

GERARDO VASCONCELOS MESQUITA



UFPE

**REPERCUSSÕES HISTOLÓGICAS DA
ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM FÊMUR
DE CAMUNDONGOS**

**RECIFE
2006**

GERARDO VASCONCELOS MESQUITA



**REPERCUSSÕES HISTOLÓGICAS DA ESQUISTOSSOMOSE
MANSÔNICA NO FÊMUR DE CAMUNDONGOS**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Cirurgia.

Orientador Interno

Dr. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Titular de Cirurgia Pediátrica do
Departamento de Cirurgia, CCS-UFPE

Orientador Externo

Dr. Nicodemos Telles de Pontes Filho

Prof. Adjunto de Patologia
Departamento de Cirurgia, CCS-UFPE

**RECIFE
2006**

Mesquita, Gerardo Vasconcelos
Repercussões histológicas da esquistossomose mansônica em fêmur de camundongos / Gerardo Vasconcelos Mesquita. – Recife : O Autor, 2006.
58 folhas + 48 folhas anexos ; il., fig., tab.,
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Cirurgia, 2006.

Inclui bibliografia.

1. Esquistossomose mansônica. 2. Conteúdo mineral ósseo. 3. Camundongos - Histologia I. Título.

616.993	CDU (2.ed.)	UFPE
616.963	CDD (22.ed.)	CCS-2007-60

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIRURGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

Relatório da Defesa de Tese do Dr. Gerardo Vasconcelos Mesquita, Aluno do Programa de Pós-graduação em Cirurgia, Área de Concentração: Cirurgia: Clínica e Experimental. Turma iniciada em 2003.

Às oito horas e trinta minutos do dia vinte e seis de dezembro de dois mil e seis no auditório Murilo La Greca do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, tiveram início os trabalhos de defesa de tese do Dr. Gerardo Vasconcelos Mesquita, para obtenção do grau de Doutor em Cirurgia. A comissão Julgadora – eleita pelo Colegiado do Programa e homologada pela Câmara de Pesquisa e Pós-graduação – foi integrada pelos professores: Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE (Presidente da Banca Examinadora); Dr. Frederico Teixeira Brandt, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. Sívio da Silva Caldas Neto, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; Dr. Jairo de Andrade Lima, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE; e, a Dr. Roberto José Vieira de Mello, Doutor do Departamento de Anatomia Patológica do CCS/UFPE; e, para suplentes: interno: Salvador Vilar Correia Lima, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE, e, finalmente, externo, a Dr^a. Ângela Luzia Branco Duarte, Doutora do Departamento de Medicina Interna do CCS/UFPE, tendo, como orientador interno, o Dr. Carlos Teixeira Brandt, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE e orientador externo o Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho, Doutor do Departamento de Cirurgia do CCS/UFPE. Em tempo: os Prof(s). Roberto José Vieira de Mello e Sívio da Silva Caldas Neto foram substituídos pelos Prof^{as}. Ângela Luzia Branco Duarte (suplente externo) e Salvador Vilar Correia Lima (suplente interno), tendo em vista, a Tese do aluno ter sido transferida para a data de hoje (26/12/2006). A tese apresentada pelo doutorando Gerardo Vasconcelos Mesquita versou sobre: “REPERCUSSÕES HISTOLÓGICAS DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA EM FÊMURES DE CAMUNDONGOS”. Após, a explanação de 30 (trinta) minutos, pelo candidato, justificando a escolha, o objetivo da pesquisa, a metodologia empregada e os resultados obtidos, baseados na análise estatística, ilustrados com datashow, foram realizadas as arguições na seguinte ordem: Prof^a. Dra. Ângela Luzia Branco Duarte, Prof. Dr. Jairo de Andrade Lima, Prof. Dr. Salvador Vilar Correia Lima, Prof. Dr. Frederico Teixeira Brandt, e Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente da Banca Examinadora); todas as arguições foram feitas no tempo regulamentar, e respondidas pelo candidato. Ao término das mesmas, a Comissão Julgadora proferiu o seguinte resultado: Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, menção “Aprovado”, Prof. Dr. Frederico Teixeira Brandt, menção “Aprovado”, Prof. Dr. Salvador Vilar Correia Lima, menção “Aprovado”, Prof. Dr. Jairo de Andrade Lima, menção “APROVADO”, e a Prof^a. Dra. Ângela Luzia Branco Duarte, menção “APROVADO”. Conclusão, o candidato, foi aprovada com menção “APROVADO”. Nada mais havendo a registrar foram encerrados os trabalhos do que, para constar, elaborei o presente relatório que vai por mim, Niége Maria de Paiva Melo, Secretária, assinados depois do Senhor Presidente, e demais integrantes da Comissão Examinadora. Recife, 26 de dezembro de 2006.

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar (Presidente)
Prof. Frederico Teixeira Brandt
Prof. Salvador Vilar Correia Lima
Prof. Jairo de Andrade Lima
Prof^a. Ângela Luzia Branco Duarte
Niége Maria de Paiva Melo (secretária)

Handwritten signatures of Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar, Prof. Frederico Teixeira Brandt, Prof. Salvador Vilar Correia Lima, Prof. Jairo de Andrade Lima, Prof^a. Ângela Luzia Branco Duarte, and Niége Maria de Paiva Melo.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Celso Pinto de Melo

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. José Thadeu Pinheiro

HOSPITAL DAS CLÍNICAS

DIRETORA SUPERINTENDENTE

Prof. Heloísa Mendonça de Moraes

DEPARTAMENTO DE CIRURGIA

Prof. Sílvio Romero Marques

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA

NÍVEL MESTRADO E DOUTORADO

COORDENADOR

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

VICE-COORDENADOR

Prof. Carlos Teixeira Brandt

CORPO DOCENTE

Prof. Álvaro Antônio Bandeira Ferraz

Prof. Carlos Teixeira Brandt

Prof. Cláudio Moura Lacerda de Melo

Prof. Edmundo Machado Ferraz

Prof. Frederico Teixeira Brandt

Prof. José Lamartine de Andrade Aguiar

Prof. Salvador Vilar Correia Lima

Prof. Sílvio Caldas Neto

*“É próprio de uma pesquisa
ser indefinida.
Defini-la é encerrar
o assunto.”*

J.P. Sartre

DEDICATÓRIA

A meus pais **Aldenora e Isânio**

AGRADECIMENTOS

À **Profa. Ester Azoubel**, pela confiança em mim depositada e que me abriu este caminho até aqui.

Ao **Prof. Marcelo Martins Gomes**, pela amizade e apoio desde o tempo do meu pai.

Ao **Prof. Saulo Monteiro dos Santos**, pela habilidade demonstrada ao me iniciar na formação acadêmica e na pesquisa científica.

Aos meus orientadores **Prof. Carlos Brandt** e **Prof. Nicodemos Telles**, pelo desprendimento, paciência, carinho, sabedoria e experiência que me transmitiram conhecimento e segurança aliados à permanente curiosidade científica.

À **Prof. José Walfrido Santana**, que me mostrou a excelência do LIKA-UFPE.

À **Dra. Maria Helena Ribeiro**, pelo amor e respeito permanentes aos animais.

Aos técnicos **Filipe** e **Sérgio**, pela presteza e disponibilidade.

Aos bolsistas **Fernando Câmara**, **Pablo Marichevic**, **Anderson** e **Janinne**, a quem espero, possa ter levado o gosto pela ciência.

À **Niege Melo**, cuja capacidade multimídia é tamanha que mesmo em face ao maior tumulto conduz a todos nós.

A **Márcia** e **Mércia**, opostos sincronia perfeita, que encantam e desencantam no mesmo instante, para no instante seguinte fazerem o inverso.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	viii
LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	01
1.1 Objetivos.....	05
2. LITERATURA.....	06
2.1 Epidemiologia da Esquistossomose mansônica.....	07
2.2 Fisiopatologia da esquistossomose na forma hepato-esplênica.....	09
2.3 Fisiopatologia da osteopatia na esquistossomose hepatoesplênica.....	11
2.3.1 O osso normal.....	11
2.3.2 O osso doente.....	16
2.3.3 Aplicação da histomorfometria na osteoporose.....	18
2.3.4 O papel do fígado.....	19
2.4 Alterações laboratoriais da osteopatia na esquistossomose hepato-esplênica.....	23
2.5 Modelo animal	24
3. MÉTODOS.....	26
3.1 Local do estudo.....	27
3.2 Tipo do estudo.....	27
3.3 Seleção.....	27
3.4 Procedimentos.....	28
3.4.1 Infestação.....	28
3.4.3 Estudo histológico.....	30
3.5 Processos histomorfométricos.....	34
3.5.1 Aerofotogrametria.....	34

3.5.2 Planimetria.....	35
3.6 Dados Analíticos.....	36
4. RESULTADOS.....	38
5. DISCUSSÃO.....	44
6. CONCLUSÃO.....	50
7. REFERÊNCIAS.....	52
ANEXOS.....	59

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BMD	conteúdo mineral ósseo
BMU	unidades básicas multicelulares
CEEA	Comissão de Ética em Experimentação Animal
CT	calcitonina
EHE	esquistossomose hepatoesplênica
HDL	<i>High-density lipoproteins</i>
LCAT	lecitina colesterol aciltransferase
LIKA	Laboratório de Imunologia Keizo Asami
Mr	massa molecular relativa
OMS	Organização Mundial da Saúde
SAS	<i>Statistical Analysis System</i>
SLM	São Lourenço da Mata
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Estatística das variáveis: área trabecular, área óssea e percentual da área trabecular em relação à área total - método da aerofotogrametria.....	39
Tabela 2	Estatística das variáveis: área trabecular, área óssea e percentual da área trabecular em relação à área total - método planimetria.....	41

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1	Média e desvio padrão da área trabecular segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da aerofotogrametria.....	39
Gráfico 2	Média e desvio padrão da área óssea segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da aerofotogrametria.....	40
Gráfico 3	Média e desvio padrão da área trabecular segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da planimetria.....	42
Gráfico 4	Média e desvio padrão da área óssea segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da planimetria.....	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição global da esquistossomose (principais espécies).....	07
Figura 2	Distribuição mundial da esquistossomose de acordo com as formas clínicas.....	08
Figura 3	Prevalência da esquistossomose no Brasil.....	09
Figura 4	Aspecto esquemático da celularidade óssea.....	12
Figura 5	Distribuição esquemática da celularidade óssea.....	13
Figura 6	Estrutura do osso cortical.....	15
Figura 7	Ossos trabeculados normais (A) e osteoporóticos (B).....	16
Figura 8	Retirada cirúrgica de baço e fígado.....	30
Figura 9	Retirada cirúrgica de baço e fígado.....	31
Figura 10	Corte histológico transversal do fêmur de camundongo: A) controle e B) infectado (32x).....	32
Figura 11	Corte histológico de área medular do fêmur de camundongos infectados: A) 100x; B-C) 200x, evidenciando em ponta de seta marginação por osteoblastos.....	33
Figura 12	Micrômetro ocular no alto e micrômetro objeto à direita em baixo. A escala que se coloca no interior do micrômetro ocular (esquerda no alto) deve ser superposta ao micrômetro objeto para conhecer o aumento (esquerda em baixo).....	35
Figura 13	Desenho do cálculo planimétrico por contagem de pontos de área da imagem.....	36

RESUMO

A esquistossomose mansônica continua um problema mundial, sendo preocupante o número de portadores da forma hepatoesplênica, que apresenta como fator principal de morbidade a hipertensão porta. A densitometria tem sido usada como forma de avaliar a presença de comprometimento ósseo concomitante. Foram constatados hipodesenvolvimento, déficit de conteúdo mineral ósseo (BMD) e alterações da reserva funcional hepática interferindo no metabolismo dos íons cálcio e magnésio; sendo possível que tais alterações sejam também encontradas na estrutura do osso. O objetivo desta pesquisa foi avaliar histomorfometricamente as repercussões da esquistossomose mansônica nos fêmures de camundongos infectados. Foi realizada análise microscópica, descrevendo-se as alterações histológicas, levando-se em consideração as alterações das áreas de osso e das trabéculas, antes e decorridos 120 dias da infestação. As áreas foram medidas por aerofotogrametria e planimetria. Utilizou-se o teste “t” de Student para avaliação de diferenças entre médias. As médias das áreas trabecular e óssea foram mais elevadas no grupo infectado, todavia, a diferença foi significativa apenas para a área óssea ($p < 0,05$). Pode-se concluir que as médias das áreas ósseas e trabecular dos cortes dos fêmures dos camundongos infectados foram maiores, quando comparada à do grupo controle. A provável explicação para este achado é a evidente reorganização na arquitetura óssea das lâminas estudadas; caracterizada pela presença de atividade osteoblástica com redirecionamento celular ao redor das trabéculas ósseas visualizada em todas as lâminas dos animais infectados. Isto sugere uma tentativa de reparação óssea na área medular. A ausência de osteoclastos nas preparações de lâminas dos animais infectados demonstrou que o mecanismo de desmineralização, que se percebe, não é induzido pela osteoporose clássica. Fica indefinido o mecanismo que aciona o processo de remodelação óssea, uma vez que o mecanismo conhecido está diretamente relacionado com a presença de osteoclastos na área afetada.

Palavras-chave: Esquistossomose mansônica; Conteúdo mineral ósseo; Camundongos; Histologia.

ABSTRACT

Schistosomiasis mansoni is still a worldwide problem. One of the main concerns is the number of patients who develop its hepatosplenic form, which presents portal hypertension as the main reason of morbidity. Bone mineral content (BMC) has been used as a way of evaluating the simultaneously bone involvement. It has been proved, in this disease, BMC deficit and liver function reserve changes, which interfere with calcium and magnesium ions metabolism; and thus making possible that such alterations could be found in the bone structure. The purpose of this study was to evaluate, using histomorphometry, the repercussions of schistosomiasis mansoni in the femur of infected mice. A microscopy study was performed, reporting the histology abnormalities, taking into account the changes in the bone and trabecular areas, before and after 120-day post-infection. The areas were measured by aerophotogrametry and planimetry. “t” Student test was used for testing significant differences between means. The trabecular and bone areas were greater in the infected mice; however, this difference was only significant for the bone areas ($p < 0.05$). One can conclude that the bone and trabecular areas measured from the femur sections of infected mice were greater than those of the control group. The likely explanation for this finding is the evident reorganization of the bone architecture of the studied slices; which is represented by the presence of osteoblastic activity with cell reorientation around the trabecular bone areas seen in all femur slices from the infected animals. This phenomenon is suggestive of a repair bone try in the bone marrow. The lack of osteoclasts in the femur slices from infected mice could mean that the bone mineral content deficiency, which can be seen, is not induced by the classic osteoporosis. In this way, it is not clear the mechanism that turns on the remodeling bone process, since the known mechanism is directly related to the presence of osteoclasts in the affected area.

Keywords: Schistosomiasis mansoni; Bone mineral content; Mice; Histology.

INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença causada por diferentes espécies do gênero *Schistosoma*, um helminto trematódeo, cuja distribuição geográfica predomina nas zonas tropicais e equatorial do globo terrestre, regiões nas quais o clima, as condições econômicas e sócio-culturais de vida da população residente favorecem a manutenção do ciclo evolutivo do verme, que tem no homem um dos seus hospedeiros definitivos. Nos últimos 50 anos não ocorreu modificação no número de pessoas infectadas, apesar da diminuição da frequência de formas graves segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2005¹⁻⁴.

A análise do perfil epidemiológico das internações hospitalares e óbitos por esquistossomose no Estado de Pernambuco, no período de 1992 a 2000, evidenciou uma redução das internações e da mortalidade por essa parasitose. Verificou-se ainda, um menor percentual de pacientes internados por esquistossomose, bem como menor percentual de óbitos no grupo etário abaixo de 30 anos de idade. A análise dos dados de internação hospitalar oferece uma estimativa da ocorrência de formas graves da doença, especialmente da forma hepatoesplênica^{3,5}.

A forma hepatoesplênica acomete entre 5 e 7% dos indivíduos infectados e é responsável pela maior morbimortalidade desta endemia. O desenvolvimento da forma hepatoesplênica ocorre, normalmente, em indivíduos procedentes de áreas hiperendêmicas, com elevada carga parasitária. No entanto, fatores imunogenéticos também estão implicados no desenvolvimento da fibrose periportal e esplenomegalia⁶⁻⁹.

Na fisiopatogenia da hipertensão portal a fibrose periportal é fator primordial: os ovos, depositados pelas fêmeas em grande quantidade nas veias mesentéricas, migram para as vênulas portais aonde impactam, desencadeando uma reação inflamatória com formação de granulomas e conseqüente fibrose⁶⁻¹⁰. Essa fibrose se desenvolve em torno das vênulas portais

produzindo um bloqueio pré sinusoidal, preservando, portanto, os hepatócitos e conseqüentemente a função hepática¹¹⁻¹⁴.

A fibrose periportal – fibrose de Symmers – se constitui no substrato histopatológico da forma hepatoesplênica. É responsável pelas alterações parenquimatosas no fígado, este é o único órgão a ter duas circulações aferentes¹¹⁻¹³. Recebe em média 1500mL (?300mL/min) de sangue por minuto. Deste fluxo 70% é procedente da veia portal e 30% da artéria hepática. Os canalículos biliares, no entanto, são irrigados unicamente por ramos arteriais¹⁵. Assim, a fibrose periportal e conseqüente congestão venosa, associadas à esplenomegalia esclerocongestiva, são os fatores determinantes da hipertensão portal desta doença⁹⁻¹⁴.

Tem-se observado que o grau de deficiência do conteúdo mineral ósseo (BMD) está em associação com a intensidade da fibrose de Symmers. Esse achado traz suporte ao conceito de que quanto mais grave for à fibrose periportal, maior probabilidade de acometer a reserva funcional hepática e, como conseqüência, alterar o BMD do paciente¹⁶⁻¹⁸.

Tem sido descrito que os portadores de EHE, quando crianças, apresentam idade óssea aquém da idade cronológica¹⁷. Os achados de um conteúdo mineral ósseo deficiente e déficit estato-ponderal nesses pacientes confirmam os achados clássicos¹⁷⁻²¹. Por outro lado, a melhora do desenvolvimento somático após tratamento clínico e cirúrgico, nesses pacientes, tem permitido um incremento significativo do conteúdo mineral ósseo, confirmando a eficiência dos tratamentos clínico e cirúrgico. Esse grupo de pacientes foi estudado, por pesquisa anterior, tendo sido constatado déficit do BMD em todos eles¹⁷⁻²¹. Foi evidenciado em outro estudo, que nos portadores com EHE o déficit persistiu, havendo melhora do status do conteúdo mineral ósseo desses pacientes, assim sendo, alguns evoluíram da condição de osteoporose para osteopenia¹⁹.

As alterações do metabolismo hepático em cirróticos, já estão bastante estudadas, tais alterações em esquistossomóticos ainda não foram devidamente exploradas²². O progresso

científico tem proporcionado o desenvolvimento e aplicação de condutas terapêuticas, progressivamente menos invasivas. O tratamento clínico está indicado em todas as fases ativas da esquistossomose mansoni, realizado com o oxaminiquine desde 1970, ou com o praziquantel desde 1977. Ambas as drogas matam o verme adulto com a eficiência de aproximadamente 80% e previnem a ovoposição e a conseqüente embolização dos ovos na circulação²⁰⁻²³.

A cirurgia pode ser necessária em situações especiais que não regrediram com o tratamento clínico, como na forma hepatoesplênica “avançada”, onde existe associação com sangramento digestivo alto devido à ruptura de varizes esofagianas. Em crianças, a indicação cirúrgica ocorre mesmo sem sangramento, nos casos de esplenomegalia volumosa, hiperesplenismo e hipodesenvolvimento^{7,11,20,21,24,25}.

Ao adotar qualquer medicamento, é importante para os profissionais analisar o custo-benefício do tratamento, por meio de estudo randomizados, duplo-cegos e controlados por placebo, analisando seus resultados em razão dos ganhos na densidade mineral óssea e da diminuição de volume e da quantidade de trabéculas e, conseqüentemente, da resistência, é o que ocorre com os corpos vertebrais. As três fraturas mais relacionadas com a osteoporose são a fratura distal do rádio, a fratura vertebral e a da extremidade superior do fêmur. Entretanto, podem ocorrer fraturas osteoporóticas em qualquer parte do esqueleto, como terço proximal do úmero, distal do fêmur, proximal da tíbia, fraturas do *plateau* tibial, pelve e tornozelo.

Muitas das vitórias obtidas no controle contra a esquistossomose foram resultados de pesquisas conduzidas em animais de laboratório; quanto ao tecido ósseo às pesquisas neste campo que versam sobre experimentos conduzidos em animais são escassas.

Em camundongos o ciclo da esquistossomose mansônica, incluindo a evolução da doença e suas repercussões sistêmicas, é muito semelhante ao que ocorre nos humanos. Assim sendo, nesta pesquisa um grupo de camundongos foi exposto à infestação transcutânea para o desenvolvimento controlado da esquistossomose.

A validade desta pesquisa está clara pelo alto custo financeiro, pessoal e social, bem como, pela morbidade das fraturas secundárias a osteoporose em idosos. De modo especial, pelo fato de que existe no mundo uma grande população portadora de esquistossomose hepatoesplênica com déficit estato-ponderal já constatado^{18,19} e que está envelhecendo podendo estar sujeita a um maior risco destas fraturas caso se instale uma osteoporose mais precoce ou mais grave.

1.1 Objetivo

Em função do hipodesenvolvimento somático-ponderal em crianças com EHE já constatado anteriormente^{18,19} objetiva-se, de maneira inédita, neste estudo avaliar possíveis alterações histológicas da esquistossomose mansônica no tecido ósseo de camundongos infectados, como por exemplo, alterações do conteúdo mineral ósseo tipo osteopenia ou osteoporose e estimando tais alterações em humanos.

LITERATURA

2.1 Epidemiologia da Esquistossomose mansônica

O *Schistosoma mansoni* é a espécie de *schistosoma* mais difundida no mundo²⁶, sendo endêmico em 52 países da América do Sul, do Caribe, da África e da região oriental do Mediterrâneo^{4,27,28}. Há seis espécies que podem infectar o homem: *S mansoni*, *S haematobium*, *S japonicum*, *S intercalatum*, *S mekongi* e *S malayensi*⁴, sendo as três primeiras as mais importantes.

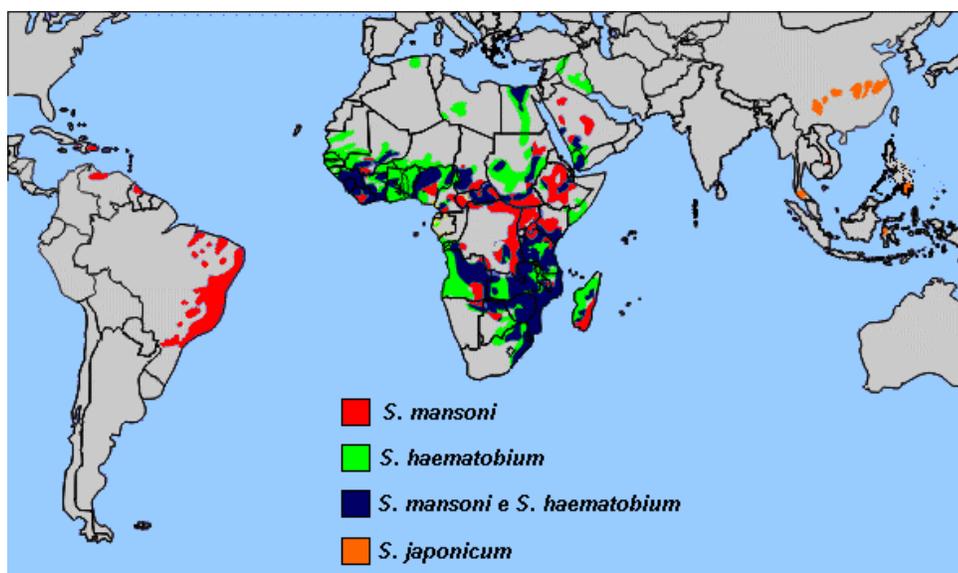


Figura 1. Distribuição global da esquistossomose (principais espécies).

Os vermes adultos fixam-se nas raízes das veias mesentéricas, onde estabelecem seu habitat. Com a morte dos vermes, naturalmente ou através da ação de drogas, estes são carreados pelo fluxo portal para o fígado²⁹.

A apresentação clínica da esquistossomose é bastante variável e está na dependência de uma série de fatores, como a carga parasitária, número de re-infecções e a atuação dos mecanismos de defesa (resposta imune) do paciente^{23,29-31}. Clinicamente, a esquistossomose caracteriza-se por uma fase aguda – normalmente de curta duração e assintomática – e uma

fase crônica, com diferentes apresentações e graus de morbi-mortalidade. As principais formas crônicas são as formas: intestinal, hepato-intestinal, hepato-esplênica e hepato-pulmonar^{6,29-31}.

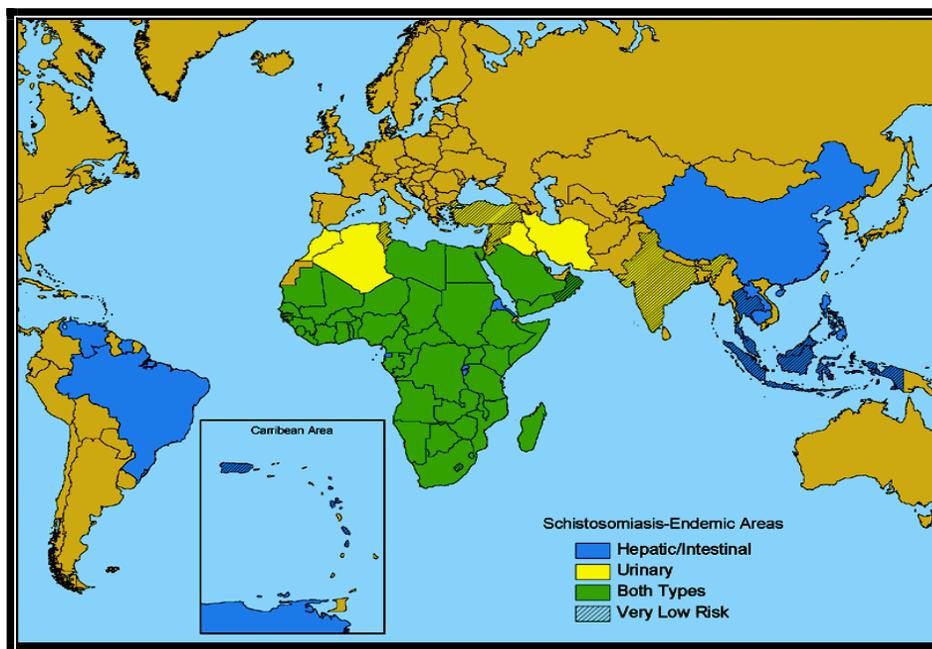


Figura 2. Distribuição mundial da esquistossomose de acordo com as formas clínicas

No Brasil, a esquistossomose mansônica tem prevalência estimada em 10 milhões de indivíduos infectados (seis a oito milhões no nordeste do país) distribuídos em zona de alta, média e baixa endemicidade e/ou em focos isolados. Como consequência da instituição e da manutenção de programa regular de controle da esquistossomose, tem se verificado o predomínio (90 a 95%) de formas leves (assintomática, intestinal e hepatointestinal) sobre a forma hepatoesplênica (5 a 10%) e redução do grau de endemicidade das regiões acometidas, bem como a diminuição progressiva das taxas de morbidade (3,25/10.000 internações, em 1988, para 2,25/10.000, em 1993) e de mortalidade (0,7/100.000 habitantes, em 1980, para 0,3/100.000, em 1993)^{26-28,32} (figura 1).

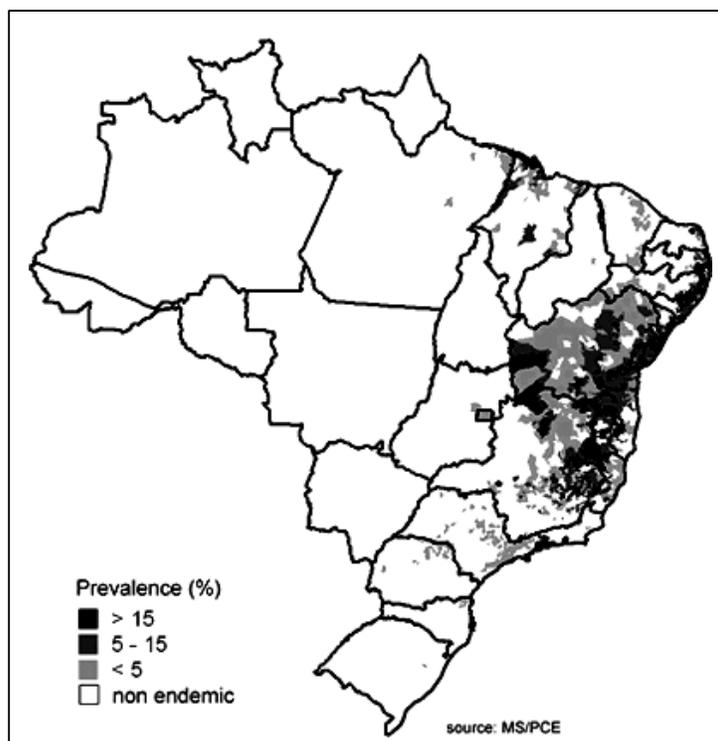


Figura 3. Prevalência da esquistossomose no Brasil

2.2 Fisiopatologia da esquistossomose na forma hepato-esplênica

A forma hepatoesplênica ocorre em 2 a 7% das populações infectadas no nordeste do Brasil e constitui a manifestação clínica mais grave da esquistossomose^{6,26,33}. É também a consequência mais temida da esquistossomose, na medida em que a hipertensão porta resultante é responsável por hemorragia digestiva alta por ruptura de varizes esofágicas ou esofagogástricas em cerca de 20% dos portadores desta forma, e a mortalidade decorrente de hemorragia digestiva nestas condições pode chegar a 24% dos pacientes¹¹⁻¹³.

Caracteriza-se pelo desenvolvimento de granulomas hepáticos com fibrose ao longo do trajeto dos ramos portais (fibrose periportal), resultando na hipertensão do sistema portal e esplenomegalia. Dois fatores são responsáveis pelo desenvolvimento da esplenomegalia: a

congestão do sistema venoso portal, que se transmite retrogradamente até a veia esplênica, e a hiperplasia do sistema reticuloendotelial esplênico como reação aos antígenos do parasita^{30,31,33}.

Dentro do fígado, os ovos e vermes mortos provocam obstrução dos pequenos ramos portais e desencadeiam extensa reação inflamatória periovular. A reação inflamatória envolve migração de células jovens do tecido conjuntivo, produção de colágeno e formação de granulomas periovulares^{31,33}. Em consequência, pode haver obliteração de pequenos ramos portais com dilatação a montante de ramos maiores. A pressão portal elevada determina a abertura de vasos colaterais e *shunts* espontâneos em torno dos ramos portais, caracterizando neoformação vascular e arterialização hepática³¹. A embolização de pequenos ramos colaterais neoformados pelos ovos deslocados explica as traves fibrosas encontradas adjacentes aos grandes ramos portais³¹. Ainda assim, a presença de colaterais neoformadas preserva o fluxo portal total para o fígado. Com a preservação do fluxo portal, e visto que alterações patológicas se dão nos espaços porta a nível pré-sinusoidal e não há comprometimento da citoarquitetura lobular, não há desenvolvimento de insuficiência hepática – caracteristicamente, a função hepática é preservada na hepatopatia esquistossomótica compensada^{14,23}.

Há referências a casos avançados, onde a severidade das obstruções portais intra-hepáticas não podem ser compensadas pelos mecanismos descritos, resultando diminuição progressiva do fluxo portal, atrofia hepática e manifestações clínicas de insuficiência hepática, o que torna o quadro clínico semelhante ao da cirrose^{30,33}.

2.3 Fisiopatologia da osteopatia na esquistossomose hepatoesplênica

2.3.1 O osso normal

Os ossos ainda são grandes armazenadores de substâncias, sobretudo de íons de cálcio e fosfato. Com o envelhecimento, o tecido adiposo também vai se acumulando dentro dos ossos longos, substituindo a medula vermelha que ali existia previamente³⁴.

A extrema rigidez do tecido ósseo é resultado da interação entre o componente orgânico e o componente mineral da matriz. A nutrição das células que se localizam dentro da matriz é feita por canais. No tecido ósseo, destacam-se os seguintes tipos celulares típicos:

✍ **Osteócitos:** os osteócitos estão localizados em cavidades ou lacunas dentro da matriz óssea. Destas lacunas formam-se canalículos que se dirigem para outras lacunas, tornando assim a difusão de nutrientes possível graças à comunicação entre os osteócitos. Os osteócitos têm um papel fundamental na manutenção da integridade da matriz óssea³⁴;



Figura 4. Aspecto esquemático da celularidade óssea³⁴

- ✍ Osteoblastos: os osteoblastos sintetizam a parte orgânica da matriz óssea, composta por colágeno tipo I, glicoproteínas e proteoglicanas. Também concentram fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz. Durante a alta atividade sintética, os osteoblastos destacam-se por apresentar muita basofilia (afinidade por corantes básicos). Possuem sistema de comunicação intercelular semelhante ao existente entre os osteócitos. Os osteócitos inclusive originam-se de osteoblastos, quando estes são envolvidos completamente por matriz óssea. Então, sua síntese protéica diminui e o seu citoplasma torna-se menos basófilo^{35,36};
- ✍ Osteoclastos: os osteoclastos participam dos processos de absorção e remodelação do tecido ósseo. São células gigantes e multinucleadas,

extensamente ramificadas, derivadas de monócitos que atravessam os capilares sanguíneos (figura 4). Nos osteoclastos jovens, o citoplasma apresenta uma leve basofilia que vai progressivamente diminuindo com o amadurecimento da célula, até que o citoplasma finalmente se torna acidófilo (com afinidade por corantes ácidos). Dilatações dos osteoclastos, através da sua ação enzimática, escavam a matriz óssea, formando depressões conhecidas como lacunas de Howship (figura 5);

- ✍ **Matriz óssea:** a matriz óssea é composta por uma parte orgânica (já mencionada anteriormente) e uma parte inorgânica cuja composição é dada basicamente por íons fosfato e cálcio formando cristais de hidroxiapatita. A matriz orgânica, quando o osso se apresenta descalcificado, cora-se com os corantes específicos do colágeno (pois ela é composta por 95% de colágeno tipo I)^{34,35}.

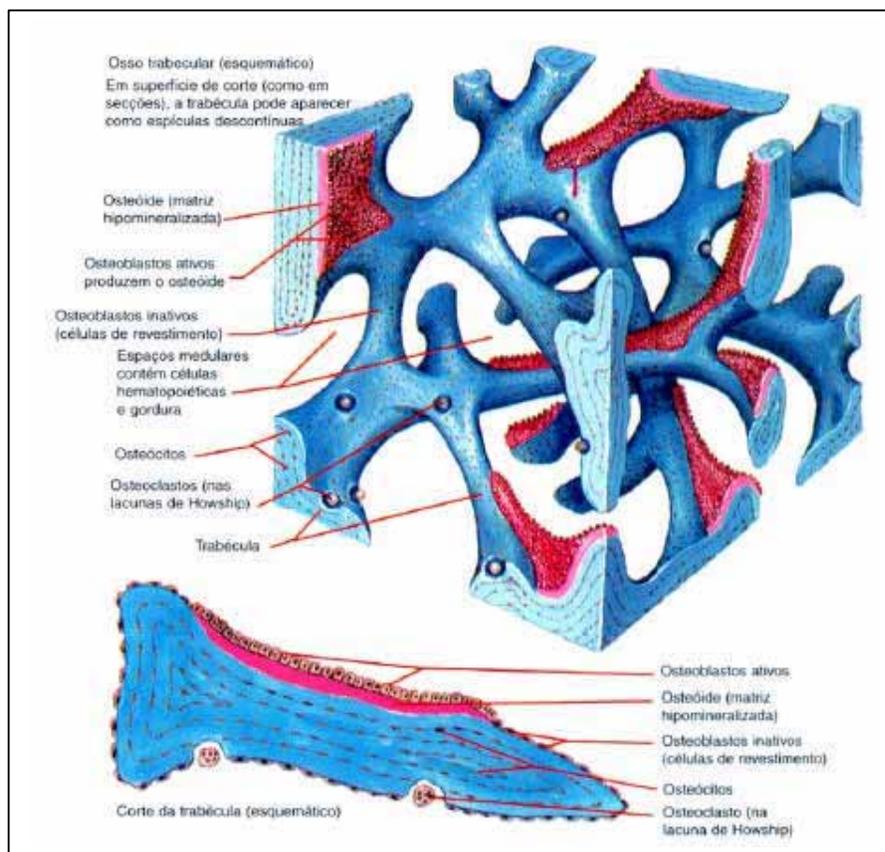


Figura 5. Distribuição esquemática da celularidade óssea³⁵

A classificação baseada no critério macroscópico admite apenas duas variantes de tecido ósseo: o tecido ósseo compacto ou denso e o tecido ósseo esponjoso ou lacunar ou reticulado. Essas variedades apresentam o mesmo tipo de célula e de substância intercelular, diferindo entre si apenas na disposição de seus elementos e na quantidade de espaços medulares. O tecido ósseo esponjoso apresenta espaços medulares mais amplos, sendo formado por várias trabéculas, que dão aspecto poroso ao tecido. O tecido ósseo compacto praticamente não apresenta espaços medulares, existindo, no entanto, além dos canaliculos, um conjunto de canais que são percorridos por nervos e vasos sanguíneos: canais de Volkmann e de Havers. Por ser uma estrutura inervada e irrigada, os ossos apresentam grande sensibilidade e capacidade de regeneração^{34,35}.

Os canais de Volkmann partem da superfície do osso (interna ou externa), possuindo uma trajetória perpendicular em relação ao eixo maior do osso. Esses canais comunicam-se com os canais de Havers, que percorrem o osso longitudinalmente e que podem comunicar-se por projeções laterais. Ao redor de cada canal de Havers, pode-se observar várias lamelas concêntricas de substância intercelular e de células ósseas. Cada conjunto deste, formado pelo canal central de Havers e por lamelas concêntricas é denominado sistema de Havers ou sistema haversiano. Os canais de Volkmann não apresentam lamelas concêntricas (figura 6)^{35,36}.

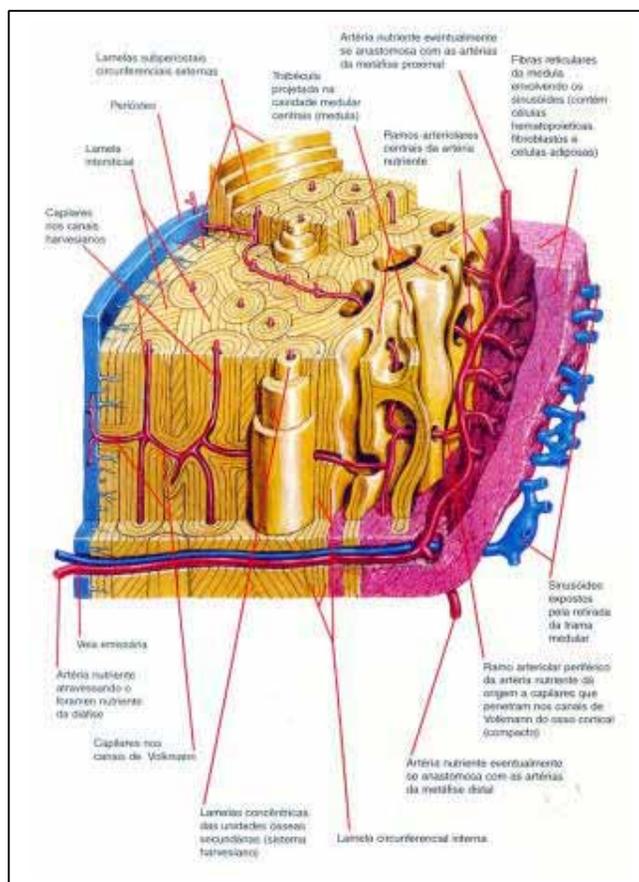


Figura 6. Estrutura do osso cortical³⁵

A diferença entre o volume de osso reabsorvido pelo osteoclasto e o volume repostos pelos osteoblastos é definido como balanço ósseo. A velocidade do processo de remodelação óssea em um indivíduo em crescimento é variável (30 a 100% ao ano) e dependente da idade do indivíduo³⁴⁻³⁸.

Quando a redução na massa óssea é muito grande, o osso perde a capacidade de manter o suporte mecânico, resultando numa condição chamada osteoporose. A osteoporose é uma doença de etiologia multifatorial, denota aumento na porosidade do esqueleto, caracterizando redução da massa óssea por unidade de volume (osteopenia) à custa de um excesso de reabsorção e/ou deficiência na produção óssea; essa doença resulta em um conjunto de fragilidades ou

deficiências, como fraturas, deformidades vertebrais e dor, resultante da falência mecânica da estrutura óssea. Para cada 10% de osso perdido, o risco de fratura dobra (figura 7)³⁵⁻³⁸.

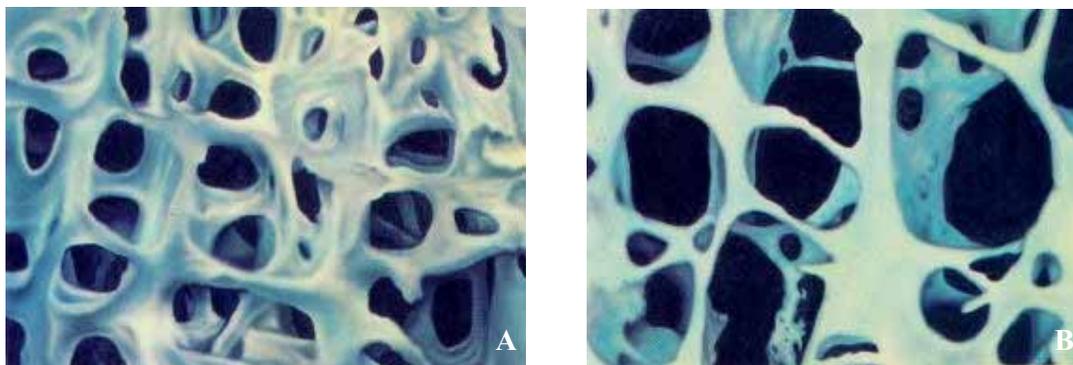


Figura 7. Osso trabeculado normal (A) e osteoporótico (B)³⁵

O osso é um tecido metabolicamente ativo, submetido a um contínuo processo de remodelação óssea que consiste em quatro fases: ativação, reabsorção, reversão e formação. Essas fases estão estreitamente acopladas e, por isso, a massa óssea permanece inalterada. Quando ocorre desequilíbrio, pode surgir osteoporose. Tal desequilíbrio pode resultar de uma hiperatividade dos osteoblastos (uma cavidade de reabsorção com profundidade excessiva é criada) ou disfunção dos osteoblastos (uma quantidade inadequada de osteóide é secretada para encher a cavidade reabsortiva normal)^{37,38}.

2.3.2 O osso doente

A osteoporose é uma doença complexa com componentes genéticos e ambientais. A fisiopatologia da osteopatia é complexa, no entanto, o conhecimento de fatos importantes relativos ao metabolismo ósseo indicam os fatores celulares, fisiológicos e metabólicos como básicos na sua dinâmica³⁹.

Os fatores de risco para a osteoporose são divididos em dois grupos: fatores de risco maiores ou não modificáveis e os fatores de risco menores ou modificáveis. Fatores de risco principais que não podem ser modificados são: história de fratura prévia, história de fraturas em familiares de primeiro grau; os fatores de risco menores não modificáveis são gênero, cor, raça, idade e demência. Os principais fatores de risco modificáveis são: vício do fumo e álcool e baixo peso corporal. Os fatores de risco modificáveis menores são: deficiência estrogênica, baixa ingestão de cálcio, distúrbios da visão, quedas frequentes e sedentarismo. A nuliparidade, a dieta rica em proteínas e fibras e a amenorréia devida a exercício em atletas de elite, a cafeína e as bebidas ricas em fosfatos são também relacionadas como fatores de risco. Estado de saúde ruim e fragilidade corporal podem ser modificáveis ou não, dependendo da causa. O uso de corticóides é um fator de risco importante, e pode ser modificável ou não, dependendo da necessidade do seu uso na doença em questão. Os hidantoinatos, os diuréticos de alça e o hidróxido de alumínio também são fatores de risco^{34,40}.

Várias modificações importantes são observadas na osteoporose, sendo a mais significativa o aumento da reabsorção óssea, que possivelmente é a causa da redução da massa esquelética. O osso também é continuamente absorvido em presença de osteoclastos, que consistem em grandes células fagocíticas multinucleadas (até 50 núcleos), derivadas dos monócitos ou de células semelhantes a monócitos formadas na medula óssea. Em condições normais, os osteoclastos são ativos em menos de 1% das superfícies ósseas do adulto. Mais adiante, neste capítulo, veremos que o PTH controla a atividade absorptiva óssea dos osteoclastos³⁴.

Histologicamente, a absorção óssea ocorre imediatamente adjacente aos osteoclastos. Acredita-se que o mecanismo dessa absorção seja o seguinte: os osteoclastos emitem projeções semelhantes a vilosidades em direção ao osso, formando a denominada borda

pregueada adjacente ao osso. As vilosidades secretam dois tipos de substâncias: (1) enzimas proteolíticas, liberadas a partir dos lisossomas dos osteoclastos, e (2) vários ácidos, incluindo o ácido cítrico e o ácido láctico, liberados pelas mitocôndrias e vesículas secretoras. As enzimas digerem, ou dissolvem, a matriz orgânica do osso, e os ácidos causam a solução dos sais ósseos. As células osteoclásticas também englobam, por fagocitose, diminutas partículas da matriz óssea e dos cristais, dissolvendo-os, também, finalmente e liberando os produtos no sangue³⁴.

2.3.3 Aplicação da histomorfometria na osteoporose

A aplicabilidade da histomorfometria no diagnóstico da osteoporose reside, basicamente, na diferenciação entre o que é perda de massa óssea fisiológica e patológica (osteoporose). A perda óssea fisiológica ocorre com o avançar da idade. É uma condição natural do ser humano, afetando todos os indivíduos, independentemente de sexo, raça, situação econômica ou localização geográfica. Inicia-se na quinta década de vida, acentuando-se, nas mulheres, no período da menopausa. Além disso, é por meio da histomorfometria que se pode demonstrar a heterogeneidade histológica da osteoporose e avaliar protocolos terapêuticos. A histomorfometria deve ser interpretada a luz das modificações fisiológicas, que ocorrem na massa e na remodelação ósseas, relacionadas á idade^{38,39}.

São poucos os estudos que comparam a remodelação óssea de indivíduos com osteoporose e normais. Nesses estudos, observou-se que nas corticais daqueles com osteoporose, os diâmetros dos ósteons são semelhantes aos dos normais. Assim, a perda da massa óssea ocorre, provavelmente, por desequilíbrio entre a reabsorção e a formação na superfície endosteal do osso cortical^{41,42}.

2.3.4 O papel do fígado

Ate 20 anos atrás, as formas mais reconhecidas da vitamina D eram a pró-vitamina D₂ (ergosterol de certas plantas e gordura animal) e a provitamina D₃ (7-diidrocolesterol sintetizado no fígado e armazenado na pele). Todos os metabólitos da vitamina D são transportados pela corrente sanguínea quelados a uma proteína específica, uma alfa-globulina sintetizada no fígado. Doenças que afetam a função hepática, ou drogas que induzem enzimas microssômicas (P-450), como a fenitoína, dificultam essa síntese. Com a exposição à luz ultravioleta do sol, são ativadas as provitaminas, que se convertem em vitamina D₂ (calciferol) e vitamina D₃ (colecalfiferol). As pessoas de pele branca necessitam de menor exposição solar que as de pele escura^{39,43}.

Pela enzima vitamina D-25-hidrolase e íons Mg essas vitaminas são convertidas em 25-hidroxivitamina D no fígado e transformadas no túbulo proximal do rim em vários metabólitos: 1,25-diidroxitamina D, 24-25-diidroxitamina D e 25-26-diidroxitamina D, cada um deles decorrente de uma atividade enzimática própria. O mais ativo desses metabólitos é 1,25-diidroxitamina D, sendo 12 vezes mais potente que o seu precursor, a 25-hidroxivitamina D, e atuando como substância reguladora do transporte de cálcio no intestino, túbulos renais e osso. Sítios receptores celulares nestes órgãos e em outros tecidos foram identificados, sendo que os erros genéticos em várias formas de raquitismo ocorrem nos receptores específicos para 1,25-diidroxitamina D, e suas ações incluem a produção de osteocalcina, reabsorção osteoclástica, maturação monocítica, diferenciação mielocítica, crescimento da pele e secreção de insulina^{39,43}.

Os níveis circulantes de pró-hormônio 25(OH)D₃ diminuem com a idade, e o envelhecimento reduz a atividade da alfa-hidroxilase em consequência da função renal diminuída, resultando em menor quantidade de 1,25(OH)₂D₃ e, em consequência,

diminuição do cálcio absorvido. Os níveis circulantes de PTH/HPT e 25(OH)D3 estão associados à densidade mineral óssea, mesmo em mulheres saudáveis de meia-idade^{37,40}.

O osso desenvolve um processo de remodelação, havendo reabsorção mediada pelo osteoclasto acoplada com formação mediada pelo osteoblasto, removendo e repondo tecido mineralizado nas trabéculas ósseas. Vários estudos têm demonstrado que o cálcio extracelular e outros cátions bi ou trivalentes podem funcionar como inibidores da reabsorção e, em mecanismo de compensação, promover o recrutamento e ativar células precursoras de osteoblasto³⁷⁻⁴¹.

A remodelação óssea ocorre nas unidades básicas multicelulares (BMU), em múltiplos locais nos ossos, com maior atividade metabólica nas superfícies em contato com medula óssea, superfície recoberta pelo endóstio. Os fatores que controlam essa atividade são sistêmicos e locais. Os fatores sistêmicos são hormônios que atuam em diferentes fases da remodelação com funções definidas para cada um.

A calcitonina (CT), um polipeptídeo com 32 aminoácidos e massa molecular relativa (Mr) molecular de 3000, é um inibidor da reabsorção óssea, mas não modifica a formação do osso. A principal função da CT endógena é regular o metabolismo mineral com destaque para o cálcio. É descrita como um hormônio da regulação mineral nos sistemas orgânicos do corpo (esqueleto, músculos, sistemas endócrino, nervoso e circulatório).

Nas situações em que o osso tem atividade metabólica aumentada, como durante o crescimento, gravidez, lactação e após refeições, calcitonina protege o esqueleto, exercendo uma atividade inibitória sobre os osteoclastos, tanto em sua atividade como em seu número, diminuindo sua motilidade e poder de reabsorção óssea. Tem efeito de diminuir o cálcio plasmático em hipercalcemia³⁷⁻⁴¹.

Parece exercer ainda uma atividade não comprovada em relação aos osteoblastos. Há experimentos demonstrando receptores em fibras nervosas para a calcitonina no osso,

sugerindo que o sistema nervoso pode atuar na determinação da massa óssea^{37,41}.

Vitamina D: O 1,25-diidroxivitamina D₃ é um hormônio sintetizado primariamente nos rins, com funções similares ao PTH, estimulando a absorção do cálcio intestinal. Também estimula a reabsorção e tem efeitos complexos na formação óssea reforçando a síntese de osteocalcina (*bone gla protein*), secretada pelo osteoclasto. Inibe a síntese de colágeno ósseo e aumenta a união de IGF às suas proteínas receptoras nas células de linhagem osteoblástica³⁷⁻⁴⁰.

Fator Transformante de Crescimento Beta (TGF-?): O fator transformante de crescimento beta (TGF-?), formado por três componentes, e sintetizado por vários tecidos, inclusive o osso; estimula a replicação da linhagem celular precursora do osteoblasto e tem um efeito estimulador direto na produção do colágeno ósseo. O TGF-? diminui a reabsorção, provavelmente induzindo ao suicídio dos osteoclastos (apoptose celular).

Proteínas Morfogenéticas do Osso (BMP): As proteínas morfogenéticas do osso (BMP) têm seqüências de aminoácidos similares às do TGF-?. Soa os osteoindutivas, isto é, induzem ossificação do osso endoncondral e diferenciação de células da linhagem osteoblástica, sendo úteis quando utilizadas no tratamento de fraturas.

Fator de Transformação de Crescimento Alfa (TGF-?): O TGF-? é um potente ativador da atividade osteoclástica, produzido por muitos tipos de tumores, provavelmente envolvidos em aumento da reabsorção óssea em casos de câncer. Injeções ou infusões de TGF-? *in vivo* aumentam os níveis plasmáticos de cálcio³⁷⁻⁴⁰.

Fosfato e Cálcio: O fosfato neutro inibe a atividade osteoclástica em cultura de órgãos. Mostra-se útil inibindo a reabsorção óssea em câncer ou hiperparatireoidismo, mas em nível intestinal diminui a absorção de cálcio. Altas concentrações de cálcio extracelular e intracelular diminuem a atividade osteoclástica^{37,38}.

Atividade celular na remodelação óssea: Durante o processo de reabsorção óssea,

os osteoclastos primeiramente desmineralizam e, em seqüência, hidrolisam a matriz óssea. Os produtos deste processo são liberados no microambiente vizinho. Estes produtos incluem os íons de cálcio e fosfato e fragmentos de componentes da matriz mineralizada, alguns dos quais mantêm atividade biológica. Em resposta às mudanças do meio ambiente (pelo aumento de íons em concentração, calcitonina e outras substâncias), os osteoclastos se movem do sítio de reabsorção, deixando para trás uma área de osso exposta. O mecanismo de acoplamento entre reabsorção e formação pode também envolver a ativação de TGF- β . O PTH e outros hormônios envolvidos na reabsorção aumentam a atividade do plasminogênio ativador e a plasmina formada é capaz de ativar o TGF- β latente previamente secretado por osteoblastos e armazenados na matriz óssea. Num período de tempo, variável com a idade do organismo, a área da reabsorção é reprovada por uma população de osteoprogenitores, oriunda, talvez, de uma resposta quimiotática aos produtos da reabsorção, principalmente de fragmentos de colágeno tipo 1. Os osteoprogenitores proliferam tanto em resposta aos fatores liberados pelo processo de reabsorção como em resposta aos fatores endógenos e exógenos. O TGF- β estimula a proliferação de células da linhagem esteoblástica e diminui a secreção de fosfatase alcalina, numa complexa seqüência de eventos para a maturação dos osteoblastos. A matriz óssea se constitui de cerca de 90% de colágeno cuja síntese necessita da presença de ácido ascórbico, cuja deficiência é causa de osteopenia (p.ex., o escorbuto). Supõe-se que o efeito do colágeno para proliferação dos osteoblastos esteja na alteração do número de receptores para IGF-I³⁷⁻⁴⁰.

2.4 Alterações laboratoriais da osteopatia na esquistossomose hepato-esplênica

Alterações laboratoriais são mais freqüentes na forma hepatoesplênica. As alterações hematológicas são relacionadas ao hiperesplenismo (plaquetopenia $< 100 \times 10^9/L$, leucopenia $< 4 \times 10^9/L$ e anemia) e/ou à hemorragia (anemia). As alterações mais comuns de testes hepáticos são: elevação no soro de aminostransferases, da gama-glutamyltransferase e da fosfatase alcalina e, no plasma, prolongamento do tempo de protrombina. O comprometimento glomerular acompanha-se de proteinúria e o do sistema nervoso central de alterações no líquido (aumento da celularidade com eosinofilia, aumento de proteínas e diminuição de glicose)⁴⁴.

A esquistossomose caracteriza-se, em geral, pela preservação da função hepática, mesmo na presença da hipertensão portal; testes hepáticos sensíveis mostram, entretanto, que existe na forma hepatoesplênica da parasitose comprometimento precoce de função hepática. Critérios de avaliação (como o de Child-Pugh), úteis no cirrótico, nem sempre são aplicáveis aos esquistossomóticos “puros”, ou seja, aqueles em que não se verifica associação com outras hepatopatias, como, por exemplo, viral, alcoólica ou medicamentosa.

Estudos revelaram a existência de alterações do metabolismo de lipídeos na esquistossomose mansônica constando de diminuição dos níveis de colesterol total fosfolipídeos e triglicerídeos plasmáticos. Ocorrem também modificações na atividade da enzima lecitina:colesterol acetiltransferase (LCAT), que é responsável pela reação de esterificação do colesterol^{18,44}.

Anormalidades no metabolismo dos lipídios em pacientes com esquistossomose tem sido relatadas por vários pesquisadores. Na forma hepatoesplênica são encontradas diminuição da concentração do colesterol total, aumento da relação colesterol/fosfolipídios, diminuição dos níveis de triglicerídeos, redução da atividade enzimática da LCAT e diminuição do *High-density lipoproteins* (HDL). Tais variações lipídicas, se correlacionadas

com as diferentes formas clínicas de esquistossomose, podem ter importância na avaliação do seguimento dos pacientes através do funcionamento hepático¹⁸.

2.5 Modelo animal

Os roedores estão entre os modelos animais mais utilizados na pesquisa da osteoporose, sendo o rato, certamente, o mais comum. Entretanto, outros animais como primatas, cães, aves e coelhos também tem sido amplamente utilizados^{46,47}. Além destes, o camundongo aponta como uma perspectiva promissora neste cenário da pesquisa.

O uso do modelo experimental por camundongo tem sido utilizado há décadas na pesquisa experimental da osteoporose e importantes contribuições têm sido alcançadas com seu uso como modelo desde o final da década de 1950, quando estudos com este animal demonstraram a habilidade do osteoclastos em digerir tecido ósseo.

Uma outra vantagem do modelo experimental, técnicas densitométricas amplamente utilizadas em humanos, tem sido validada para o estudo da massa óssea do rato. Como a maioria dos modelos experimentais em osteoporose, não exhibe fraturas associadas a trauma de baixo impacto. Entretanto, essa desvantagem do modelo pode ser contornada com a utilização de modernas técnicas para avaliar a resistência biomecânica do tecido ósseo. Sistemas para avaliação da resistência à carga mecânica encontram-se validados para o corpo vertebral e fêmur do camundongo. Isto torna a existência de fraturas prescindível neste modelo.

Vantagens e desvantagens têm que ser cuidadosamente consideradas durante todo o processo intelectual de formulação do projeto, de modo a reduzir as variáveis indesejadas e fatores complicadores na fase de execução prática do experimento.

Trabalhos recentes^{48,49} têm demonstrado que a diminuição da espessura das trabéculas ósseas, o seu grau de perfuração, com conseqüente desarranjo de sua microarquitetura, são responsáveis pela menor capacidade de o osso suportar cargas, uma vez que uma boa quantidade de massa óssea (volume trabecular normal) nem sempre significa boa resistência (conectividade normal). Esse fato explica a presença de fraturas em indivíduos com massa óssea normal. Assim, as técnicas histomorfométricas tem sido aperfeiçoadas, visando analisar, além dos parâmetros classicamente citados, outros que informam sobre a conectividade e a microarquitetura do tecido^{46,47}.

Entretanto, não foram encontradas referências na literatura, quanto ao estudo histomorfométrico do tecido ósseo de camundongos em esquistossomóticos, ou quanto a alterações do percentual da celularidade do tecido ósseo.

MÉTODOS

3.1 Local do estudo

O estudo foi realizado no Laboratório de Imunologia Keizo Asami (LIKA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) nos Setores de Patologia, Microscopia Eletrônica e Biotério, sendo previamente aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEA) da UFPE (anexo 1). Os procedimentos descritos para manejo e cuidado dos animais em experimentação encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais.

3.2 Tipo do estudo

Prospectivo e analítico.

3.3 Seleção

Foram estudados 35 camundongos, de um total de 63, machos, Swiss, com peso corporal médio de 30g, expostos à infecção transcutânea, com 50 dias, por contato da cauda com 75 cercárias de *S. mansoni*, cepa São Lourenço da Mata (SLM), obtidos em laboratório tratados e mantidos em ambiente desinfectado. Após 120 dias, foram sacrificados com deslocamento cervical, sob anestesia, de acordo com as normas internacionais de bioética.

Os camundongos foram divididos em:

Grupo I - controle

? 17 camundongos;

? Sadios sem infestação pelo *S. mansoni*;

- ? Os camundongos foram sacrificados com 120 dias para avaliar repercussões histológicas tardias.

Grupo II – estudo de camundongos infectados

- ? Foram 18 camundongos;
- ? Tempo de evolução da infecção foi de 90;
- ? Sacrificados após 120 dias

Em função de uma dificuldade inicial na escolha do método de avaliação histológica dos animais foram avaliados divididos em dois sub-grupos: o do método de aerofotogrametria e o do método de planimetria.

3.4 Procedimentos

3.4.1 Infestação

Os animais, aos 50 dias de vida e com peso corporal médio de 30g, foram infestados com 75 cercárias por via transcutânea através da imersão da calda. Utilizou-se a cepa SLM de *S. mansoni*, obtidas de caramujos mantidos no LIKA. O tempo de evolução da infestação foi de 70 dias, e aos 120 dias praticou-se a eutanásia através de deslocamento cervical: Inicialmente os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico na dosagem de 25mg/Kg, via intraperitoneal, procedendo-se a tricotomia da face lateral externa do membro posterior direito, realizando-se o deslocamento cervical. Com o animal em decúbito lateral esquerdo procedeu-se o divulsionamento e seccionamento transverso do fêmur no terço médio, acondicionando-se o terço proximal e o terço distal em recipientes distintos contendo Formol a 10%.

3.4.2 Aspectos macroscópicos do fígado

Com o objetivo de comprovar o desenvolvimento da doença EHE nos animais infestados optou-se por, aleatoriamente, retirar e pesar o fígado e o baço de alguns animais (quadros 1 e 2).

Quadro 1. Peso de fígado e baço de animais escolhidos aleatoriamente do grupo I

Animal infectado	Peso fígado (g)*	Peso baço (g)*
I 7	6,0	2,0
I 8	3,8	0,9
I 9	3,3	0,4
Animal controle	Peso fígado (g)	Peso baço (g)
C 6	2,0	0,1
C 7	2,05	0,15
C 8	2,18	0,17

*gramas

Quadro 2. Peso de fígado e baço de animais escolhidos aleatoriamente do grupo II

Animal infectado	Peso fígado (g)*	Peso baço (g)*
I 11	5,2	2,9
I 13	4,8	1,9
I 15	3,9	1,4
Animal controle	Peso fígado (g)	Peso baço (g)
C 10	2,2	0,3
C 11	2,0	0,25
C 16	2,4	0,27

*gramas

Inicialmente os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico na dosagem de 25mg/Kg, em seguida realizou-se o deslocamento cervical. Com o animal em decúbito dorsal realizou-se a abertura da cavidade abdominal através da linha Alba, excisão e pesagem do fígado e baço, com realização de cortes teciduais processados em parafina e corados pela hematoxilina e eosina.

Em decúbito dorsal, realizou-se a abertura da cavidade abdominal através da linha Alba, excisão e pesagem do fígado e baço, com realização de cortes teciduais (5 µm de espessura) processados em parafina e corados pela hematoxilina e eosina.



Figura 8. Retirada cirúrgica de baço e fígado

3.4.3 Estudo histológico

Após a eutanásia, procedeu-se a tricotomia da face lateral externa do membro posterior direito. Com o animal em decúbito lateral esquerdo fez-se o divulsionamento e seccionamento transverso do fêmur no terço médio. Devido à fragilidade dos membros optou-se pela retirada do fêmur juntamente com as articulações coxo-femural e fêmoro-tibial, procedendo-se a desarticulação com o auxílio de uma lupa, de tal forma não lesionar a estrutura óssea (figura 9), de acordo com as normas internacionais de bioética.



Figura 9.
Retirada
cirúrgica do
fêmur

Posteriormente à dissecação das articulações, acondicionou-se o terço proximal dos fêmures em recipientes contendo formol a 10%, para posterior estudo histológico por microscopia óptica. Os fragmentos proximais foram em seguida descalcificados por imersão em ácido nítrico a 5% durante 03 dias, submetidos à rotina histológica e emblocados em parafina. O emblocamento em parafina foi executado de forma que se obtivesse, após desgaste do bloco por microtomia, secções transversais de diâmetro uniforme (4 μ m de espessura) da região do colo do fêmur, tendo-se, quando possível, 3 secções de cada amostra. As secções assim obtidas foram coradas pela hematoxilina eosina e examinadas através de microscopia óptica (figuras 10 e 11).

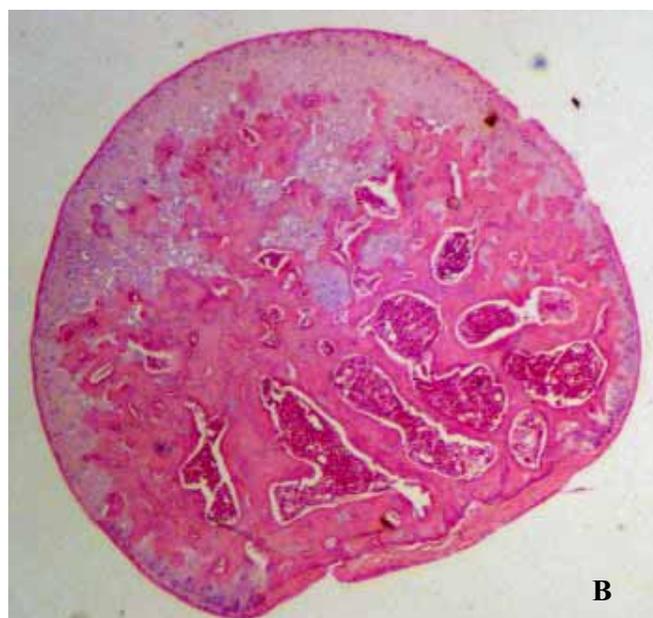
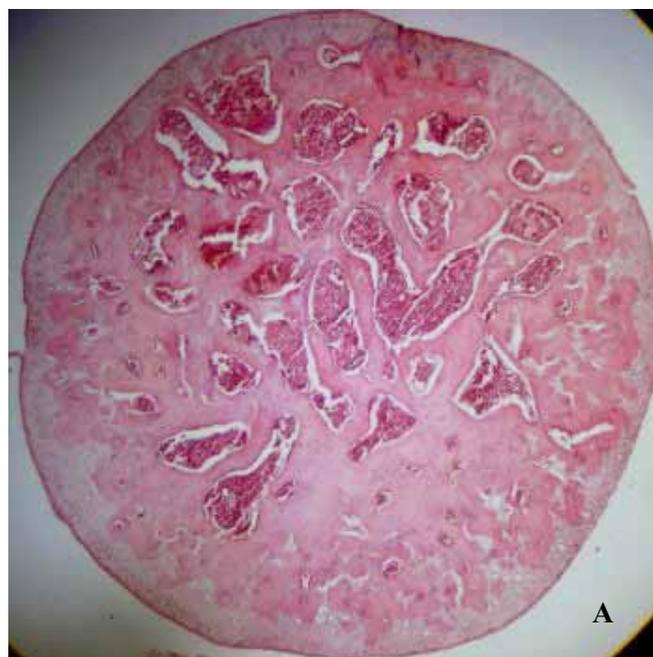


Figura 10. Corte histológico transversal do fêmur de camundongo: A) controle e B) infectado (32x)

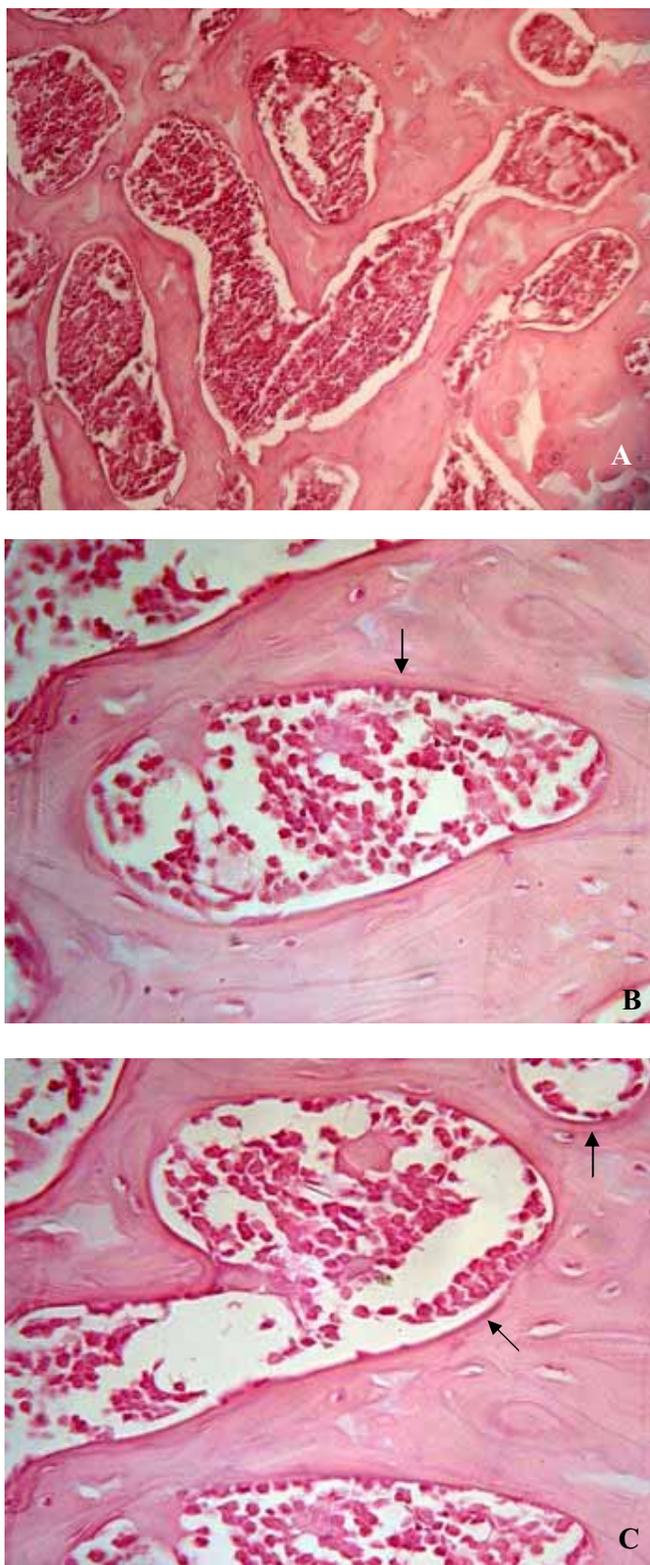


Figura 11. Corte histológico de área medular do fêmur de camundongos infectados: A) 100x; B-C) 200x, evidenciando em ponta de seta marginação por osteoblastos.

3.5 Processos histomorfométricos

3.5.1 Aerofotogrametria

Em função dos cortes histológicos obtidos, nos procedimentos executados nos primeiros animais, não apresentarem áreas com seções transversais uniformes por dificuldades técnicas no emblocamento e por não encontrarmos no mercado lâminas micrométricas, optou-se por utilizar a aerofotogrametria como método de acurácia para estabelecer a relação entre as áreas óssea e trabecular. A aerofotogrametria é utilizada para mapeamento da superfície terrestre à partir de imagens produzidas por satélite.

Este método foi adaptado para medir as imagens das secções histológicas. Para tal, foi utilizado um projetor de lâminas, com distância fixa de um anteparo e mesmo aumento, obter-se imagens que em seguida, eram desenhadas manualmente em papel delinando-se as áreas ocupadas pelo tecido ósseo e pelas trabéculas (anexo 2).

Os desenhos foram digitalizados, através de um scanner de mesa, e as imagens obtidas analisadas utilizando-se o software Erdas Imagine 8.7, software de processamento de imagens e geoprocessamento, capaz de gerar informações cartográficas a partir de imagens digitalizadas em arquivos TIFF. Desta forma, foram vetorizados os contornos das áreas ósseas e trabeculares (áreas negras), objetivo deste trabalho. A vetorização consiste em se obter informações de coordenadas planas, bidimensional, e a partir dessas coordenadas se traçar curvas e fazer cálculos de áreas. As áreas obtidas, através de uma função do próprio software, foram passadas para uma planilha do Microsoft Excel, e utilizadas no estudo estatístico.

3.5.2 Planimetria

É uma técnica que dispõe de vários métodos quantitativos em morfologia microscópica permitindo sua mensuração linear, podendo ser realizada diretamente no microscópio óptico ou feita sob imagens microscópicas projetadas com auxílio de um microprojctor cujo aumento seja conhecido⁵⁰.

Para o estudo morfométrico pela planimetria utilizou-se a mesma metodologia empregada na aerofotogrametria, efetuando-se, no entanto, as medidas dos desenhos das áreas das secções histológicas através de um micrômetro. O micrômetro é uma lâmina histológica tendo lapidada em sua área central uma escala em sistema métrico (1mm = 10[?])⁵⁰ (figura 12).



Figura 12. Micrômetro ocular no alto e micrômetro objeto à direita em baixo. A escala que se coloca no interior do micrômetro ocular (esquerda no alto) deve ser superposta ao micrômetro objeto para conhecer o aumento (esquerda embaixo).

A escala micrométrica foi projetada e copiada em papel milimetrado nas mesmas condições do preparado histológico obtendo-se a relação entre a projeção e o sistema métrico e a partir daí obteve-se os valores das áreas óssea e trabecular (figura 13), em milímetros ou micrometros, e do aumento da projeção pela seguintes fórmula.

$$CR^* = \frac{2\text{cm. } 1\text{mm}}{10\text{cm}} = 0,2\text{mm (ou } 200? \text{ m)}$$

$$\text{Aumento final} = CR \times 100$$

*CR = Comprimento real

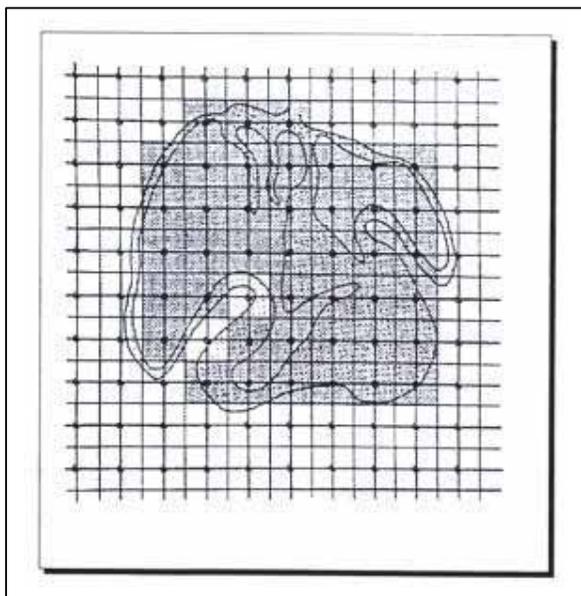


Figura 13. Desenho do cálculo planimétrico por contagem de pontos de área da imagem.

3.6 Dados Analíticos

Os dados da pesquisa foram obtidos de uma ou mais medidas das áreas trabecular e óssea segundo os métodos de avaliação: aerofotogrametria e planimetria.

Ressalta-se que no caso em que foi realizada mais de uma medida por animal inicialmente obteve-se a média das áreas, sendo os resultados obtidos a partir das referidas médias. Em cada um dos métodos foi obtido o percentual da área trabecular em relação à área total (área trabecular em relação a soma das áreas trabecular e ósseo).

Tal análise objetiva verificar se existe ou não diferença significativa entre os dois grupos em relação às médias das áreas: trabecular, área branca e o percentual da área trabecular em relação às medidas realizadas aerofotogrametria, bem como, verificar se existe ou não diferença significativa entre os dois grupos em relação às médias das áreas: trabecular, área óssea e o percentual da área trabecular em relação às medidas realizadas por planimetria.

Para análise dos dados foram obtidas medidas estatísticas: média, desvio padrão, valor mínimo e valor máximo (Técnicas de estatística descritiva) e foi utilizado o teste estatístico t-Student com variâncias iguais (Técnica de estatística inferencial)^{51,52}.

A verificação da hipótese de igualdade de variâncias foi realizada através do teste F, específico para a finalidade e, a verificação da hipótese de normalidade dos dados foi obtida através do teste de Shapiro-Wilk (Técnicas de estatística inferencial).

Os dados foram digitados na planilha Excel e o “software” estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SAS (Statistical Analysis System) na versão 8.0. O nível de significância utilizado nas decisões dos testes estatísticos foi de 5,0%.

RESULTADOS

Em função dos cortes histológicos obtidos, nos procedimentos executados nos primeiros animais, não apresentarem áreas com seções transversais uniformes por dificuldades técnicas no emblocamento e por não encontrarmos no mercado lâminas micrométricas, optou-se por utilizar a aerofotogrametria como método de acurácia para estabelecer a relação entre as áreas óssea e trabecular.

A análise foi realizada pelo teste “t” Student, pois este é utilizado quando se deseja comparar dois grupos em relação a uma mesma variável numérica.

A análise estatística através desta metodologia, permitiu observar que a média das áreas trabecular e óssea foram mais elevadas no grupo infectado que no grupo controle. Diferença estatística significativa entre os dois grupos somente foi registrada para a área óssea ($p < 0,05$). Ressalta-se que as hipóteses de igualdade de variâncias e de normalidade dos dados em cada grupo foram verificadas (tabela 1).

Tabela 1. Estatística das variáveis: área trabecular, área óssea e percentual da área trabecular em relação à área total - método da aerofotogrametria

Variável	Estatística	Grupo		Valor p
		Controle (n=6)	Infectados (n=7)	
Área trabecular	Média	0,001091	0,001990	$p^{(1)} = 0,1719$
	Desvio padrão	0,000865	0,001272	
	Mínimo	0,000347	0,000765	
	Máximo	0,002573	0,004398	
Área óssea	Média	0,002848	0,005800	$p^{(1)} = 0,0263^*$
	Desvio padrão	0,001981	0,002138	
	Mínimo	0,000968	0,002380	
	Máximo	0,005510	0,008202	

(*) – Diferença significativa ao nível de 5.0%.

(1) – Através do teste t-Student com variâncias iguais

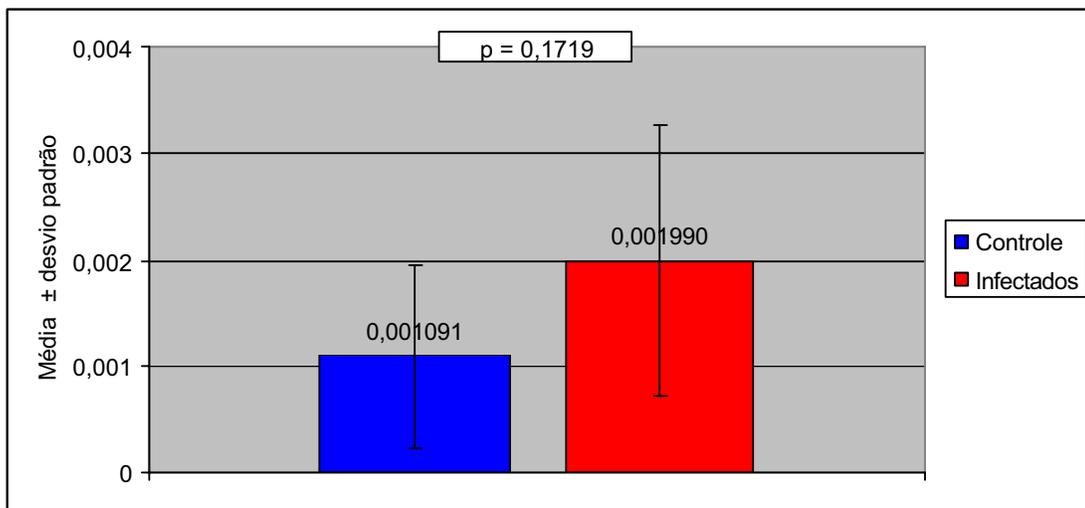


Gráfico 1. Média e desvio padrão da área trabecular segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da aerofotogrametria

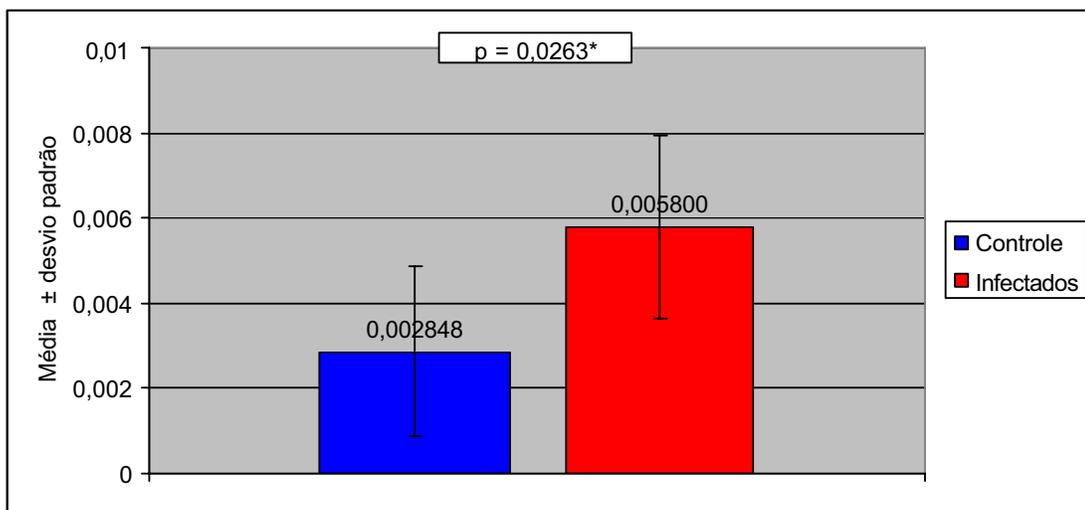


Gráfico 2. Média e desvio padrão da área óssea segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da aerofotogrametria

Na segunda fase do estudo, quando foram contornadas as dificuldades técnicas no emblocamento e obtivemos os cortes histológicos de áreas com seções transversais uniformes e nos foi gentilmente cedida uma lâmina micrométrica, pela Profa. Ângela Batista do Departamento de Zootecnia da Universidade Rural de Pernambuco (UFRPE), utilizou-se a planimetria como metodologia para estabelecer a relação entre as áreas óssea e trabecular.

Através do estudo histomorfométrico pela planimetria concluiu-se quando se comparou na tabela 2 apresenta-se as estatísticas das variáveis: área trabecular, área óssea e o percentual da área trabecular (em relação à área total) segundo o grupo. Desta tabela verifica-se que: as médias da área trabecular e óssea foram correspondentemente mais elevadas no grupo controle do que no grupo de animais infectados, enquanto que a média do percentual da área trabecular foi mais elevada no grupo de infectados do que no grupo controle. Para a variável área trabecular a diferença foi apenas 0,0069 mais elevada no grupo controle do que no grupo de animais infectados (0,3041 x 0,2972); para área óssea a média foi 0,2056 mais elevada no grupo controle do que no grupo de infectados (1,3920 x 1,1864); Para nenhuma das duas variáveis apresentadas na tabela comprova-se diferença significativa entre os dois grupos ($p > 0,05$).

Tabela 2. Estatística das variáveis: área trabecular, área óssea e percentual da área trabecular em relação à área total - método planimetria

Variável	Estatística	Grupo		Valor p
		Controle (n=10)	Infectados (n=9)	
Área trabecular (mm)	Média	0,3041	0,2972	$p^{(1)} = 0,9034$
	Desvio padrão	0,1463	0,0900	
	Mínimo	0,1072	0,1479	
	Máximo	0,5697	0,3793	
Área óssea	Média	1,3920	1,1864	$p^{(1)} = 0,1320$
	Desvio padrão	0,3040	0,2569	
	Mínimo	0,8017	0,6450	
	Máximo	1,7550	1,4400	

(1) – Através do teste t-Student com variâncias iguais

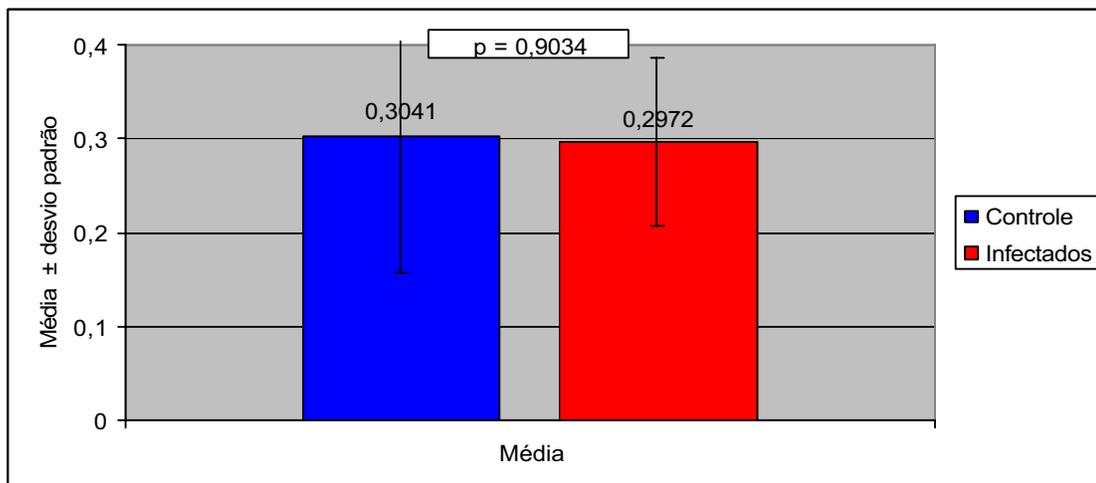


Gráfico 3. Média e desvio padrão da área trabecular segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da planimetria

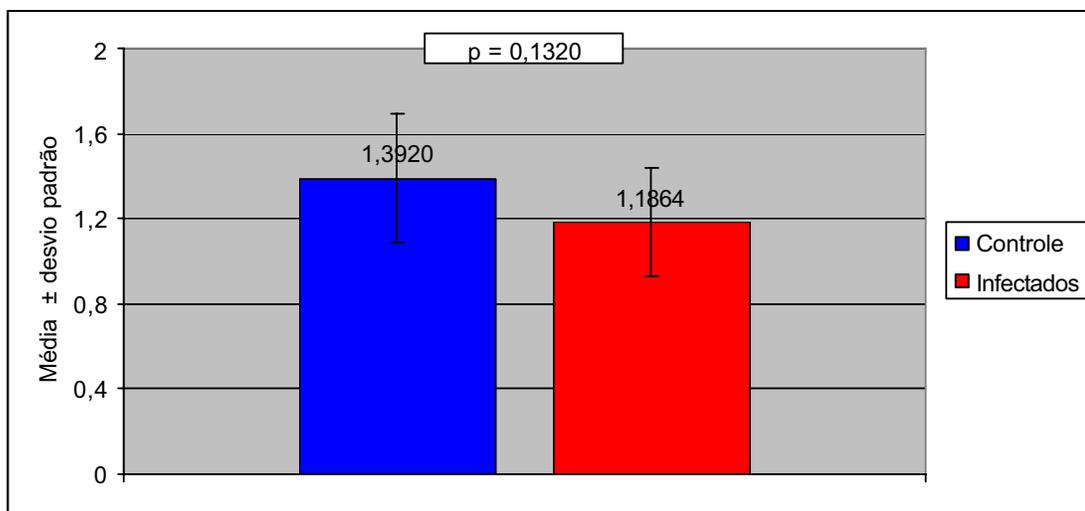


Gráfico 4. Média e desvio padrão da área óssea segundo o grupo para as medidas obtidas pelo método da planimetria

Ao se comparar os dois métodos morfométricos observou-se que estatisticamente não há diferença em relação aos dois métodos morfométricos utilizados.

Do ponto de vista histológico, a análise das lâminas deste estudo, apresenta uma reorganização marginal dos osteoblastos em torno das áreas lacunais, sugerindo histomorfometricamente a presença de um processo de remodelação. Por outro lado, não se

observou a presença de osteoclastos o que corrobora o achado estatístico não significativo em relação às áreas óssea e lacunar dos animais estudados (controle e infectados).

DISCUSSÃO

5.1 Aspectos relacionados à esquistossomose

O Programa de Estudo e Controle da Esquistossomose (PECE), em caráter nacional, foi vitorioso em controlar a morbi-mortalidade da doença, obteve sucesso relativo em reduzir a prevalência da infecção, mas não interrompeu a transmissão, nem reduziu a prevalência para menos de cinco por cento que era um dos seus objetivos iniciais^{6,14,23}.

Há vários fatores que dificultam o controle da esquistossomose pelos Serviços de saúde pública, entre eles, citam-se a ampla difusão dos hospedeiros intermediários, a frequência de contato humano com a água em atividades agrícolas, doméstica e/ou por lazer, a dinâmica própria de cada microfoco de transmissão, a falta de água potável, as limitações no tratamento individual e em massa e a falta de métodos preventivos associados aos curativos no planejamento e execução de ações médico-sanitárias⁶⁻⁸.

A relevância do estudo e combate a esquistossomose não se restringe a sua antiguidade e ampla distribuição geográfica mundial, mas também ao impacto econômico, pois atinge a população na faixa etária produtiva (mais de 50% dos infectados têm entre 20 e 60 anos)⁸, como foi registrado em estudos, que contemplou indivíduos de faixa etária entre 13 e 45 anos e média de 22,6 anos¹⁷⁻²⁰.

Atualmente tem-se registrado um número menor de óbitos e internamentos por esquistossomose em menores de 30 anos e isto pode ser resultado do tratamento medicamentoso seletivo do grupo de 2 a 14 anos nos municípios de alta prevalência há cerca de 20 anos atrás^{8,9}. É provável que esta seja uma das explicações para baixa frequência de indicações cirúrgicas (média de cinco ao ano), para os casos de EHE avançada^{8,14,17,18}.

Pesquisas anteriores evidenciaram baixo desenvolvimento estato-ponderal e atraso no desenvolvimento sexual, isto faria supor que portadores de EHE poderiam apresentar alterações ósseas do ponto de vista histomorfométrico^{3,8,17,18}.

5.2 Aspectos relacionados à amostra

5.2.1 Tamanho e característica da amostra

Embora a pesquisa envolvesse 63 camundongos escolhidos do mesmo gênero para evitar as possíveis distorções em função das diferenças dos hormônios sexuais entre estes. Só foram aproveitados 35 animais para o estudo porque os outros 28 animais morreram durante a pesquisa não podendo ser aproveitados; por outro lado, um índice tão alto de mortalidade revela no grupo controle que os 120 dias escolhidos para o sacrifício dos animais se aproxima muito da expectativa de vida natural destes animais em laboratório e no grupo de infectados caracteriza que a doença (EHE) se encontrava plenamente instalada. Os animais estudados receberam a mesma alimentação e água para evitar um possível déficit nutricional interferindo nos resultados.

5.2.2 Aspectos macro e microscópicos do conteúdo mineral ósseo

A osteoporose significa fragilidade esquelética que leva a um aumentado risco de fraturas, dentre as várias causas doenças crônicas que interferem no metabolismo do cálcio de outras substâncias participantes do metabolismo ósseo, podem levar a descalcificação da matriz óssea e perda do conteúdo mineral ósseo, além de doenças crônicas outros fatores como o envelhecimento e toda queda hormonal referente a tal processo podem levar a diminuição do conteúdo mineral ósseo^{18,20,21}.

Alguns trabalhos da literatura registraram que as crianças e os adolescentes com esplenomegalia de etiologia esquistossomótica, após serem submetidos a esplenectomia total, voltavam a um desenvolvimento somático e sexual normal. Com base em níveis basais de gonadotrofinas hipofisárias pré-operatórias dosadas na urina postulou-se a hipótese de que o baço poderia estar bloqueando as gonadotrofinas circulantes. Esse fenômeno seria agravado por um quadro de subnutrição crônica^{20,21}.

Alguns autores selecionaram portadores de *esquistossomose mansoni* em fase puberal para pesquisar eventuais alterações hormonais que pudessem ser responsabilizadas pelo retardo do desenvolvimento somático e sexual. Foram descartadas como causas a desnutrição, condições ambientais e alterações hormonais. Ficou então estabelecido que um fator esplênico ainda desconhecido seria o responsável pelo hipodesenvolvimento somático e sexual⁴⁸.

Estudos histológicos demonstraram que a formação óssea de pacientes com doença hepática apresenta-se muito reduzida, embora o número de osteoblastos esteja conservado. Esses dados sugerem que a competência dos osteoblastos está ainda mais prejudicada, posto que, no tecido ósseo normal, um osteoclasto realiza uma função equivalente à de 6 osteoblastos³⁷.

Do ponto de vista histológico, a análise das lâminas deste estudo, apresenta uma reorganização marginal dos osteoblastos em torno das áreas lacunais, sugerindo histomorfometricamente um processo de remodelação. Por outro lado, não se observou o aumento da atividade dos osteoclastos o que corrobora o achado estatístico não significativo em relação às áreas óssea e lacunar dos animais estudados (controle e infectados).

Os dados morfométricos sugerem, portanto, que não há diferença na relação de proporcionalidade entre as áreas óssea e trabecular. No entanto, a análise por microscopia óptica parece apontar para uma discreta redução da matriz óssea e consequente aumento da

área trabecular ou medular nos animais infectados. Neste grupo observou-se, ainda, nos bordos da área medular focos de osteogenese o que nos leva a sugerir existência de tentativa de remodelação óssea. O fato de não existir atividade osteoclástica na matriz óssea dos animais infectados parece indicar que a redução da área é decorrente de fatores diferentes daqueles que estão associados à osteoporose, provavelmente associados às alterações da função esplênica causada pela parasitose.

Os osteoclastos encontram-se nas superfícies ósseas e são frequentemente encontrados adjacentes às superfícies côncavas do osso, conhecidas como lacunas de Howship, onde eles reabsorvem o osso. A superfície celular que está aplicada sobre o osso e onde ocorre a reabsorção ativa, aparece ondulada, o que é causado pelas centenas de microvilos móveis direcionados para a superfície de reabsorção, e, esta área está separada das células estão inativas há uma pequena borda em escova, mas esta rapidamente aumenta pela ativação através de fatores como o PTH, vitamina D ou prostaglandinas. Os osteoclastos produzem ácidos e ânions orgânicos quelantes de cálcio (tais como o citrato) que são secretados dentro deste micro-ambiente e são importantes na desmineralização do osso.

A reabsorção óssea ocorre por um aumento da atividade de vários tipos enzimáticos na superfície óssea secretados pelos osteoclastos. A collagenase inicia a clivagem do colágeno, enquanto que outras enzimas lisossômicas podem participar da digestão adicional dos fragmentos deixados pela collagenase e de outras proteínas da matriz óssea. Uma vez estimulados, os osteoclastos produzem quantidades substanciais de ácido láctico e hialurônico, o que resulta numa redução do pH local e maior poder de dissolução das fibrilas de colágeno.

Parece que a maioria dos fatores que ativam os osteoclastos atua indiretamente através dos osteoblastos: por exemplo, não há receptores para a 1,25-dihidroxi-vitamina D na superfície do osteoclasto e foi demonstrado que o PTH, efetivamente, age desta forma.

Por outro lado, sabe-se que na cirrose a insuficiência hepática leva a desordens endócrinas, causando amenorréia, impotência, esterilidade e “nanismo”, em consequência de aumento na produção de estrogênio e maior conversão periférica dos andrógenos supra-renais, bem como redução dos níveis de testosterona. Nessa doença ocorre também diminuição da secreção de gonadotrofinas e corticotrofinas, com hipofunção de gônadas e córtex supra-renal. Entretanto, na *esquistossomose mansoni* há preservação da função hepática, pois o quadro é de fibrose porta com preservação da arquitetura lobular hepática. Em estudo com camundongos recém-nascidos infectados com *S. mansoni*, observou-se crescimento do baço acompanhado de retardo no desenvolvimento somático e sexual dos animais. Após a esplenectomia total esses animais voltaram a crescer normalmente⁴⁸.

CONCLUSÃO

Obedecido ao objetivo formulado, e através das análises dos resultados, pode-se concluir que:

- ? A média das áreas óssea e trabecular dos cortes dos fêmures dos camundongos infectados foi significativamente maior quando comparada à dos camundongos do grupo controle. A provável explicação para este achado é a evidente reorganização na arquitetura óssea das lâminas estudadas; caracterizada pela presença de atividade osteoblástica com redirecionamento celular ao redor das trabéculas ósseas visualizada em todas as lâminas dos animais infectados sugerindo uma tentativa de reparação óssea na área medular;
- ? Não observou-se qualquer atividade significativa de osteoclastos nas lâminas dos animais infectados demonstrando que o mecanismo de desmineralização que se percebe não é induzido pela osteoporose clássica. Fica indefinido o mecanismo que aciona o processo de remodelação óssea uma vez que o mecanismo atualmente conhecido está diretamente relacionado com a presença de osteoclastos na área afetada.

REFERÊNCIAS

1. OMS. Prevención y control de la esquistomiasis y las geohelmintiasis. Informe de un Comité de Expertos de la OMS. Série de Informes Técnicos 912. Ginebra; 2005.
2. Funasa. Esquistossomose mansoni. In: Guia de Vigilância Epidemiológica. Brasília: Distrito Federal. 2002.
3. Barbosa CS, Favre T, Araújo KC, Callou AC, Wanderley TN, Pieri O. Epidemiological evaluation of schistosomiasis in schoolchildren of rural Pernambuco, Brazil. Simpósio Internacional sobre Esquistossomose; 2005. out 25-28; Belo Horizonte, Brasil: Fiocruz
4. Coura JR, Amaral. Epidemiological and control aspects of schistosomiasis in Brazilian endemic areas. Mem Inst Oswaldo Cruz 2004; 99(Suppl 1): 13-19.
5. Resendes APC, Souza-Santos R, Barbosa CS. Internação hospitalar e mortalidade por esquistossomose mansônica no Estado de Pernambuco, 1992/2000. Cad Saúde Pública, 2005; 21(5): 1392 -1401.
6. Domingues ALC, Coutinho A. Estudo clínico da Esquistossomose hepatoesplênica compensada. In: Varizes de esôfago na Esquistossomose mansoni. Recife: Editora Universitária da UFPE, 1997.
7. Brandt CT, Maciel DT, Caneca OAF, Castro CMMB, Araújo LB. Autotransplant of spleen tissue in children with schistosomiasis: evaluation of splenic function after splenosis. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001; 96: 117-22.
8. Brandt CT, Braga MVM, Melo KL, Sá HP, Carvalheira R. Surgical hepatosplenic mansonic Schistosomiasis in adolescents: repercussions of the post-treatment Schistosomotic burden on the hepatic functional reserve. Mem Inst Oswaldo Cruz 2001; 96: 113-115.

9. Vilela PC. Histomorfometria da fibrose portal em crianças e adolescentes com esquistossomose hepato-esplênica: estudo de associação com parâmetros clínicos [tese]. Pernambuco: Universidade Federal de Pernambuco; 1999.
10. Paraná R, Lyra LG, Domingues AL, Barreto VS. Management of Parasitic Liver Disease. In: Krawitt E (editor). Medical Management of Liver Disease. New York: Marcel Dekker Inc; 1999. p. 243-255.
11. Lacerda CM, Ramos H, Raia S, Kelner S. Fisiopatologia da hipertensão portal esquistossomótica e efeitos da esplenectomia com ligadura de varizes de esôfago. Acta Cir Bras 1993; 8(3): 113-7.
12. Mies S, Neto OB, Beer Jr. AB, Baía CES, Alfieri Jr. F, Pereira LMB et al. Systemic and hepatic hemodynamics in hepatoesplenic mansoni's schistosomiasis with and without propranolol. Dig Dis Sci 1997; 42:751-761.
13. Raia S, Mies S, Alfieri F. Portal hypertension in mansonic schistosomiasis. World J Surg 1991; 15: 176-187.
14. Domingues ALC. Ultra-sonografia na esquistossomose mansônica hepatoesplênica: avaliação da intensidade da fibrose periportal e da hipertensão porta. Tese. (Doutorado em Medicina) - Centro de Ciências da Saúde – Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 1998.
15. Rappaport AM. Physioanatomic considerations. In: Schiff L, Schiff E (editor). Diseases of the liver . 6ª edição. Lippincott Company: Philadelphia; 1987.p 1-46.
16. Andrade ZA. Schistosomal hepatopathy. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2004; 99(Suppl. 1): 51-57.

17. Brandt CT, de Souza AMG, Braga MVM, Melo KLR, Marques KOA, Sena AD, Almeida F. Bone mineral content reduction in youth surgical form of *schistosomiasis mansoni*: Factors involved in the pathogenesis. Acta Cir Bras: <http://www.scielo.br/acb>, 2001; 16: 1-6.
18. Mesquita GV. Avaliação de pacientes esquistossomóticos quanto ao conteúdo mineral ósseo, nível de magnésio corporal total e atividade da enzima lecitina: colesterol acetil transferase em pós-esplenectomizados com auto-implante esplênico. Recife, 2002. [Tese de Mestrado]. Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco.
19. Souza AMG, Brandt CT, Almeida F. Densidade Mineral Óssea (BMD) em crianças esquistossomóticas na forma hepatoesplênica com indicação cirúrgica. Anais Fac. Méd. CCS. UFPE 1993; 38: 9-11.
20. Brandt CT, Maciel DT & Azevedo FAZ. Esquistossomose mansônica hepatoesplênica em crianças: desenvolvimento pondero-estatural após tratamento cirúrgico. Anais Fac Med UFPE 1995; 40: 56-60.
21. Brandt CT, Sá HP, Frei Caneca AO, Santana JV, Miranda P, Carvalheira R. Esquistossomose mansônica hepatoesplênica em adolescentes: carga parasitária residual após tratamento clínico-cirúrgico. An Fac Med Univ Fed Pernamb. 1998;43:123-6.
22. Heubi JE, Higgins JV, Argao EA, Sierra RI, Specker BL. The role of magnesium in the pathogenesis of bone disease in childhood cholestatic liver disease: A preliminary report 1997; 25: 301-06.
23. Domingues ALC, Domingues LAW. Forma intestinal, hepatointestinal e hepato-esplênica. In: Malta J. Esquistossomose mansônica. Recife: Editora Universitária da UFP; 1994. p.91-109.

24. Brandt CT, Maciel DT, Almeida Filho P, Torres d' Assumpção IA. Cintilografia renal em crianças com esquistossomose mansônica, na forma hepatoesplênica, submetidas a esplenectomia, ligadura da veia gástrica esquerda e auto-implante esplênico. *An Fac Med Univ Fed Pernamb.* 1998;43(1):13-22.
25. Brandt CT, Maciel DT, Frei Caneca OA. Esplenose associado ao tratamento cirúrgico da hipertensão porta esquistossomótica na criança: avaliação de dez anos. *An Fac Med Univ Fed Pernamb* 1999;44:15-20.
26. Savioli L, Renganathan E, Montreson A, Davis A, Belibehoni K. Control of Schistosomiasis. A global picture. *Parasitol Today*, 1997; 13: 444-48.
27. Huggins DW, Siqueira-Batista R, Medeiros LB, Ramos Júnior AN. *Esquistossomose Mansoni*. São Paulo: Moreira Júnior Editora; 1998.
28. Prata A. The role of the scientific research in the control of schistosomiasis in endemic areas. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99: 5-11.
29. Kelner S, Silveira M, Silveira RK. Procedimentos cirúrgicos para tratamento da esplenomegalia e varizes do esôfago na esquistossomose hepatoesplênica. In: Kelner S, Silveira M. *Varizes do esôfago na esquistossomose mansônica*. Editora Universitária UFPE – Recife, PE. 1997
30. Andrade ZA. Schistosomal hepatopathy. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2004; 99(Suppl. 1): 51-57.
31. Barreto VST, Domingues ALC. Doença hepática na esquistossomose. In: Coelho J, ed. *Aparelho digestivo. Clínica e cirurgia*. 2ª ed, Rio de Janeiro: Medsi; 1996. p. 1071-84.
32. Camacho-Lobato L et Rosa Borges D. Early dysfunction in schistosomiasis. *Journal of hepatology* 1998; 29: 233-240

33. Alves Jr A, Fontes DA, Melo VA, Machado MC, Cruz JF, Santos EAS. Hipertensão portal esquistossomótica: influência do fluxo sanguíneo portal nos níveis séricos das enzimas hepáticas. *Arq Gastroenterol* 2003; 40(4): 203-208.
34. Guyton AC, Hall JE, editores. *Tratado de fisiologia humana*. 11ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier; 2006.
35. Neter F, editor. *Atlas de Anatomia humana*. 3ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2005.
36. Dee US, editor. *Fisiologia humana. Uma abordagem integrada*. 1ª ed. São Paulo: Manole; 2003.
37. Szejnfeld LV, editor. *Osteoporose. Diagnóstico e tratamento*. 1ª ed. São Paulo: Sarvier; 2000.
38. Woolf AD, Dixon ASJ, editores. *Osteoporose: Um guia clínico*. 1ª ed. London: Martin Dunitz; 1988.
39. Oliveira LG, editor. *Osteoporose. Diagnóstico e tratamento*. 1ª ed. Rio de Janeiro: Revinter; 2002.
40. Pardini Júnior A, editor. *Clínica ortopédica. Articulação do fêmur patelar*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2003.
41. Delmas PD. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Int* 2000; (Suppl. 6): S2-S17.
42. Akkari M, Santili C. Metabolismo do cálcio e do fósforo. In: Lima CLA, Oliveira LG. *Clínica Ortopédica*. 1ª ed. São Paulo: Medsi; 2003.
43. Guyton AC, Hall JE, editores. *Tratado de Fisiologia Médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

44. Oliveira LG, editor. *Visão do Ortopedista: Visão multidisciplinar sobre a osteoporose*. São Paulo: Lemos Editora; 2000.
45. Oliveira KF. Efeitos da esquistossomose mansônica sobre o sistema nervoso central e o metabolismo lipídico em jovens pacientes esplenectomizados. Tese [Doutorado em Ciências Biológicas] Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 2002.
46. Cheever AW, Lenzi JA, Lenzi HL, Andrade ZA. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2002; 97: 917-40.
47. Figueredo-Silva J, Pontes Filho N T, Montenegro LT, Santana JW, Cavalcanti CIB, Albuquerque PMS, Freitas SB. Esquistossomose mansônica experimental: estudo morfométrico e histoquímico das células calciformes intestinais. *An Fac Med Univ Fed Pernamb* 1999; 44: 21-25.
48. Petroianu A, Silva KDA. Esplenectomia subtotal para tratamento do hipodesenvolvimento somático e sexual secundário e esplenomegalia. *Col Bras Cirur*. 2002; 29(4): 209-12.
49. Câmara, RD; Coelho, ARB. Reflexões sobre possíveis exageros na proteção aos animais utilizados em experimentação científica. Editorial. *An Fac Med Univ Fed Pernambuco*. 2003; 48(1): 1-2.
50. Mandarim-de-Lacerda CA, editor. *Métodos quantitativos em morfologia*. 1ª ed. Rio de Janeiro: EDUERJ; 1995.
51. Altman DG. *Practical Statistics for Medical Research*. Great Britain, London; 1991. p.611.
52. Zar JH. *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall. New Jersey. USA: Four Edition; 1999. p. 929.