

ISABELA BASTOS BINOTTI ABREU DE ARAUJO

**CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DAS ALTERAÇÕES DE FÍGADOS
BOVINOS PARASITADOS POR *Fasciola hepatica***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Departamento de
Medicina Veterinária do Centro de
Ciências Agrárias da Universidade
Federal do Espírito Santo, como requisito
para obtenção do grau de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Orientadora: Prof. Msc. Erika Takagi
Nunes.

Co-orientadora: Dra. Isabella Vilhena
Freire Martins.

ALEGRE/ ES

2010

RESUMO

O invertebrado pertencente ao filo Platyhelminthes, *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1798), é responsável pela fasciolose bovina, a qual tem se tornado um grande problema econômico para os produtores, não só da região sul do Estado do Espírito Santo, bem como de todo o mundo, sendo assim, pesquisas vêm sendo desenvolvidas para colaborar na implementação de um programa de controle estratégico para a doença. O presente projeto teve como objetivo geral caracterizar morfológicamente fígados acometidos por *Fasciola hepatica*, provenientes de bovinos abatidos da região sul do ES. Através da observação macroscópica, foram levantadas informações sobre a frequência de fígados de bovinos condenados por fasciolose, quantificada a carga parasitária média; por meio de técnicas histológicas foram descritas as alterações morfológicas correlacionando-as com as lesões hepáticas já descritas; e determinado o perfil hematológico do animal. Macroscopicamente, os fígados parasitados tanto pela forma adulta como jovem de *F. hepatica* mostraram aumento no volume, enrijecimento nas extremidades e modificação na coloração capsular e do parênquima. Apresentaram espessamento e, em alguns casos, calcificação da parede dos ductos biliares, além de material granuloso em seu interior. Em microscopia de luz, foram encontradas as seguintes alterações: acúmulo de tecido conjuntivo denso tanto no espaço porta como no parênquima e vasos, característico de fibrose/ cirrose e arteriosclerose, respectivamente; aumento no número de elementos da tríade portal (hiperplasia) e de células epiteliais com organização circular, principalmente na parede do ducto principal; aglomerados de células sanguíneas granulocíticas estiveram presentes em todos os animais. Alterações morfológicas mais intensas foram encontradas no lobo esquerdo dos fígados coletados durante o período de inverno. Este trabalho descreve, detalhadamente, a estrutura dos fígados acometidos pelo parasito, caracterizando cada uma das lesões provocadas.

1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. Histórico

Atualmente, a agropecuária assumiu importante papel na economia mundial, sendo, no Brasil, representada por aproximadamente 200 milhões de cabeças de gado (IBGE, 2008), o que representa o segundo maior rebanho bovino do mundo, ultrapassado apenas pela Índia (SCHLESINGER, 2010).

O desenvolvimento da bovinocultura de corte torna-se atraente quando se considera o potencial desse setor no país (FREITAS et al., 2005). Entre 1990 e 2007, a produção de carne bovina mais que dobrou, passando de 4,1 para mais de 9 milhões de toneladas, com ritmo de crescimento bem superior ao da população bovina e do consumo deste produto. O Brasil é também o principal exportador mundial de carne bovina e o primeiro fornecedor a União Européia, com volume de importações de 65,9% de carne por parte do bloco europeu e lucro de exportação brasileira de 56,5%, em 2007 (SCHLESINGER, 2010). De acordo com dados do IBGE (2008), a produção de leite aumentou 5,5% somando quase 28 milhões de litros, colocando o Brasil como quarto produtor mundial, ficando atrás da Índia, China e Rússia.

A Pesquisa da Pecuária Municipal (IBGE, 2008) demonstrou que o estado do Espírito Santo possui 2.120.017 de cabeças de gado, sendo 53.667 destas presentes no município de Alegre, na região sul do estado.

Diversas parasitoses têm afetado o gado gerando, assim, perdas econômicas a pecuária, uma vez que causa redução no ganho de peso animal, diminuição na qualidade do leite e/ ou da carne e, ainda, alteração na taxa de fertilidade (CHARLIER et al., 2008). Dados da FAO (Food and Agriculture Organization) (2003) demonstram que de todos os países filiados a ela, 22% deles apresentam significantes níveis de parasitismo no rebanho

bovino tendo os animais mais representativos, os ectoparasitas, os carrapatos (*Boophilus microplus*) e as moscas hematófagas (*Haematobia irritans*) e, dentre os endoparasitos, *Haemonchus* sp., *Trypanosoma* sp., *Babesia* sp., quando se refere a causadores de patologias (GRAY et al., 2008).

De todas as doenças que acometem o gado, a fasciolose, patologia que acomete o fígado dos animais (BORAY, 1985), representa perda econômica anual de 2 a 3 bilhões de dólares (DIAB et al., 2010; SCHWEIZER et al., 2005).

Essa patogenicidade tem grande repercussão sanitária em animais domésticos (LOFTY et al., 2008), tanto em grupos de ruminantes como em não ruminantes (LEVA, 2007). Considerando a frequência com que os acometem, nas regiões tropicais e temperadas do mundo (REY, 2001), o índice de infecção é elevado especialmente nos países da América do Sul (MAS-COMA et al., 2005), e em regiões menos desenvolvidas cuja prevalência oscila entre 25 a 100%, dependendo da zona de risco (LEVA, 2007).

1.2. *Fasciola hepatica*: caracterização e ciclo de vida

A fasciolose é uma enfermidade causada pelo parasito *Fasciola hepatica* (Linnaeus, 1798). Este invertebrado pertence ao filo Platyhelminthes, classe Trematoda, a qual é formada por dois subtaxons (BRUSCA; BRUSCA, 2007): Apstogastrea e Digenea, sendo esta subclasse a única de interesse da Medicina Humana e Veterinária (REY, 2001). Isto deve-se ao fato dos digênios serem endoparasitas comuns a todos os taxons maiores de vertebrados: peixes, anfíbios, répteis, aves e mamíferos (RUPPERT et al., 2005).

Essa subclasse agrupa a ordem Distomata que possui em sua organização taxonômica a família Fasciolidae (MARTINS et al., 2007). Esta, apesar de ser uma família relativamente pequena, compreende nove espécies descritas taxonomicamente,

com seus representantes bastante conhecidos em virtude do formato foliáceo do corpo e por sua significância em saúde pública e veterinária (LOFTY et al., 2008).

Os digêneos são animais endoparasitas anaeróbios facultativos (RUPPERT et al., 2005) que apresentam ventosas (oral e ventral ou acetabular), estruturas musculares que oferecem suporte ao parasito durante sua fixação no hospedeiro (FORTES, 2004). A parte digestiva desses invertebrados é iniciada com a boca (situada na ventosa oral) contígua com uma região musculosa, o esôfago, que também se conecta com a faringe bulbosa (RUPPERT et al., 2005). Esta última é responsável pela ingestão de células e fragmentos/descamações celulares, bile, sangue do hospedeiro e produtos inflamatórios e é seguida pelo intestino. Em *Fasciola hepatica*, o intestino apresenta-se bifurcado em dois longos ramos paralelos às margens do corpo subdivididos em divertículos, os quais penetram em cada região corpórea (REY, 2001; RUPPERT et al., 2005). Depois de digeridos os alimentos e absorvidos os materiais nutritivos, os resíduos são regurgitados pela abertura oral devido a ondas antiperistálticas (REY, 2001).

Em virtude do hermafroditismo encontrado em *F. hepatica*, a produção de ovos é estimada em torno de 10.000 a 100.000 vezes maior que qualquer outro platelminto de vida livre (BRUSCA; BRUSCA, 2007; RUPPERT et al., 2005).

O ciclo de vida destes animais é indireto, com gerações sexuadas e assexuadas, incluindo dois ou mais hospedeiros e pelo menos dois estágios infectantes. Geralmente um molusco gastrópode (caramujo) é o hospedeiro intermediário e um vertebrado, o hospedeiro definitivo (RUPPERT et al., 2005).

Os adultos de *F. hepatica* vivem nos ductos biliares de ruminantes ou de outros hospedeiros mamíferos. Os ovos caem no lúmen intestinal com a bile, e em seguida atingem o exterior com as fezes. Cada um desses ovos é constituído de um zigoto e agregado de células vitelínicas incluídos em uma cápsula operculada. Em presença de água, os ovos eclodem em uma larva ciliada, chamada de miracídio. O miracídio é recoberto por cílios, e apresenta papilas cônicas em sua extremidade anterior facilitando sua penetração no caramujo. Durante o desenvolvimento larval, o parasito empurra o opérculo e nada ao encontro do hospedeiro intermediário *Lymnaea* spp. (KEISER;

UTZINGER, 2005), encontro esse que deverá ocorrer dentro de 24 horas, caso contrário, morrerá por esgotamento do estoque de energia (BOWMAN, 2006).

Uma vez no corpo do gastrópode, a larva perde sua cobertura ciliada e migra para a gônada ou para glândula digestiva (hepatopâncreas), onde se transforma em esporocisto. Este consiste em um saco sem trato digestivo e com vários embriões (células germinativas) (RUPPERT et al., 2005). Cada célula germinativa, por meio de divisões sucessivas, transforma-se em uma bolsa germinativa, e cada uma dessas bolsas desenvolvem-se em rédias de primeira geração, as quais possuem boca, faringe e trato digestivo e também seus próprios embriões (RUPPERT et al., 2005). Estas, então, são capazes de migrarem pelos tecidos do hospedeiro (BOWMAN, 2006).

Como o esporocisto, as rédias, ao final do desenvolvimento, terão seus próprios embriões (bolsas germinativas) sendo classificadas como rédias de segunda ordem ou segunda geração, que darão origem a um terceiro tipo de larva, a cercária. Esta tem corpo discóide e cauda apropriada à natação, além de exibir órgãos exclusivos, como glândulas secretoras de parede cística (PESSOA, 1969). Após um ou dois meses, sob temperatura ideal, a cercária deixa o organismo da rédia, libera-se dos tecidos do gastrópode atingindo a água. Ao encontrar algum vegetal, esta encista-se, perde sua cauda e torna-se metacercária, estágio infectante aos mamíferos ruminantes, hospedeiro definitivo (BOWMAN, 2006).

Quando a metacercária é ingerida, sua parede cística é degradada no intestino delgado do vertebrado, e o trematódeo jovem, denominado marita, perpassa pela parede do intestino, cruza o espaço peritoneal e penetra no fígado, onde permanece por várias semanas migrando pelo parênquima hepático, até entrarem nos ductos biliares, amadurecendo e, assim, as formas adultas iniciam então a ovoposição, reiniciando o ciclo (BOWMAN, 2006; HUGHES, 1985) (ANEXO 1).

O ciclo completo dura em torno de 3 a 4 meses sob condições favoráveis, mas o lapso de tempo desde a exposição ao parasito até a infecção patente tende a ser maior (AKSOY et al., 2005; BOWMAN, 2006).

1.3. Fígado

O fígado, maior glândula do corpo, corresponde a aproximadamente 1% a 1,5% da massa corpórea adulta em ruminantes, e devido a sua vasta competência metabólica é considerado o maior órgão de síntese, cujas funções mais destacadas são metabolismo lipídico, produção de proteínas, carboidratos, neutralização de substâncias tóxicas e a produção de bile (CULLEN, 2007; KÖNIG et al., 2004), fluido emulsificador de gorduras no intestino que é armazenada na vesícula biliar e liberado do ducto colédoco no duodeno (KÖNIG et al., 2004).

Este órgão encontra-se na região denominada hipocôndrio, no antímero direito do corpo e em posição retrodiafragmática (CULLEN, 2007), sendo constituído pelos lobos esquerdo, caudado, quadrado e direito (DYCE et al., 2004).

A vascularização hepática é abundante, sendo 60% a 70% do sangue proveniente da veia porta e o restante da artéria hepática (CULLEN, 2007), cujos ramos penetram isoladamente no fígado e se ramificam. Na sua área de drenagem periférica, conecta-se com as veias do sistema cavo das regiões cardioesofágica e retoanal, sendo um fluxo alternativo para o sangue portal, em casos de obstrução do fluxo sanguíneo hepático (KÖNIG et al., 2004) (ANEXO 2).

O fígado é recoberto pelo peritônio, apoiado sobre uma cápsula fibrosa, que emite septos ao parênquima hepático (KÖNIG et al., 2004), delimitando unidades morfofuncionais denominados lóbulos hepáticos, sendo esta construção lobular menos conspícua em ruminantes (CULLEN, 2007; KÖNIG et al., 2004). Os lóbulos hepáticos são constituídos por hepatócitos entre sinusóides, capilares sinusóides, canaliculos bilíferos e capilares linfáticos (WELSCH, 2005).

O parênquima hepático apresenta três graus de estruturas morfológicamente distintas: células não-polarizadas, indicando princípio de especialização celular, as quais

ocorrem naturalmente em fígados de embriões e em carcinomas pouco diferenciados; células totalmente diferenciadas, os denominados hepatócitos; e células acinares, existentes em estágios de pós-replicação celular durante o processo de regeneração (STOMATOGLU et al., 1992).

Nas arestas dos lóbulos hepáticos, situa-se o espaço porta formado por veias interlobulares (ramificações da veia porta e da artéria hepática) (WELSCH, 2005). Estas redes vasculares formam juntamente com os ductos bilíferos excretores, a triade hepática ou triade de Glisson (KÖNIG et al., 2004) (ANEXO 3).

1.4. Fasciolose

A patogenia da fasciolose foi descrita por diversos autores nas décadas de 60 e 70 e, posteriormente, analisada em animais de laboratório a fim de estudar aspectos distintos (LEVA, 2007). Cerca de 90 horas após a ingestão da metacercária, as larvas atingem a cápsula hepática (KENDAL; PARFILL, 1963), a partir da qual se distinguem em duas fases: a primeira fase, denominada fase hepática, parenquimatosa, invasiva ou aguda, inicia-se com a perfuração do platelminto e sua conseqüente migração no parênquima hepático, até os ramos biliares. Essa fase dura aproximadamente 3 meses, a partir da ingestão da metacercária. A segunda fase, denominada fase biliar ou crônica, é caracterizada pela presença dos adultos nos ductos biliares e reprodução dos parasitos neste local. Podem existir adultos advindos de outras infecções e também de infecções recentes, sendo assim, o tempo de acometimento do animal é estimado e indeterminado (AKSOY et al., 2005).

A fase parenquimatosa é marcada pelo aparecimento de lesões traumáticas e pela produção de componentes necróticos por coagulação, relacionados as excretas do parasito, o que resulta em toxicidade ao hospedeiro (LEVA, 2007).

Durante esta fase há congestão moderada do lobo esquerdo do fígado e aparecimento dos primeiros trajetos parasitários no parênquima, com aspecto esbranquiçado, tortuosos e na superfície diafragmática. Após a terceira semana, resíduos provenientes da degradação celular, deixados nos trajetos migratórios, adquirem coloração amarelada e podem aparecer como proeminências superficiais hepáticas (CULLEN, 2007), com ocorrência de hemorragias. Essas lesões macroscópicas podem variar de acordo com a intensidade parasitária no órgão e, em caso de infecções severas, pode levar a morte súbita (LEVA, 2007).

Observações microscópicas demonstram que os túncis migratórios contêm detritos celulares, corpos hemorrágicos discretos e eosinófilos em torno dos hepatócitos degenerados, por vezes macrófagos. Também existem pequenas quantidades de linfócitos e fibroblastos aumentados (DOW et al., 1968). A duração da fase parenquimatosa é de aproximadamente 7 a 8 semanas (LEVA, 2007).

Na fase biliar, os ductos começam a sofrer alterações a partir da oitava semana, quando há dilatação e espessamento de suas paredes (FOSTER, 1981), lesões que podem ser observadas em exames macroscópicos (DYCE et al., 2004) e até ultra-sonografias (AKSOY et al., 2005).

Em infecções primárias crônicas, a lesão mais destacável é fibrose periportal, seguida de proliferação e espessamento dos ductos biliares, causando um aspecto de pseudolobulação hepática. Ainda pode se constatar a presença de ovos em achados histopatológicos, formando corpos de granulação (LEVA, 2007), além de quadros cirróticos e formações acinares (ARAUJO et al., 2008).

Atualmente, o combate à fasciolose está quase que inteiramente baseado em uso de antihelmínticos, seja de forma profilática ou terapêutica, iniciado nos anos 80. Entretanto, a partir da década de 90, surgiram os primeiros casos de resistência (FAIRWATHER, 2005) e por isso, nos últimos anos, foram iniciados novos métodos de combate usando-se seleção genética a partir de animais resistentes e outros por controle imunológico desenvolvendo vacinas (HILLYER, 2005; FLYNN et al., 2010).

Pertinente a patologia e detalhamento do ciclo de vida de *F. hepatica*, muitos estudos tem sido realizados sobre infecções experimentais em coelhos (URQUHART, 1956), camundongos (DAWES, 1961, 1963a, 1963b, 1964) e ratos (THORPE, 1965) e também sobre a histopatologia da fasciolose em porcos (ROSS et al., 1967), ovelhas (DOW et al., 1968) e bezerras (ROSS et al., 1966). Contudo, informações na literatura são antigas e escassas, assim como as minúcias dos trabalhos que descrevem as alterações morfológicas nos fígados bovinos acometidos naturalmente por *F. hepatica* (RAHKO, 1969).

Segundo Serra-Freire (1995), nos estados das regiões sul e sudeste do Brasil foram notificados casos de doença crônica, com exceção do Espírito Santo. Porém, atualmente, conforme dados do IDAF, a fasciolose tem se tornado um problema econômico importante para os produtores da região e possivelmente para todo o estado do Espírito Santo, tendo em vista a possibilidade de contaminação do rebanho bovino através do transporte interestadual de animais e da existência dos moluscos (hospedeiros intermediários) nas bacias hidrográficas.

As considerações acima demonstram a necessidade do desenvolvimento de pesquisas recentes, no sentido de descrever a patogenia e colaborar com a implementação de um programa de controle estratégico para a doença, principalmente no Estado do Espírito Santo.

2. OBJETIVOS

Considerando que a fasciolose bovina tem se tornado um grande problema econômico para os produtores da região sul do Estado do Espírito Santo e que pesquisas são necessárias para colaborar para o entendimento da doença e para o desenvolvimento de um programa de controle estratégico, o presente projeto tem como objetivo geral caracterizar morfológicamente (anato-macroscópica e anatomo-microscópica) fígados acometidos por *Fasciola hepatica*, provenientes de bovinos da região sul do ES.

2.1. Objetivos específicos:

- Obter, através da observação macroscópica, informações sobre a frequência de fígados de bovinos condenados por fasciolose no matadouro-frigorífico do sul do ES.
- Observar, macroscopicamente, as alterações nos fígados de bovinos condenados por fasciolose.
- Quantificar a carga parasitária média dos fígados condenados por *Fasciola hepatica*.
- Através de técnicas morfológicas, caracterizar, detalhadamente, cada uma das lesões encontradas nos fígados de animais parasitado por *Fasciola hepatica*.
- Permitir maior compreensão a respeito da patologia causada por este parasito através da correlação com o perfil hematológico do animal.

6. CONCLUSÃO

O presente estudo morfológico de fígados bovinos parasitados por *Fasciola hepatica* demonstrou:

- aspecto esponjoso do órgão devido a rotas migratórias de espécimes jovens e adultos no parênquima;
- intenso acúmulo de fibras colágenas tanto na cápsula do órgão como no parênquima, provocando alterações na coloração e no aumento do volume;
- aumento na síntese e deposição de colágeno nos ramos das artérias hepáticas, levando a arteriosclerose, nos ductos biliares e nos espaços porta causando, em casos extremos, a lobulação do parênquima;
- organização acinar de alguns hepatócitos, sendo estágio de desenvolvimento celular;
- aumento do número de ductos biliares no parênquima e no espaço porta, além de aglomerados destes na parede do ducto principal;
- presença de fluido granuloso no interior de ductos biliares principais;
- infiltrado inflamatório difuso no parênquima e espaços porta, assim como aumento no volume do linfonodo, por conta do parasitismo;
- taxas de eosinófilos variantes, sendo assim não adequadas como diagnóstico seguro de infecções por fasciolose;
- alterações mais intensas em fígados coletados no inverno.