo marcado pelo clima semiárido, que se caracteriza pela imprevisibilidade da distribuição temporal e espacial das

chuvas, agravado por temperaturas anuais elevadas e relativamente constantes, variando entre 24°C e 29°C (RODRIGUES, 2003); (ABSABER, 2005). Os totais de precipitações variam muito anualmente em intervalos de dez a vinte anos, diminuindo para menos de metade da média (menos d//e 1.000 mm por ano) VELLOSO et al,(2002). Devido às características particulares apresentadas pelo bioma, estudos sobre a ecologia e evolução dos anfíbios nessas áreas, são extremamente necessários para auxiliar no entendimento dos padrões de distribuição das espécies que habitam nesse ecossistema RODRIGUES, (2003).

Os estudos sobre os anuros são essenciais para a formulação de boas estratégias de conservação. Tais estudos fornecem informações cruciais sobre a história de vida desses animais, suas atividades diárias e energia que precisam para realizá-las, dessa forma, identificando as flutuações na população e os efeitos da modificação do habitat sobre elas.



## 2.OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

- Analisar histomorfometricamente o fígado de *Leptodactylus macrosternum* (ANURA, LEPTODACTILIDAE), correlacionando as populações de células de Kupffer com o período climático.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar a relação hepatossomática dos indivíduos, comparando-os com a variação climatológica da área (Temperatura e Pluviosidade);
- Analisar morfometricamente o fígado de *L. macrosternum*;
- Analisar histologicamente o fígado de *L. macrosternum*;

### 3. HIPÓTESE

Espera-se que as mudanças nos padrões ecológicos observados nos anuros durante as variações climáticas em áreas de caatinga podem acometer mudanças na concentração de algumas células hepáticas presentes no fígado dos anuros, relacionados principalmente com os processos de estocagem de energia.

## 4. REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 Ordem Anura

Os anuros em relação a sua distribuição são amplamente diversos e distribuídos em todo o mundo (WELLS, 2007); (POUGH et al., 2008); (FROST, 2013). Esses organismos apresentam uma pele permeável e em sua grande maioria possuem dois estágios no seu ciclo de vida, (BECKER et al., 2007). Devido a esse conjunto de características os anuros são considerados um excelente modelo para os estudos ecológicos (DUELLMAN & TRUEB, 1994); (PARRIS, 2004); (NAVAS & OTANI, 2007); (WELLS, 2007), já que o principal objetivo desses é a relação entre os grupos de organismos e o ambiente (BEGON et al., 2007); (KELLER et al., 2009), os tornando como alvos de interesse e preocupações (HOFFMANN et al., 2010).

Os anfíbios são animais de extrema importância nas relações ecológicas, permitindo o equilíbrio nas condições de sobrevivência de incontestáveis espécies. No entanto, Vieira (2007), diz que o conhecimento sobre a diversidade de grande parte destes grupos de organismos nos maiores biomas brasileiros é insuficiente, e estes encontram-se com uma das mais altas taxas de declínio em seus níveis de riqueza nos diversos biomas do mundo (STUARD et al., 2004). Relaciona-se a este fato as crescentes alterações climáticas, a intensa destruição de seus habitats naturais, além das doenças infecciosas provenientes dos altos graus de poluição, espécies invasoras, radiação ultravioleta e o comércio ilegal de animais silvestres (YOUNG et al., 2004).

No mundo são conhecidas atualmente 7.298 espécies de anfíbios, destas 6.416 são da Ordem Anura FROST, (2014). Para o Brasil são conhecidas 913 espécies de anuros distribuídas em 19 famílias SEGALLA, (2012) SBH, o que torna o país mais diverso do mundo para o grupo. Apesar de alguns autores, como por exemplo Stuart et al.(2004), considerarem as regiões interioranas escassas em conhecimento sobre determinadas espécies, Rodrigues (2000), considera que o bioma caatinga representa de modo geral, um dos mais bem amostrados em relação a sua fauna de répteis e anfíbios, entre os demais domínios morfoclimáticos brasileiros.

O referido autor relata que para este bioma são conhecidos 48 espécies de anuros. Contudo, sabe-se que este número pode ter aumentado muito na última década, tendo em vista que novas espécies são descobertas constantemente. No estado da Paraíba, o referido autor relatou a presença de 19 espécies típicas de caatinga distribuídas em 7 famílias, Vieira et

al.(2007) registraram 16 espécies de anuros para a região do Cariri Paraibano e mais recentemente Abrantes et al., (2011), publicou o registro de 17 espécies para a região do Curimataú Paraibano.

#### 4.2 A espécie

A família Leptodactylidae é amplamente distribuída pelas Américas e bastante diversificada. É representada por cinco gêneros, sendo *Leptodactylus* o mais representativo com 88 espécies (Frost, 2004); (Ponssa e Heyer, 2007).

*Leptodactylus macrosternum* é uma rã de médio porte que tolera uma ampla gama de habitats, sendo encontrada tanto em ambientes de florestas tropicais úmidas e áreas abertas, como em ambientes de savana, campos e áreas secas (HEYER et al., 2008). Apresenta uma coloração olivácea que permite sua fácil camuflagem no ambiente natural, adequando-se mais facilmente na estratégia de forrageio denominada “senta-espera” (HUTCHINS et al., 2003), onde o predador espera imóvel a presa ocasionalmente passar. Esses animais estão também adaptados às modificações e perturbações do ambiente, podendo ser encontrados em áreas urbanas e habitats de florestas secundários (HEYER et al., 2008).

Esta espécie ocorre em praticamente toda a América do Sul, ocupando corpos d’água permanentes ou temporários, sejam eles lagoas, riachos ou charcos, mas apesar dessa ampla distribuição, poucos estudos ecológicos tem sido realizados em relação a esta espécie (TEIXEIRA e VCIBRADIC, 2003). A referida espécie possui populações bastante expressivas em número, com uma intensa atividade forrageadora, explorando diversos ecossistemas e sendo um importante componente na cadeia trófica (LAJMANOVICH, 1996).

#### 4.3 Biologia de anuros na caatinga

A Caatinga, domínio predominante da região nordestina que abrange aproximadamente 800.000 km<sup>2</sup> de 10 estados do território brasileiro (IBGE, 1985), apresenta um ambiente inverso aos florestados, com clima seco, escassez de água e elevadas temperaturas (AB’SÁBER 1977). É característico e único na sua complexidade quanto à fauna e flora sobreviventes ali, surpreendentemente adaptadas.

A Caatinga é um tipo vegetacional semi-árido único, ocorrendo somente no Brasil Sampaio (1995), Aguiar et al. (2002), MMA (2002) quase que exclusivamente na região Nordeste. É a quarta maior formação vegetacional do Brasil, após a Amazônia, o Cerrado e a

Mata Atlântica Aguiar et al. (2002), cobrindo cerca de 800.000 km<sup>2</sup> do território brasileiro MMA (2002), incluindo ca.82.000 km<sup>2</sup> (82,88%) do Estado de Pernambuco Huec (1972), o que corresponde a quase 50% da região Nordeste e 8,6% do País. Recentemente a Caatinga foi reconhecida como uma das 37 “Grandes Regiões Naturais do Mundo” Gil (2002).

A Caatinga apresenta o clima tipo semi-árido que gira em torno de 25°C a 29°C de temperatura, onde a estação da seca em geral é entre 7 a 10 meses, tendo uma precipitação anual em áreas de planície de no máximo 800 mm e nas áreas mais elevadas, 800 a 1.200 mm, a sua área está estimada em 850 mil km<sup>2</sup> compondo 11% do território nacional MAGALHÃES, (2012).

Devido às características particulares apresentadas neste ecossistema, estudos sobre a história, ecologia e evolução dos anfíbios na caatinga, são extremamente necessários no auxílio do entendimento dos padrões de distribuição e principalmente ocupação de nicho de anuros em áreas abertas RODRIGUES, (2003).

#### 4.4 Morfologia do Fígado

O fígado é o segundo maior órgão do corpo e a maior glândula. É um órgão no qual os nutrientes absorvidos no trato digestivo são processados e armazenados para utilização por outros órgãos. JUNQUEIRA & CARNEIRO, (2008).

A sua anatomia se distingue em três lobos principais, o lobo direito, o lobo esquerdo e o lobo médio, os quais são constituídos por células denominadas de hepatócitos. Essas células hepáticas são as principais células que constituem o fígado. Possuem um núcleo central arredondado com um ou dois nucléolos. Os hepatócitos estão distribuídos em placas, como um “muro”, essas placas possuem células denominadas células de Kupffer, que tem uma morfologia estrelada com um núcleo oval e atuam como macrófagos. (GARTNER; HIAT, 2003; GUYTON, 2002; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2004).

As células de Kupffer são encontradas na superfície luminal das células endoteliais, e suas principais funções são: metabolizar eritrócitos velhos, digerir hemoglobina, secretar proteínas relacionadas com processos imunológicos e destruir bactérias que eventualmente penetrem no sangue portal a partir do intestino grosso. As células de Kupffer constituem cerca de 15% da população celular no fígado e são corados com hematoxilina e eosina (H&E).

Em anfíbios, as Células de Kupffer residentes no fígado também são conhecidas como Melanomacrófagos. (SICHEL et al., 1997; ZUAST et al.,1998; PRELOVSEK e BULOG,

2003). As células de Kupffer não eram incluídas na classificação de célula pigmentar, pois acreditava-se que os macrófagos presentes no fígado apenas fagocitavam os melanosomas, e não os sintetizavam (FITZPATRICK et al., 1966). Entretanto, análises sobre a função melanogênica das células pigmentares no fígado de *Xenopus laevis* SICHEL et al., (1997), *Rana esculenta* (SICHEL et al., 1997 e GALLONE et al., 2002) e *Proteusanguinus* (PRELOVSEK e BULOG, 2003) demonstraram que há melanogênese, e segundo Barni et al., (1999) e (2002), esta atividade de melanos síntese em *R. esculenta* pode variar de acordo com a sazonalidade. (ZIERI, 2010).

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 COLETA DOS ANIMAIS

#### CAMPO

Foram utilizados 41 espécimes machos e fêmeas de *Leptodactylus macrosternum* (figura 1), procedente do município de Catolé do Rocha – PB. Com prévia autorização do IBAMA cujo número para habilitação de coleta é: 44134-1. Os animais foram coletados durante os meses de Novembro de 2013 à Junho de 2014.

#### LABORATÓRIO

Após, os indivíduos capturados foram eutanasiados através de hiperdosagem do anestésico Lidocaína 5%, e posteriormente foram coletados dados biométricos, e o massa total (g), (figura 2). Com a utilização de materiais cirúrgico-oftalmológicos, o fígado foi removido e pesados em balança analítica de precisão (0,001g).

Os valores de peso corporal (WT) e peso do fígado (WL) foi utilizado para o cálculo da relação hepatossomática [ $RWL=WH (100)/WT$ ] (VAZZOLER, 1982).

**Figura 1** – *Leptodactylus macrosternum*, coletado nos meses de novembro de 2013 à junho de 2014, município Catolé do Rocha – Sítio Cajueiro

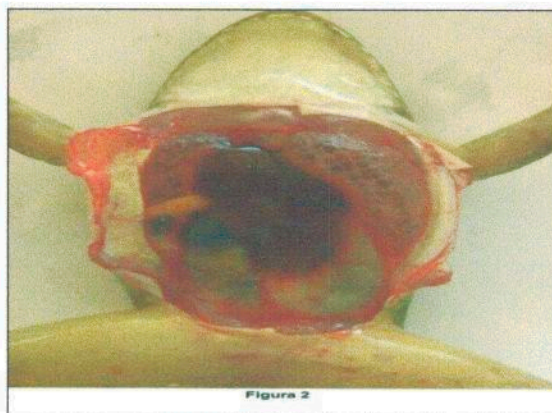


Figura 1

Fonte Dyego Costa

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE

**Figura 2** – *Leptodactylus macrosternum*, indivíduo eutanasiado, para coleta de dados biométricos.



Fonte Dyego Costa

## 5.2 PREPARAÇÃO DOS CORTES HISTOLÓGICOS DO FÍGADO

Após a sua retirada, os fígados foram clivados, obtendo-se fragmentos, os quais se submeteram à técnica de inclusão com parafina, os quais em seguida foram desidratados em álcool etílico (concentrações crescentes), Em seguida, os blocos foram seccionados em micrótomo do tipo Minot (Leica RM 2035) ajustado para 3  $\mu$ m, os cortes foram feitos no laboratório da Universidade Federal de Campina Grande. Os cortes assim obtido foram colocados em lâminas previamente untadas com albumina de Mayer e mantidos em temperatura ambiente, durante 24 horas, para secagem e colagem. Em sequência, os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (H.E), analisados em microscópio de luz, da marca OLYMPUS BX-49 e fotografados em fotomicroscópio OLYMPUS BX-50.

## 5.3 ANÁLISE MORFOMÉTRICA DO FÍGADO

Para a análise morfométrica foi determinada a quantidade de células de Kupffer em preparações coradas pela hematoxilina-eosina. Para tanto, utilizou-se uma gráticula com 100 pontos-teste, colocada sobre os cortes das preparações histológicas coradas pelo Hematoxilina-eosina. A contagem foi feita em quarenta e cinco lâminas selecionadas de acordo com o período de coleta de maneira que foram contados 10 campos aleatórios, utilizando-se a objetiva de 40x.



#### 5.4 DADOS CLIMÁTICOS

Os dados meteorológicos mensais de temperatura (°C), e pluviosidade (mm) foram adquiridos através do banco de dados do Centro de Agência Executivos de Gestão de Águas do Estado da Paraíba (AESAs).

#### 5.5 ANÁLISE DOS DADOS

A normalidade dos dados foi testada por Shapiro-Wilk. Os resultados obtidos para as variáveis Peso do animal, tamanho do animal, Relação Hepatosomática e quantidade de células de Kupffer presentes no fígado ao longo dos meses de coleta foram submetidos à comparação entre os sexos e mensal, pela aplicação do teste não paramétrico Kruskal-Wallis com *post-hoc* de Dunn.

A dependência das variáveis biológicas e variáveis climáticas (pluviosidade e temperatura) da área de estudo foi testada através da análise de regressão linear múltipla *stepwise* (backward). O nível de significância de 0,05 foi estabelecido para todos os tratamentos estatísticos citados (Zar, 1999). A análise estatística dos resultados foi realizada no programa computacional Past 3.0 (Oyvind Hammer, 2001).

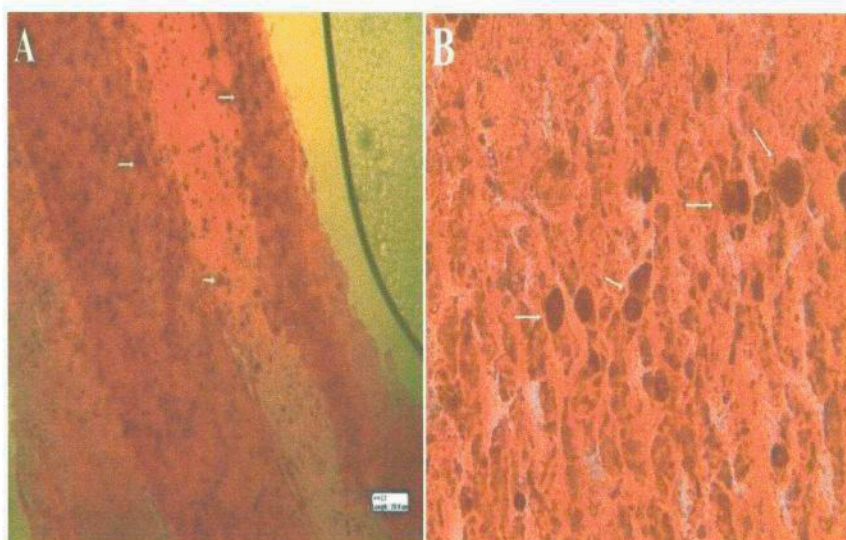
## 6. RESULTADOS

Foram coletados 41 indivíduos de *L. macrosternum* (08 machos e 33 fêmeas) distribuídos entre os meses de outubro (11 exemplares- 00 machos e 11 fêmeas), novembro (10 exemplares- 04 machos e 06 fêmeas), dezembro (03 exemplares- 02 machos e 01 fêmea) de 2013, fevereiro (04 exemplares- 01 macho e 03 fêmeas), abril (03 exemplares- 01 macho e 02 fêmeas), maio (07 exemplares - 00 macho e 07 fêmeas) e junho (03 exemplares - 00 macho e 03 fêmeas) de 2014. Nos meses de janeiro e março de 2014 não foram avistados indivíduos de *L. macrosternum* durante as saídas de campo.

O Fígado do *L. macrosternum* possui formato irregular, é um órgão avermelhado e ocupa uma grande porção da cavidade do corpo, cobrindo os remanescentes órgãos da cavidade, exceto o coração. As células de Kupffer possuem uma morfologia estrelada com um núcleo oval e atuam como macrófagos. O fígado é um órgão muito importante para o corpo, muito bem vascularizado e do tipo sinusoides, ou seja, capilares possui mais perfurações afim de facilitar as trocas de substância nesse órgão.

As células de Kupffer são encontradas na superfície luminal das células endoteliais e constituem cerca de 15% da população celular no fígado Junqueira & Carneiro (2004).

**Figura 3** – Análise Histológica do *Leptodactylus macrosternum*. A - Células de Kupffer em grande quantidade, objetiva de 40x, (setas). B - Células de Kupffer em maior aumento, imagem panorâmica, (setas).



Fonte: Dados da pesquisa, 2016

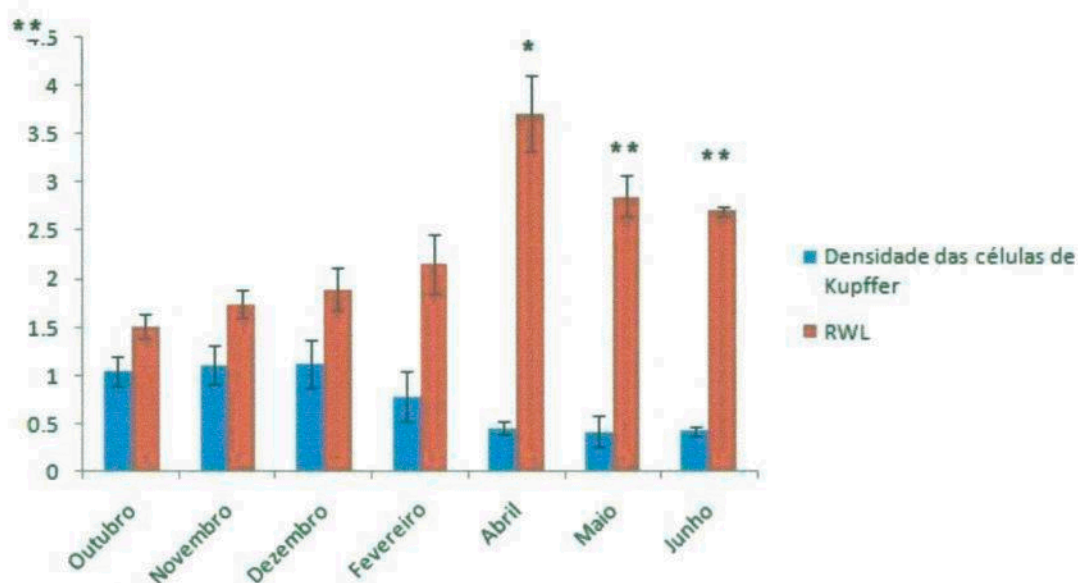
UFMG/BIBLIOTECA

Ao longo do período de coleta, os animais coletados não apresentaram variações significativas ( $p < 0,05$ ) entre as densidades das células de Kupffer. Contudo os maiores valores para este parâmetro foram verificados nos meses iniciais de coletas (outubro -  $1,04 \pm 0,15$ ; novembro -  $1,11 \pm 0,2$ ; dezembro -  $1,12 \pm 0,24$ ). Os menores valores para este parâmetro foram verificados no mês de maio ( $0,42 \pm 0,16$ ). O mês de junho de 2014 ( $0,43 \pm 0,04$ ) seguidos dos meses de abril ( $0,46 \pm 0,06$ ) e fevereiro ( $0,78 \pm 0,25$ ) de 2014 (Figura 1).

A variação da relação Hepatossomática RWL apresentou variações significativas entre os meses de coleta. O mês de abril de 2014 apresentou significativamente os maiores valores entre os meses amostrados ( $3,15 \pm 0,38$ ;  $p=0,04$ ) seguidos dos meses de maio ( $2,86 \pm 0,21$ ;  $p=0,03$ ) e junho ( $2,71 \pm 0,04$ ;  $p=0,04$ ) de 2014. Os demais meses amostrados (outubro-  $1,51 \pm 0,12$ ; novembro-  $1,74 \pm 0,14$ ; dezembro-  $1,89 \pm 0,22$  de 2013 e fevereiro-  $2,15 \pm 0,13$  de 2014- Gráfico 1).

**Gráfico 1** – Média e desvio padrão da Densidade das células de Kupffer - BARRA AZUL e da Relação Hepatossomática (RWL) - BARRA VERMELHAS de *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) no município de Catolé do Rocha- PB, no período de outubro a dezembro de 2013 e fevereiro a junho de 2014.

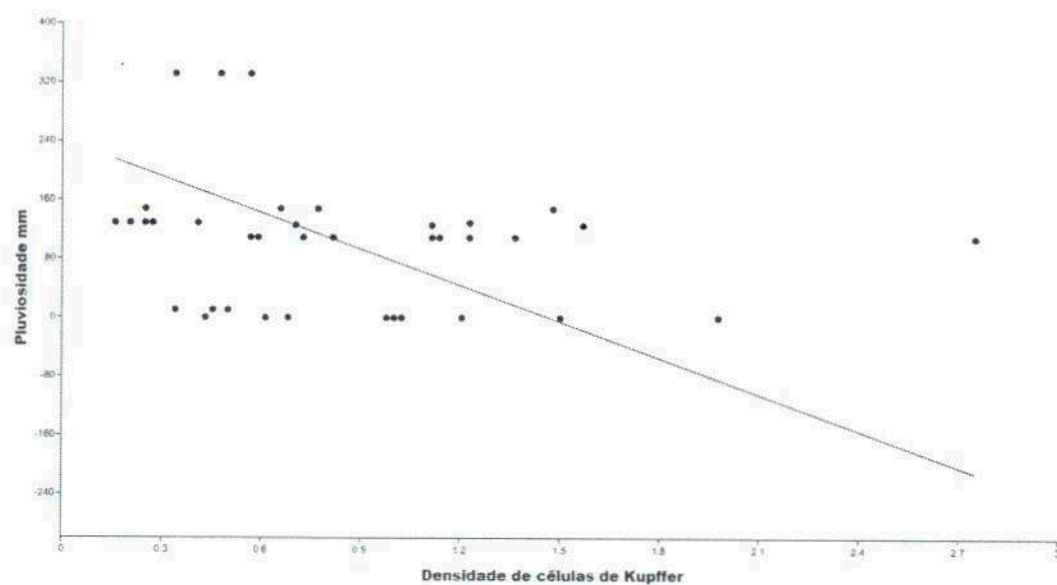
\*Representa diferença significativas entre os valores.



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

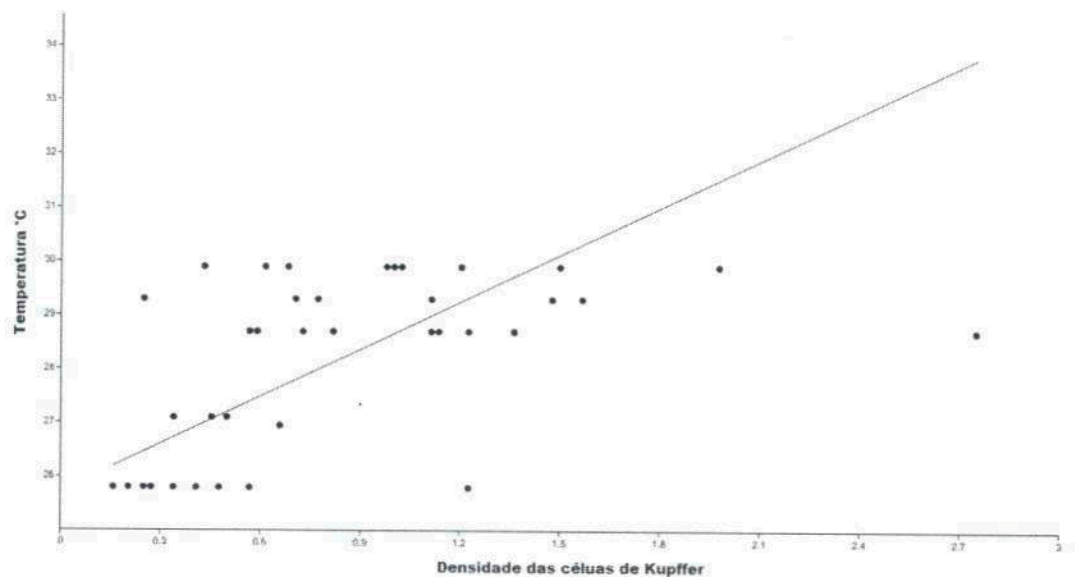
Não foram observadas relações significativas entre a variação do regime de chuvas e densidade das células de Kupffer ( $R^2= 0,04$ ;  $p=0,2$ ; Gráfico 2). Em contra partida, foram observadas relações significativas entre este parâmetro com a variação de temperatura da área ( $R^2= 0,04$ ;  $p=0,01$ ; Gráfico 3). Os valores da Relação Hepatosomática (RWL) apresentaram relações significativas com o regime de chuvas ( $R^2= 0,04$ ;  $p=0,01$ ; Gráfico 4) bem como com a variação de temperatura da região ( $R^2= 0,6$ ;  $p=0,01$ ; Gráfico 5).

**Gráfico 2** – Relações entre a Densidade das células de Kupffer e a variação da Pluviosidade de *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) no município de Catolé do Rocha-PB, no período de outubro a dezembro de 2013 e fevereiro a junho de 2014.



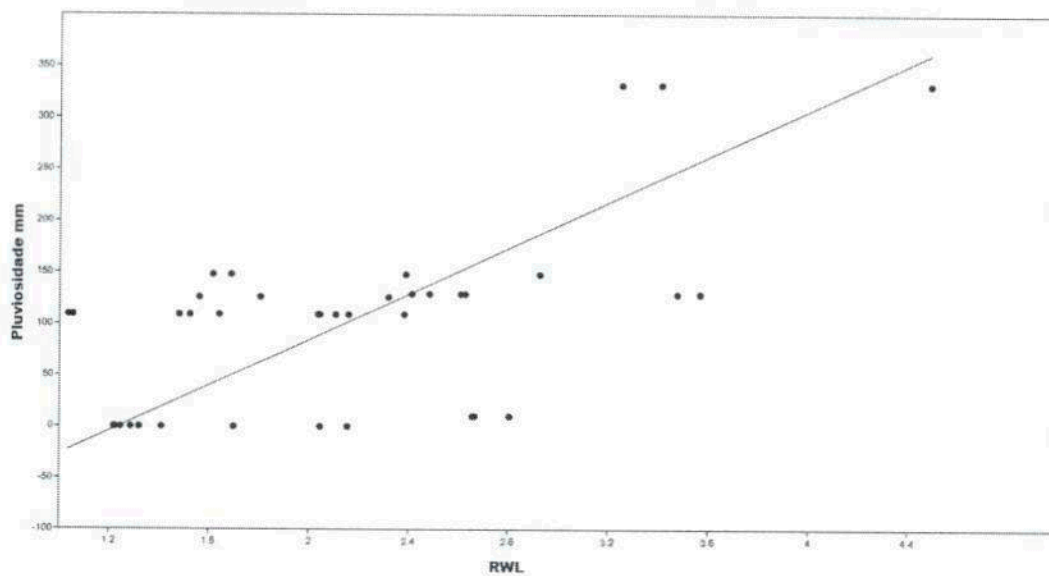
Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

**Gráfico 3** – Relações entre a Densidade das células de Kupffer e a variação da Temperatura de *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) no município de Catolé do Rocha-PB, no período de outubro a dezembro de 2013 e fevereiro a junho de 2014.



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

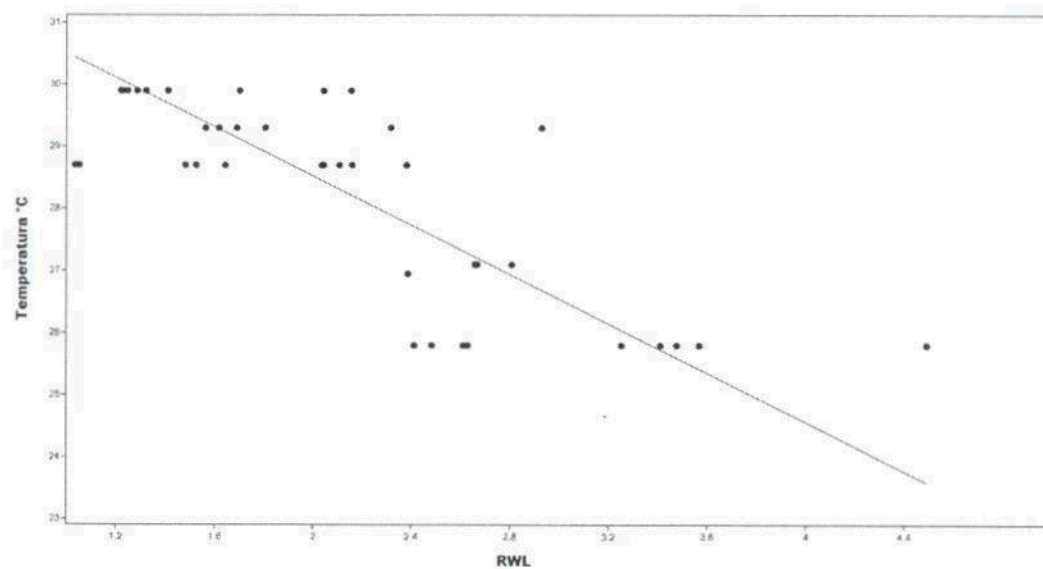
**Gráfico 4** – Relações entre a Relação Hepatosomática (RWL) e a variação da Pluviosidade de *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) no município de Catolé do Rocha-PB, no período de outubro a dezembro de 2013 e fevereiro a junho de 2014.



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

UFERSA

**Gráfico 5:** Relações entre a Relação Hepatosomática (RWL) e a variação da Temperatura de *Leptodactylus macrosternum* (Miranda-Ribeiro, 1926) no município de Catolé do Rocha- PB, no período de outubro a dezembro de 2013 e fevereiro a junho de 2014.



Fonte: Dados da pesquisa, 2016.

## 6. DISCUSSÃO

O regime de chuvas de uma região regula vários aspectos da vida dos anfíbios. Em áreas de caatinga, vários anuros demonstram ocorrerem em períodos restritos do ano, condicionado principalmente pelas chuvas, determinando a sua distribuição estacional (VIEIRA et al. 2007). Este efeito decorrente das variações sazonais no surgimento e reprodução desses animais são bastante conhecidas, em várias populações, justificado pelo fato de que o índice de chuvas afeta o surgimento de poças temporárias o que interfere no número de indivíduos que se reproduzem nesse ambiente (MOREIRA; BARRETO,1997).

A distribuição e principalmente a concentração de chuvas em meses específicos, também é responsável pelo aumento da produção primária e conseqüente aumento da disponibilidade de alimento para os anuros nesses ambientes. Desta forma, por se tratar de um órgão relacionado ao metabolismo e estocagem de energia animal, o arranjo do tecido hepático é diretamente relacionado às características fisiológicas e nutricionais, bem como ao seu status reprodutivo (BRUSLE E ANADON, 1996).

Os resultados aqui apontados demonstram esta dependência entre a Relação Hepatosomática (RWL) de *Leptodactylus macrosternum* e a variação climática da área de estudo (Figuras 4 e 5). Contudo, o regime de chuvas não interferiu significativamente na concentração das células de Kupffer. Já a variação de temperatura da área demonstrou ser mais significativa na distribuição destas células no tecido hepático. As funções do fígado podem mudar de acordo com a temperatura animal (GEORGE; CASTRO, 1998).

Este fato pode estar relacionado as alterações nos níveis de glicogênio no fígado e nos anuros nas diversas estações do ano, verificando-se considerável hiperglicemia no período mais seco do ano. (PASANEN e KOSKELA, 1974; KOSKELA e PASANEN, 1975; BYRNE e WHITE, 1975; BRATTSTROM, 1979).

Estudos referentes à descrição morfométrica de fígados são escassas, o fato de esses estudos serem raros dificulta a discussão e interpretação dos resultados acima descritos HAAS, (2014). Entretanto, nos resultados apresentados neste trabalho pode-se perceber que não houve variação significativa na distribuição das células de Kupffer dos indivíduos. De acordo com este trabalho, é clara a importância de mais estudos relacionada à histomorfometria de anuros. (STÉFANI et al., 2002), faz ressalva sobre a necessidade de mais informações a respeito das atividades enzimáticas e metabólicas do fígado dos anfíbios, visto que, existem poucas referências na literatura.

## 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Em síntese, houve uma variação de forma dependente entre a Relação Hepatosomática (RWL) de *Leptodactylus macrosternum* e a Pluviosidade da área de estudo. Embora, o regime de chuva não tenha interferido significativamente na concentração das células de Kupffer, comprovando a hipótese sugerida.

Em contra partida, a variação da temperatura da área demonstrou significância na distribuição destas células no tecido hepático. As funções do fígado podem mudar de acordo com a temperatura animal (GEORGE & CASTRO, 1998).



## REFERÊNCIAS

- ALVES, B. C. F., ASPECTOS ECOLÓGICOS DE *HYPSSBOAS ALBOMARGINATUS* (ANURA: HYLIDAE) EM UM REMANESCENTE DE MATA ATLÂNTICA DA PARAÍBA. Campina Grande, 2011.
- BERTOLUCI, J; RODRIGUES, M. T.. Seasonal patterns of breeding activity of Atlantic Rainforest anurans at Boracéia, Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*23:161-167, 2002.
- BELUSSI, L. F et al; Liver Anatomy, Histochemistry, and Ultrastructure of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae) During the Breeding Season. 2012
- CABRAL, M. E. S., IDENTIFICAÇÃO QUÍMICA, ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E FARMACOLÓGICA DAS GORDURAS CORPORAIS DE ANFÍBIOS.
- COSTA, D. F. SILVA DA; Dieta de *Leptodactylus macrosternum*. Cuité 2015.
- COSTA, Thais RN; CARNAVAL, Ana COQ; TOLEDO, Luís Felipe. Mudanças climáticas e seus impactos sobre os anfíbios brasileiros. *Revista da Biologia*, 2012.
- DUARTE ALVINO DE ARAÚJO, Lenyneves. Fenologia e biologia reprodutiva de duas espécies Simpátricas de Apocynaceae (*Allamanda blanchetii* A. DC. e *Mandevilla tenuifolia* JC Mikan Woodson) ocorrentes em Caatinga no Cariri Paraibano. 2008.
- FROST, D. R. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.0 Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>, American Museum of Natural History, New York, USA . 2014.(Acesso em 25/04/2016, 11h01m).
- Hipólito, M., Leme, M.C.M., Bach, E.E. 2001. Lesões anátomo-histopatológicas em rã-touro (*Rana catesbeiana* Shaw, 1802) associadas à deterioração da ração. *Arq. Inst. Biol.*, Vol.68(1):111-114

LAJMANOVICH, R.C. Dinâmica trófica de juvenis de *Leptodactylusocellatus* (Anura: leptodactylidae), em uma ilha Del Paraná, Santa Fé, Argentina. Cuad. Herp., 10 (1-2) : 11-23, 1996.

LEAL, R. I. et al; **Ecologia e Conservação da Caatinga**, cap 1 e 4. Recife.

LIU, Noraly Shawen. **História natural de duas espécies simpátricas de Enyalius (Squamata, Leiosauridae) na Mata Atlântica do sudeste brasileiro**. 2008. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

MARTINS, Márcio Borges. Caroline Zank Ana Carolina Anés Patrick Colombo.

MASSURA, T. Y. M; **Anatomia do Aparelho Reprodutor Masculino de *Dendropsophus minutus* e *Dendropsophus nanus* (ANURA, Hylidae) durante o ciclo reprodutivo**. 2008

OZZETTI, Priscila Aparecida. **Hematopoese em serpentes *Oxyrhopus guibei* (Hoge & Romano, 1978) (Ophidia: Dipsadidae): caracterização morfológica, citoquímica e ultraestrutural**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

OLIVEIRA, Jean Carlos Dantas de et al. **HÁBITO ALIMENTAR DE *Rhinella jimi*, (STEVAUX, 2002) (ANURA; BUFONIDEA) NO SEMIÁRIDO. AGROPECUÁRIA CIENTÍFICA NO SEMIÁRIDO**, v. 10, n. 4, p. 19-25, 2015.

Prado, C. P. A., Uetanabaro, M. 2000. **Reproductive biology of *Lysapsus limellus* Cope, 1862 (Anura, Pseudidae) in the pantanal, Brazil**. Zoocriaderos 3(1): 25-30.

RANGEL, H.R.; FERREIRA R.B. **Aspectos ecológicos de *Leptodactylusocellatus* (Anura: Leptodactylidae) na Universidade Federal do Espírito Santo, Sudeste do Brasil**. In: Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil. Caxambu – MG. Setembro de 2007.

RODRIGUES, Alexandre dos Santos. **A influência dos pontos de acupuntura Zusanli (E36) e Sanyinjiao (BP6) no desenvolvimento de lesões hepáticas induzidas por Tioacetamida, em ratos Wistar**. 2009. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

RODRIGUES, M. T. A fauna de Anfíbios e Répteis das caatingas. In: **Avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma caatinga**. Museu de Zoologia e Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo. Petrolina, 2000.

RODRIGUES, M. T. **Herpetofauna da caatinga**, In: I. R. Leal; M. TABARELI; J. M. C. SILVA. **Ecologia e Conservação da Caatinga**. Universidade Federal de Pernambuco, Ed. Universitária. 181-236,2003.

ROSA, Inês Viana. **Efeitos da alta densidade e jejum nas modificações do metabolismo intermediário do pargo (*Pagrus pagrus*)**. 2008. Tese de Doutorado.

SANTOS, Lia Raquel de Souza. **Efeitos da variação térmica no sistema pigmentar extracutâneo do anuro *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae)**. 2010.

SENNA, André R. et al. **A IMPORTÂNCIA E OS DESAFIOS PARA O CONHECIMENTO E A CATALOGAÇÃO DA BIODIVERSIDADE NO BRASIL**. *Acta Scientiae et Technicae*, v. 1, n. 1, 2013.

SILVA, T. H; **ASPECTOS HISTOMORFOMÉTRICOS DO FÍGADO DE *Leptodactylus macrosternum***. Cuité, 2015.

ZIERI, R; **INFLUÊNCIA HORMONAL SOBRE O SISTEMA PIGMENTAR EM *Eupemphix nattereri* (ANURA): EFEITOS DO ALPHA-MSH, ESTRADIOL E TESTOSTERONA**. 2010.