

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO - UENF

Lara de Souza Ribeiro

**Descrição Morfológica do Pâncreas de Tartaruga - marinha,
Chelonia mydas (Linnaeus, 1758) (Testudines: *Chelonidae*)**

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

2021

Lara de Souza Ribeiro

**Descrição Morfológica do Pâncreas de Tartaruga - marinha,
Chelonia mydas (Linnaeus, 1758) (Testudines: *Chelonidae*)**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal / Subárea de Patologia Animal”.

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ

2021

LARA DE SOUZA RIBEIRO

**Descrição Morfológica do Pâncreas de Tartaruga - marinha,
Chelonia mydas (Linnaeus, 1758) (Testudines: *Cheloniidae*)**

“Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como requisito parcial a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal / Subárea de Patologia Animal”.

Aprovada em 24 de fevereiro de 2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Renato Luiz Silveira (Professor da UFF)

Dr. Hassan Jerdy Leandro (Pós-Doc, Ciência Animal) - UENF

Prof. Dr. Raphael Mansur Medina (Professor da Unig)

Prof. Dr. Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho (Professor Associado I) – UENF

À minha família, em especialmente minha mãe
(Angela) e minha Vó (Erci) que sempre foram tão presentes e sempre acreditaram nos meus sonhos.

Dedico

A cada tartaruga verde que infelizmente deixou a vida e possibilitou a realização deste trabalho.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo dom da vida, por sempre estar ao meu lado me fortalecendo e me permitindo crescer e evoluir, pela possibilidade e a grata conquista de ser autor de um Projeto de Pesquisa que visa contribuir com os conhecimentos científicos e acadêmicos.

Agradeço as oportunidades que a vida me proporcionou tirando delas proveito para que eu me transformasse em uma pessoa mais forte, mais humana, mais compreensiva e mais sábia.

Agradeço poder estar concluindo mais uma fase da minha vida acadêmica em um ano atípico como o de 2020 (o COVID 19 nos tirou de uma zona de conforto), que me permitiu ser mais resiliente, reflexiva, prudente e entender que precisamos nos refazer sempre.

Agradeço a minha Mãe (Angela) que sempre me incentivou e contribuiu para que meus sonhos, desejos se transformassem em realidade, que sempre me impulsionou a enfrentar os desafios que a vida oferece como sinal de aprendizagem, fortalecimento e crescimento. Que para alcançar algo, é necessário mexer-se, buscar, cooperar e estudar. Que sempre diz que a Educação é a nossa maior herança. Que a vida é feita de possibilidades e precisamos abraçá-las diariamente.

Agradeço a minha Vó (Erci) que é tão presente em meus dias com suas orações, bênçãos e que acolhe meus sonhos como se fossem os dela. Que vibra com cada conquista alcançada por mim.

As minhas tias Laninha e Elizângela, meu muito obrigado por sempre apoiarem as minhas escolhas, juntamente com Maria Clara e Isabelle, as primas levadas que falam que morarão comigo em Campos.

Agradeço ao meu professor Raphael Mansur a sua sensibilidade de ver em mim possibilidade de crescimento, a oportunidade e o convite de conhecer a Universidade UENF por me permitir fazer parte de sua equipe de trabalho em janeiro de 2016 e ser tão presente em minha vida até os dias atuais. A você, minha gratidão pela confiança, cuidado e encaminhamentos.

Ao meu professor e Tutor Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho, agradeço as dicas e orientações, todo cuidado. Seu olhar, carinho, as nossas conversas, trocas me fizeram crescer e me apaixonar mais ainda pela minha profissão. A você minha eterna gratidão, Mestre.

Ao meu amigo e co-orientador Hassan Jerdy Leandro, agradeço as trocas, as orientações. Muito obrigada.

Aos técnicos do laboratório, agradeço por terem me recebido de braços abertos e me mostrado e ensinado como era viver em família buscando a harmonia, aprendendo e respeitando a individualidade de cada um. Obrigada.

Agradeço as meninas que trabalham comigo no laboratório diariamente, Mariah, Rachel, Mariana, Verônica, por cada ensinamento, por me fazer evoluir como ser humano.

A minha amiga Juliana, que foi minha base materna nesse período tão longe da minha família além de uma excelente confidente. Obrigada pela atenção, pela paciência e por me ajudar a discernir o certo do errado.

A minha eterna R1, Gessica, com quem aprendi a ter mais paciência em trabalhar em equipe. Obrigada por ser amiga e presente.

Em especial, a minha amiga Raiany que nesse ano de pandemia foi muito mais que uma amiga, foi suporte, ombro amigo, irmã, confidente, psicóloga, mentora e parceira. Quero te agradecer por cada momento vivenciado junto e pela fala: você precisa crescer, vai e voa. Não desista! Obrigada.

Eu não podia deixar de agradecer às Amigas (Bruna, Brenda, Raiany e Gessica), vocês foram um suporte e tanto! Ainda bem que vocês existem e me aguentam falar e falar, compreendem a minha energia... Vocês são sinais que para estarmos juntos não precisamos morar juntos. Obrigada, meninas.

A minha amiga "Tia Silvia" que foi tão parceira nesses anos, demonstrando-se amiga, confidente e sendo meu apoio, meu suporte em meio às tubulações. Não sendo apenas uma amiga de balada, festas, mas amiga de alma, de uma conexão incrível. Obrigada pela parceira, por não me deixar desistir em nenhum momento e por mostrar o quanto eu sou capaz, não desacreditando hora nenhuma de mim. Gratidão!

A minha amiga-irmã Allice pelo apoio as minhas decisões, por ser tão presente, por estarmos juntas e unidas desde os nossos 4 anos de idade. Uma

amizade sólida construída com as experiências vividas, com trocas, com olhares de carinho, de respeito e de muito amor uma pela outra. Obrigada, minha linda.

Ao meu filho Bento José e a minha filha Filomena Maria, filhos de 4patas, agradeço o carinho e a fiel companhia de vocês. Que amor indescritível sinto por vocês.

Muito obrigada a todos.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas graças a Deus não sou o que era antes.” (Marthin Luther King)

RESUMO

RIBEIRO, LARA DE SOUZA, Msc, UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO. FEVEREIRO DE 2021. **Descrição Morfológica do Pâncreas de Tartaruga - marinha, *Chelonia mydas* (Linnaeus, 1758) (Testudines: *Chelonidae*)** Orientador: Dr. Eulógio Carlos Queiróz de Carvalho

Chelonia mydas popularmente conhecida como tartaruga-verde, frequentemente encontrada em mares tropicais e em ilhas e é objeto desde estudo do que objetiva descrever comparativamente a morfologia do pâncreas exócrino e endócrino das *Chelonia mydas* juvenis. Os animais foram coletados no município de São Francisco de Itabapoana, praia de Guaxindiba, Rio de Janeiro, Brasil, decorrentes de encalhes ou capturas acidentais em redes de pesca ocorridos no litoral do estado do Rio de Janeiro, pelo CTA-Meio Ambiente –Vitoria, E.S. Os espécimes passaram por necropsias e sendo avaliado o pâncreas macroscopicamente. Amostras dos órgãos foram fixadas em formalina neutra tamponada a 10%, por no mínimo 48 horas, clivadas e seguidas para o processamento histotécnico de rotina para a confecção das lâminas e sendo observadas em microscopia de luz. O pâncreas possui formato triangular formado por lobo esquerdo, corpo e lobo direito. Ele consiste em um grande lobo direito e um lobo esquerdo menor, e o corpo. Lobo esquerdo se encontra na porção cranial do duodeno, o corpo na flexura duodenal e o lobo direito estende-se caudalmente ao longo do duodeno descendente incluído pelas camadas do mesoduodeno, assim como o corpo e o lobo esquerdo. Macroscopicamente e possível se identificar uma coloração amarelo parda em todas as suas porções. O pâncreas se encontra próximo e fixado ao baço por meio de um tecido conjuntivo frouxo. A parte exócrina era composta por células acinares com citoplasma basofílico, com região apical eosinofílica e repletas de grânulos bem marcantes de zimogênio. A parte endócrina mostrou-se diferente do pâncreas endócrino dos mamíferos. As tartarugas-verdes não possuem ilhotas de Langerhans e sim, células basofílicas dispersas aleatoriamente pelo parênquima exócrino. As células alfa que sintetizam e secretam insulina foram demonstradas após análise imuno-histoquímica com o anticorpo monoclonal para insulina, o K36Ac10, cuja marcação foi fortemente positiva nas nestas células. Os resultados desta pesquisa que acrescentarão para literatura especializada em anatomia normal (macro/micro), representando uma contribuição inédita em muitos aspectos à “biologia da evolução” das tartarugas - marinhas, particularmente a *Chelonia mydas*, além de acenar para tantos outros de importância na morfologia normal e patológica destes indivíduos.

Palavras chaves: tartaruga-verde; pâncreas endócrino; insulina; imuno-histoquímica

ABSTRACT

RIBEIRO, LARA DE SOUZA, MSc, STATE UNIVERSITY OF NORTH FLUMINESE DARCY RIBEIRO. FEBRUARY 2021., **Morphological Description of the Pancreas of sea turtle *Chelonia mydas*** (Linnaeus, 1758) (Testudines: Chelonidae) Advisor: Dr. Eulogio Carlos Queiroz de Carvalho

Chelonia mydas popularly known as green turtle, often found in tropical seas and islands and has been the object of a study that aims to describe comparatively the morphology of the exocrine and endocrine pancreas of juvenile *Chelonia mydas*. The animals were collected in the municipality of São Francisco de Itabapoana, Guaxindiba beach, Rio de Janeiro, Brazil, due to strandings or accidental catches in fishing nets that occurred on the coast of the state of Rio de Janeiro, by CTA-Ambiente –Vitoria, ES The specimens underwent necropsies and the pancreas was evaluated macroscopically. Organ samples were fixed in 10% neutral buffered formalin for at least 48 hours, cleaved and followed for routine histotechnical processing to make the slides and observed under light microscopy. The pancreas has a triangular shape formed by the left lobe, body and right lobe. It consists of a large right lobe and a smaller left lobe, and the body. Left lobe is found in the cranial portion of the duodenum, the body in the duodenal flexure and the right lobe extends caudally along the descending duodenum included by the layers of the mesoduodenum, as well as the body and the left lobe. Macroscopically it is possible to identify a brown yellow color in all its portions. The pancreas is found close and fixed to the spleen by means of loose connective tissue. The exocrine part was composed of acinar cells with basophilic cytoplasm, with apical eosinophilic region and full of very striking granules of zymogen. The endocrine part was different from the endocrine pancreas of mammals. Green turtles do not have islets of Langerhans, but basophilic cells scattered randomly through the exocrine parenchyma. The alpha cells that synthesize and secrete insulin were demonstrated after immunohistochemical analysis with the monoclonal antibody to insulin, K36Ac10, whose label was strongly positive in these cells. The results of this research that will add to the literature specialized in normal anatomy (macro / micro), representing an unprecedented contribution in many aspects to the “biology of evolution” of sea turtles, particularly *Chelonia mydas*, in addition to mentioning so many others of importance in the normal and pathological morphology of these individuals

Key words: green turtle; endocrine pancreas; insulin; immunohistochemistry.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Espécies de tartarugas - marinhas encontradas no Brasil. **A.** *Chelonia mydas* (tartaruga verde). **B.** *Caretta caretta* (tartaruga cabeçuda). **C.** *Eretmochelys imbricata* (tartaruga de pente). **D.** *Lepdochelys olivácea* (tartaruga oliva). **E.** *Dermochelys coriácea* (tartaruga de couro). (Fonte: PROJETO TAMAR, 2020)21
- Figura 2:** Características de Identificação das Tartarugas-Verdes: *Chelonia mydas* (Fonte: PROJETO TAMAR, 2020).....23
- Figura 3:** *Chelonia mydas* (Fonte: PROJETO TAMAR, 2020)24
- Figura 4:** Pâncreas canino, vista caudal. 1. Esôfago; 2. Estômago; 3. Flexura canial do duodeno; 4. Duodeno descendente; 5. Lobo esquerdo do pâncreas; 6. Corpo; 7. Lobo direito do pâncreas; 8. Flexura Caudal do duodeno; 9. Ducto Biliar (colédoco); 10. Mesoduodeno. (Fonte: DYCE, 2010).....26
- Figura 5:** Desenvolvimento do pâncreas de mamíferos. A: estágio inicial; B: estágio posterior demonstrando sistema de ductos separados nos dois primórdios. C: Os dois primórdios fundiram-se após a migração do pâncreas ventral. 1. Primórdio do fígado; 2' ductos hepáticos; 1'' ducto biliar; 2 vesículas biliar; 3. Primórdio ventral do pâncreas; 4. Primórdio dorsal do pâncreas; 5. Estômago; 6. Duodeno. (Fonte: DYCE, 2010).....27
- Figura 6:** Aspecto macroscópico do pâncreas canino (Fonte: BRASILEIRO FILHO, 201).....28
- Figura 7:** Ácinos pancreáticos de mamíferos, corados em H/E e ao centro ilhotas pancreáticas (Ilhotas de Langerhans). (Fonte: BRASILEIRO FILHO, 2016)29
- Figura 8:** Ilustração esquemática da ilhota pancreática. (Fonte: MCDONALD, 1989).....30
- Figura 9:** Esplenopâncreas das serpentes. (Fonte: <http://www.conhecer.org.br/download/repteis/Anatomia%20dos%20repteis.pdf>).....31
- Figura 10:** A) Anatomia do pâncreas e vísceras circundantes do tritão manchado de vermelho *Diemictylus virides censviridescens*. B) Anatomia do pâncreas e vísceras circundantes do tuatara, *Sphenodon punctatus*. (Fonte: PENHOSE RAMEY, 1973).....32

- Figura 11:** Anatomia esquemática do pâncreas e vísceras circundantes da tartaruga, *Testudo chilensis*. (Fonte: PENHOSRAMEY,1973).....34
- Figura 12:** Mapa do Litoral de São Francisco do Itabapoana, local de encalhe dos espécimes de *Chelonia mydas*. (Fonte: Google Maps)35
- Figura 13:** A- Vista dorsal da tartaruga-verde. B. Vista ventral do plastrão da tartaruga-verde. (Fonte: Arquivo Pessoal).....38
- Figura 14:**Vista rostral da tartaruga – verde. (Fonte: Arquivo Pessoal).....38
- Figura 15:**Avaliação necroscópica da tartaruga-verde para coleta do pâncreas. (Fonte: Arquivo Pessoal).....39
- Figura 16:** Vista ventral do pâncreas de *Chelonia mydas* ainda na cavidade celomática (*). Órgão triangular formado por lobo esquerdo, corpo e lobo direito e de coloração amarelo parda. O lobo esquerdo se encontra na porção cranial do duodeno (#). O corpo se localiza na flexura duodenal (seta) e o lobo direito estende-se caudalmente ao longo do duodeno descendente (+). (Fonte: Arquivo Pessoal).39
- Figura 17:** Intestino delgado, pâncreas e estômago de *Chelonia mydas* após a necropsia. (Fonte: Arquivo Pessoal).....40
- Figura 18:**Pâncreas de *Chelonia mydas* já fixado em formalina neutra tamponada a 10%, evidenciando apenas a ligação direta com o hilo esplênico (seta) (Fonte: Arquivo Pessoal).....40
- Figura 19:** Mensuração do pâncreas de *Chelonia mydas*. Branca: Parte cranial, próximo ao duodeno descendente. Amarelo: o corpo do pâncreas, próximo ao hilo esplênico. Verde: Parte caudal do pâncreas.(Fonte: Arquivo Pessoal).....41
- Figura 20:**Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Ácinos pancreáticos repletos de grânulos de zimogênios (*) e ductos intralobulares (seta) revestidos por epitélio cúbico simples. Obj. 40 x HxE. (Fonte: Arquivo Pessoal).....42

Figura 21: Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Ducto interlobular (*) revestido por epitélio cilíndrico simples. Observe célula centroacinar em aumento (canto superior direito)Obj. 40x, HxE. (Fonte: Arquivo Pessoal).....43

Figura 22:Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Pâncreas exócrino representado por células acinares com citoplasma basofílico (*), região apical eosinofílica repletas de grânulos de zimogênio delimitadas pelo septo. Obj. 40x, HxE. (Fonte: ArquivoPessoal).....44

Figura 23: Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Ácinos preenchidos por grânulos grosseiros de zimogênio. Possível célula de pâncreas endócrino (seta)Obj. 80x, HxE. (Fonte: Arquivo Pessoal).....45

Figura 24: Fotomicrografia da análise de imuno-histoquímica do pâncreas endócrino de *Chelonia mydas*, com anticorpo monoclonal para insulina K36Ac10 evidenciando fortemente em marrom, as células alfa, dispersas pelo pâncreas exócrino. OBJ.:20x. (Fonte: Arquivo Pessoal).....46

Figura 25: Fotomicrografia da análise de imuno-histoquímica do pâncreas endócrino de *Chelonia mydas*, com anticorpo monoclonal para insulina K36Ac10 evidenciando fortemente em marrom, as células alfa que sintetizam e secretam insulina. OBJ.:40x (Fonte: Arquivo Pessoal).....47

Sumário

1- INTRODUÇÃO	16
2- OBJETIVOS	18
2.1- Objetivo geral	18
2.2- Objetivo Específico	18
3- JUSTIFICATIVA	18
4- REVISÃO DE LITERATURA.....	19
4.1- Tartaruga marinha	19
4.1.1 <i>Chelonia mydas</i>	22
5- PÂNCREAS	24
5.1- Anatomia pancreática dos cães.....	24
5.2- Fisiologia e Histologia pancreática	28
5.3- Anatomia Pancreática dos Répteis.....	31
5.3.1- Crocodilianos	33
5.3.2- Quelônios	33
5.3.3- Tartarugas	34
6- MATERIAIS E MÉTODOS	35
6.1- Área de estudos.....	35
6.2- Coleta de dados.....	35
6.3- Processamento histológico	36
6.4- Imuno-histoquímica	36
7- RESULTADOS	37
7.1- Morfologia pancreática	37
7.2- Histologia pancreática	41
7.3- Imuno-histoquímica pancreática	45
8- DISCUSSÃO	47
8.1 - Répteis	47
8.2 - Répteis e Aves	48
8.3 - Répteis e Mamíferos.....	49
8.4 - Imuno-histoquímica	49
9- CONCLUSÕES	50
10-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51

1- INTRODUÇÃO

As tartarugas – marinhas pertencem à Classe *Reptilia*, Ordem *Testudines*, Subordem *Cryptodira*. Os primeiros fósseis de tartaruga marinha datam de 110 milhões de anos. Elas são conhecidas como um dos componentes mais primitivos da diversidade biológica de suma importância para os ecossistemas marinhos, além de serem a linhagem mais antiga de répteis ainda vivos com bagagem histórica de cerca de milhões de anos, desde o período Jurássico (PRITCHARD, 2017).

As espécies de tartarugas - marinhas encontradas no Brasil são *Chelonia mydas* (tartaruga verde), *Caretta caretta* (tartaruga cabeçuda), *Eretmochelys imbricata* (tartaruga de pente), *Lepdochelys olivácea* (tartaruga oliva), *Dermochelys coriácea* (tartaruga de couro)(Fonte: PROJETO TAMAR, 2020).

Chelonia mydas são conhecidas popularmente como tartarugas - verdes devido à coloração presente em seu tecido adiposo, mas também são chamadas de tartarugas do mar, tartarugas pedrês. Na escala dos animais em extinção, estão em nível internacional (IUCN) e na nacional estão vulneráveis (PROJETO TAMAR, 2020).

As tartarugas verdes são frequentemente encontradas em mares tropicais, principalmente em ilhas. Elas podem chegar até 143 centímetros de comprimento curvilíneo de carapaça e com média de peso de 160 kg (PROJETO TAMAR, 2020).

Nos últimos anos, várias doenças foram descobertas e relatadas em textos que tratam das tartarugas - marinhas, mas há muito ainda a descobrir e a documentar sobre elas. Assim, de base para esses saberes (diagnósticos), a literatura especializada busca e faz uso de conhecimentos em matérias básicas como morfologia e fisiologia dos diferentes órgãos em seus sistemas e aparelhos, como a descrição do pâncreas das tartarugas verdes.

Pâncreas é uma glândula acessória do trato digestivo localizada na região retroperitoneal posterior ao estômago, comunicando-se diretamente com o duodeno na parte dorsal da cavidade abdominal e o hilo esplênico(KÖNIG e LIEBICH, 2016). É um órgão de dupla função, auxiliando na digestão com a função exócrina (com o suco pancreático que é liberado diretamente no intestino delgado) e função endócrina com a produção e secreção de insulina e glucagon (DYCE, at al, 2010; BRASILEIRO FILHO, 2016).

Anatomicamente o pâncreas possui formato triangular, fixado à primeira curvatura do duodeno descendente, constituindo-se por um grande lobo direito e um menor esquerdo, unidos ao lado direito da veia porta constituindo a região de corpo do órgão (GETTY, 1986). Mas, podemos encontrar diferenças anatômicas dentro da mesma espécie e até mesmo em espécies diferentes, como em carnívoros, suínos e bovinos (KÖNIG e LIEBICH, 2016, DYCE, et al, 2010).

O presente trabalho surge da inexistência de registros literários especializados, quando se propõe estabelecer comparativamente a anatomia macro e microscópica do pâncreas exócrino e endócrino de *Chelonia mydas* associada à demonstração imuno-histoquímica das ilhotas de Langerhans, comparando com as demais espécies já descritas.

2- OBJETIVO

2.1 OBJETIVO GERAL

Descrever, avaliar e documentar em imagens os acidentes anatômicos macro e microscópicos do pâncreas de Tartaruga-verde, *Chelonia mydas* (LINNAEUS, 1758).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Descrever e documentar em imagens o pâncreas da tartaruga – marinha *Chelonia mydas* e estabelecer uma anatomia macroscópica comparativa com mamíferos e outros répteis.
- Descrever e documentar em imagens a anatomia microscópica do pâncreas exócrino da tartaruga –marinha *Chelonia mydas* e estabelecer a anatomia microscópica comparativa com mamíferos e outros répteis.
- Descrever e documentar em imagens o pâncreas endócrino da tartaruga –marinha *Chelonia mydas* com auxílio adicional do exame imuno-histoquímica das unidades secretoras a fim de estabelecer a histologia comparativa com os mamíferos e outros répteis.

3- JUSTIFICATIVA

A integração do homem com a natureza, bem como sua interação com o meio ambiente, é de extrema importância para uma relação harmônica e saudável entre os seres vivos. Por mais que se busque uma conscientização humana de que todas as espécies vivas são fundamentais para vivermos em um mundo equilibrado ecologicamente, a vida de muitos seres ainda vive sob a pressão da extinção.

As tartaruga marinha são exemplos dos seres vivos que fazem parte, infelizmente, dessa lista. É imprescindível que haja uma conscientização da necessidade da preservação desta espécie, uma vez que há registros de um número alarmante de animais que vêm a óbito anualmente.

Com o intuito de conscientizar a sociedade da importância das tartaruga marinha e estudar mais sobre a espécie, este trabalho tem como finalidade o estudo do pâncreas das tartarugas-verdes analisando-o morfológicamente (macro e microscopicamente), assim como pela imuno-histoquímica. Uma vez que este órgão desempenha dupla função: exócrina (auxiliando na digestão) e endócrina (com

funções hormonais), ele merece uma atenção maior: ser estudado, analisado e comparado com as demais espécies já descritas.

Sendo assim, é nosso escopo, através de análise, estudo e pesquisa científica, registrar o quanto é importante promover e compreender morfologia descritiva do pâncreas das tartarugas-marinhas, servindo de base para estudos futuros e, cada vez mais, seu entendimento morfofuncional.

4- REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Tartarugas -marinhas

As tartarugas -marinhas pertencem à Classe *Reptilia*, Ordem *Testudines*, Subordem *Cryptodira*. Os primeiros fósseis de tartaruga marinha datam de 110 milhões de anos. Elas são conhecidas como um dos componentes mais primitivos da diversidade biológica de suma importância para os ecossistemas marinhos, além de serem a linhagem mais antiga de répteis ainda vivos com bagagem histórica de cerca de milhões de anos, desde o período Jurássico (PRITCHARD, 2017).

Há 550 milhões de anos surgiram os primeiros invertebrados marinhos e há 150 milhões de anos os dinossauros dominaram a terra e entre eles surgiram às primeiras tartaruga marinha. Desde então, elas vêm sobrevivendo a várias mudanças climáticas que ocorreram no planeta durante todos os anos até os dias de hoje (ATM, 2020).

No período Cretáceo, estavam presentes quatro famílias de tartaruga marinha (*Toxochelyidae*, *Protostegidae*, *Cheloniidae* e *Dermochelyidae*), porém, apenas duas delas permanecem até os dias de hoje. A espécie *Dermochelys coriácea* pertencente à família *Dermochelyidae* e as espécies *Caretta caretta*, *Chelonia mydas*, *Eretmochelys imbricata*, *Lepidochelys olivacea*, *Lepidochelys kempfi*, *Natator depressus*, pertecem à família *Cheloniidae* (figura 1). As duas últimas espécies não existem no Brasil (POUGH, et al., 2003)

Os primeiros quelônios surgiram através dos seus ancestrais terrestres e passavam mais na água do que na terra. Com o passar dos anos, houve mudanças adaptativas para que eles conseguissem sobreviver ao meio em que se encontravam. Dentre as mudanças, temos as perdas dos dentes, a adaptação dos membros como nadadeiras e as carapaças que adquiriram uma estética mais

apropriada a necessidade destes animais, facilitando a locomoção e a agilidade dos mesmos. O novo formato passou a ser mais hidrodinâmico. Além dessas alterações, tivemos uma adaptação com o aparecimento da glândula do sal que se localiza próximo aos olhos e que auxilia na excreção do sal presente no mar, mantendo o seu equilíbrio eletrolítico (PROJETO TAMAR, 2020).

As tartarugas são seres pulmonados, mas possuem alta capacidade de permanecerem submersas quando precisam se alimentar. Os outros sentidos como visão, olfato e audição são bem desenvolvidos. Elas são reconhecidas como animais de excelente capacidade de orientação, sendo migradoras em potencial. As migrações têm a finalidade de alimentação e de reprodução (ATM, 2020).

As tartarugas são animais que possuem vida longa. A maturidade sexual pode ser atingida entre os 20 a 30 anos. As fêmeas podem desovar várias vezes e a cada ninho 120 ovos, em média, ficam incubados por 40 a 60 dias. Quando eclodem, os filhotes vão em direção ao mar e por lá alcançam a idade adulta e desbravam os *habitats* oceânicos (PROJETO TAMAR, 2020).

Essas espécies representam os animais que vivem há mais de 100 milhões de anos no planeta se adaptando às mudanças climáticas e sobrevivendo a cada alteração, sendo reconhecidas como engenheiras do ecossistema devido a alta capacidade de levar e trazer toneladas de nutrientes e energia vital para outras fontes de vida do habitat aquático. É a partir delas que a existência de uma infinidade de peixes, crustáceos, moluscos, esponjas e medusas é garantida. Além disso, elas ajudam na formação de mangues, recifes e formações geológicas (PROJETO TAMAR, 2020).

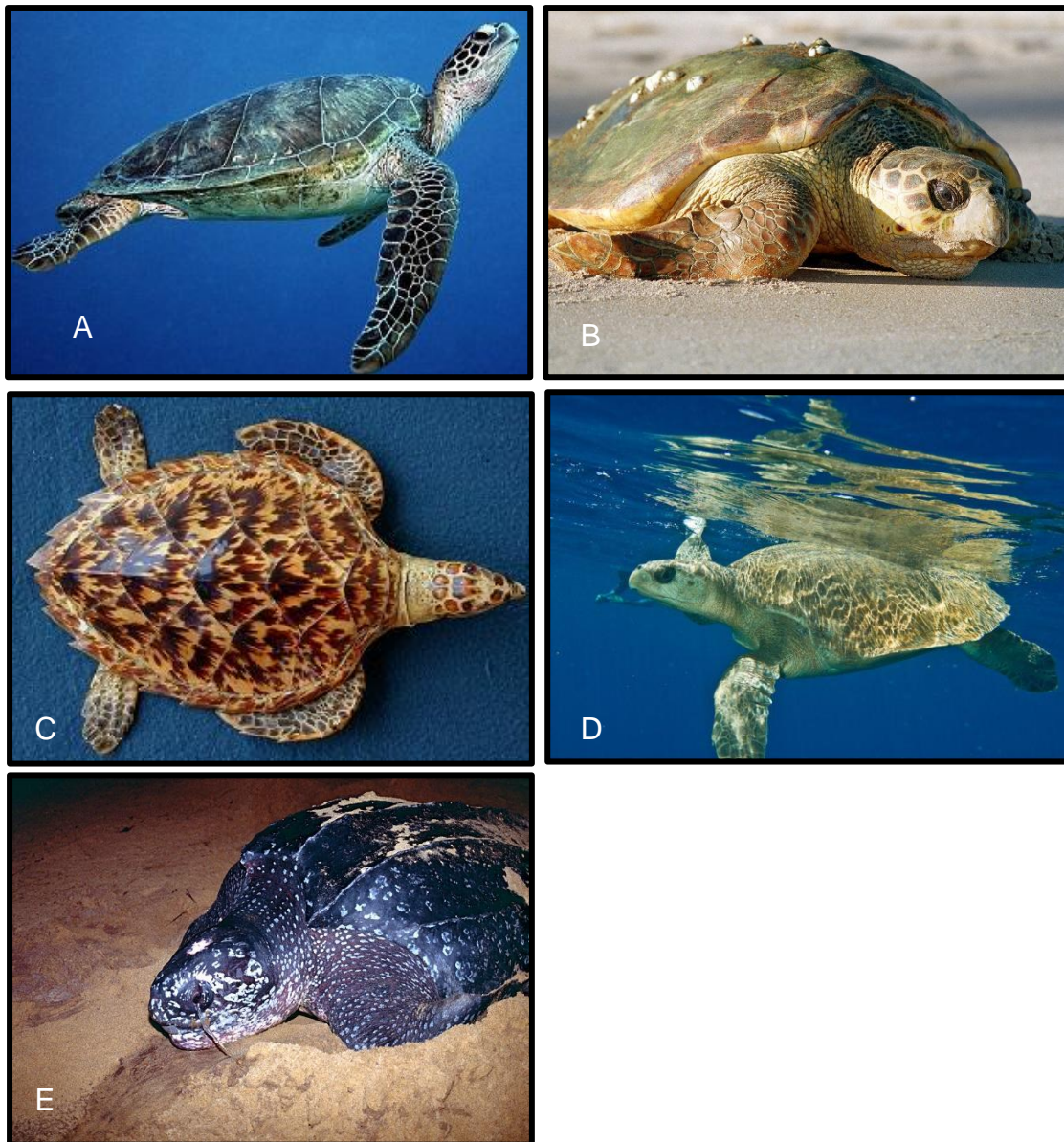


Figura 1. Espécies de tartarugas - marinhas encontradas no Brasil. **A.** *Chelonia mydas* (tartaruga verde). **B.** *Caretta caretta* (tartaruga cabeçuda). **C.** *Eretmochelys imbricata* (tartaruga de pente). **D.** *Lepidochelys olivacea* (tartaruga oliva). **E.** *Dermochelys coriacea* (tartaruga de couro). (Fonte: PROJETO TAMAR, 2020).

Como presas, as tartarugas fazem parte da dieta de diversos animais (raposas, lagartos, falcões, abutres, fragatas, peixes, orcas, crocodilos, entre outros). Seus ovos também são consumidos na praia durante a desova. As tartarugas também funcionam como dispersores de vários organismos como cracas, tunicados e moluscos, que dependem delas para sobreviverem (PROJETO TAMAR, 2020).

A tartaruga de pente (*Eretmochelys imbricata*) ajuda a manter a biodiversidade dos corais, alimentando-se seletivamente de algumas esponjas. A tartaruga-verde (*Chelonia mydas*) é extremamente herbívora e consome toneladas de algas e gramas marinhas. As tartarugas de couro se alimentam de águas-vivas auxiliando no controle de alevinos para que não aconteça a redução do mesmo. Elas são classificadas como animais bioperturbadores, contribuindo com a reciclagem de nutrientes (PROJETO TAMAR, 2020).

Em todo mundo, esses répteis têm sido caçados há centenas de anos por seus atributos: carne, óleo, carapaça, pele e ovos. No início do século XXI sua comercialização cresceu absurdamente. A captura insustentável destes indivíduos resultando em inúmeras mortes levou algumas espécies a estarem hoje próximas à extinção (PROJETO TAMAR, 2020).

As ameaças a estes animais são identificadas tanto nas praias durante a desova, como em áreas oceânicas e costeiras, durante a migração. Alguns fatores afetaram diretamente no processo de extinção: a urbanização das praias, o alto tráfego e a iluminação artificial que auxiliam na ocorrência de acidentes e na desorientação migratória. (PROJETO TAMAR, 2020).

4.1.1 *Cheloniamydas*

Chelonia mydas são conhecidas popularmente como tartarugas - verdes devido à coloração presente em seu tecido adiposo, mas também são chamadas de tartarugas do mar, tartarugas pedrês. Na escala dos animais em extinção, estão em nível internacional (IUCN) e na nacional estão vulneráveis (PROJETO TAMAR, 2020).

Essa espécie possui cabeça (figura 2) pequena com um par de escudos ou placas pré-orbitárias (entre os olhos) e quatro pares de escudos pós-orbitais. Apresenta mandíbula serrilhada e características que as distinguem das outras espécies como a carapaça que apresenta 04 pares de placas que são justapostas. As tartarugas podem medir de 112 a 120 cm curvilíneo de carapaça, com peso em média de 160 quilos, mas podendo atingir até 230 quilos (PROJETO TAMAR, 2020). Os exemplares encontrados no Brasil possuem comprimento de carapaça em média de 115,6 cm (GROSSMAN, 2001).

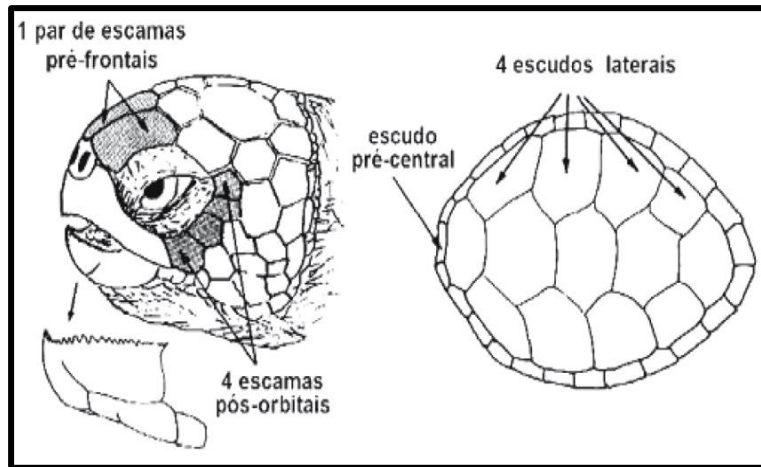


Figura 2:Características de Identificação das Tartarugas-Verdes: *Cheloniemydas* (Fonte:PROJETO TAMAR, 2020).

Elas possuem como particularidade quatro pares de escudos laterais ou costais; doze pares de escudos marginais; cinco escudos vertebrais ou centrais e mais dois pares de escudos marginais. O plastrão possui quatro escudos epidérmicos inframarginais sem poros visíveis (WYNEKEN, 2001).

A alimentação varia consideravelmente durante o seu ciclo de vida. No período juvenil são seletivamente onívoras, mas quando adultas, tornam-se herbívoras. Eventualmente se alimentam de medusas, moluscos, esponjas e ovos de peixes. São conhecidas como as únicas tartarugas marinhas que são preferencialmente herbívoras (PROJETO TAMAR, 2020).

O período reprodutivo das *C. mydas*, inicia-se em dezembro indo até maio, podendo se estender até junho (MOREIRA et al.,1995). Geralmente, colocam em média 115 ovos por postura e após aproximadamente 59 dias, estes eclodem. As posturas possuem intervalo de 2 a 3 anos desovando de 3 a 5 vezes por temporada, com intervalo em desova de 13 dias (PROJETO TAMAR, 2020).

Os principais locais para desova no Brasil estão localizados em ilhas oceânicas: a Ilha de Trindade/ES (MOREIRA et al, 1995), Reserva Biológica do Atol das Rocas/RN (BELLINI& SANCHES, 1996; GROSSMAN et al, 2001) e Arquipélago de Fernando de Noronha/PE (BELLINI& SANCHES, 1996).

Quando juvenis, as tartarugas são encontradas na região costeira do mar continental do Brasil. Assim, essa espécie está mais propícia a encalhes, capturas e pesca, uma vez que também podem ser encontradas em rios e lagos (PROJETO TAMAR, 2020).

Também são encontradas em mares tropicais e subtropicais (Atlântico, próximo a Costa Rica, Ilha de Ascensão (Reino Unido), México, Suriname e Ilha de Trindade no Brasil, sendo rara a ocorrência em águas temperadas (Figura 3). O seu habitat é preferencialmente de águas costeiras com muita vegetação, ilhas e até baías, uma vez que preferem lugares mais fechados por estarem mais protegidas. Raramente podem ser observadas em alto mar (PROJETO TAMAR, 2020).



Figura 3: *Cheloniemydas*
(Fonte: PROJETO TAMAR, 2020).

5- PÂNCREAS

5.1 Anatomia pancreática dos animais

Pâncreas é uma glândula acessória do trato digestivo localizada na região retroperitoneal posterior ao estômago, comunicando-se diretamente com o duodeno na parte dorsal da cavidade abdominal e o hilo esplênico (KÖNIG e LIEBICH, 2016). É um órgão alongado com aspecto lobulado e de coloração branca-amarelada, lembrando uma glândula salivar. Nos cães ele é envolto por uma pseudocápsula de tecido conjuntivo e pode pesar de 60 a 170g e medir de 12 a 25 centímetros (DYCE, atal, 2010, BRASILEIRO FILHO, 2016).

Anatomicamente foi descrito para suínos um pâncreas de formato triangular, fixado à primeira curvatura do duodeno e em ruminantes, quase que totalmente

localizado à direita do plano mediano do corpo, constituindo-se por um grande lobo direito e um menor esquerdo, unidos ao lado direito da veia porta constituindo a região de corpo do órgão (GETTY, 1986).

Em *Rhea americana* (emas), o órgão é longo, achatado e de coloração amarelo-claro, apresentando-se ventralmente como uma fita fina, formado por dois lobos, um lobo dorsal e um lobo ventral (RODRIGUES atal, 2012).

Algumas diferenças anatômicas podem estar presentes dentro da mesma espécie. Em carnívoros e em cães o pâncreas é dividido em corpo, lobo esquerdo e lobo direito e possui o formato clássico de “V” invertido, descrito para os cães (KÖNIG e LIEBICH, 2016, DYCE, at al, 2010). O lobo esquerdo pode ser chamado de cabeça e o lobo direito de cauda dependendo da espécie a ser estudada (KÖNIG E LIEBIC, 2016).

O lobo esquerdo é mais curto e mais espesso e está intimamente relacionado com o estômago, uma vez que corre dentro da origem do omento maior na parede abdominal dorsal. (KÖNIG e LIEBICH, 2016; BRASILEIRO,2016).

O lobo direito é mais fino e mais extenso, conectando-se ao duodeno descendente e ao mesoduodeno, sendo fixado pelos ductos excretores principais e acessórios que desembocam respectivamente, nas papilas duodenais maior e menor. O corpo se comunica com a flexura cranial do duodeno, descrita na figura 4 (DYCE, atal, 2010 e KÖNIG e LIEBICH, 2016; MONTENEGROe FRANCO, 2008).

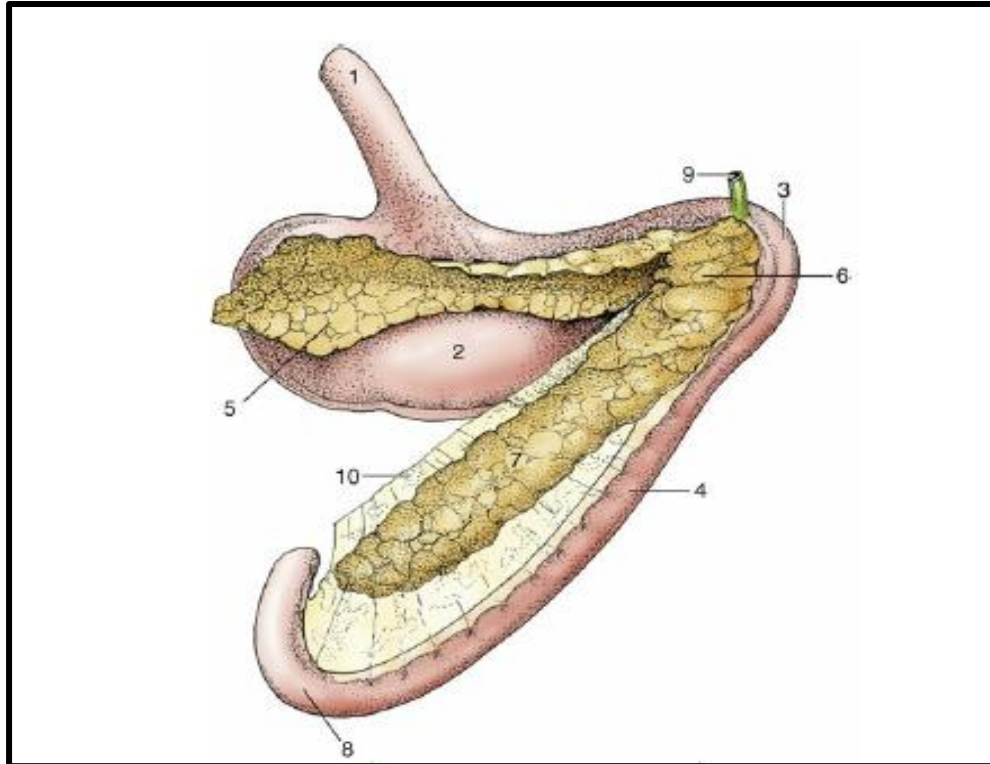


Figura 4: Pâncreas canino, vista caudal. 1. Esôfago; 2. Estômago; 3. Flexura cranial do duodeno; 4. Duodeno descendente; 5. Lobo esquerdo do pâncreas; 6. Corpo; 7. Lobo direito do pâncreas; 8. Flexura Caudal do duodeno; 9. Ducto Biliar (colédoco); 10. Mesoduodeno.

(Fonte: DYCE, et al, 2010).

O pâncreas origina-se de dois primórdios (dorsal e ventral) que brotam da parte proximal ao duodeno (figura 5). Os botões com o tempo se fundem, mas em muitas espécies a evidência da origem dupla do pâncreas é fornecida por seu sistema de ductos (KÖNIG E LIEBIC, 2016; MONTENEGRO e FRANCO, 2008; BRASILEIRO FILHO, 2016).

O ducto pancreático maior drena a parte pancreática que se origina do primórdio ventral (direito ou caudal) e se abre no duodeno juntamente com o ducto biliar (colédoco) ou ao seu lado. O ducto menor ou acessório emerge do pâncreas dorsal (esquerdo ou cabeça), no qual desemboca na face posterior aos intestinos. Em outras espécies observa-se apenas a permanência de apenas um ducto, o que não altera a função do pâncreas (KÖNIG & LIEBIC, 2016).

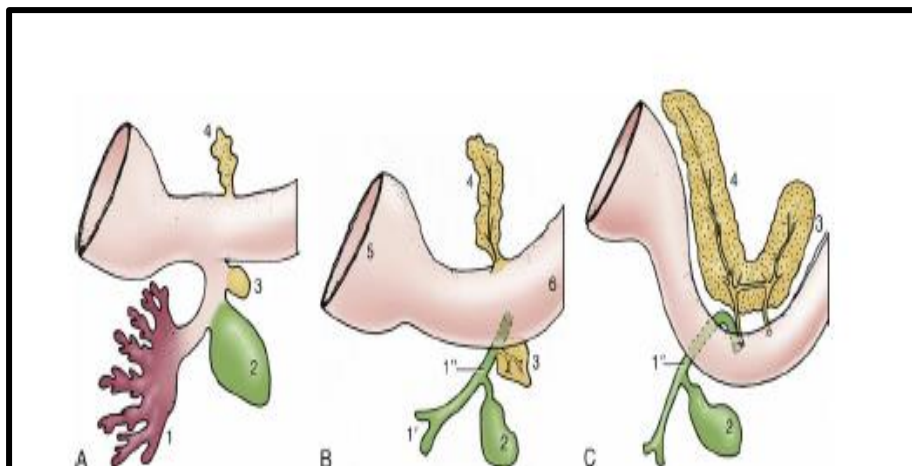


Figura 5: Desenvolvimento do pâncreas de mamíferos. A: estágio inicial; B: estágio posterior demonstrando sistema de ductos separados nos dois primórdios. C: Os dois primórdios fundiram-se após a migração do pâncreas ventral. 1.Primórdio do fígado; 2' ductos hepáticos; 1'' ducto biliar; 2 vesículas biliar; 3. Primórdio ventral do pâncreas; 4. Primórdio dorsal do pâncreas; 5. Estômago; 6. Duodeno. (Fonte:DYCE, atal, 2010).

Como é uma glândula que atua diretamente na digestão, anatomicamente existem ductos que carregam secreções que produzem para desembocarem diretamente no duodeno, assim, tem o ducto principal que se inicia na cauda do órgão e desemboca na papila maior juntamente com o ducto biliar. O ducto principal recebe a secreção dos demais ductos tributários de toda a extensão do órgão(KÖNIG E LIEBICH, 2016;BRASILEIRO FILHO,2016).

O ducto acessório recebe os demais ductos secundários da porção da cabeça do pâncreas (figura 6). Esse sistema de ductos é comum para os cães e os equinos. Mas, em outros mamíferos domésticos esse sistema excretor se reduz a um único ducto (KÖNIG e LIEBICH, 2016).

A vascularização do pâncreas é realizada indiretamente pelas artérias celíaca e mesentérica cranial e é suprido por nervos parassimpáticos e simpáticos (KÖNIG e LIEBICH, 2016).

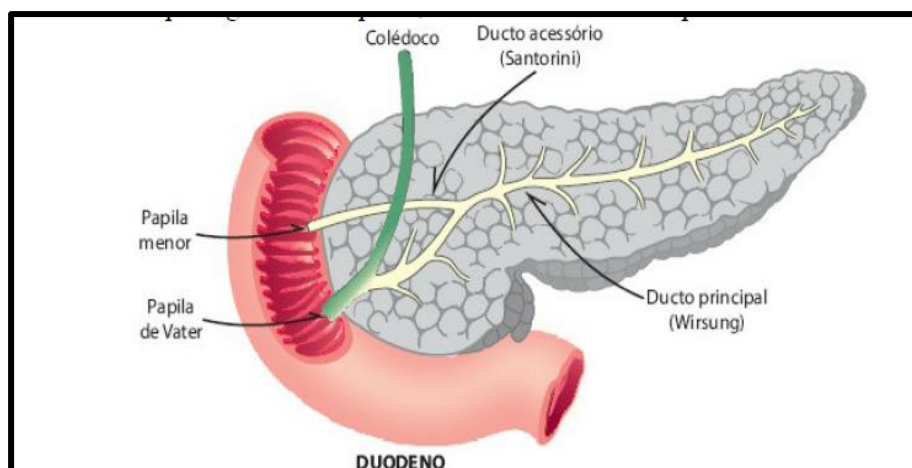


Figura 6: Aspecto macroscópico do pâncreas canino (Fonte: BRASILEIRO FILHO,2016).

5.2 Fisiologia e Histologia pancreática em mamíferos.

Histologicamente o pâncreas é uma glândula túbuloacinar composta, encapsulada, lobulada, que contém partes exócrinas e endócrinas. As células endócrinas e exócrinas se originam do epitélio embrionário dos ductos pancreáticos (DYCE, et al, 2010).

O pâncreas exócrino ocupa cerca de 80% de todo órgão composto por ácinos, secretores, colunares a triangulares (figura 7). As células acinares possuem núcleo e citoplasma orientados basalmente, citoplasma intensamente basofílico ao redor dos núcleos e grânulos de zimogênio eosinofílico que ocupam a porção apical (DYCE, et al, 2010; BRASILEIRO FILHO, 2016).

Para auxiliar na digestão, o pâncreas tem capacidade incomparável de síntese proteica, produzindo e secretando várias enzimas que auxiliam no metabolismo das proteínas, carboidratos e das gorduras. Para que ocorra a produção e liberação dessas enzimas, o pâncreas responde aos estímulos do nervo vago e a dois hormônios produzidos no duodeno e no jejuno, a colecistocinina e a secretina que são responsáveis pela produção do suco pancreático rico em enzimas e bicarbonatos, respectivamente (DYCE, et al, 2010; BRASILEIRO FILHO,2016; SANTOS E ALESSI, 2016).

As enzimas são sintetizadas em forma de precursores inativos (pró-enzimas), ficando isoladas em grânulos de zimogênio intracelulares prevenindo a lesão tecidual no pâncreas (BRASILEIRO FILHO,2016). Caso tenha alguma ativação inapropriada de suas próprias enzimas, ocorre produção e secreção de inibidores enzimáticos como o PSTI (*pancreati secretory trypsina inhinator*). Assim, quando

lançadas no duodeno através da papila de Vater, os enterócitos presentes na mucosa duodenal convertem tripsinogênio em tripsina e ativam as demais enzimas (amilase, lipase, fosfolipases, tripsina, quimiotripsina, carboxipeptidase, aminopeptidases) (BRASILEIRO FILHO,2016;DYCE at al, 2010 KÖNIG LIEBICH, 2016).

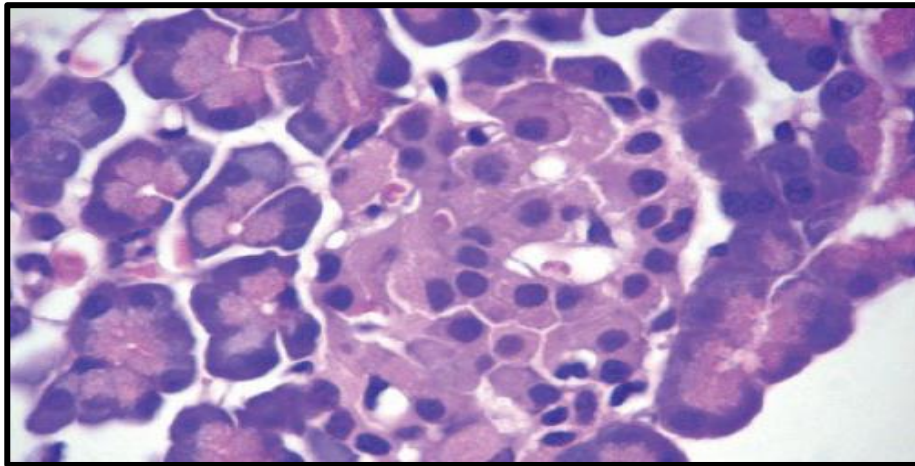


Figura 7:Ácinospancreáticos de mamíferos, corados em H/Ee ao centro ilhotas pancreáticas (Ilhotas de Langerhans).
(Fonte: BRASILEIRO FILHO, 2016).

O pâncreas endócrino, durante o desenvolvimento embrionário migra e agrega-se ao redor de capilares formando aglomerados celulares isolados dispersos por todo o tecido glandular exócrino. É composto pelas ilhotas de Langerhans que representam o menor número de células ao ser comparado ao pâncreas exócrino (DYCE at al, 2010). Existem aproximadamente 1 milhão de ilhotas que correspondem a 1 a 2% do volume do pâncreas. Histologicamente são células arredondadas ou poligonais que adquirem coloração mais clara que os ácinos pancreáticos na coloração de H/E (BRASILEIRO FILHO,2016).

As ilhotas pancreáticas (figura 8) são as únicas glândulas endócrinas que possuem secreção drenadas por veias que se abrem na veia porta, sendo intensamente irrigadas e com capilares calibrosos. Além disso, possuem inervação autônoma, fibras simpáticas que estimulam a síntese de glucagon e inibem a de insulina. Em contrapartida, as fibras parassimpáticas estimulam a secreção de insulina. (DYCE at al, 2010 KÖNIG LIEBICH, 2016; BRASILEIRO FILHO,2016).

Existem três tipos celulares presentes nas ilhotas pancreáticas, sendo elas: células Alfa (α), células beta (β) e células delta (δ).

- células alfa (α): encontradas na periferia das ilhotas, são poligonais e apresentam grânulos insolúveis de álcool. Representa cerca de 15 a 20% da população. São responsáveis pela síntese de glucagon. O hormônio atua na glicogenólise e promove a hiperglicemia.

- células beta (β): observadas apenas nas ilhotas. Representam a maior população, cerca de 60 a 70% e são responsáveis por sintetizar insulina, peptídeo C e amilina

- células delta (δ): observadas apenas nas ilhotas. Compreendem 5 a 10% da população. Atuam diretamente no trato digestivo, produzindo somatostatina, hormônio responsável pela inibição de insulina e glucagon (DYCE et al, 2010 KÖNIG LIEBICH, 2016).

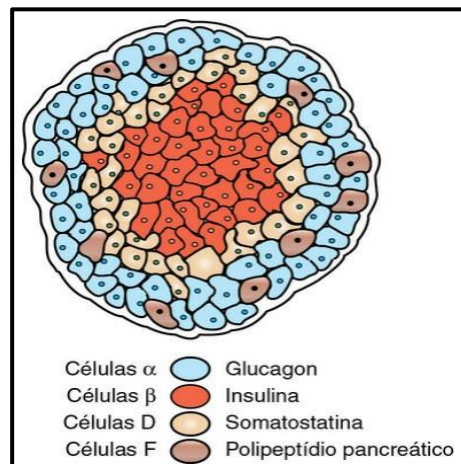


Figura 8: Ilustração esquemática da ilhota pancreática. (Fonte: MCDONALD, 1989).

Com o auxílio de outras ferramentas, como imuno-histoquímica e da microscopia eletrônica de transmissão, pode-se identificar as demais células que compõem as ilhotas pancreáticas representando 5% da população. Dentre elas as células F ou PP (produtoras de peptídeo pancreático, hormônio que estimula as células principais gástricas e inibe a motilidade intestinal) e as células épsilon- ϵ (constituem menos de 1%, e produzem grelina, o peptídeo que estimula o apetite em resposta ao jejum. (DYCE et al, 2010 KÖNIG LIEBICH, 2016)

5.3 Anatomia Pancreática dos Répteis

Nos répteis, o pâncreas encontra-se no mesentério próximo ao estômago e ao duodeno. Em serpentes, o pâncreas está mais próximo a região do piloro, vesícula biliar e baço. Mas, para outras serpentes e quelônios, pode ser observada a união do pâncreas com o baço, assim forma um único órgão denominado esplenopâncreas como na figura 9 (O'MALLEY, 2005; MADER, 2006).

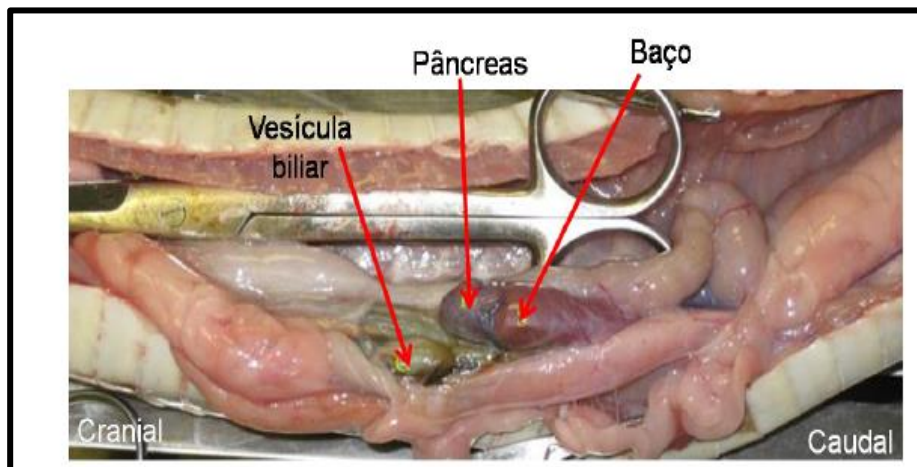
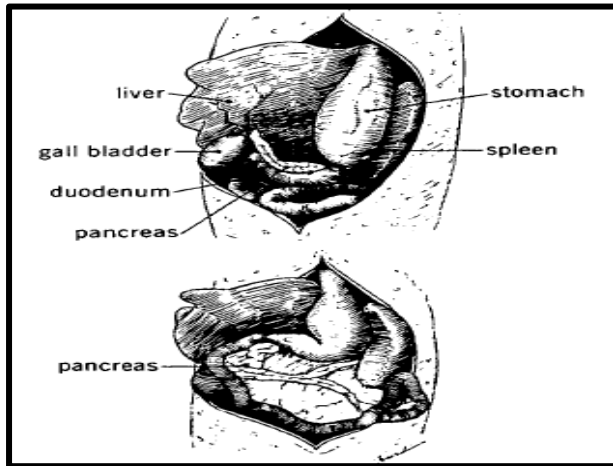


Figura 9: Esplenopâncreas das serpentes.

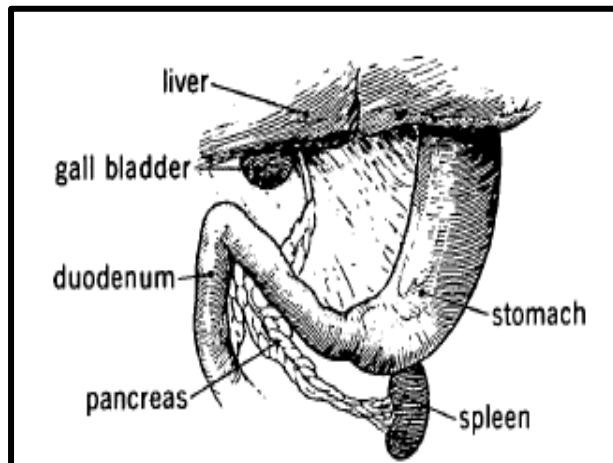
(Fonte: <http://www.conhecer.org.br/download/repteis/Anatomia%20dos%20repteis.pdf>)

Em lagartos, o pâncreas é dividido em três partes: a primeira se estendendo até a vesícula biliar, a segunda em direção ao duodeno e a terceira em direção ao baço como na figura 10 (O'MALLEY, 2005; MADER, 2006).

Em serpentes, podemos observar o pâncreas com formato piramidal a ovóide, caudalmente ao baço e próximo ao duodeno decente. A localização pode variar de acordo com a espécie, mas a maioria das espécies observadas apresentam somente um “único” órgão chamado de esplenopâncreas (O'MALLEY, 2005; MADER, 2006).



A *Diemictylus viridescens viridescens*



B Tuatara, *Sphenodon punctatus*

Figura 10: A) Anatomia do pâncreas e vísceras circundantes do tritão manchado de vermelho *Diemictylus viridescens viridescens*. B) Anatomia do pâncreas e vísceras circundantes do tuatara, *Sphenodon punctatus*. (Fonte: PENHOS e RAMEY, 1973).

5.3.1 Crocodilianos

O tecido das ilhotas de Langerhansno jacaré é localizado em grande parte caudal, porção esplênica do pâncreas. As ilhotas são alongadas, irregularmente arranjadas em cordões ramificados ou massas celulares que parecem ter se espalhado entre os ácinos exócrinos (MILLER, 1962).

Não é observada separação por tecido conjuntivo entre a porção endócrina e exócrina (MILLER, 1962). Os hormônios ao serem secretados são orientados para os capilares ao redor das áreas mistas dos ácinos e das ilhotas. Em contrapartida, as células exócrinas secretam seus produtos para o lúmen intestinal (MILLER, 1962).

As ilhotas são compostas por células alfa e beta. As células beta são mais arredondadas e são encontradas mais ao centro das ilhotas. Em contrapartida, as células alfa são encontradas nas extremidades das ilhotas e são mais angulares (MILLER, 1962).

5.3.2 Quelônios

Na disposição das ilhotas, podemos observar as células beta ao centro e as células alfa perifericamente. As ilhotas em *Pseudemys spp* são bem semelhantes às descritas em tartaruga *Phrynopshilarii*, deCardeza (CARDEZA,1957).

Nos quelônios, o pâncreas está intimamente ligado ao duodeno por três processos: um direcionado para o fígado e cobrindo o ducto biliar, outro direcionado para o baço e envolvendo os vasos esplênicos e um terceiro menor direcionado para o jejuno, figura 11 (PENHOS RAMEY1973).

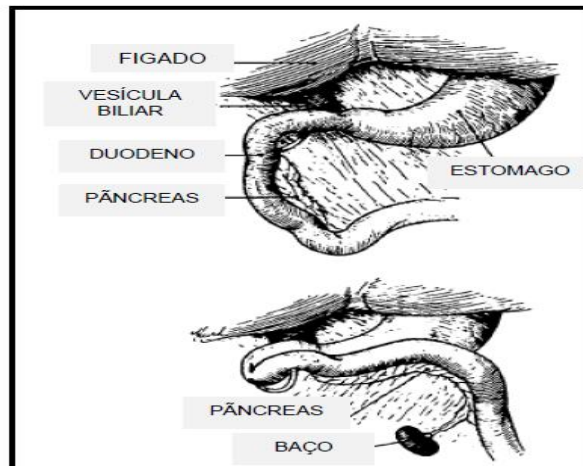


Figura 11: Anatomia esquemática do pâncreas e vísceras circundantes da tartaruga, *Testudo chilensis*. (Fonte: PENHOS RAMEY, 1973)

5.3.3 Tartarugas

O pâncreas é um órgão de dupla função, sendo uma glândula mista auxiliando na digestão e liberando polipeptídeos pancreáticos que estimulam o fluxo dos sucos gástricos no estômago, assim como também é uma glândula endócrina, produzindo e liberando insulina e glucagon. A insulina auxilia no metabolismo da glicose e o glucagon estimula a degradação de glicogênio para aumentar os níveis de glicose no sangue (WYNEKEN, 2001).

A localização anatômica do pâncreas nas tartarugas é após o esfíncter pilórico e pode ser observado por todo o duodeno. Macroscopicamente é liso, brilhante, coloração rosada ou cor de pêssego. Logo na proximidade distal do pâncreas podemos observar o baço. O ducto pancreático é difícil de ser localizado, exceto se forem tartarugas maiores ou adultas, mas ele comunica com o duodeno proximal, juntamente com o ducto biliar (WYNEKEN, 2001).

A vascularização pancreática é feita através dos ramos da artéria celíaca, que logo quando deixa a aorta esquerda, origina a artéria pancreático duodenal anterior que irriga parte do pâncreas, do duodeno, do estômago e a artéria pancreático duodenal posterior é responsável pela irrigação do pâncreas distal, duodeno, fígado e vesícula biliar (figura 12) (WYNEKEN, 2001).

6- MATERIAL E MÉTODOS

6.1 Área de estudo

As amostras de *Chelonia mydas* utilizadas no estudo foram decorrentes de indivíduos que vieram a óbito após os encalhes e capturas acidentais em redes de pesca ocorridos no litoral do estado do Rio de Janeiro. Os animais foram coletados no município de São Francisco de Itabapoana, praia de Guaxindiba, Rua C, na Unidade de Estabilização de Fauna Marinha Norte Fluminense (figura 12), da base do CTA- Meio Ambiente, Vitória- ES.

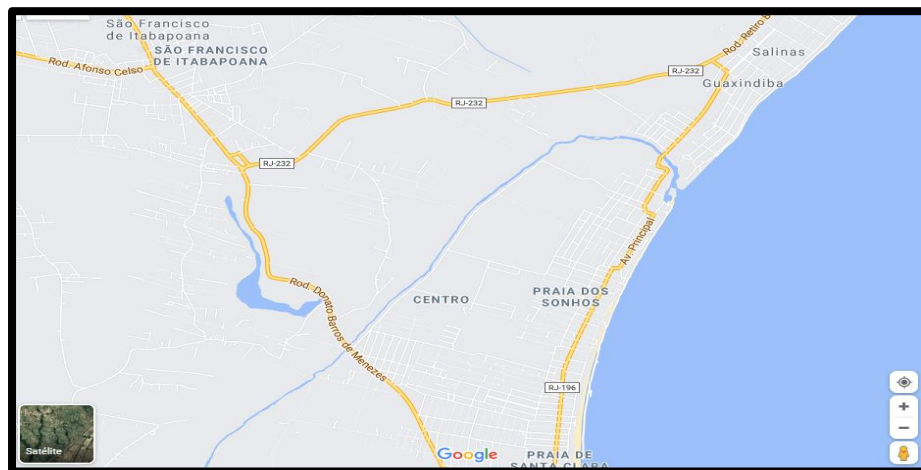


Figura 12: Mapa do Litoral de São Francisco do Itabapoana, local de encalhe dos espécimes de *Cheloniemydas*. (Fonte: Google Maps)

6.2 Coleta de dados

Foram utilizados espécimes de *C. mydas*, juvenis, recolhidos e armazenados na Unidade de Estabilização de Fauna Marinha Norte Fluminense localizado na cidade de São Francisco do Itabapoana- RJ, entre os anos de 2019 e 2020. Os espécimes ao chegarem à Unidade eram submetidos aos procedimentos técnicos e padrões da Unidade de Estabilização de Fauna Marinha Norte Fluminense e à classificação do estado da carcaça.

As carcaças ao serem analisadas, passavam por uma seriação de acordo com o seu estado, sendo classificadas em: código 1 (COD 1) - animais vivos, (COD 2) - carcaças em estado de decomposição inicial, fresca; (COD 3) - carcaças com

moderado estado de decomposição; (COD 4)- carcaça em estado avançado de decomposição e (COD 5) – carcaça mumificada ou esqueletizada.

Posteriormente, a equipe do Laboratório de Morfologia e Patologia Animal da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (LMPA/UENF) realizava necropsia em indivíduos COD 1 ou COD 2 (os CODs foram arbitrados pelo IBAMA e PMPs, para se referir ao estado de autólise dos indivíduos encalhados), avaliava os órgãos e coletava as amostras teciduais.

Durante os procedimentos necroscópicos, o órgão avaliado era coletado corretamente e fixado em formalina neutra tamponada a 10% por no mínimo 48 horas. Após a fixação “in totum” seriada do órgão, amostras do mesmo eram submetidas à clivagem seriada em três segmentos do pâncreas: cranial, corpo e caudal.

6.3 Processamento histológico

O processamento histológico foi realizado no Laboratório de Morfologia e Patologia Animal (LMPA) da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro - UENF. Durante o processamento automático (Leica ASP300S), as amostras passaram pelas etapas de desidratação, clarificação e impregnação em parafina, sendo esta última de suma importância, de forma a se manter a arquitetura tecidual e celular, assim como e a rigidez do tecido conferida pela parafina a para realização do corte no micrótomo. Após o último banho em parafina, as amostras foram depositadas em histossetes e mergulhadas em moldes com parafina histológica liquefeita e, com o auxílio da inclusora **Leica EG 1150**, estes são obtidos após o resfriamento. Finalizando o processo de inclusão, foram realizados cortes seriados com 5µm de espessura no micrótomo **Leica RM 2145** para a confecção das lâminas e coloração com Hematoxilina e Eosina (H/E) para posteriormente, avaliação microscópica.

6.4 Imuno-histoquímica

Os blocos de parafina com amostra tecidual do pâncreas foram enviados para o laboratório especializado para exame de imuno-histoquímica pela Vetmol-Diagnóstico em Patologia Molecular Veterinária e Pesquisa, em São Paulo.

Os cortes histológicos de 4 micrômetros foram desparafinizados em xilol e hidratados em concentrações decrescentes de etanol e lavados em água destilada. Em seguida foram submetidos à recuperação antigênica pelo calor em

solução de citrato 10mM (pH 6.0) na panela de pressão (Pascal^R, Dako). Posteriormente, as lâminas foram colocadas em temperatura ambiente por 20 minutos para resfriamento e lavadas com água deionizada. Após a recuperação antigênica foi realizado o bloqueio da peroxidase endógena com a imersão das lâminas em peróxido de hidrogênio pronto para uso (Peroxide Block, Cell Marque, 925B-09). Após essa etapa, os cortes foram lavados em solução tris (pH 7,4) e, a seguir, os sítios inespecíficos foram bloqueados com solução bloqueadora de reação inespecífica (proteinblockserum-free - DAKO ref. X0909). A incubação com anticorpo primário (vide laudo para ver o anticorpo e clone) por 18 horas a 4°C. Como sistema de amplificação e detecção utilizou-se o Envision Dual Link (DAKO, K4065) e o cromógeno diaminobenzidina (DAKO, K3468). As lâminas foram contra-coradas com Hematoxilina de Harris.

7- RESULTADOS

7.1 Morfologia Pancreática

No ato necroscópico, durante a avaliação macroscópica pudemos observar que o pâncreas da *C.mydas*. O pâncreas possui formato triangular formado por lobo esquerdo, corpo e lobo direito. Ele consiste em um grande lobo direito e um lobo esquerdo menor, e o corpo. Lobo esquerdo se encontra na porção cranial do duodeno, o corpo na flexura duodenal e o lobo direito estende-se caudalmente ao longo do duodeno descendente incluído pelas camadas do mesoduodeno, assim como o corpo e o lobo esquerdo.

Macroscopicamente é possível se identificar uma coloração amarelo parda em todas as suas porções.

O pâncreas se encontra próximo e fixado ao baço por meio de um tecido conjuntivo frouxo. (figuras 13, 14, 15,16,17,18,19)

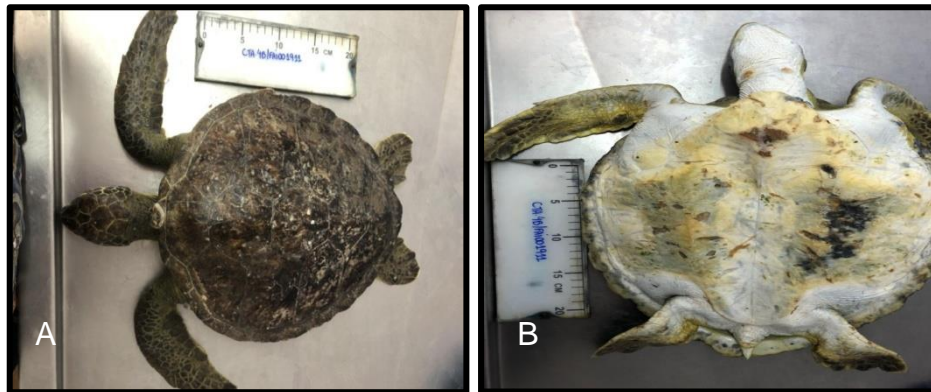


Figura 13:A- Vista dorsal da tartaruga-verde. B. Vista ventral do plastrão da tartaruga-verde..
(Fonte: Arquivo Pessoal).



Figura 14:Vista rostral da tartaruga – verde.
(Fonte: Arquivo Pessoal).



Figura 15: Avaliação necroscópica da tartaruga-verde para coleta do pâncreas.
(Fonte: Arquivo Pessoal)



Figura 16: Vista ventral do pâncreas de *Chelonia mydas* ainda na cavidade celomática (*). Órgão triangular formado por lobo esquerdo, corpo e lobo direito e de coloração amarelo parda. O lobo esquerdo se encontra na porção cranial do duodeno (#). O corpo se localiza na flexura duodenal (seta) e o lobo direito estende-se caudalmente ao longo do duodeno descendente (+). (Fonte: Arquivo Pessoal).



Figura 17: Intestino delgado, pâncreas e estômago de *Chelonia mydas* após a necropsia. (Fonte: Arquivo Pessoal).



Figura 18: Pâncreas de *Chelonia mydas* já fixado em formalina neutra tamponada a 10%, evidenciando apenas a ligação direta com o hilo esplênico (seta) (Fonte: Arquivo Pessoal).

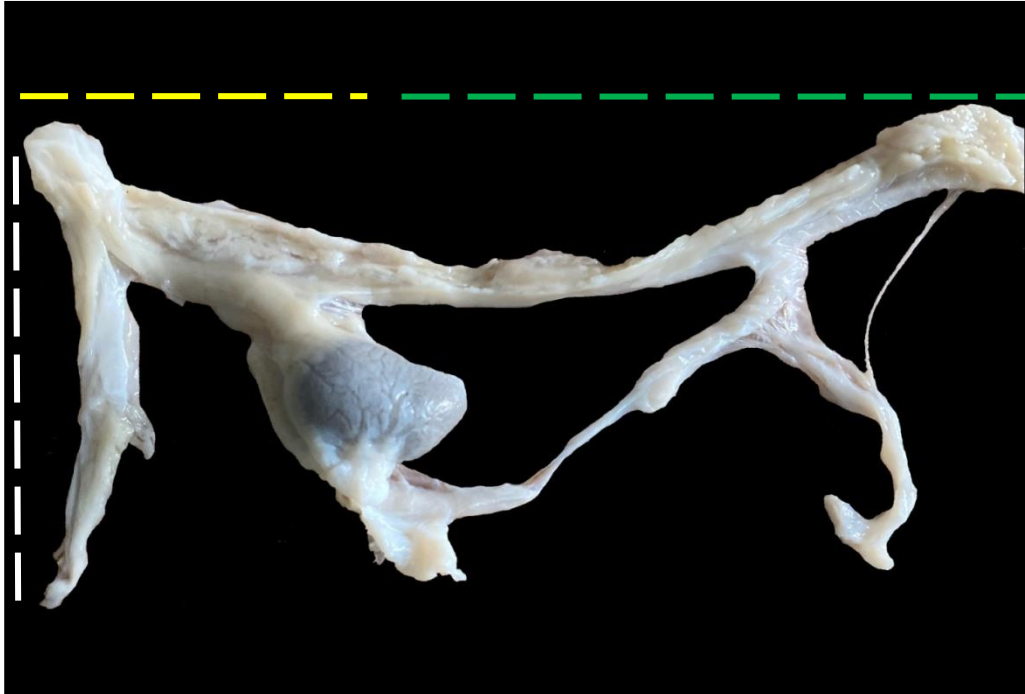


Figura 19: Mensuração do pâncreas de *Chelonia mydas*. Branca: Parte cranial, próximo ao duodeno descendente. Amarelo: o corpo do pâncreas, próximo ao hilo esplênico. Verde: Parte caudal do pâncreas. (Fonte: Arquivo Pessoal).XSQ

O pâncreas é um órgão endócrino e exócrino envolto por uma membrana delgada de tecido conjuntivo frouxo, por vezes mixomatoso que abrange todo o órgão e o separa do baço. A ligação existente entre o baço e o pâncreas é apenas a localização anatômica de estarem bem próximos, mas sem nenhuma correlação de um órgão fundido.

7.2 Histologia Pancreática

A parte exócrina do pâncreas é composta por células acinares piramidais com citoplasma basofílico região apical eosinofílica repletas de grânulos de zimogênio bem marcante (Figuras 20, 21, 22, 23).

A porção secretória túbuloacinar começa com células achatadas (células centoacinares) que se estendem pelo lúmen acinar formando o início do duto intercalado. Dutos intercalados se unem a dutos intralobulares que tem revestimento

feito por epitélio cúbico simples. Dutos intralobulares seguem até formar os dutos interlobulares cujo epitélio é colunar simples.

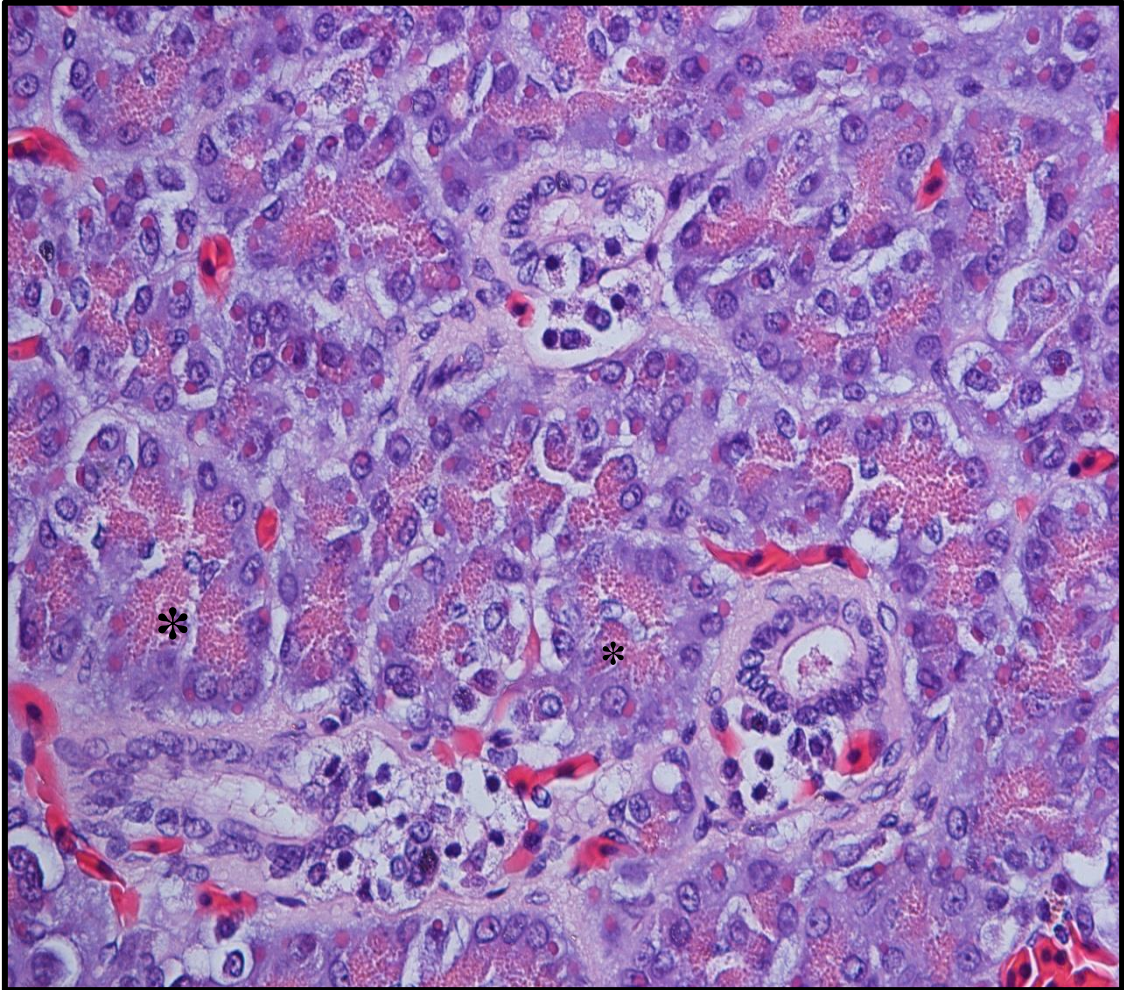


Figura 20: Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Ácinos pancreáticos repletos de grânulos de zimogênios (*) e ductos intralobulares (seta) revestidos por epitélio colunar simples. Obj. 40 x HxE. (Fonte: Arquivo Pessoal).

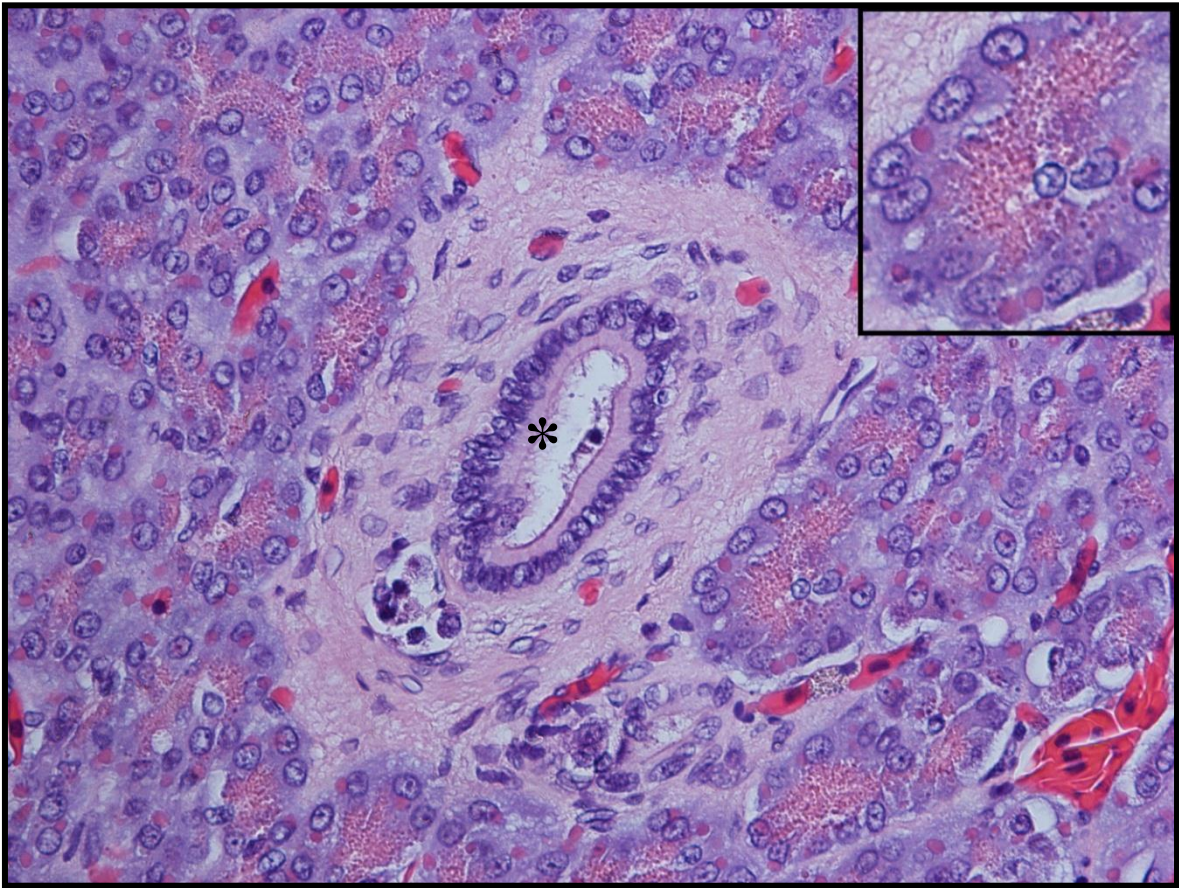


Figura 21: Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Ducto interlobular (*) revestido por epitélio cilíndrico simples. Observe célula centroacinar em aumento (canto superior direito) Obj. 40x. HxÉ. (Fonte: Arquivo Pessoal).

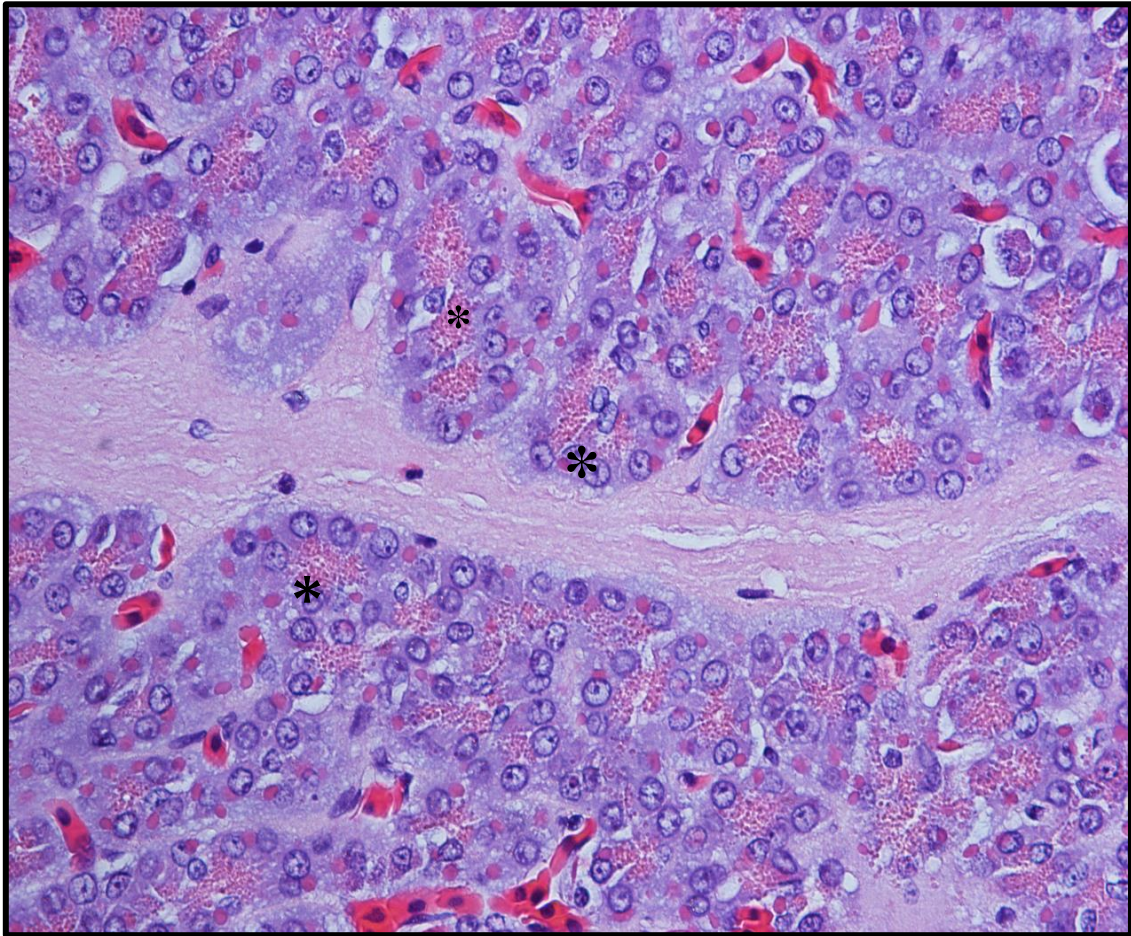


Figura 22: Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Pâncreas exócrino representado por células acinares com citoplasma basofílico (*), região apical eosinofílica repletas de grânulos de zimogênio delimitadas pelo septo. Obj. 40x, HxE. (Fonte: Arquivo Pessoal).

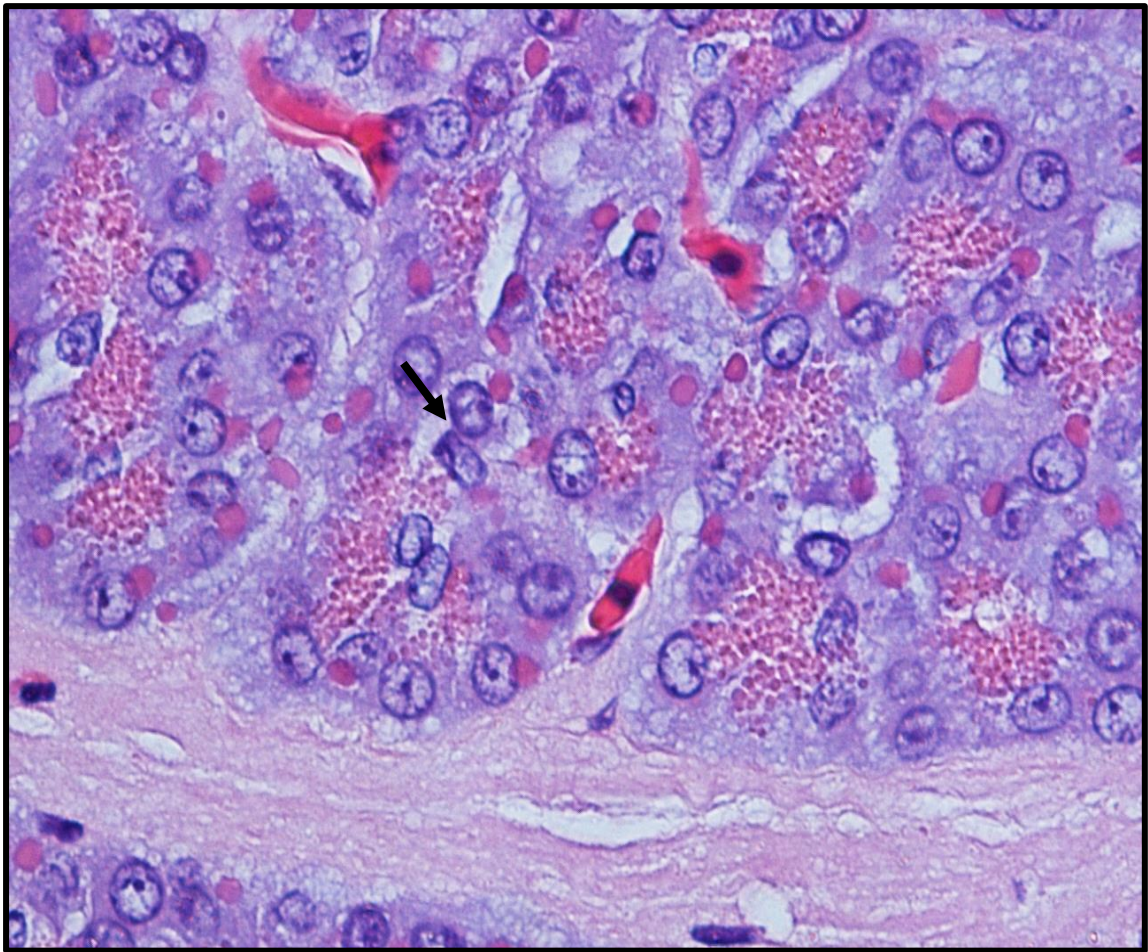


Figura 23: Fotomicrografia do pâncreas exócrino de *Chelonia mydas*. Ácinos preenchidos por grânulos grosseiros de zimogênio. Possível célula de pâncreas endócrino (seta)Obj. 80x, HxE. (Fonte: Arquivo Pessoal).

O pâncreas endócrino foi analisado e observa-se que as células presentes nas ilhotas são pouco coesas, são dispersas aleatoriamente pelo pâncreas exócrino e não há limitação por tecido conjuntivo.

7.3 Imuno-histoquímica pancreática

A imuno-histoquímica foi realizada com a intenção de marcar as células alfa que produzem insulina, pois histologicamente foi observado que o padrão das ilhotas de Langerhans em tartarugas não eram do mesmo padrão que observamos nas espécies domésticas, as células eram dispersas aleatoriamente e não havia coesão e nem tecido conjuntivo que a limitasse. Desta forma, foi usado o anticorpo anti-insulina, para grupos de tumores de ilhotas pancreáticas e o anticorpo monoclonal

de insulina K36Ac10, resultando positivo (figura 24 e 25). Confirmando assim a presença hormonal da insulina nas tartarugas-verdes.

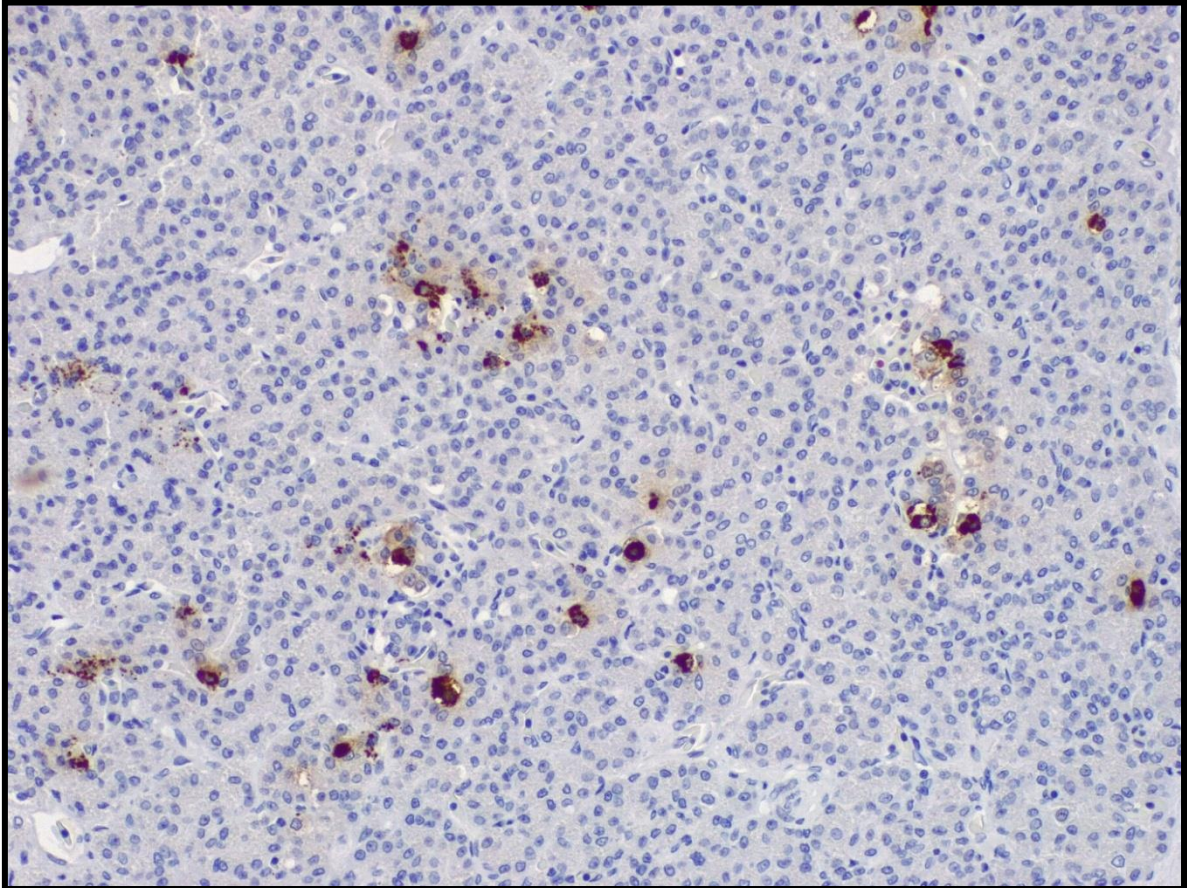


Figura 24: Fotomicrografia da análise de imuno-histoquímica do pâncreas endócrino de *Chelonia mydas*, com anticorpo monoclonal para insulina K36Ac10 evidenciando fortemente em marrom, as células alfa, dispersas pelo pâncreas exócrino. OBJ.:20x. (Fonte: Arquivo Pessoal).

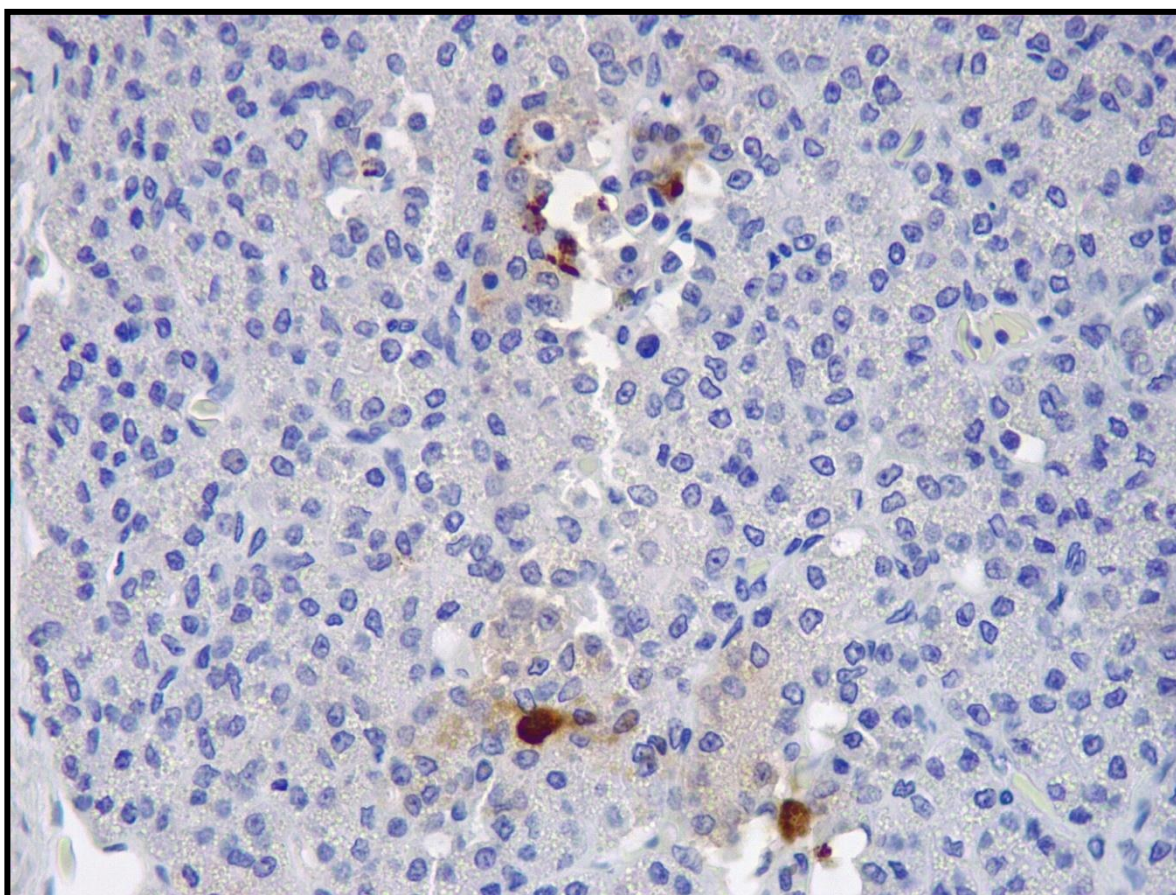


Figura 25: Fotomicrografia da análise de imuno-histoquímica do pâncreas endócrino de *Cheloniemydas*, com anticorpo monoclonal para insulina K36Ac10 evidenciando fortemente em marrom, as células alfa que sintetizam e secretam insulina. OBJ.:40x (Fonte: Arquivo Pessoal).

8- DISCUSSÃO

8.1 Répteis

Assim como avaliamos, para O'malley (2005) e Mader (2006) o pâncreas dos répteis encontra-se próximo ao estômago e ao duodeno e são divididos em três partes, a primeira se estendendo até a vesícula biliar, a segunda em direção ao duodeno e a terceira em direção ao baço. Wyneken (2001) relata em tartarugas que a localização anatômica do pâncreas é logo após o esfíncter pilórico e pode ser observado por todo duodeno, logo corrobora com a descrição anatômica avaliada do pâncreas de *Chelonia mydas* juvenil.

O'malley (2005) e Mader (2006) relatam que em serpentes podemos observar o pâncreas com formato piramidal a ovóide, caudalmente ao baço e próximo ao

duodeno descendente. A localização pode variar de acordo com a espécie, mas a maioria das espécies observadas apresentam somente um “único” órgão chamado de esplenopâncreas. Mas, em contrapartida, nos resultados obtidos não observamos a fusão do baço com o pâncreas e sim uma fina camada de tecido conjuntivo frouxo que os separa.

Macroscopicamente, Wyneken (2001) relata que o pâncreas é liso, brilhante, de coloração rosada ou cor de pêssego. As análises realizadas durante as necropsias revelaram que o pâncreas é levemente lobulado, de superfície mais regular e com coloração amarelada e é envolto por uma membrana super delgada de tecido conjuntivo frouxo.

Como observamos nos resultados, as tartarugas-verdes possuem o pâncreas em formato triangular, assim como outros répteis, alguns lagartos, como os *N. microspilotus* e *N. kaiseri*, que possuem o pâncreas no formato triangular (Vaissiet al, 2017).

Miller (1962) relata que o tecido das ilhotas de jacaré é localizado em grande parte caudal, porção esplênica do pâncreas. As ilhotas são alongadas, irregularmente arranjadas em cordões ramificados ou massas celulares que parecem estar dispersas entre os ácinos exócrinos. Porém, nos achados histológicos não houve essa correlação de localização anatômica e a presença de ilhotas. Foi visto que realmente são dispersas, o que corrobora com Miller e Lagios (1970).

8.2 Répteis e Aves

Para Wyneken (2001), o pâncreas das tartarugas é liso, brilhante, coloração rosada e de cor pêssego. Mas, nos resultados observou-se que o pâncreas de *Chelonia mydas* possui coloração amarelada parda, superfície regular e envolto por uma membrana delgada de tecido conjuntivo frouxo. Em gansos, a coloração mostra-se rosa-pálido (Beheiry, et al, 2018).

Em aves, o formato do pâncreas é em fita (RODRIGUES atal, 2012). Já para as tartarugas - verdes notamos que o formato do pâncreas é triangular.

8.3 Répteis e Mamíferos

Quanto à descrição anatômica do pâncreas de formato de “V” e a subdivisão em três partes (proximal ou lobo esquerdo, corpo, distal ou lobo direito) só foi descrita para cães por König e Liebich (2016) e DYCE, e colaboradores (2010). Não houve nenhum relato ou nenhuma outra descrição vista em répteis ou especificamente em tartaruga -marinha, *Chelonia mydas*, mas com os resultados obtidos, observamos que possuem o pâncreas em formato triangular. Em suínos, em que é semelhante à letra “Y”; em carnívoros, em formato de “V” - nos felinos, porém, em forma de “U” König e Liebich(2016).

König e Liebich (2016) e Brasileiro Filho (2016) descrevem para cães que o lobo esquerdo pancreático é mais curto e mais espesso, ligado intimamente ao estômago. Já o lobo direito é mais fino e mais extenso, conectando-se com o duodeno descendente e ao mesoduodeno. No resultado morfológico do pâncreas relata-se um grande lobo direito, um lobo esquerdo menor e o corpo. O lobo esquerdo se encontra na porção cranial do duodeno, o corpo na flexura duodenal e o lobo direito estende-se caudalmente ao longo do duodeno descendente incluído pelas camadas do mesoduodeno, assim como o corpo e o lobo esquerdo.

Segundo Rhoten (1987), o pâncreas endócrino dos répteis pode ser ainda mais complexo no que se refere à localização dos peptídeos, do que as ilhotas pancreáticas de mamíferos, assim corrobora com os resultados dos achados histológicos, uma vez que as células das ilhotas não são coesas como nos mamíferos, são dispersas pelo pâncreas exócrino, não tendo demarcações ou tecido conjuntivo que os limita e certifica Miller Lagios(1970).

8.4 Imuno-histoquímica

Para imunomarcção do anticorpo monoclonal de insulina: K36Ac10, foi evidenciada a secreção hormonal por células alfa que são dispostas aleatoriamente pelo pâncreas exócrino. Mas foi necessário usar de outra ferramenta diagnóstica, a imuno-histoquímica, para identificar as células alfa, uma vez que na histopatológica foi de difícil identificação das ilhotas de Langerhans, se fazendo necessária a imunomarcção.

9- CONCLUSÕES

- O pâncreas das *Chelonia mydas* possuem formato triangular de coloração amarelo parda em todas as suas porções anatômicas.
- Anatomicamente o pâncreas é subdividido em grande lobo direito e um lobo esquerdo menor, e o corpo. Lobo esquerdo se encontra na porção cranial do duodeno, o corpo na flexura duodenal e o lobo direito estende-se caudalmente ao longo do duodeno descendente incluído pelas camadas do mesoduodeno, assim como o corpo e o lobo esquerdo.
- O pâncreas se encontra próximo e fixado ao baço por um tecido conjuntivo frouxo.
- Na avaliação histológica observamos que o pâncreas das *Chelonia mydas* não possuem a porção endócrina em formato de ilhotas pancreáticas como descritas em várias espécies. O pâncreas endócrino é disperso aleatoriamente entre os ácinos pancreáticos exócrinos, como foi observado na imunomarcagem por anticorpo monoclonal para insulina K36Ac10.
- A porção exócrina secretória túbuloacinar começa com células achatadas (células centoacinares) que se estendem pelo lúmen acinar formando o início do ducto intercalado. Dutos intercalados se unem a dutos intralobulares que tem revestimento feito por epitélio cúbico simples. Dutos intralobulares seguem até formar os dutos interlobulares cujo epitélio é colunar simples.

10-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ATM – ASSOCIAÇÃO PARA A PROTEÇÃO, PESQUISA E CONSERVAÇÃO DAS TARTARUGA MARINHA NOS PAÍSES LUSÓFONOS. **Tartaruga marinha**. Disponível em:<http://tartarugasmarinhas.pt/pt/lusofonia/>. Online. Acesso em: 17 de dezembro de 2020.

Rasha Ragab Beheiry Waheed Abdel-Azeem Abdel-Raheem Ahmed Mostafa Balah Hoda Foad Salem Mayada Wahid KarkitMobini, 2013Deprem et al., 2015Pielere Chen, 2006Denbow, 2000Frandsen et al., 2009Mescher, 2010Bancroft and Gamble (2008)**Morphological, histological and ultrastructural studies on the exocrine pancreas of goose**. Beni-Suef Univ. J. Basic Appl. Sci., v.7, p.353-358, 2018.

BELLINI, Claudio; SANCHES, T. M. **Reproduction and feeding of marine turtles in the Fernando de Noronha Archipelago**, Brazil. Marine Turtle Newsletter, p. 12-13, 1996.

BRASILEIRO FILHO, Geraldo. **Bogliolo patologia**. 8 Ed, Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2016. In: 2016. P 828 a 830.

CARDEZA, A. F. (1957). **Los islotes de Langerhans em lastortuga normal**. Rev. soc. nrg. biol. 33,59-66.

DYCE, Keith M.; SACK, W. O.; WENSING, C. J. G. **Tratado de Anatomia Veterinária**, 4ª edição. Rio de Janeiro, 2016 P 339.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2v, pp.1001, 1986.

GROSSMAN, A. **Biologia Reprodutiva de *Chelonia mydas* (Reptilia)**, na Reserva Biológica do Atol das Rocas. 2001. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado em Zoologia de Vertebrados). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, UFRGS. 43f.

KÖNIG, HORST ERICH; HANS-GEORG LIEBICH. **Anatomia dos Animais Domésticos**:- Texto e Atlas Colorido. Artmed EDITORA, 2016

MADER, D.R. **Reptile Medicine and Surgery**. 2 Ed., Londres,2006, Editora Elsevier Saunders 1264p.

MCDONALD, L. E. **Veterinary endocrinology and reproduction**. 4 Ed, Filadélfia, 1989. Ilustração da ilhota pancreática por Lea &Febiger. il.Color.

MILLER, M.R., ;LAGIOS, M.D. (1970). **The pancreas**. (New York: Academic Press)

MILLER, MALCOLM R. **Observations on the comparative histology of the reptilian pancreatic islet**. General and Comparative Endocrinology, p. 407-414, 1962.

MOREIRA, L. **Occurrence of Chelonia mydas on the Island of Trindade, Brazil**. Marine Turtle Newsletter, 1995

MONTENEGRO, MARIO RUBENS; FRANCO, MARCELLO (4 Ed.).**Patologia: processos gerais**. Atheneu, 2008, p 523 -568.

O'MALLEY, B. **Clinical Anatomy and Physiology of Exotic Species**. London, 2005, Editora Elsevier Saunders,, p.17-93.

PENHOS ;RAMEY, **Studies on the endocrine pancreas of amphibians and reptiles**. American Zoologist,p. 667-698, 1973.

PRITCHARD, PETERCH. **Evolution, phylogeny, and current status**.In: **The Biology of Sea Turtles**, Volume I. CRC Press, 2017. p. 1-28.

PROJETO TAMAR. **Tartaruga marinha**. Disponível em: <http://www.tamar.com.br/>. Online. Acesso em: 17 de janeiro de 2020.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos Vertebrados**. 3 edição. : São Paulo, 2003. EditoraAtheneu

RHOTEN, W. (1987).**Co-localization of glucagon and pancreatic polypeptide in testudine pâncreas**. Experienciadoi:10.1007/BF01940439.

RODRIGUES, M. N.; OLIVIERA, G. B. DE; SILVA, R. S. B. DA; ALBUQUERQUE, J. F. G. DE; MIGLINO, M. A., OLIVEIRA, M. F. **Morfologia e topografia do fígado e pâncreas de emas *Rhea americana***. **Ciência Rural**, Santa Mari, p. 474-479, 2012.

SANTOS R. L.; ALESSI A. C. **Patologia veterinária**. 2. ed. Rio de Janeiro : Roca, 2016., capítulo 4.

VAISSI, S.; PARTO, P.; SHARIFI, M. **Anatomical and histological study of the liver and pancreas of two closely related mountain newts *Neurergus microspilotus* and *N. kaiseri* (Amphibia: Caudata: Salamandridae).** Zoologia, E13229, 2017.

WYNEKEN, JEANETTE; WITHERINGTON, DAWN. **The anatomy of sea turtles.** National Marine Fisheries Service, p 38, 2001