

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
CAMPUS SENADOR HELVÍDIO NUNES DE BARROS – CSHNB
CURSO DE LICENCIATURA PLENA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RAFAELA DE BRITO VIEIRA

**AVALIAÇÃO DO BAÇO COMO INDICATIVO DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA
POR HELMINTOS EM *Rhinella granulosa* Spix, 1824 DO SEMIÁRIDO
NORDESTINO**

PICOS – PI

Junho de 2018

RAFAELA DE BRITO VIEIRA

**AVALIAÇÃO DO BAÇO COMO INDICATIVO DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA
POR HELMINTOS EM *Rhinella granulosa* Spix, 1824 DO SEMIÁRIDO
NORDESTINO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas da Universidade Federal do Piauí, *Campus* Senador Helvídio Nunes de Barros, como requisito parcial para a obtenção do grau de Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador(a): Dra. Mariluce Gonçalves
Fonseca

PICOS – PI

Junho de 201

FICHA CATALOGRÁFICA
Serviço de Processamento Técnico da Universidade Federal do Piauí
Biblioteca José Albano de Macêdo

V658a Vieira, Rafaela de Brito.

Avaliação do baço como indicativo de resposta inflamatória por helmintos em *Rhinella granulosa* Spix, 1824 do Semiárido nordestino / Rafaela de Brito Vieira.– 2018.

CD-ROM : il.; 4 ¾ pol. (26 f.)

Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Licenciatura Plena em Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos, 2018.

Orientador(A): Prof.^a Dra. Mariluce Gonçalves Fonseca

1. Amphibia. 2. Helmintos. 3. Imunidade. 4. Histopatológico. I. Título.

CDD 616.96

RAFAELA DE BRITO VIEIRA

AVALIAÇÃO DO BAÇO COMO INDICATIVO DE RESPOSTA
INFLAMATÓRIA POR HELMINTOS EM *Rhinella granulosa* Spix, 1824 DO
SEMIÁRIDO NORDESTINO

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Licenciatura
Plena em Ciências Biológicas da
Universidade Federal do Piauí,
Campus Senador Helvídio Nunes de
Barros, como requisito parcial para a
obtenção do grau de Licenciado em
Ciências Biológicas.

Orientador(a): Dra. Mariluce
Gonçalves Fonseca

Aprovado em 15 de junho de 2018.

BANCA EXAMINADORA

Mariluce Gonçalves Fonseca

Prof.^a Dr.^a Mariluce Gonçalves Fonseca
(Orientadora)

Paulo César Lima Sales

Primeiro avaliador: Prof.^o Dr.^o Paulo César Lima Sales
UFPI – CSHNB

Victor de Jesus Silva Meireles

Segundo avaliador: Prof.^o Dr.^o Victor de Jesus Silva Meireles
UFPI – CSHNB

Dedico ao meu Deus, que me conduz, orienta e fortalece.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me guiar e fazer-se presente todo o tempo em minha vida, me encorajando e orientando durante toda essa caminhada.

Aos meus pais, Luciano Rosendo Vieira e Luiza Antônia de Brito, por acreditarem nos meus sonhos, e principalmente a minha mãe por não medir esforços para ver mais um dos meus objetivos serem alcançados, obrigada pelo apoio, incentivo, cuidado e ensinamentos transmitidos, gratidão por tudo.

As minhas irmãs Raquel de Brito Vieira e Lara Ravena Brito Vieira pela amizade e pelo exemplo que são pra mim.

Agradeço também a Afonso Naftali Silva e Tales Reis Freitas, companheiros de laboratório e pela ajuda na remoção dos baços dos espécimes de anfíbios analisados.

À professora Dra. Mariluce Gonçalves Fonseca minha orientadora, por todo empenho e auxílio na construção deste trabalho, e pela oportunidade concedida em estudar a fisiologia dos anfíbios Anuros.

Ao Programa de Iniciação Científica (PIBIC/UFPI) pela aprovação da realização do projeto (Avaliação do baço como indicativo de resposta inflamatória por helmintos em *Rhinella granulosa*) resultando neste Trabalho de Conclusão de Curso.

Muito obrigada!

RESUMO

As espécies de *Rhinella granulosa* são anuros da família Bufonidae distribuídas ao longo da Região Nordeste do Brasil principalmente em ambientes abertos e com pouca umidade, característico da Caatinga. Diferentes agentes patogênicos podem acometer e comprometer esses animais como os parasitas. Entre estes estão os helmintos, os quais podem ocasionar má formações dentre outros problemas fisiológicos nos órgãos internos. Em relação a doenças em anfíbios a avaliação de como seu sistema imune responde a presença de patógenos ainda é pouco estudada. No presente trabalho foi feita a análise de 38 indivíduos da família Bufonidae espécie *Rhinella granulosa* presente na coleção de herpetologia da Universidade Federal do Piauí- CSHNB coletado no próprio campus (Licença SISBIO 22508-1), Durante a necropsia foi realizada a pesquisa de helmintos por órgãos e a remoção do baço. Todos os espécimes analisados encontravam - se parasitados por helmintos, com intensidade variando de 1 a 312 parasitas, predominantemente Nematoda. A média estimada do diâmetro do baço da população em estudo foi de 95% de precisão em um intervalo de confiança entre 1,88 a 2,37, no entanto apenas 14 dos 38 baços estavam inseridos nesses valores. A média do número de parasitas foi de 53 a 105, os demais valores acima ou abaixo desse intervalo de confiança foram valores considerados atípicos. De acordo com o coeficiente de correlação de Pearson não houve uma correlação linear entre o aumento do diâmetro do baço e a quantidade de helmintos nos órgãos investigados. Os resultados indicaram que macroscopicamente não houve relação positiva entre o tamanho esplênico e a intensidade de infecção parasitária por helmintos. No entanto, o exame histopatológico indicou um processo de reação inflamatória interna. Deste modo são necessários a identificação em relação às espécies de Nematoda que estavam presentes nos órgãos internos e verificar o grau de patogenicidade que pode influenciar ou induzir uma resposta inflamatória do baço.

Palavras-Chave: Amphibia, Helmintos, Imunidade, histopatológico.

ABSTRACT

The species of *Rhinella granulosa* are anurans of the Bufonidae family distributed throughout the Northeast Region of Brazil, mainly in open and low humidity environments, characteristic of the Caatinga. Different pathogens can affect and compromise these animals as parasites. Among these are the helminths, which can cause malformations among other physiological problems in the internal organs. In relation to diseases in amphibians the evaluation of how their immune system responds to the presence of pathogens is still little studied. In the present work the analysis of 38 individuals of the family Bufonidae species *Rhinella granulosa* present in the herpetology collection Universidade Federal do Piauí- CSHNB collected in own campus (License SISBIO 22508-1), During the necropsy, the study of helminths by organs and removal of the spleen was performed. All the specimens analyzed were parasitized by helminths, with intensity varying from 1 to 312 parasites, predominantly Nematoda. The estimated mean spleen diameter of the study population was 95% accuracy in a confidence interval between 1.88 and 2.37, but only 14 of the 38 spleens were inserted into these values. The mean number of parasites was 53 to 105, the other values above or below this confidence interval were considered atypical values. According to the Pearson correlation coefficient there was no linear correlation between the increase in spleen diameter and the number of helminths in the investigated organs. The results indicated that macroscopically there was no positive relation between the splenic size and the intensity of parasitic infection by helminths. However, histopathological examination indicated a process of internal inflammatory reaction. Thus identification is necessary in relation to the Nematoda species that were present in the internal organs and to verify the degree of pathogenicity that can influence or induce an inflammatory response of the spleen.

Key - words: Amphibia, Helminths, Immunity, histopathological.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo Geral	11
2.2 Objetivos Específicos	11
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	12
3.1 Sistemática dos Anfíbios	12
3.2 <i>Rhinella granulosa</i> Spix, 1824 (Anura: Bufonidae)	12
3.3 Importância ecológica dos anfíbios e o declínio de suas populações.....	13
3.4 Doenças infecciosas.....	14
3.5 Estudo dos helmintos associados a anfíbios	14
3. 6 Baço.....	15
4 METODOLOGIA.....	16
4.1 Análise do diâmetro do baço quanto a infecção por helmintos.....	16
4. 2 Análise estatística.....	17
4.3 Análise histológica	17
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES	18
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	23
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1 INTRODUÇÃO

No Brasil concentra-se a maior riqueza de anfíbios do mundo (SEGALLA, 2016). Contudo, a diminuição das populações de anfíbios vem sendo notada em proporção global desde 1980, sendo muitas as causas contribuintes, como: introdução de predadores no ecossistema, fragmentação de habitats, poluição química, mudanças climáticas e doenças infecciosas (COLLINS, 2010). As mudanças ambientais exercem influência significativa no aumento de infecções e surgimento de patógenos (BROOKS; HOBERG, 2001).

Os anfíbios por apresentarem ciclo de vida bifásico, têm uma maior susceptibilidade a serem acometidos por parasitas (CHANDRA; GUPTA, 2007). A helmintofauna associada a esses animais é conhecida para poucas espécies de Anuros (LUQUE; MARTINS; TAVARES, 2005; CAMPIÃO et al., 2014). Os anfíbios consistem em animais importantíssimos nas cadeias e teias ecológicas, por serem biocontroladores de populações e bioindicadores de qualidade ambiental (VALENCIA-AGUILAR et al., 2013). As espécies de *Rhinella granulosa* são Anuros da Família Bufonidae distribuídas ao longo da Região Nordeste do Brasil, encontrados em ambientes característicos da Caatinga (NARVAES; RODRIGUES, 2009).

A pele dos anfíbios atua como uma barreira inicial contra agentes físicos e químicos (ZASLOF, 2002). Sua epiderme é constituída por glândulas secretoras de veneno e muco, este último com ação antimicrobiana (HICKMAN et al., 2004; LILLYWHITE, 2005). De acordo com POUGH, JANIS, HEISER (2008), os vertebrados anfíbios apresentam um sistema imunológico com a função de defesa contra eventuais patógenos, mas devido ao estresse que frequentemente são submetidos esse mecanismo pode falhar e interferir em uma adequada resposta imune deixando as espécies vulneráveis a determinados parasitas, nos quais tinham suporte a resistir. Pois apresentam um sofisticado sistema imunológico com a presença de órgãos e tecidos linfóides ainda pouco conhecidos (BROWN et al, 2011). Sabe-se que o baço é um órgão responsável por mediar resposta imunitária (BATISTA; HARWOOD, 2009). Deste modo, ressalta-se a importância de avaliar como se apresenta nas infecções por helmintos em anfíbios Anuros.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar o estudo histopatológico e anatômico do baço de 38 espécimes de *Rhinella granulosa*, anfíbio anuro do semiárido nordestino.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever os parâmetros morfométricos do baço das espécies de *Rhinella granulosa* e a infecção por helmintos;
- Analisar se há alterações anatomopatológicas do baço;
- Verificar como o baço e suas células mediadoras de resposta imune reagem à resposta inflamatória na espécie em estudo para infecção por helmintos.

3 REVISÃO DE LITERATURA

No processo evolutivo dos vertebrados, os anfíbios foram os primeiros a habitar o meio terrestre. No entanto, essa conquista não foi definitiva, mantendo grande dependência de ambientes aquáticos para sua reprodução e sobrevivência (HICKMAN et al., 2004). Grande parte das espécies de anfíbios apresenta ciclo de vida bifásico. Utiliza de ambientes aquáticos para a reprodução, onde envolve a deposição de ovos em corpos d'água eclodindo larvas que após um variável período de tempo, passa pelo processo de metamorfose, originando em seguida a fase adulta terrestre (HADDAD; PRADO, 2005). Nas quais, podem ser semiaquáticos, terrestres ou arborícolas (POUGH; JANIS; HEISER, 2008).

3.1 Sistemática dos Anfíbios

Os anfíbios atuais são agrupados em três ordens: Gymnophiona (cobras-cegas ou cecílias), Caudata (salamandras e tritões) e Anura (sapos, rãs e pererecas) (POUGH; JANIS; HEISER, 2008). São reconhecidas 7.826 espécies de anfíbios, sendo a ordem Anura o grupo mais abundante representada por 6.909 espécies, seguida por Caudata (710 espécies) e Gymnophiona (207 espécies) (AMPHIBIAWEB, 2018). No Brasil concentra-se a maior riqueza de anuros do mundo, com uma taxa de 60% dos endemismos. São encontrados 1039 espécies de anuros distribuídos em 20 famílias. A Família Bufonidae contém 8 gêneros e 85 espécies, nas quais 35 pertencem ao gênero *Rhinella* (SEGALLA, 2016).

3.2 *Rhinella granulosa* Spix, 1824 (Anura: Bufonidae)

A espécie *Rhinella granulosa* Spix, 1824 é um anuro da Família Bufonidae de tamanho moderado, medindo cerca de 5,0 cm, distribuído ao longo da Região Nordeste do Brasil e dos estados de Minas Gerais e Espírito Santo, principalmente em ambientes abertos e com pouca umidade, característico da caatinga (NARVAES; RODRIGUES, 2009). Apresentam coloração marrom com manchas irregulares escuras, e glândulas paratóides localizadas atrás dos olhos, pouco evidentes (BENÍCIO; FONSECA 2014). São terrestres e possuem hábitos noturnos, sua reprodução ocorre principalmente na estação chuvosa desovando aproximadamente 900 ovos em superfícies d'água em um cordão gelatinoso

(LIMA et al., 2006). São vistos em atividade mesmo durante o período mais quente e seco da Caatinga (NAVAS et al., 2007).



Figura 1. *R. granulosa* vocalizando. Fonte: Autora, 2017.

3.3 Importância ecológica dos anfíbios e o declínio de suas populações

A classe de Vertebrados Anfíbia desempenha papel ecológico importante, pois são frequentemente utilizados como bioindicadores de alterações nas condições ambientais (BLAUSTEIN; KIESECKER, 2002), extremos de temperatura, poluição, escassez e falta de oxigenação da água. Pois, reúne um conjunto de características biológicas, como: ectotermia, dependência de água para sobrevivência e reprodução, ciclo de vida bifásico, desenvolvimento embrionário, permeabilidade da pele, pouca capacidade de dispersão e alta filopatria, o que torna esses animais sensíveis a alterações do meio (ANDREANI; SANTUCCI; NASCETTIET, 2003). Além disso, outros valores são atribuídos aos anfíbios anuros, pois, atuam na regulação das cadeias alimentares, principalmente no controle da densidade de invertebrados e na manutenção das produções agrícolas (TOLEDO, 2009).

Entretanto, muitos pesquisadores tem notado que um grande número de anfíbios vem sendo reduzido a nível global, isto em decorrência de diferentes fatores provocados pela ação antrópica, como o aquecimento global, fragmentação de habitats, introdução de espécies exóticas, incidência de raios ultravioletas (HAYES et al., 2010; LEMES; MELO; LOYOLA, 2014), e também por serem acometidos a determinados patógenos (WAKE; VREDENBURG, 2008). Alterações no meio ambiente estão relacionadas ao aumento de patógenos e também a diminuição nos valores médios das células de defesa do sistema imune (RAFFEL et al., 2006). Sendo os anfíbios anuros um dos grupos de animais mais ameaçados de extinção, sofrendo crises significativas desde a década de 1980 (IUCN, 2017; HOFFMANN et al., 2010).

3.4 Doenças infecciosas

Em decorrência dos ambientes que vivem, associados com a permeabilidade da pele e altas temperaturas, os anfíbios se tornam alvos fáceis de determinados patógenos (SCHWARTZ et al., 2005). As doenças estão entre um dos diversos fatores que necessitam ser estudados, para subsidiar informações e implantar medidas de conservação para a população de anfíbios, pois é notável que uma grande variedade de patógenos como vírus, bactérias, fungos e parasitas os afetam diretamente e como consequência pode ocasionar alterações no desenvolvimento populacional desses animais e levar a extermínio da anuro fauna (BLAUSTEIN; KIESECKER, 2002).

Os parasitas, por exemplo, podem acometer e comprometer a sobrevivência desses animais (TODD, 2007). Entre os parasitas estão os helmintos (endoparasitas) (GOATER; WARD, 1992), que podem ser encontrados em todas as partes do corpo dos hospedeiros, como nas cavidades abertas estômago, intestinos delgado e grosso, e no pulmão (TRAVASSOS, 1950). Nas quais podem causar nos anfíbios má formações (JOHNSON; SUTHERLAND, 2003), graves problemas fisiológicos, alterações histopatológicas nos pulmões (SANTOS et al., 2016) e lesões histopatológicas no fígado (SILVA et al., 2013).

3.5 Estudo dos helmintos associados a anfíbios

Entre uma das causas mais relevantes de perda de diversidade de vertebrados anfíbios no mundo está diretamente associado a doenças infecciosas emergentes (BLAUSTEIN et al., 2012; DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2000). Patógenos relacionados a parasitas causa uma grande variedade de efeitos danosos a seus hospedeiros, englobando mudanças comportamentais e alterações nas taxas de desenvolvimento e reprodução. As evidências sobre o efeito negativo dos parasitas sobre seus hospedeiros são crescentes (KOPRIVNIKAR et al., 2012). Pois sua presença pode influenciar os hospedeiros anfíbios de formas mais simples ou até mesmo de maneiras mais complexas, onde resulta em sua mortalidade e declínio populacional (MARCOGLIESE, 2004).

Os parasitos, assim como os vertebrados são organismos importantes ecologicamente, pois, desempenham papel fundamental na manutenção da diversidade e das teias alimentares (MARCOGLIESE, 2004), regulando as populações de seus hospedeiros e estruturando comunidades de animais (POULIN; MORAND, 2004). Além disso, são bioindicadores de

ambientes e da biologia de seus hospedeiros, sendo considerados marcadores biológicos de populações (CATALANO et al., 2013).

Dentre o grupo dos parasitos, os helmintos são os mais característicos, sendo os anfíbios parasitados pelos seus principais grupos (Acanthocephala, Nematoda, Cestoda e Trematoda) em seus diferentes estágios de vida (CAMPIÃO et al., 2014).

No entanto, estudos sobre os helmintos parasitas que acometem anfíbios anuros ainda é pouco conhecido em relação a outros grupos de vertebrados existentes, mesmo sendo organismos importantes dentro da biodiversidade (ANJOS, 2011). Assim, é de extrema importância estudos relacionados á fauna parasitária, pois, contribui para o conhecimento de sua diversidade e a compreensão da relação parasita-hospedeiro (BROOKS; HOBERG, 2001; POULIN; MORAND, 2004).

3. 6 Baço

No sistema imunológico de anfíbios encontram-se células de kupffer (macrófagos) responsáveis pela fagocitose de partículas, e também os melanomacrófagos que tem a capacidade de absorver restos celulares e induzir a produção de melanina (SICHEL et al.,2002). Estas células estão contidas, nos órgãos viscerais, como o fígado, pulmões, rins, timo e baço (GALLONE et at., 2002). Este último é o principal órgão mediador de resposta imunitária a antígenos, também responsável pela hematopoiese (BATISTA; HARWOOD, 2009). No entanto, mesmo os vertebrados anfíbios apresentando um sofisticado sistema imunológico com a presença de órgãos e tecidos linfoides ainda é pouco conhecida (BROWN et al, 2011).

4 METODOLOGIA

4.1 Análise do diâmetro do baço quanto a infecção por helmintos

A análise macroscópica do baço foi realizada para 38 espécies de *Rhinella granulosa* Família Bufonidae, presente na coleção científica de herpetologia da Universidade Federal do Piauí- CSHNB coletado no próprio *campus* (Licença SISBIO 22508-1), visualizados nas figuras abaixo (Figura 2 – 4).



Figura 2. A - B) Necropsia do baço. Fonte: Autora, 2017.

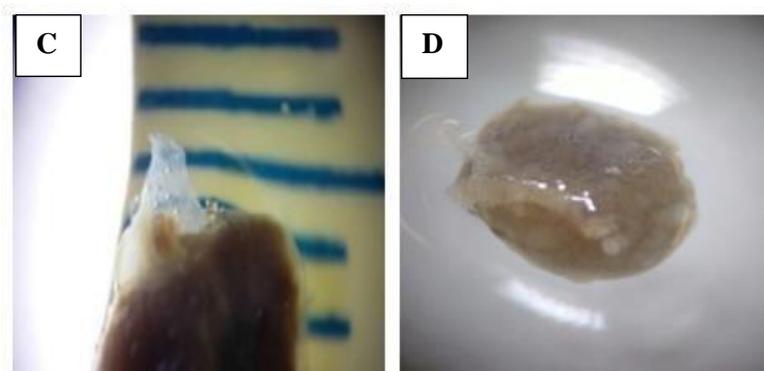


Figura 3. C e D) Morfometria do baço. Fonte: Autora, 2017.



Figura 4. E) Acondicionamento do baço em frascos etiquetados para análise histológica. Fonte: Autora, 2017.

Durante a necropsia foi realizada também a pesquisa de helmintos por órgãos (SILVA, 2017).

4.2 Análise estatística

Para análise estatística foi utilizado o teste de coeficiente de Pearson para relacionar a intensidade parasitária com o aumento do diâmetro do baço.

4.3 Análise histológica

As Lâminas do histopatológico foram confeccionadas no LABCANCER – Teresina – PI.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Análise macroscópica do baço e infecção por helmintos

A avaliação helmintológica determinou que todos os espécimes analisados encontravam-se parasitados por helmintos, com intensidade variando de 1 a 312 parasitas predominantemente do Filo Nematoda (Tabela 1).

Tabela 1. Quantidade de helmintos encontrados e morfometria do baço de *R. granulosa*.

ESPÉCIMES DE RHINELLA GRANULOSA	QUANTIDADE DE HELMINTOS ENCONTRADOS	DIÂMETRO DO BAÇO (mm ²)
01	80	1,91
02	24	1,59
03	31	1,27
04	206	3,82
05	9	1,42
06	47	1,78
07	72	1,66
08	64	2,67
09	103	1,59
10	57	2,1
11	15	1,66
12	7	1,78
13	180	2,04
14	22	1,97
15	30	1,91
16	39	1,27
17	42	2,74
18	54	1,97
19	92	3,57
20	40	2,17
21	9	3,44
22	2	1,78
23	58	0,96
24	169	1,27
25	6	1,97
26	205	1,95
27	138	2,87
28	12	1,85
29	215	1,27
30	205	1,97
31	232	2,17
32	68	1,97
33	32	3,31
34	95	2,48
35	9	1,59
36	312	2,67
37	38	2,29
38	1	4,14

A análise estatística determinou que a média estimada do diâmetro do baço da população em estudo, com 95% de precisão, se estabeleceu em um intervalo de confiança entre 1,88 a 2,37, no entanto apenas 14 dos 38 baços estavam inseridos nesses valores. A média do número de parasitas foi de 53 a 105, os demais valores acima ou abaixo desse intervalo de confiança foram valores considerados atípicos. De acordo com o coeficiente de correlação de Pearson não houve uma correlação linear entre o aumento do diâmetro do baço e a quantidade de helmintos nos órgãos investigados.

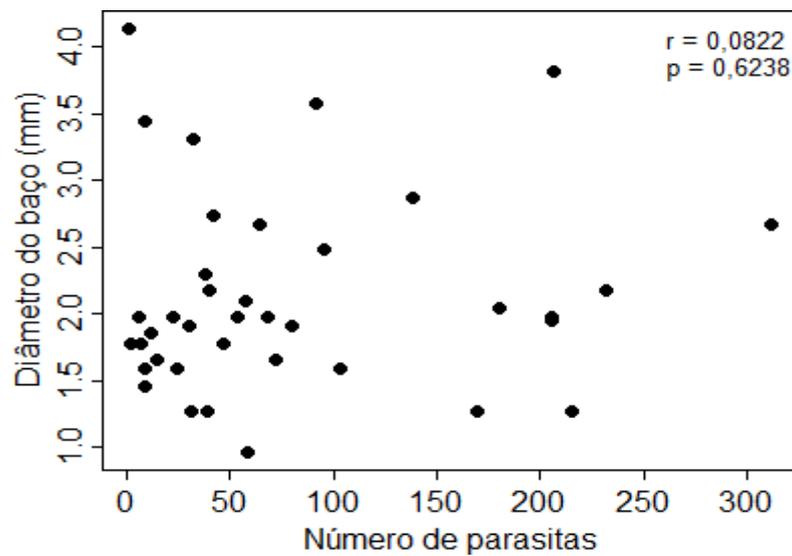


Figura 5. Gráfico de Correlação de Pearson.

Os espécimes de *R. granulosa* analisados apresentaram helmintos pertencentes ao grupo Trematoda e Nematoda, porém, este último com uma maior quantidade. De acordo com alguns autores (IANNACONE, 2003; PINHÃO et al., 2009; SANTOS; AMATO, 2010; ANDERSON, 2000) essa maior ocorrência de nematoides parasitando anfíbios anuros pode está relacionado ao seu tipo de hábito terrestre. Essa maior quantidade de infecção parasitária por nematoides pode também estar relacionada ao mecanismo de resposta imunológica do hospedeiro. Pois, o processo de imunidade restringe a quantidade e o tamanho dos helmintos dentro dos hospedeiros, onde podem ser determinantes nos efeitos diretos e indiretos da infecção (GOATER; BERNASCONI, 1993).

A esplenomegalia do baço está relacionada a uma resposta imunológica intensificada, uma infecção em curso, ou uma junção de ambos, provocando seu aumento quando em maior atividade (FORBES; MCRUER; SHUTLER, 2006). Assim como explicam Prassopoulos,

Cavouras (1994) a alteração esplênica mais frequentemente detectada é a esplenomegalia. No entanto, a análise macroscópica do presente trabalho não relacionou o aumento do baço com uma maior prevalência de infecção parasitária.

5.2 Análise histológica

No exame histopatológico de *R. granulosa* foi observado estruturas como: linfócitos, septo conjuntivo, arteríolas e também centro germinativo de flemming compatíveis com um baço normal, visualizados a seguir (Figura 6).

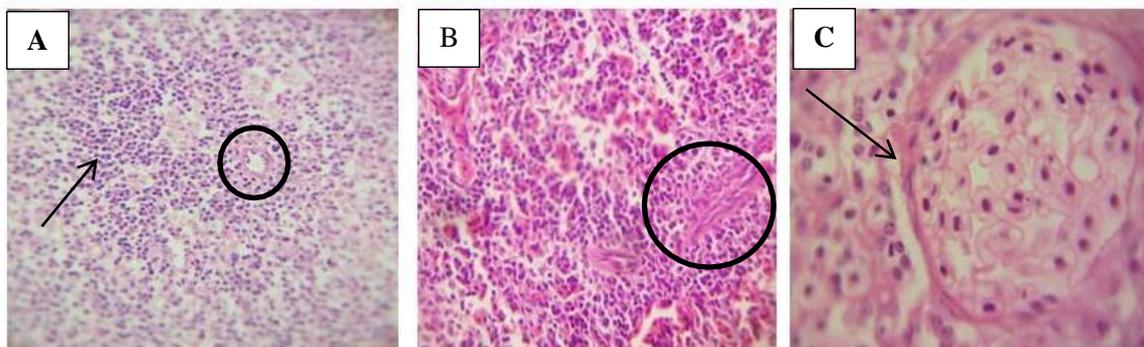


Figura 6. A) Arteríola indicado pelo círculo e linfócitos indicado pela seta. B) Septo Conjuntivo. C) Centro germinativo de flemming. Aumento de 1 000 ×. Fonte: Autora, 2018.

Dentre 35 baços analisados em apenas um foi visto a presença de macrófagos (Figura 7). A distribuição dos macrófagos nos tecidos garante a retirada de corpos estranhos e também produtos provenientes do envelhecimento celular (AGIUS; ROBERTS, 2003). Pois os macrófagos participam da eliminação de complexos antígeno-anticorpos (DANNEVING et al., 1995). E em animais ectotérmicos atuam na defesa contra agentes patogênicos (PXYTYCZ; JÓZKOWICZ, 1994). No presente estudo, foi observado a presença de melanomacrófaos em 9 baços (Figura 7). Essas células pigmentares presentes em órgãos hematopoiéticos são encontrados quando associados às doenças infecciosas. Sua presença é abundante principalmente em tecidos inflamados (AGIUS; ROBERTS, 2003). Essas células encontradas no baço podem indicar a efetivação de resposta inflamatória e posteriormente alterações estruturais no órgão em estudo.

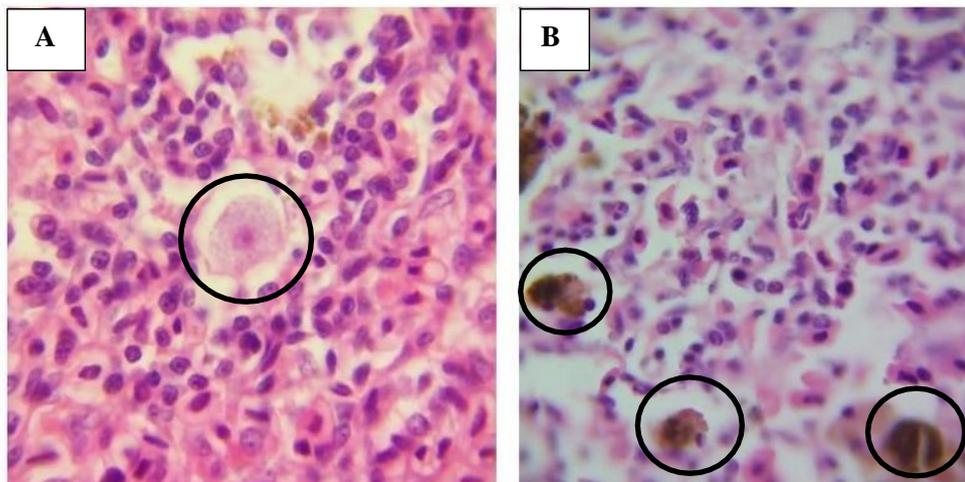


Figura 7. A) Macrófago. B) Melanomacrófagos. Aumento de 1 000 × Fonte: Autora, 2018.

Alterações estruturais foram verificadas em 22 dos baços investigados, onde se notou um grande espaçamento entre as células e alteração na parede externa do corpúsculo de Flemming (Figura 8), o órgão pode ter apresentado esse espaçamento por apresentar um processo de reação inflamatória compatível com edema.

O baço está relacionado com a primeira barreira de defesa do organismo, sendo considerado como órgão linfóide secundário do sistema imunológico (ZAPATA et al., 1996 apud, KLOSTERHOFF, 2012).

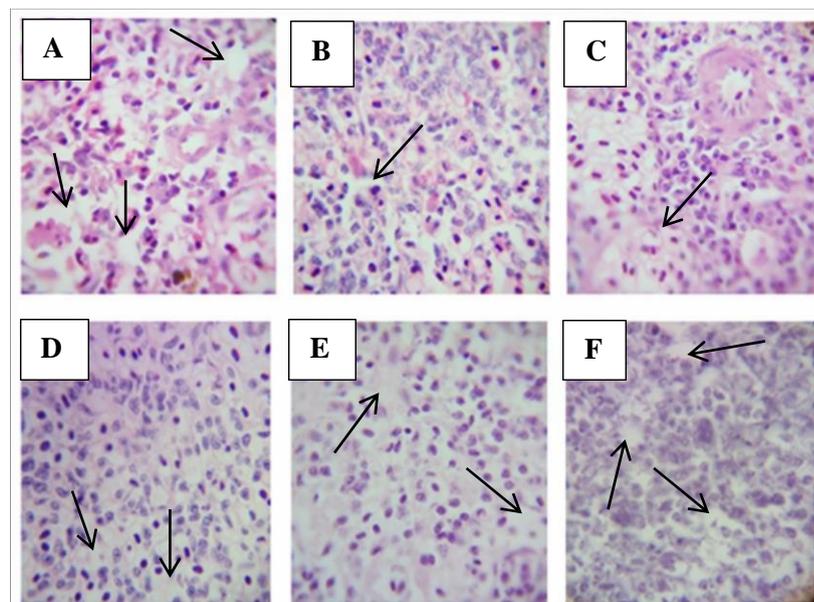


Figura 8: A – B – D – F) Diferentes baços de *R. granulosa* com espaçamentos entre suas células. C) centro germinativo de Flemming com espaçamentos indicado pela seta. Aumento de 1 000 ×. Fonte: Autor, 2018.

O desenvolvimento deste trabalho é de extrema importância para disponibilizar informações sobre o sistema o sistema imunológico de anfíbios anuros escassos na literatura, sendo esse trabalho inédito para a espécie *R. granulosa* do estado do Piauí.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Macroscopicamente não houve relação positiva entre o tamanho esplênico e a intensidade de infecção parasitária por helmintos.

- No exame histopatológico foi observado um processo de reação inflamatória interna em 22 baços, com a presença de células características de tecidos em processo inflamatório.

- Embora não tenha sido observada uma esplenomegalia, houve um processo de reação inflamatória observada na análise histopatológica.

Deste modo, são necessários a identificação em relação às espécies de Nematoda que estavam presentes nos órgãos internos e verificar o grau de patogenicidade que pode influenciar ou induzir uma resposta inflamatória do baço.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMPHIBIAWEB. **Número atual de espécies de anfíbios**. 2016. Disponível em: <<http://amphibiaweb.org/about/index.html>>. Acesso em 08/03/2018.
- ANJOS, L. A. Herpetoparasitology in Brazil: what we know about endoparasites, how much we still do not know. **Neotropical Helminthology**, v. 5, n. 2, p. 107-111, 2011.
- ANDERSON, R.C. Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission. 2^a. ed. CABI Publishing, Wallingford, Oxon (UK), p.650, 2000.
- AGIUS, C.; ROBERTS, R. J. Melano-macrophage centres and their role in fish pathology. **Journal of Fish Diseases**, v. 26, p. 499–509, 2003.
- ANDREANI, P.; SANTUCCI, F.; NASCETTI, G. Le rane verdi del complesso *Rana esculenta* come bioindicatori della qualità degli ambienti fluviali italiani. **Biologia Ambientale**, v. 17, n. 1, p. 35-44, 2003.
- BLAUSTEIN, A. R.; KIESECKER, J. M. Complexity in conservation: lessons from the global decline of amphibian populations. **Ecology Letters**, v. 5, p. 597–608, 2002.
- BROOKS, D. B.; HOBERG, E. P. Parasite Systematics in the 21st Century: Opportunities and Obstacles. **Trends in Parasitology**, v. 17, n. 6, p. 273-275, 2001.
- BATISTA, D. F.; HARWOOD, E. N. The who, how and where of antigen. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 1, p. 15-27, 2009.
- BENÍCIO, R. A.; FONSECA, M. G. **Guia ilustrado de anfíbios e répteis de Picos-Piauí**. TERESINA: EDUFPI, 2014.
- BLAUSTEIN, A. R. et al. Ecophysiology meets conservation: understanding the role of disease in amphibian population declines. **Philosophical Transactions The Royal Society**, v.367, p. 1688–1707, 2012.
- CATALANO, S. R. et al. Parasites as biological tags to assess host population structure: Guidelines, recent genetic advances and comments on a holistic approach. **International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 2, p. 220-226, 2013.
- COLLINS, J. P. Amphibian decline and extinction: What we know and what we need to learn. **Diseases of aquatic organisms**, v. 92, p. 93-99, 2010.
- CHANDRA, P.; GUPTA, N. Habitat Preference and Seasonal Fluctuations in the Helminthofauna of Amphibian Hosts of Rohilkhand Zone, India. **Asian Journal Of Experimental Sciences**, v. 21, n. 1, p. 69-78, 2007.
- CAMPIÃO, K. M. et al. Checklist of Helminth parasites of Amphibians from South America. **Zootaxa**, v. 3843, n. 1, p. 01-93, 2014.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A. A.; HYATT, A. D. Emerging Infectious Diseases of Wildlife to Biodiversity and Human Health. **Science**, v. 287, n. 5452 p. 443-449, 2000.

DANNEVING, B.H. et al. Immune-complex trapping in the splenic ellipsoids of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). **Cell and Tissue Research**, v. 282, p. 41 – 48, 1995.

FORBES, M.R.; DAVID L. MCRUER, D. L.; SHUTLER, D. White blood cell profiles of breeding American toads (*Bufo americanus*) relative to sex and body size. **Comparative Clinical Pathology**, v. 15, p.155–159, 2006.

GOATER, C. P.; WARD, P. I. Negative effects of *Rhabdias bufonis* (Nematoda) on the growth and survival of toads (*Bufo bufo*). **Oecologia**, v. 9, p. 161 - 165, 1992.

GOATER, C. P.; BERNASCONI, M. V. Effects of body size and parasite infection on the locomotory performance of juvenile toads, *Bufo bufo*. **Nordic Society Oikos**, v. 66, n. 1, p. 129-136, 1993.

GALLONE, A. et al. Spleen and Liver Pigmented Macrophages of *Rana Esculenta* L. A New Melanogenic System?. **Pigment cell research**, v. 15, p. 32-40, 2002.

HICKMAN, C. P.; LARSON, A; ROBERTS, L. S. **Princípios Integrados de Zoologia**, 11. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

HADDAD, C. F. B.; PRADO, C. P. A . Reproductive Modes in Frogs and Their Unexpected Diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 207-217, 2005.

HAYES, T. B. et al. The cause of global amphibian declines: a developmental endocrinologist's perspective. **The Journal of Experimental Biology**, v. 213, p. 921-933, 2010.

HOFFMANN, M. et al. The Impact and Shortfall of Conservation on the Status of the World's Vertebrates. **Journal Articles**, v. 330, p. 1053-1059, 2010.

IUCN. **Red List of Threatened Species**. 2017. Disponível em <www.iucnredlist.org>. acesso em 08/03/2018.

IANNACONE, J. Helintos Parasitos De *Atelopus Bomolochus* Peters 1973 (Anura: Bufonidae) De Piura, Peru. **Gayana Concepc**, v.67, n.1, p. 9-15, 2003.

JOHNSON, P. T. J.; SUTHERLAND, D. R. Amphibian deformities and *Ribeiroia* infection: an emerging helminthiasis. **Trends in Parasitology**, v. 19, n. 8, p. 332 – 335, 2003.

KOPRIVNIKAR, J. et al. Macroparasite Infections of Amphibians: What Can They Tell Us?. **EcoHealth**, v. 9, p. 342–360, 2012.

KLOSTERHOFF, M. C. **Desenvolvimento ontogênico do rim, timo e baço e expressão fenotípica dos receptores CD3 e CD4 em linfócitos do bijupirá *Rachycentron canadum***.

2012. 65 f. Dissertação (Mestrado em aquicultura) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande, 2012.

LILLYWHITE, H. B. Water Relations of Tetrapod Integument. **The Journal of Experimental Biology**, v. 209, p. 202-226, 2006.

LEMES, P.; SANCHES, A. M.; LOYOLA, R. Climate change threatens protected areas of the Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v.23, p. 357–368, 2014.

LIMA, A. P. et al. **Guia de sapos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central**. Áttema Design, Editoria, Manaus, p. 168, 2006.

LUQUE, J. L.; MARTINS, A. N.; TAVARES, L. E. R. Community structure of metazoan parasites of the yellow Cururu toad, *Bufo ictericus* (Anura, Bufonidae) from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Parasitologica**, v. 50, n. 3, p. 215-220, 2005.

MARCOGLIESE, D. J. Parasites: Small Players with Crucial Roles in the Ecological Theater. **EcoHealth**, v. 1, p.151-164, 2004.

NARVAES, P.; RODRIGUES, M. T. Taxonomic revision of *Rhinella granulosa* species group (Amphibia, Anura, Bufonidae), with a description of a new species. **Arquivos de Zoologia**, v. 40, n. 1, p. 1-73, 2009.

NAVAS, C. A. et al. Physiological basis for diurnal activity in dispersing juvenile *Bufo granulosis* in the Caatinga, a Brazilian semi-arid environment. **Science Direct**, v. 147, p. 647–657, 2007.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. **A Vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

POULIN, R.; MORAND, S. Parasite Biodiversity. **Book Reviews**, v. 131 p. 725-726, 2004.

PINHÃO, R. Helminths Of Toad *Rhinella Icterica* (Bufonidae), From The Municipality Of Botucatu, São Paulo State, Brazil. **Neotropical Helminthology**, v. 3, n. 1, p. 36-40, 2009.

PRASSOPOULOS, P.; CAVOURAS, D. CT assessment of normal splenic size in children. **Acta Radiologica**, v.35, n. 2, p. 152-154, 1994.

PXYTYCZ, B.; JÓZKOWICZ, A. Diferential effects of temperature on macrophages of ectothermic vertebrates. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 56, p. 729 – 731, 1994.

RAFFEL, T. R. et al. Negative Effects of Changing Temperature on Amphibian Immunity Under Field Conditions. **Functional Ecology**, v. 20, p. 819–828, 2006.

SILVA, J. P. E. et al. Liver Histopathology in the Cane Toad, *Rhinella marina* (Amphibia: Bufonidae), Induced by *Orrtipleppascaris* sp. Larvae (Nematoda: Ascarididae). **Journal of Parasitology**, v. 99, n. 2, p. 250 – 256, 2013.

SEGALLA, M. V. et al. Brazilian Amphibians: List of Species. **Herpetologia Brasileira**, v.5, n. 2, p. 34-36, 2016.

SANTOS, J. N. et al. *Rhinella marina* (Amphibia: Bufonidae) Versus *Rhabdias paraensis* (Nematoda: Rhabdiassidae): Expanding the View on a Natural Infection. **Journal of Parasitology**, v. 102, n. 5702, p. 349 – 355, 2016.

SANTOS, V.G.T.; AMATO, S.B. helminth Fauna of *Rhinella fernandezae* (Anura: Bufonidae) From the Rio Grande do Sul Coastland, Brazil: Analysis of the Parasite Community. **Journal of Parasitology**, v.96, n. 4, p. 823-826, 2010.

SICHEL, G.; SCALIA, M.; CORSARO, C. Amphibia Kupffer Cells. **Microscopy Research and Technique**, v. 57, p. 477-490, 2002.

SCHWARTZ, C. B. et al. Princípios bioativos da pele de anfíbios: panorama atual e perspectivas. **Herpetologia No Brasil**, v. 709, p. 10-970, 2005.

SILVA, A. N. **Estudo de População e Comunidades de Helmintos Associados A *Rhinella Granulosa* (Spix, 1824) e *Rhinella Jimi* (Stevaux, 2002), Anfíbios Anuros Bufonídeos.** 2017. 45f. Trabalho de Conclusão de curso (Ciências Biológicas) – Universidade Federal do Piauí, Picos – PI, 2017.

TODD, B. D. Notes and Comments: Parasites Lost? An Overlooked Hypothesis for the Evolution of Alternative Reproductive Strategies in Amphibians. **The American Naturalist**, v. 170, n. 5, p. 793-799, 2007.

TOLEDO, L. F. Anfíbios como Bioindicadores. In: NEUMANN-LEITÃO, S.; EI-DIER, S. (Orgs.) **Bioindicadores da Qualidade Ambiental**, Recife: Instituto Brasileiro Pró-Cidadania. p. 196-208, 2009.

TRAVASSOS, L. Introdução ao estudo da helmintologia. Rio de Janeiro: **Revista Brasileira de Biologia**, 1950.

VALENCIA-AGUILAR, A.; CORTÉS-GÓMEZ, A. M.; RUIZ- AGUDELO, C. A. Ecosystem services provided by amphibians and reptiles in Neotropical ecosystems. **International Journal of Biodiversity Science**, v. 9, n. 3, p. 257-272, 2013.

WAKE, D. B.; VREDENBURG, V. T. Are we in the midst of the sixth mass extinction? A view from the world of amphibians. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 11466–11473, 2008.

ZASLOFF, M. Antimicrobial Peptides of Multicellular Organisms. **Nature** , v. 24, n. 415, p. 389 –395, 2002.



**TERMO DE AUTORIZAÇÃO PARA PUBLICAÇÃO DIGITAL NA BIBLIOTECA
“JOSÉ ALBANO DE MACEDO”**

Identificação do Tipo de Documento

- () Tese
 () Dissertação
 (X) Monografia
 () Artigo

Eu, Rafaela de Brito Vieira,
 autorizo com base na Lei Federal nº 9.610 de 19 de Fevereiro de 1998 e na Lei nº 10.973 de
 02 de dezembro de 2004, a biblioteca da Universidade Federal do Piauí a divulgar,
 gratuitamente, sem ressarcimento de direitos autorais, o texto integral da publicação
Análise do base como indicativo de resposta
inflamatória em Rhinella granulosa Spix, 1824 do Semicordo Nordestino
 de minha autoria, em formato PDF, para fins de leitura e/ou impressão, pela internet a título
 de divulgação da produção científica gerada pela Universidade.

Picos-PI 08 de novembro de 2018.

Rafaela de Brito Vieira
Assinatura

Rafaela de Brito Vieira
Assinatura