Archives of Veterinary Science ISSN 1517-784X

v. , n., p. , 2022 www.ser.ufpr.br/veterinary

ESTUDO DO SISTEMA PORTA HIPOFISÁRIO NA TILÁPIA-DO-NILO *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758) E TRAÍRA *Hoplias sp.* (Bloch, 1794)

STUDY OF THE HYPOPHYSEAL PORTAL SYSTEM IN NILE TILAPIA *Oreochromis niloticus* (*Linnaeus, 1758)* AND TRAIRA *HOPLIAS sp.* (Bloch 1794)

Vitor Ferreira de Lima[1]; Regina Maria Nascimento Augusto Blaitt[2]; Marcelo Fernandez de Souza Castro[3]; Wagner Intelizano[4]; Lorenzo Pissinatti[5]; Ronnie Von Mateus Ferreira[6].

[1] Discente do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Sorocaba, São Paulo, Brasil;
[2] Docente do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Sorocaba, São Paulo, Brasil;
[3] Docente do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Sorocaba, São Paulo, Brasil;
[4] Docente do curso de Medicina Veterinária, Universidade Metropolitana De Santos, São Paulo, Brasil;
[5] Docente do curso de Medicina Veterinária, Universidade de Sorocaba, São Paulo, Brasil;
[6] Técnico do laboratório de anatomia Veterinária, Universidade de Sorocaba, São Paulo, Brasil;

*Corresponding author: vf2934@gmail.com

RESUMO –

O conecimento aprofundado do eixo hipotalâmico-hipofisário (H-H) é imprescindível principalmente para o desenvolvimento de técnicas de reprodução. Muitos estudos com tecnologias inovadoras trouxeram uma visão ampla no que se refere ao eixo H-H, no entanto existem pontos que não estão devidamente esclarecidos do ponto de vista anatomofuncional. O presente trabalho estudou o eixo H-H quanto sua vascularização a título de procurar relatar se a hipófise é estimulada por vias parácrinas ou através do sistema porta-hipofisário em *Oreochromis niloticus* e *Hoplias spp.* Contatou-se que pequenas quantidades da solução perfusora se difundiu pela hipófise e posteriormente para o hipotálamo pelo leito vascular, provando a existência do sistema porta. Outro ponto importante seria que muitos vasos sanguíneos da região não foram corados pela solução, de modo que seja

considerável outras vias de estimulação hipofisária mediadas pelo hipotálamo, liberando moléculas que agem de forma parácrina e neurócrina.

Palavras-chave: endocrinologia; eixo hipotalâmico-hipófisario; evolução; o*steichthyes;* sistema porta;

ABSTRACT –

In-depth knowledge of the hypothalamic-hypophyseal axis (H-H-A) is essential especially for the development of reproduction techniques. Many studies with innovative technologies have brought a broad view regarding the HH axis, however there are points that are not properly clarified from an anatomofunctional point of view. The present work studied the H-H axis and its vascularization in order to try to report whether the hypophyseal is stimulated by the paracrine pathways or through the hypophyseal portal system in *Oreochromis niloticus* and *Hoplias sp*. Small amounts of the perfusing solution were found to have diffused through the hypophyseal gland and later to the hypothalamus through the vascular bed, proving the existence of the portal system. Another important point would be that many blood vessels in the region were not stained by the solution, so that other pathways of hypophyseal stimulation mediated by the hypothalamus are considerable, such as the release of molecules that act in a paracrine manner and/or neurocrine.

Key words: endocrinology; hypothalamus-hypophysis axis; evolution; osteichthyes; hypophyseal portal system;

INTRODUÇÃO

O *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758), é um animal da classe *Actinopterygii* (Klein, 1885), pertencente à família *Cichlidae* (Bonaparte,1835), grupo taxonômico que envolve mais de 1900 espécies descritas. É um animal nativo do

continente africano, o que explica o seu nome comum de Tilápia-do-Nilo. A espécie possui hábitos alimentares planctófogos, tem comportamento de construção de ninho com cuidado parental e pode realizar facilmente mais de quatro desovas no ano, tornando-a extremamente prolífera quando compara com outras espécies. É um dos peixes de água doce mais estudados no mundo, sendo a espécie mais produzida no Brasil, superando a marca de 486.155 toneladas por ano (Kullander, 2003; APBR, 2021).

Já a Traíra *Hoplias spp. (*Bloch, 1794), é um peixe neotropical da família *Erythrinidae,* presente em grande parte da América do Sul, e muito difundido na cultura brasileira, seja como prato típico e/ou pesca esportiva, comumente encontrada em rios de água lenta, lagos e represas. Uma espécie com hábitos de caça crepusculares, estritamente carnívora e seu período reprodutivo pode variar ao longo dos meses que permeiam primavera e verão, também apresenta comportamento de formar casais, onde o macho inicialmente cuida da prole (Baldisseroto., 2020). A traíra vem sendo explorada pela piscicultura, contudo ainda existem múltiplos entraves para a produção comercial em larga escala, de modo que parte de seu consumo ainda seja proveniente da pesca extrativista.

Pesquisas referentes à anatomia e fisiologia dos *Osteichthyes* podem trazer muitas respostas sobre adaptação ao meio e evolução entre as espécies, o que possibilita contribuir para o desenvolvimento de metodologias mais eficientes principalmente para reprodução, quando se refere ao eixo hipotalâmico-hipofisário. Com a modernização e avanço científico foi possível evidenciar diversos fatores que envolvem a fisiologia do ponto de vista celular e molecular, no entanto ainda existem

lacunas a respeito dos conhecimentos básicos relacionados à anatomia funcional dos *Osteichthyes.*

Em *Osteichthyes,* semelhante aos demais vertebrados, boa parte dos ajustes fisiológicos frente aos estímulos ambientais são mediados através de hormônios. A principal glândula endócrina do corpo é denominada por hipófise vulgarmente conhecida como pituitária e/ou glândula mestra, devido sua capacidade no controle de estimulação ou inibição sobre outras glândulas endócrinas, sejam estas relacionadas ao tecido gonadal, com o metabolismo, crescimento, ou à pigmentação da pele, inclusive contribuindo com parte da liberação dinâmica de hormônios do sistema nervoso autônomo e interferindo no comportamento reprodutivo (Baldisseroto., 2018; Mclean *et al*., 1981).

O controle neuroendócrino mediado pelo eixo hipotalâmico-hipofisário (H-H), é regulado por fatores ambientais dos mais variados como fotoperíodo, pH, pluviosidade, turbidez de água, salinidade, temperatura entre outras variações dependentes da sazonalidade e ambiente (Massaaki *et al*., 2017). Frente a grande diversidade de espécies, conhecer mecanismos anatomofuncionais se fazem imprescindíveis para construir uma base sólida de conhecimento, permitindo o desenvolvimento de técnicas eficientes principalmente para a reprodução, nutrição e manejo.

O sistema nervoso integra parte do controle endócrino através da liberação de hormônios hipotalâmicos que agem sobre a hipófise, gerando uma cascata hormonal para atender determinados mecanismos fisiológicos. Em vertebrados a adeno-hipófise é a porção da hipófise que possui ligação com o sistema porta-hipofisário, este mecanismo anatomofuncional permite a chegada de hormônios

hipotalâmicos diretamente na glândula hipofisária através de uma veia. O conhecimento sobre a hemodinâmica de *Osteichthyes* encontra-se defasado, sendo necessários mais esclarecimentos quanto a interação entre hipotálamo e hipófise em teleósteos do ponto de vista anatômico, que torna comum a divergência de informações sobre a existência do sistema porta-hipofisário, ou se a interação entre hipotálamo e hipófise depende de vias parácrinas e neuronais (Baldisseroto, 2018; Kardong, 2016).

Em teleósteos os hormônios secretados da região da Adeno-hipófise cumprem diversas funções, atuando na regulação da tireoide, através do hormônio tireoestimulante (TSH); influenciam na maturação gonadal mediante a ação do hormônio folículo estimulante ou gonadotrofina l e hormônio luteinizante, chamado de gonadotrofina ll (GTH l e GTH ll); promovem mitose e diferenciação celular através do hormônio do crescimento (GH); a glândula inter-renal responde ao ACTH (hormônio adrenocorticotrófico) em condições de estresse; o hormônio α-estimulador de melanóforo (α–MSH) que atua no controle de pigmentação da pele, além da somatolactina e o peptídeo relacionado ao hormônio paratiroideo, estes dois últimos relacionados com o metabolismo de cálcio e fósforo, entre outros (Baldisseroto, 2018; Ooi, 2004; Fontaine, 2020).

Ao longo da evolução dos vertebrados houveram mudanças morfológicas e funcionais na sintopia entre hipotálamo e hipófise que foram importantes para adaptações das espécies frente as necessidades fisiológicas. A hipófise dos *Actinopterygii* (peixes de nadadeiras raiadas) apresenta algumas variações quanto aos mecanismos conhecidos em mamíferos. Por exemplo, sabe-se que nestes

peixes os axônios hipotalâmicos terminam dentro do parênquima hipofisário, intervindo diretamente a *pars distalis,* diferentemente dos mamíferos em que os axônios desembocam no sistema porta hipofisário através da eminência mediana, estrutura que não foi vista nestes peixes, assim como está ausente nos peixes agnatas (Jakob, 2014; Stacia, 2015; Golan et al., 2015).

Outra diferença seria que os mamíferos possuem a organização de estruturas secretoras hipofisárias muito bem compartimentadas, de modo que cada região específica da hipófise produza um hormônio específico. Em relação a hipófise dos teleósteos, ela é dividida histologicamente em neuro-hipófise e adeno-hipófise, sendo que a adeno-hipofise ainda se subdivide em *pars distalis rostral*; *pars distalis proximal* e *pars intermédia*. Inclusive foi visto que as células gonadotróficas, localizados na *pars distalis proximal*, possuem grande especificidade em relação aos hormônios que devem ser produzidos na região, onde uma única célula gonadotrófica produz somente GHT l ou GTH ll, mas não ambos, diferente do padrão visto em mamíferos e aves onde a liberação de FSH e LH pode ser feito pela mesma célula, (Golan *et al*., 2016; Gronlien *et al.*, 2021; Fontaime *et al*., 2020).

Por mais que nos últimos anos diversos trabalhos acadêmicos tenham contribuído para ictiologia revelando a função de hormônios hipofisários, como também os respectivos mecanismos que participam de sua via biosintética secretora, têm fornecido informações pertinentes em relação a endocrinologia, ainda pouco se sabe a respeito dos sistemas de vascularização que compõem a hipófise de teleósteos. Esse tipo de informação pode ser um ponto chave para novas descobertas relacionadas com os mecanismos de sinalização hormonal,

organização morfológica, e composição celular da hipófise e evolução entre as espécies (Royan, 2021).

Os peixes ósseos representam a maior classe de vertebrados ao redor do mundo, existem diversas espécies amplamente consumidas que não são produzidas zootecnicamente, outras tantas sofrem risco de extinção por serem espécies de interesse comercial, além de diversos fatores que influenciam no ambiente, dando destaque para a poluição de corpos hídricos, construção de barragens, mudanças climáticas, entre outras, onde os recursos na tentativa de salva-las acabam sendo limitados pela escassez de literaturas disponíveis que poderiam contribuir para novos protocolos de reprodução, desenvolvimento de fármacos, entre outras formas de controle endócrino.

Frente ao exposto, estudos anatomofuncionais do eixo hipotalâmico-hipofisário podem contribuir para os conhecimentos gerais referentes a ictiologia, além de oferecer uma base para a construção do conhecimento avançado. O presente trabalho estudou a vascularização hipotalâmica-hipofisária na Tilápia-do-Nilo *(Oreochomis niloticus)* e traíra *(Hoplias sp.)* visando agregar no conhecimento anatômico-funcional quanto a estimulação hipofisária dependente de um sistema porta-hipofisário. Para o estudo aplicaram-se injeções de nanquim com formaldeído a 10% tamponado em vasos da circulação secundária. Posteriormente os encéfalos foram dissecados com a hipófise ainda aderida para confecção de lâminas histológicas coradas em Hematoxilina eosina para seguintes análises em microscopia de luz.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o estudo utilizou-se 8 animais, adultos que foram divididos em 2 grupos de acordo com a espécie, respectivamente um grupo de 4 tilápias com comprimento médio de 37,3 cm e outro grupo de 4 traíras de comprimento médio de 42,6 cm. O projeto está em processo de jungament9 pelo CEUA 221/2022. Os exemplares foram obtidos de um açude particular localizado na região de Sorocaba-SP, onde as tilápias foram capturadas com o auxílio de uma tarrafa e passaguá e para as traíras foi necessário pesca-las com isca natural (filé de peixe), vara e carretilha, visando a obtenção de exemplares de maior porte. O anzol do tipo circle-hook mostrou-se eficiente por não permitir o peixe deglutir o anzol, preservando todas estruturas internas e mantendo a hemodinâmica estável.

Assim que retirados da água os animais, foram inseridos em uma caixa com volume útil de 40 litros preenchida pela metade com a própria água do açude, o nível de oxigênio dissolvido era superior a 6 mg/L. O fármaco usado para eutanásia foi o eugenol associado com álcool 92,8 INPN na proporção de 1 ml de eugenol para 10mL de álcool na finalidade de tornar a solução solúvel em água, resultando em uma concentração de 100 mg/mL-1. A dose para eutanásia foi superior a 286,55 mg/L-1, confirmada pela completa ausência de batimentos operculares por mais de 10 minutos, dentro das diretrizes da prática de eutanásia CONCEUA. Logo em seguida os peixes foram transportados em uma caixa de isopor com gelo para minimizar a deterioração da amostra antes da dissecação prévia do encéfalo.

PERFUSÃO DE NANQUIM

A solução utilizada para perfundir os vasos sanguíneos associados com as áreas ventrais do encéfalo e hipófise foi obtida a partir de uma mistura de tinta

nanquim (carbono coloidal) com solução tamponada de formaldeído a 10%, na proporção de uma parte de nanquim para três partes formaldeído, no intuito de tracejar o vaso fixando-o, e dando volume para injeção. Também foi feita uma transecção total da cauda do peixe para evitar excessiva pressão intravascular e para que o sangue fosse substituído pela solução a ser injetada.

O acesso utilizado para perfundir a solução se deu através de um vaso superficial, constituinte da circulação secundária. Tal estrutura que surge a partir de anastomoses artério-arteriais da circulação primária, que segue no sentido cranial e desembocando na circulação venosa, semelhantes ao sistema linfático de mamíferos, porém com outras atribuições fisiológicas como tamponamento do fluido corpóreo e regulação de eritrócitos circulantes, principalmente em condições de estimulação a partir do sistema nervoso simpático (Rummer, 2017).

Logo após a retirada das escamas, realizou-se uma incisão da pele em ambas laterais do animal no sentido dorsoventral. Devido à posição anatômica do vaso, disposto no sentido longitudinal logo abaixo da derme foi possível identificá-lo com suas paredes semelhantes às de artérias por não colabarem, revelando o seu lúmen, e facilitando sua canulação. Em *Hoplias sp. o* vaso encontra-se a alguns milímetros dorsalmente à linha lateral e em *O. niloticus* o vaso está situado três escamas ventrais àquelas da linha lateral cranial.

Figura 1 – Demonstração do acesso utilizado em uma tilápia-do-Nilo (*O. niloticus)* através do vaso pertencente a circulação secundária para injetar a solução no intuito de marcar o retorno venoso, incluindo o caminho retrógado da veia cardinal anterior até alcançar a veia hipofisária.

DISSECAÇÃO DAS AMOSTRAS

Os encéfalos das tilápias foram dissecados com tempo hábil inferior a 10 horas visando evitar ao máximo os processos de autólise *post mortem.* Nas traíras havia um maior intervalo de tempo para o início procedimento. O objetivo se consistia em remover o encéfalo com a hipófise ainda aderida ao hipotálamo, feito que dependia muito da velocidade de autólise do tecido nervoso *post-mortem*, logo procurou-se manter as amostras sob refrigeração próxima de 1ºC até o momento da dissecação.

Constatou-se como uma excelente opção divulsionar ao redor do encéfalo com lâmina de bisturi nº11 e jatos de água pressurizada consideravelmente fria e

com o auxílio uma seringa de 5 mL acoplada a uma agulha de insulina, viabilizando a limpeza da região e manutenção da temperatura da amostra abaixo da temperatura ambiente.

As amostras obtidas foram conservadas em solução de formaldeído tamponado 10% até as seguintes etapas para confecção de lâminas histológicas da área hipotalâmica-hipofisária. Utilizou-se a técnica com coloração a base de Hematoxilina e Eosina para posterior avaliação através de microscopia de luz das estruturas que compõe o eixo hipotalâmico-hipofisário. As micrografias foram tiradas com uma câmera digital acoplada a um microscópio trilocular e posteriormente por edição simples, com aumentando o contraste e redução da exposição à luz, para melhor leitura visual das amostras.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a retirada do encéfalo a hipófise foi facilmente identificada ventral ao hipotálamo, mantendo contato com ele. O que está de acordo com todos os autores consultados, que indicam a sintopia com o hipotálamo através do infundíbulo, sendo uma glândula endócrina de dupla origem embrionária, surgindo a partir do neuroectoderma e ectoderma, isso explica por que a hipófise possui dois tipos de tecidos embrionários distintos. Em seu desenvolvimento, a partir do infundíbulo ocorre um dobramento do assoalho do diencéfalo que formará a neuro-hipófise. No mesmo momento ocorre uma invaginação do ectoderma do teto estomodeu, chamada inicialmente por divertículo hipofisário ou bolsa de Rathke, estrutura que

posteriormente se separa do ectoderma dando origem a adeno-hipófise (Moore, et al, 2022; Junqueira, 2018).

Na histologia foi possível diferenciar as respectivas células que compõe a região hipotalâmica e hipofisária. A neuro-hipófise e adeno-hipófise foram facilmente identificadas em ambas espécies, todavia notou-se que em *Hoplias sp.* existe uma compartimentação muito mais evidente das células hipofisárias quando comparada com *Oreochromis niloticus.* Em ambas espécies foi possível avistar o nanquim no parênquima hipofisário e em pontos distintos de outras partes do diencéfalo.

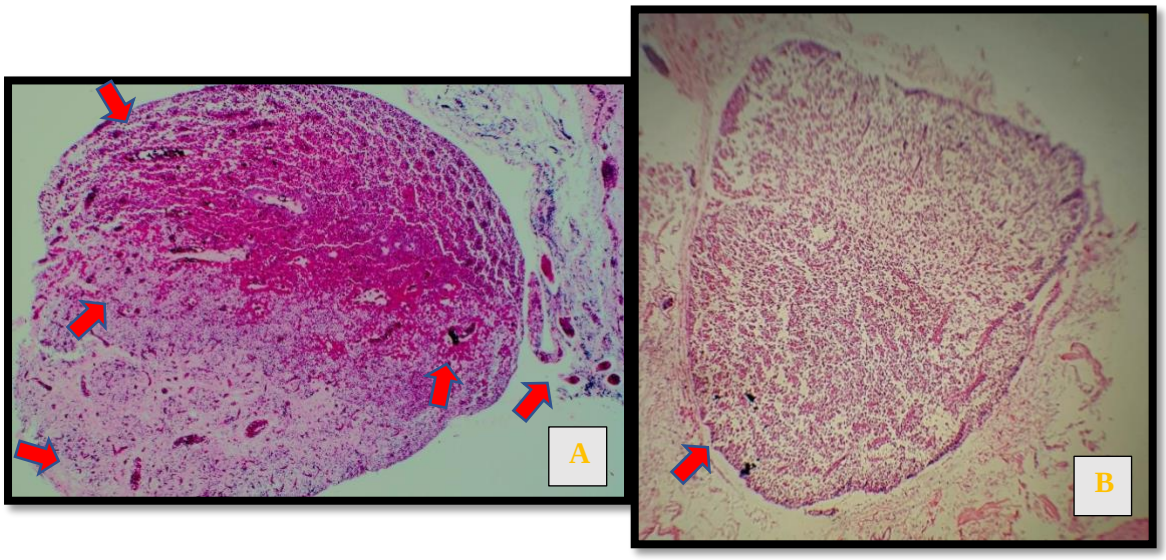

Figura 2 – As figuras nos mostram a hipófise de *Hoplias* sp. (A) e *Oreochromis niloticus* em (B) coradas em H-E e visualizadas na objetiva 4x com nanquim em seu parênquima e em parte do tecido neuronal adjacente.

Na hipófise de *Hoplias sp.* as células revelaram-se mais acidófilas e parênquima consideravelmente homogêneo e vasos sanguíneos de maior diâmetro quando comparado com a hipófise de *Oreochromis niloticus* cujo suas células

mostraram um caráter mais basofílico e estão dispostas em uma organização menos intensa quanto ao contato célula-célula, possibilitando discernir claramente a região de adeno-hipófise da neuro-hipófise, todavia as divisões estruturais entre *pars distalis rostral, pars distalis proximal e pars intermédia* não se apresentaram claramente visíveis.

Conforme o que foi proposto e visto através da metodologia utilizada e se baseando nas informações disponíveis em literaturas, a questão a ser debatida não se enquadra em procurar definir a existência ou inexistência do sistema porta-hipofisário em teleósteos, e sim procurar definir a intensidade e relevância das variadas formas de comunicação entre hipotálamo e hipófise, visto que diferentes formas de estimulação têm sido descritas ao longo dos anos para diferentes hormônios associados, fator que pode estar relacionado com os diferentes táxons, particularidades dos ajustes fisiológicos de cada espécie e determinadas vias para manutenção da homeostase.

Alguns estudos recentes utilizando um teleósteo da família *Cyprinidae* muito usado como modelo experimental, o peixe-zebra (*Danio rerio)* (Golan *et al*., 2015) e medaka (*Orizias lapipes),* (Hodne *et al*., 2019) mostraram projeções neuronais pré-ópticas que partem do hipotálamo e seguem seu trajeto intimamente próximas à vascularização hipofisária. Inclusive foi sugerido para o *Danio rerio* um possível sistema porta-hipofisário devido a presença de vasos sanguíneos permeáveis para grandes moléculas peptídicas na neuro-hipófise. Por outro lado, um estudo utilizando ciclídeos (*Oreochomis niloticus*) descreveu células folículo-estreladas que partem do hipotálamo e tem como ponto final da via a *pars distalis proximal,* liberando de forma

parácrina moléculas que participam principalmente no controle de síntese de FSH, e em menor grau para o GH e LH, devido à formação de junções intercelulares com estreitas redes comunicantes que contribuem no suporte, metabolismo e transporte de moléculas ao longo da hipófise otimizando a interação entre as células vizinhas. (Golan *et al*., 2016).

CONCLUSÃO

De fato, ainda há muito de investigar a respeito de diversos assuntos relacionados com a ictiologia, onde o conhecimento morfofuncional é pouco explorado e pode contribuir para novos esclarecimentos de sinalização hormonal, quando se estuda o sistema porta-hipofisário. De acordo com o material e método empregado, concluímos que existem fortes evidências da existência do sistema porta-hipofisário, pois foi possível visualizar que o nanquim realizou o caminho retrógrado das veias desembocando em diversas regiões da hipófise e alcançando áreas hipotalâmicas. Tal conclusão não exclui a possibilidade de outros mecanismos participarem da regulação do eixo hipotalâmico-hipofisário, sejam vias parácrinas ou neurócrinas para as espécies estudadas.

REFERÊNCIAS

Baldisseroto, Bernardo. **“Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura”** 3. ed. – Santa Maria: ed. da UFSM, 2018. P. 157 – 230.

Baldisseroto, Bernardo. ”Espécies nativas para piscicultura no brasil 3. ed. – Santa Maria: ed. da UFSM, 2020. P. 229 – 244. ISBN: 978-85-7391-347-7

Fontaine R, Ciani E, Haug TM, et al. **“Gonadotrope plasticity at cellular, population and structural levels: A comparison between fishes and mammals”**. *Gen Comp Endocrinol*. 2020. P. 287:113344. doi:10.1016/j.ygcen.2019.113344

Ganeco, Luciana Nakaghi ´´**Ontogenia da resposta endócrina em larvas de matrinxã Brycon amazonicus. Ênfase nos eixos hipófise-tireóide e hipófise-tecido interrenal**´´´ / 2007;0 Luciana Nakaghi Ganeco. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Centro de Aqüicultura, 2007

Golan M, Martin AO Mollard P, Levavi-Sivan B. “**Anatomical and functional gonadotrope networks in the teleost pituitary”.** *Sci Rep*. 2016; 6:23777. Published 2016 Mar 31. doi:10.1038/srep23777

Golan M, Hollander-Cohen L, Levavi-Sivan B. **“Stellate Cell Networks in the Teleost Pituitary”.** *Sci Rep*. 2016; 6:24426. Published 2016 Apr 18. doi:10.1038/srep24426

Grønlien, Heidi Kristine et al. **“Long extensions with varicosity-like structures in gonadotrope Lh cells facilitate clustering in medaka pituitary culture.”** PloS one vol. 16,1 e0245462. 28 jan. 2021, doi:10.1371/journal.pone.0245462

Jakob Biran, Matan Golan, Naama Mizrahi, et al., “**Direct Regulation of Gonadotropin Release by Neurokinin B in Tilapia (*Oreochromis niloticus*)”**, *Endocrinology* , Volume 155, Issue 12, 1 de dezembro de 2014, Pages 4831–4842, https://doi.org/10.1210/en.2013-2114

J. L. Rummer, S. Wang, J. F. Steffensen, D. J. Randall; ‘’**Function and control of the fish secondary vascular system, a contrast to mammalian lymphatic systems.’’** *J Exp Biol* 1 March 2014; 217 (5): 751–757. doi: https://doi.org/10.1242/jeb.086348

JUNQUEIRA, LUIZ CARLOS UCHOA. **“Histologia básica: texto e atlas”** / L. C. Junqueira, José Carneiro; autor-coordenador Paulo Abrahamsohn. – 13. ed. - [Reimpr.]. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018. P –400

KARDONG, KENNETH V. **“Vertebrados: anatomia comparada, função e evolução”** / Kenneth V. Kardong; tradução Claudia Lucia Caetano de Araujo, Idilia Vanzellotti, Patricia Lydie Voeux. - 7. ed. - [Reimp.]. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019.

Kjetil Hodne, Romain Fontaine, Eirill Ager-Wick, Finn-Arne Weltzien, **Gnrh1-Induced Responses Are Indirect in Female Medaka Fsh Cells, Generated Through Cellular Networks**, *Endocrinology*, Volume 160, Issue 12, December 2019, Pages 3018–3032, https://doi.org/10.1210/en.2019-00595

KULLANDER, E. Family Cichlidae (Cichlids): **Check List of the Freshwater Fishes of South and Central America.** p. 605-649, 2003.

MATAN GOLAN, EINAT ZELINGER, YONATHAN ZOHAR, BERTA LEVAVI-SIVAN, “**Architecture of GnRH-Gonadotrope-Vasculature Reveals a Dual Mode of Gonadotropin Regulation in Fish”** *Endocrinology* , Volume 156, Issue 11, 01 de novembro de 2015, Pages 4163-4173, https: //doi.org/10.1210/en.2015-1150

MCLEAN, C., LOWRY, P. **‘’Natural occurrence but lack of melanotrophic activity of *γ*-MSH in fish.”** Nature 290, 341-343 (1981). https://doi.org/10.1038/290341a0

Moore, Keith L. ‘’**Embriologia básica’’** / Keith L. Moore, T. V. N. (Vid) Persaud, Mark G. Torchia; revisão técnica Estela Bevilacqua; tradução Fernanda Seabra

Schanuel, Samanta Mello. - 10. ed. - Rio de Janeiro: GEN | Grupo Editorial Nacional S.A. Publicado pelo selo Editora Guanabara Koogan Ltda., 2022.

OOI GT, TAWADROS N, ESCALONA RM. **Pituitary cell lines and their endocrine applications.** *Mol Cell Endocrinol*. 2004;228(1-2):1-21. doi:10.1016/j.mce.2004.07.018

RENATO MASSAAKI HONJI, RENATA GUIMARÃES MOREIRA **"Controle neuroendócrino da ovogênese em peixes teleósteos."** Rev. Bras. Reprod. Anim., Belo Horizonte, v.41, n.1, p.86-93, jan./mar. 2017

ROYAN MR., SIDDIQUE K., CSUCS G., ET AL. **3D Atlas of the Pituitary Gland of the Model Fish Medaka (*Oryzias latipes*).** *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12:719843. Published 2021 Aug 23. doi:10.3389/fendo.2021.719843

STACIA A. SOWER, **Breaking Dogma on the Hypothalamic-Pituitary Anatomical Relations in Vertebrates**, *Endocrinology* , Volume 156, Issue 11, 1 de novembro de 2015, Pages 3882-3884, https://doi.org/10.1210/en.2015-1778