

HISTOPATOLOGIA NO FÍGADO DE *Prionace glauca* (CHONDRICHTHYES, SQUALIFORMES, CARCHARHINIDAE) CAUSADA POR *Hepatoxylon trichiuri* (EUCESTODA, TRYPANORHYNCHA)

João Carlos Brahm Cousin¹
Joaber Pereira-Júnior¹
Julio Fernandez Gonzales²

RESUMO

Estudos histológicos do fígado de 38 espécimes de *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) parasitados por pós-larvas de *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802) permitiram descrever alterações do tecido e estrutura deste órgão. Os hospedeiros examinados foram capturados no Oceano Atlântico Sul. Trinta e oito peixes estavam parasitados. Os parasitos se fixam preferencialmente sobre a superfície do fígado. A introdução dos tentáculos armados, causa severas lesões no epitélio capsular e parênquima hepático subcapsular. Isto é marcado pela ruptura física inicial dos tecidos com necrose celular, extravasamento de sangue e formação de exsudatos. A reação subsequente dos hospedeiros manifesta-se através de inflamações, metaplasias epiteliais, hiperplasia do conjuntivo com aumento da população de linfócitos e macrófagos nas áreas lesadas, como resposta aos agentes agressores. A observação de processos de cicatrização evidencia que as pós-larvas mudam de lugar no órgão. Estes processos apresentam nódulos, elevações simples, ou áreas esbranquiçadas comuns na superfície hepática. A recuperação total de uma área lesada restabelece a morfologia capsular com epitélio cúbico simples e uma delgada camada de tecido conjuntivo.

Palavras-chave: Eucestoda; *Hepatoxylon trichiuri*, lesões hepáticas, *Prionace glauca*, histopatologia, Trypanorhyncha.

ABSTRACT

Histopathology of *Prionace glauca* (Chondrichthyes, Squaliformes, Carcharhinidae) liver caused by *Hepatoxylon trichiuri* (Eucestoda, Trypanorhyncha)

Histological studies on *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) liver parasitized by *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802) pos-larvae show tissue alterations of capsule structure. The examined hosts were caught in the South Atlantic Ocean. Thirty eight fishes were parasitized. The parasites preferentially attach on the liver and the introduction of the armed tentacles causes severe lesions in the capsular epithelium and sub-capsular hepatic parenchyma. This is marked by the initial physical tissue rupture with cellular necrosis, blood strew and exudate formation. The subsequent host reaction includes inflammation, epithelial metaplasia, hiperplasic extracelular matrix, macrophage and lymphocytes infiltration. Scar formations is may be taken as evidence that the post-larvae move inside the organ. These processes present nodules or whitish areas that are common in the hepatic surface. Capsular morphology is reestablished with simple cubic epithelium and a thin layer of conjunctive tissue.

Key words: Eucestoda, *Hepatoxylon trichiuri*, liver lesions, *Prionace glauca*, histopathology, Trypanorhyncha.

INTRODUÇÃO

O tubarão azul *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), é um peixe de grande porte podendo atingir um comprimento superior a 4 metros. Esta espécie ocorre em

águas tropicais, subtropicais e temperadas sendo um dos peixes de maior distribuição geográfica dentre os Chondrichthyes e tem sido intensamente capturada por espinheleiros (COMPAGNO, 1984). Gonzales et al. (1997) e São Clemente et al. (2001) registraram

Recebido em: 22.09.03. Aceito em: 29.10.03.

¹ Departamento de Ciências Morfo-Biológicas, Fundação Universidade Federal do Rio Grande. Cx. P. 474, CEP 96650-900 Rio Grande, RS, Brasil.

² Universidad Nacional Agrária La Molina – UNALM. Apto. 456, Lima, Peru.

a prevalência, intensidade média de infecção de *Hepatoxylon trichiuri* em *P. glauca* no litoral brasileiro.

Entre os grupos parasitos de peixes, os Eucestoda, especialmente as formas larvais, podem causar lesões nos tecidos e órgãos (BUSSIERAS; ALDRIN, 1965; EIRAS et al., 1986). O grau de patogenicidade pode variar em função de fatores inerentes ao hospedeiro, ao grupo parasita e às condições ambientais. *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802), (Trypanorhyncha) tem biologia e sistemática bastante estudadas (DOLLFUS, 1942; BUSSIERAS; BAUDIN-LAURENCIN, 1973; GEORGE-NASCIMENTO; ORTIZ 1982; BRILL et al., 1987). Suas formas larvais são encontradas tanto em teleosteos como em elasmobrânquios e são cosmopolitas. Os Trypanorhyncha usam quatro tentáculos armados e um ou dois pares de botrídeos para fixação de pós-larvas e adultos nos hospedeiros (CAMPBELL; BEVERIDGE, 1994).

Embora sejam numerosos os trabalhos sobre cestóides parasitando peixes, especialmente no trato digestivo, são raros os estudos sobre os tripanorinquídeos aderidos a órgãos extra entéricos, como descrito por Campbell e Callahan (1998) que estudaram sob microscopia de campo claro e eletrônica de varredura (MEV) o órgão epigonal e o fígado de *Prionace glauca*, descrevendo histopatologias do hospedeiro e morfologia do escólice de *H. trichiuri* aderidos a estes órgãos. Gonzales et al. (1997) descrevem de forma preliminar alterações da superfície do fígado no tubarão azul parasitados por *H. trichiuri* do litoral do Rio Grande do Sul.

Este trabalho apresenta as principais histopatologias da cápsula e do parênquima hepático subcapsular, nos locais de fixação dos parasitos, bem como o processo de regeneração dos tecidos após o seu desprendimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Durante a realização do Projeto ARGO – Levantamento dos Recursos Vivos do Ambiente Pelágico da Zona Econômica Exclusiva (ZEE) – Região Sul, no cruzeiro realizado entre 11 e 20 de novembro de 1996 foram capturados, com espinhéis montados a bordo do Navio Oceanográfico Atlântico Sul – FURG, entre o Chuí (33°42'S) e Mostardas (31°12'S), 44 exemplares do tubarão azul com comprimento total variando entre 180 e 282 cm. Os hospedeiros foram medidos, pesados e necropsiados. O fígado de cada espécime

foi extraído, pesado e o número de parasitos aderidos à superfície do órgão foi registrado. Pequenos fragmentos hepáticos com e sem parasitos aderidos, foram seccionados e fixados em formol a 10% tamponado, para estudo histológico. Os tecidos foram incluídos em parafina, cortados com 7 µm de espessura em micrótomo rotativo, corados com hematoxilina-eosina (HE) e submetidos à reação pelo ácido periódico Schiff (PAS). As lâminas foram estudadas e fotografadas em fotomicroscópio JENAMED 2 da Carl Zeiss.

RESULTADOS

Nos 38 exemplares parasitados (86,36%) foram encontradas 345 pós-larvas de *Hepatoxylon trichiuri*, soltas ou aderidas aos órgãos do sistema digestivo e gônadas, com maior abundância sobre o fígado (Figs. 1 a 3). A maior intensidade de infecção (29 parasitos) ocorreu em um hospedeiro com 227 cm, aderidos ao fígado.

As pós-larvas encontradas na superfície do fígado aparecem isoladas ou em grupos de até nove indivíduos. As pós-larvas podem estar fracamente aderidas à cápsula hepática e se desprendem com facilidade com o manuseio. Outras, aparecem firmemente aderidas ao órgão em pequenos sulcos ou cavidades que invadem o parênquima (Fig. 1). Além das depressões na superfície do fígado, são freqüentes nódulos ou regiões esbranquiçadas com quatro orifícios (Fig. 2), que indicam os locais onde estavam inseridos os tentáculos do parasita (Fig. 3).

Os cortes histológicos revelam nestas regiões, reações cicatriciais, constituídas por tecido conjuntivo hiperplásico. Em casos mais avançados de cicatrização, com uma cobertura de tecido epitelial com células fortemente basófilas, ocorrem saliências e reentrâncias que deixam irregular a superfície do órgão (Fig. 4). As alterações e lesões provocadas no fígado são mais ou menos intensas. Isto possivelmente ocorra em função do tempo que as pós-larvas permaneceram fixadas no local observado. Nas regiões onde o parasito permaneceu aderido ao órgão, após a extração do órgão e fixação do tecido, verifica-se a destruição total da cápsula e focos de necrose das células capsulares e dos hepatócitos. Ocorre ainda um rompimento dos capilares nas áreas lesadas com extravasamento de sangue e líquidos que formam exsudatos no local onde o parasito está aderido. Nas partes contíguas às perfurações, não ocorre destruição do tecido, mas uma pronunciada reação epitelial

metaplásica onde o epitélio de revestimento, que normalmente é cúbico simples, transforma-se à medida que se distancia do foco principal da lesão, em um epitélio estratificado e depois cilíndrico simples (Fig. 6). A intensa proliferação das células do tecido conjuntivo capsular; a formação de um tecido fibroso colagenoso que aparece como uma faixa contínua nas áreas lesadas; uma importante neovascularização; abundância de linfócitos e de células fagocitárias representa o conjunto de reações do hospedeiro após as pós-larvas abandonarem os locais onde estavam fixadas (Fig. 5). Estas reações caracterizam um processo cicatricial de recuperação das áreas lesadas, mencionadas anteriormente como nódulos ou áreas esbranquiçadas observadas na superfície dos fígados. Num estágio mais avançado do processo de cicatrização, ocorre a reorganização do epitélio capsular que volta a ser cúbico simples. Diminui também a quantidade de colágeno, de linfócitos e ocorre a reorganização dos capilares. O tecido conjuntivo capsular apresenta agora uma maior quantidade de fibroblastos e de células macrofágicas, algumas delas agrupadas formando as células gigantes de corpo estranho (Fig. 7). O tecido conjuntivo regride progressivamente e cede espaço aos hepatócitos devolvendo a configuração original ao parênquima hepático e à superfície capsular (Fig. 8). Desta forma, a área lesada volta a apresentar uma morfologia semelhante às regiões não atacadas do fígado.

DISCUSSÃO

Embora tenha sido encontrado em outros órgãos, *H. trichiuri* mostra preferência pelo fígado onde causa severas lesões nas superfícies onde se fixa e estas observações corroboram Campbell e Callaham (1998). As pós-larvas nunca foram encontradas no interior dos órgãos e todas as evidências, em especial as nodulações e as áreas esbranquiçadas na cápsula, indicam que as pós-larvas realizam migrações pela superfície do fígado. Campbell e Callaham (1998) também admitem que eutetrarínquídeos e grilotídeos se movimentem na superfície do tubo digestivo e sugerem que os tentáculos sejam usados mais para a locomoção do que fixação. Sinderman (1990) observa que a migração de larvas de cestóides em peixes, além de causar lesões mecânicas pode provocar severas reações inflamatórias com o conseqüente desenvolvimento de granulomas e adesões viscerais.

A lesão mecânica no fígado dos tubarões provocada pelos parasitos decorre da fixação dos bo-

trídeos e inserção de seus tentáculos. Com isto, há a perfuração da cápsula e do parênquima hepático, com a destruição de células e extravasamento de sangue. Este quadro é seguido de reações celulares e teciduais que caracterizam o processo inflamatório como resposta do hospedeiro. A função do processo inflamatório é localizar, diluir, destruir e remover o agente agressor ou irritante e induzir a substituição de tecidos lesados (THOMSON, 1983). A intensa proliferação celular de fibroblastos, macrófagos e linfócitos nas áreas lesionadas, além de exsudatos, indica a ativação da defesa visando a eliminação do agente agressor e a sucessiva recuperação dos tecidos. Esta reação do hospedeiro possivelmente ocasiona o deslocamento dos parasitos das áreas atacadas e inúmeros nódulos e manchas esbranquiçadas observadas evidenciam o processo de cicatrização. Hoffman et al. (1986) descrevem a existência de cápsulas fibrosas envolvendo os parasitos. Reações semelhantes não foram observadas neste trabalho, possivelmente pelo fato das pós-larvas não invadirem totalmente o parênquima hepático.

Campbell e Callaham (1998) que examinaram com recurso de MEV os botrídeos de *H. trichiuri* mostram que a superfície destas estruturas é lisa e porosa e não apresenta microtriquias, que são responsáveis pela absorção de nutrientes pelo verme. A ausência destas estruturas, no entanto, não evita que a superfície seja usada através de poros, para este fim (WARDLE; MCLEOD, 1968). A resposta tecidual pode ser a razão para o verme não invadir órgão do hospedeiro, bastando, portanto que a superfície de seus botrídeos fique em contato com os tecidos do hospedeiro (Figs. 1-3). Observações similares foram feitas por Borucinska e Caira (1993) que estudaram a forma de fixação de adultos de duas espécies de Trypanorhyncha no epitélio intestinal de seus hospedeiros cartilaginosos.

Um quadro de lesões semelhantes foi descrito por Campbell e Callaham (1998) para o fígado dos tubarões infectados por *H. trichiuri*. No entanto estes autores não encontraram sinais de reações inflamatórias quando esta parasitose ocorre no órgão epigonal. Além disto, estes autores não abordaram todo o processo de recuperação tecidual do hospedeiro o que mostraria a reversibilidade das metaplasias e hiperplasias observadas no tecido epitelial capsular.

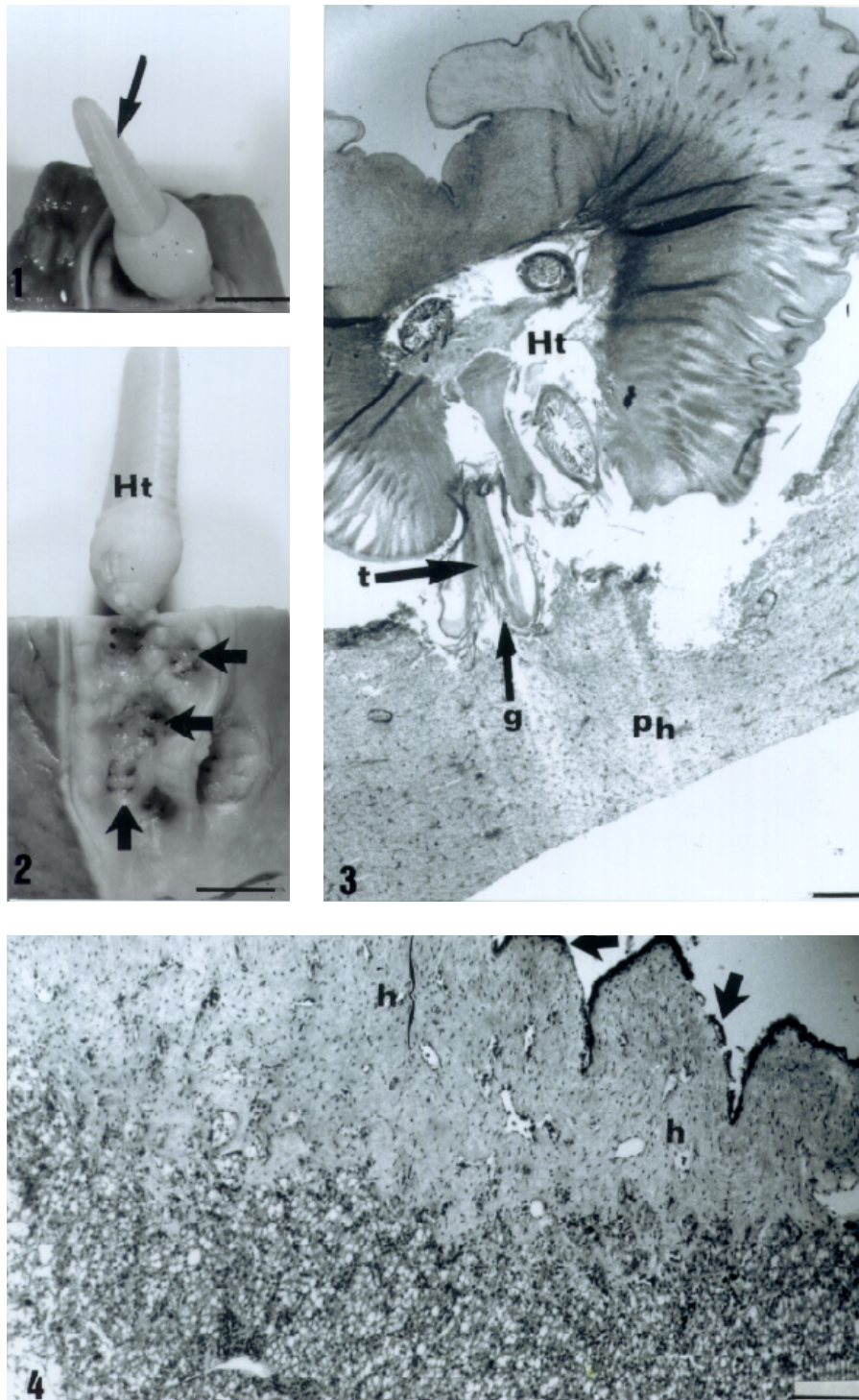
Além das manifestações morfológicas descritas, reações imunológicas do hospedeiro, não abordadas neste estudo, poderiam contribuir para o processo de deslocamento do agressor.

AGRADECIMENTOS

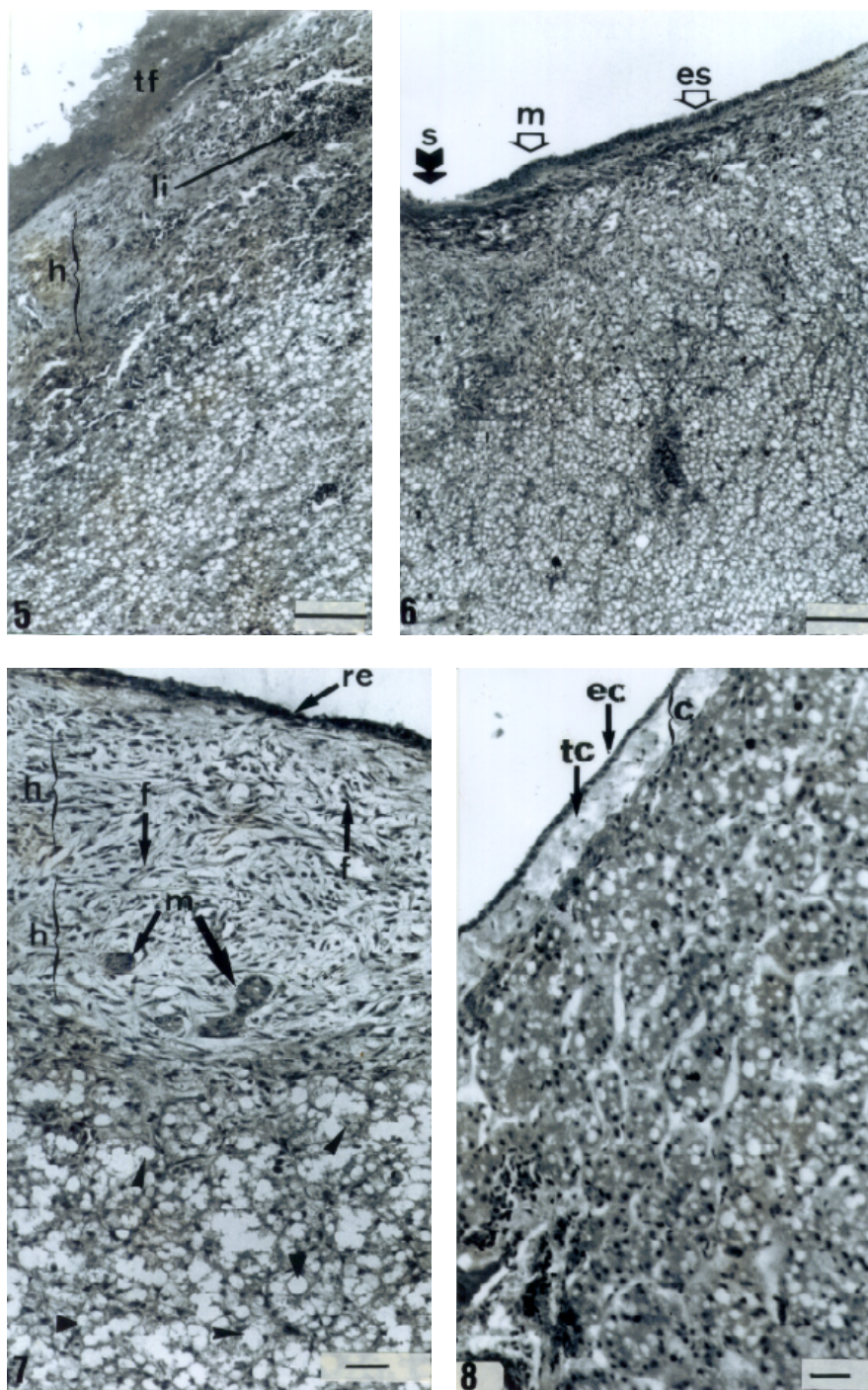
Os autores agradecem ao Prof. Dr. Carolus Maria Vooren, Coordenador do Projeto de Levantamento dos Recursos Vivos da ZEE – Região Sul pelo apoio e facilidades oferecida para a coleta do material e aos técnicos Pedro Garcia e Maria Inês Almeida (Lab. de Morfologia Funcional – DCMB – FURG) pelos preparados histológicos.

REFERÊNCIAS

- BORUCINSKA, J.; CAIRA, J. N. A comparison of mode of attachment and histopathogenicity of four tapeworm species representing two orders infecting the spiral intestine of the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 79, n. 2, p. 238-246, abr. 1993.
- BRILL, R. W. et al. Prevalence and effects of infection of the dorsal aorta in yellowfin tuna, *Thunnus albacares*. By the larval cestode, *Dasyrhynchus talismani*. **Fishery Bulletin**, Seattle, v. 85, n. 4, p. 767-775, jul. 1987.
- BUSSIERAS, J.; ALDRIN, J. F. Une tetrarhynchose vasculaire des thons di Golfe de Guinée due aux larves plerocercus de *Dasyrhynchus talismani* R. Ph. Dollfus 1935. **Revue D'Élevage Médecine Veterinaire des Pays Tropicaux**, Paris, v. 18, n. 2, p. 137-143, 1965.
- BUSSIERAS, J.; BAUDIN-LAURENCIN, F. Les helminthes parasites des thons tropicaux. **Revue D'Élevage Médecine Veterinaire des Pays Tropicaux**, Paris, v. 26, n. 4, p.13a-19a, 1973.
- CAMPBELL, R. A.; BEVERIDGE, I. Order Trypanorhyncha Diesing, 1863. In: Khalil, A.; Jones, A.; Bray R. (Eds.). CIP KEYS TO THE CESTODES PARASITES OF VERTEBRATES, Wallingford: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1994. 751 p. p. 148.
- CAMPBELL, R. A.; CALLAHAN, C. Histopathological reactions of the blue shark, *Prionace glauca*, to postlarvae of *Hepatoxylon trichiuri* (Cestoda: Trypanorhyncha: Hepatoxylidae) in relationship to scolex morphology. **Folia Parasitologica**, České Budejovice, v. 45, p. 47-52, July 1998.
- COMPAGNO, L. J. V. FAO species catalogue. Annotated and illustrated catalogue of shark species know to the date. **FAO Fisheries Synopsis**, Roma, v. 4 parts 1 and 2, p. 1-655, 1984.
- DOLLFUS, R. PH.. Études critiques sur les tetrarhynques du Muséum de Paris. **Archives du Muséum National d'Histoire Naturelle**, Paris, v. 19, p. 1-466, 1942.
- EIRAS, J. C.; REGO, A. A.; PAVANELLI, G. C. Histopathology in *Paulicea lutkeni* (Pisces: Pimelodidae) resulting from infection with *Megathylacus brooksi* and *Jauela glandicephalus* (Cestoda: Proteocephalidae). **Journal of Fish Biology**, Londres, v. 28, p. 359-365, out. 1986.
- GEORGE-NASCIMENTO, M. J.; ORTIZ, E. A. Nuevos registros de huesped para el plerocercos de *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802) (Cestoda: Trypanorhyncha) en peces marinos chilenos. **Parasitologia al Dia**, Santiago, v. 6, n. 6, p. 39, 1982.
- GONZALES, F. J.; COUSIN, J.C.B.; PEREIRA JR. J. Índices parasitários de *Hepatoxylon trichiuri* (HEPATOXILIDAE) e o índice hepato-somático em *Prionace glauca* (CARCHARINIDAE) com a descrição de histopatologias. In: SEMANA NACIONAL DE OCEANOGRAFIA, 15., 1997, Itajaí. **Anais... Itajaí: UNIVALI**, 1997. p. 344-347.
- HOFFMAN, R. W. et al. Studies on lesion caused by plerocercoids of *Triaenophurus nodulosus* in some fish of an alpine lake, the Königssee. **Journal of Fish Biology**, Londres, v. 28, p. 701-712, dez. 1986.
- SÃO CLEMENTE, S. C. et al. *Hepatoxylon trichiuri* (Holten, 1802) Dollfus, 1942, Hepatoxilidae Dollfus, 1940 (Eucestoda: Trypanorhyncha) em *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758), do litoral do estado do Rio Grande do Sul e em *Coryphaena hippuros* Linnaeus, 1758, do litoral do estado do Rio de Janeiro. **Parasitologia al Dia**, Santiago, v. 25, n. 3-4, p. 135-137, jul. 2001.
- SINDERMAN, C. J. **Principal Diseases of Marine Fish and Shellfish**. San Diego: Academic Press, 1990. v. 1, 521 p.
- THOMSON, R. G. **Patologia Geral Veterinária**. Rio de Janeiro: Ed. G. Koogan, 1983. 412 p.
- WARDLE, R. A.; MACLEOD, J. A. **Zoology of Tapeworms**. New York: Hafner Publishing, 1968. 780 p.



Figs. 1-4: **1.** Pós-larva de *Hepatoxylon trichiuri* (seta) fixada ao fígado através dos tentáculos. Barra: 0,5 cm. **2.** Corte de um fragmento de fígado de *Prionace glauca* mostrando a superfície esbranquiçada com sulcos e orifícios (setas) onde estavam fixadas as pós-larvas de *Hepatoxylon trichiuri* (Ht). Barra: 0,5 cm. **3.** Corte sagital da pós-larva de *Hepatoxylon trichiuri* (Ht). Tentáculos (t) com ganchos (g) inseridos no parênquima hepático (ph). H-E. Barra: 400 mm. **4.** Superfície do fígado de *Prionace glauca* com saliências e reentrâncias (setas) que ocorrem em uma região do fígado com extensa hiperplasia do conjuntivo (h), após o parasito ter abandonado o local. H-E. Barra: 150 mm.



Figs. 5-8: 5. Reação fibrosa e exsudativa (tf), hiperplásica (h) e linfocitária (li) na cápsula do fígado de *Prionace glauca* hipertrofiada de um local que foi abandonado pela larva. H-E. Barra: 150 mm. 6. Superfície do fígado com sulcos (s) onde estava fixado o parasito, com metaplasia lateral (m) formadas por epitélio estratificado e cilíndrico simples (es). H-E. Barra: 150 mm. 7. Superfície do fígado de *Prionace glauca* com cicatrização avançada e recomposição do epitélio cúbico simples (re) e marcada hiperplasia (h) com fibroblastos (f) e células macrofágicas gigantes (m) no tecido conjuntivo. As cabeças de setas apontam para hepatócitos repletos de vacúolos lipídicos. H-E. Barra: 50 mm. 8. Estrutura normal da superfície do fígado de *Prionace glauca* regenerado mostrando uma delgada cápsula (c), epitélio cúbico simples (ec) e tecido conjuntivo frouxo (tc). H-E. Barra: 70 mm.