

**DANIELLE DE CARVALHO NEBL LACERDA**

**ESTUDO HISTOLÓGICO COMPARATIVO ENTRE  
AUTO-IMPLANTES ESPLÊNICOS E A PORÇÃO  
NÃO-IMPLANTADA DO BAÇO DE CAMUNDONGOS SADIOS E NA  
FASE CRÔNICA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA**

**Recife**

**2004**

**VIRTUS IMPAVIDA**

DANIELLE DE CARVALHO NEBL LACERDA



**ESTUDO HISTOLÓGICO COMPARATIVO ENTRE  
AUTO-IMPLANTES ESPLÊNICOS E A PORÇÃO  
NÃO-IMPLANTADA DO BAÇO DE CAMUNDONGOS SADIOS E  
NA FASE CRÔNICA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA**

Dissertação apresentada ao Mestrado em Patologia, área de Concentração Anatomia Patológica e Citopatologia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Mestre em Patologia.

*Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Norma Thomé Jucá*

Co-Orientador: Prof. Dr. Luís Carlos Leitão Adeodato

**RECIFE**

**2004**

**Lacerda, Danielle de Carvalho Nebl**  
**Estudo histológico comparativo entre auto-implantes esplênicos e a porção não-implantada do baço de camundongos sadios e na fase crônica da esquistossomose mansônica / Danielle de Carvalho Nebl Lacerda. – Recife : O Autor, 2004.**

**157 folhas : il., fig., tab.**

**Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Anatomia Patológica, 2004.**

**Inclui bibliografia e anexos.**

**1. Histologia – Auto-implantes – Baço (Porção não-implantada) – Estudo comparativo. 2. Auto-implantes esplênicos – Camundongos – Estudo histológico – Regeneração. 3. Esquistossomose mansônica – Auto-implantes – Estudo experimental (Microscopia óptica). 4. Baço – Auto-implantes – Camundongos – Estudo histológico. 5. Enxertos – Baço – Esquistossomose mansônica (Fase crônica) – Estudo experimental. I.Título.**

**616-091.8  
611.0189**

**CDU (2ed.)  
CDD (21.ed.)**

**UFPE  
BC2004-479**



**Universidade Federal de Pernambuco**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**CURSO DE MESTRADO EM PATOLOGIA**

**AUTOR: DANIELLE DE CARVALHO NEBL LACERDA**

**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ANATOMIA PATOLOGICA E CITOPATOLOGIA**

**NOME DA TESE: "Estudo histológico comparativo entre auto-implantes esplênicos e a porção não – implantada do baço de camundongos saudáveis e na fase crônica da esquistossomose mansônica"**

**ORIENTADOR: Profa. NORMA THOMÉ JUCÁ**

**TESE DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM PATOLOGIA**

**DATA: 27/10/2004**

**BANCA EXAMINADORA:**

**Prof. ROBERTO JOSÉ VIEIRA DE MELLO**

**Prof. NICODEMOS TELES DE PONTES FILHO**

**Prof. RENATO DORNELAS CÂMARA NETO**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO - UFPE**

**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 - CCS**

**Diretor**

Prof. José Tadeu Pinheiro

**Hospital das Clínicas - HC**

**Diretora Superintendente**

Prof<sup>a</sup>. Heloísa Maria Mendonça de Morais

**Departamento de Patologia**

**Chefe**

Prof<sup>a</sup>. Ana Virgínia de Azevedo Guendler

**Programa de Pós-Graduação em Patologia**

**Mestrado em Medicina (Anatomia Patológica e Citopatologia)**

**Coordenador**

Prof. Roberto José Vieira de Mello

**Vice-Coordenador**

Prof<sup>a</sup>. Maria do Carmo Carvalho de Abreu e Lima

*“O baço é responsável pelo riso  
porque é de sua natureza  
limpar o sangue e o espírito  
de matérias impuras e obscuras”.*

**Judah Halevi (1086-1145)**

**DEDICATÓRIA**

**AGRADECIMENTOS**

**RESUMO**

**ABSTRACT**

**LISTA DE FIGURAS**

**LISTA DE TABELAS**

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>26</b>
<b>2. LITERATURA.....</b>	<b>32</b>
2.1 Forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica.....	33
2.2 Modelos animais de experimentação.....	45
2.3 Importância funcional da preservação de tecido esplênico.....	47
2.4 Aspectos histológicos.....	60
2.4.1 do baço sadio.....	60
2.4.2 do baço sadio implantado.....	66
2.4.3 do baço com esquistossomose mansônica.....	76
<b>3.OBJETIVOS.....</b>	<b>81</b>
3.1 Geral.....	82
3.2 Específicos.....	82
<b>4. MATERIAL E MÉTODO.....</b>	<b>83</b>
4.1 Desenho cronológico do estudo.....	84
4.1.1 Primeiro tempo – Infecção esquistossomótica.....	84
4.1.2 Segundo tempo – Operações e obtenção da porção não-implantada do baço.....	84
4.1.3 Terceiro tempo – Sacrifício dos animais e obtenção dos auto-implantes esplênicos.....	85
4.2 Anestesia dos animais.....	85
4.3 Procedimentos cirúrgicos.....	86
4.4 Acompanhamento e evolução pós-operatórios.....	87
4.5 Sacrifício dos animais.....	87

4.6 Macroscopia.....	88
4.6.1 do fígado.....	88
4.6.2 do tecido esplênico.....	88
4.7 Microscopia.....	89
4.7.1 do fígado.....	89
4.7.2 do tecido esplênico.....	89
4.8 Análise estatística.....	91
<b>5. RESULTADOS.....</b>	<b>92</b>
5.1 Macroscopia.....	93
5.1.1 do fígado.....	93
5.1.2 do tecido esplênico.....	93
5.2 Estudo histológico.....	95
5.2.1 do tecido hepático.....	95
5.2.2 do tecido esplênico.....	96
<b>6. DISCUSSÃO.....</b>	<b>119</b>
6.1 Sobre o modelo animal.....	120
6.2 Sobre as alterações nas medidas de peso de órgãos na doença esquistossomótica.....	120
6.2.1 o fígado.....	120
6.2.2 o baço.....	121
6.2.3 Os auto-implantes esplênicos.....	121
6.3 Sobre a cirurgia do auto-implante esplênico.....	124
6.4 Sobre o estudo histológico.....	126
6.4.1 do tecido hepático.....	126
6.4.2 do tecido esplênico.....	126
<b>7. CONCLUSÕES.....</b>	<b>136</b>
<b>8. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>138</b>
<b>9. ANEXOS.....</b>	<b>150</b>

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais **Zéria e Luiz Carlos,**

por tornarem possíveis todas as minhas realizações - pelo amor - por serem os primeiros no merecimento de toda a minha consideração e eterna gratidão, e principalmente por terem exercido com sabedoria e dedicação o papel de pais.

Ao meu irmão **Luiz Nebl,** a quem considero como primogênito da minha prole,

por ter me demonstrado que, quando pensava eu estar ensinando, na verdade estava sendo retribuída com lições de solidariedade e fraternidade.

Ao meu marido **Luís Adeodato,**

por fazer aflorar em mim a capacidade crítica, aguçando minha percepção sobre a vida, e me levando a perceber que a conquista da liberdade consiste também em sentir e falar.

## **AGRADECIMENTOS**

## **Aos amigos colaboradores**

### **de Minas Gerais, Belo Horizonte**

Ao Prof. Paulo Zech, por sua grandiosidade como pessoa, como mestre na arte de ensinar, como amigo, como incentivador, como figura de um pai, mostrando-se disponível em ajudar sempre, apesar dos afazeres do seu dia-a-dia, nas várias etapas deste trabalho. De forma resolutiva e afável não identificou dificuldades como sendo desfavoráveis, não permitindo sequer que a distância territorial impedisse sua efetiva colaboração.

Ao Prof. Dr. José Renan da Cunha Mello, reconhecido pesquisador e cirurgião, por ter permitido a utilização da estrutura do laboratório de pesquisa científica e toda a sua aparelhagem, sem restrições; por ter supervisionado este experimento e por ter contribuído com seu conhecimento para o engrandecimento das discussões a respeito do projeto de pesquisa.

Ao casal Vanessa e Marcelo Labanca, e a Lucinha pela hospedagem, requisito essencial para o bem-estar; por todo o companheirismo nas horas de dificuldades e, especialmente, nas horas de lazer.

A Flávia Silva, por sua dedicação a esta pesquisa, quer entre os horários de aula na universidade, quer nos fins de semana, colaborando de forma especial na parte laboratorial.

Ao Sr. Alberto dos Santos, responsável técnico pelo Biotério do GIDE, pela infecção dos animais de experimentação com *S. mansoni* e pelo dedicado cuidado com os mesmos.

## **de Recife, Pernambuco**

À Prof.<sup>a</sup> Dra. Norma Jucá, por ter aceitado com apreço o convite para a orientação desta tese, engrandecendo-a com a sua supervisão.

Ao Prof. Dr. Luís Adeodato, pela efetiva participação em todas as etapas do trabalho, por ter sido o formulador deste modelo inédito, pelo seu desempenho como operador dos animais e como co-orientador, pela revisão do abstract e por sua persistente cobrança no cumprimento de um projeto de vida idealizado a dois.

Ao Dr. Vital Lira, alma de doação inigualável, que se dispôs a contribuir com sua experiência profissional ao estudo histológico do material deste experimento, não economizando esforços na disponibilidade de tempo.

Ao Dr. Djalma Agripino, pela sua imensa contribuição e que gentilmente tanto ajudou na apreciação estatística dos dados desta pesquisa.

Ao meu pai Luiz Carlos Nebl, por ter contribuído com o seu vasto conhecimento literário na correção do texto na Língua Portuguesa.

À amiga Dra. Teresa Santiago, incentivadora constante das minhas conquistas profissionais, que, com seu aprendizado sempre em expansão, tanto ajudou no fotografar das lâminas de histologia.

À Dra. Luciana Oliveira, por ter contribuído de forma essencial no gerenciamento e na realização dos exames anátomo-patológicos do Laboratório Anatômica, durante a execução da parte prática desta pesquisa em Belo Horizonte.

À Prof.<sup>a</sup> Renata Adeodato, pela sua importante contribuição na revisão do “abstract”.

À Srta. Márcia Virgínio, sempre sorridente, por ter ajudado na revisão normativa e na elaboração da apresentação informatizada do estudo.

À Sra. Sônia Carvalho e à Sra. Zenaide Maria de Brito, por terem desempenhado com eficiência os trâmites burocráticos necessários para a defesa deste trabalho, junto ao Colegiado da Anatomia Patológica e à Reitoria da UFPE.

**Às instituições:**

UFMG

UFPE

A todos, minha sincera gratidão.

**RESUMO**

Na tentativa de reduzir os efeitos imunológicos adversos da asplenia cirúrgica, tem-se procurado preservar o máximo de tecido esplênico possível. Nas situações em que se torna imprescindível a remoção de todo o baço, o auto-implante esplênico mostrou-se boa alternativa para essa finalidade, tendo sido demonstradas histologicamente as etapas de reestruturação tecidual em indivíduos sadios submetidos ao procedimento. O objetivo deste estudo foi comparar, sob o aspecto da regeneração histológica, o tecido esplênico auto-implantado com a porção do baço removida e não-implantada de camundongos sadios e na fase crônica da esquistossomose. Trinta e dois camundongos albinos fêmeas adultas, de linhagens não-isogênicas foram usados no estudo, 16 deles previamente infectados com cercárias de *S. mansoni*. O procedimento cirúrgico consistiu de esplenectomia total, seguida do implante da metade do volume total do baço fatiado em bolsa omental nos animais portadores de esquistossomose, e de cerca de 2/3 nos animais sadios. Oito semanas após as operações, os animais foram sacrificados. Foram quatro os subgrupos para o estudo: a porção não-implantada do baço de camundongos sadios (S1), e na fase crônica da esquistossomose (E1) – os auto-implantes de baços em animais sadios (S2), e na fase crônica da doença (E2). O exame histológico do tecido esplênico auto-implantado no grande omento, revelou regeneração completa, tanto nos animais sadios quanto nos infectados com esquistossomose, assemelhando-se à estrutura microscópica habitual do baço. As diferenças encontradas nos auto-implantes em relação à porção não-implantada do baço foram, basicamente, as alterações relativas à proliferação de tecido fibroconjuntivo em decorrência do processo de regeneração, tais como: maior espessura da cápsula neoformada, maior ocorrência de fibrose intersticial, além de um maior número de megacariócitos e de leucócitos polimorfonucleares na polpa vermelha. Houve maior expressão de linfócitos de tamanhos médio e grande nos centros germinativos dos folículos linfóides da porção não-implantada, do que nos auto-implantes esplênicos de camundongos com a doença. Na comparação dos subgrupos de animais sadios, linfócitos extrafoliculares foram mais numerosos nos auto-implantes esplênicos. Entre os animais sadios e com esquistossomose, as diferenças encontradas foram conseqüentes às modificações parenquimatosas provocadas pela doença esquistossomótica, e pelo maior número de pigmento acastanhado e plasmócitos. Não existiu diferença no número, localização e material antigênico presente nos granulomas esquistossomóticos esplênicos, ao serem comparados os auto-implantes e a porção não-implantada do baço.

## **ABSTRACT**

In order to reduce the adverse immunological effects of surgical asplenic state, it has been proposed to preserve as much splenic tissue as possible. In situations when the removal of the whole organ is unavoidable, splenic autoimplantation proved to be a good alternative for this purpose. The steps of structural reestablishment of the tissue have been histologically shown in healthy individuals who undergone this procedure. The purpose of this study was to compare patterns, under the perspective of histological regeneration, between the splenic autoimplants and the removed and not implanted portion of spleen, both of healthy and chronically schistosomotic mice. Thirty two adult female mice of non-isogenic strains were used in the study, 16 of them previously infected with cercariae of *S. mansoni*. The surgical procedure consisted of total splenectomy, followed by the implant of 1/2 of the whole spleen sliced into an omental pouch in the schistosomotic animals, and of about 2/3 of the organ in the healthy ones. Eight weeks after operations, all animals were sacrificed. Four subgroups were analyzed: the not implanted portion of the spleen; in healthy mice (S1), and in the chronic stage of schistosomiasis (E1) – the splenic autoimplants; in healthy animals (S2), and in those in the chronic stage of disease (E2). Histological analysis of splenic autoimplants into the greater omentum showed complete regeneration in all animals, similar to the microscopic structure of the ordinary spleen. The differences found in autoimplants compared to the not implanted portion of the spleen were, basically, the alterations related to the proliferation of fibroconnective tissue, such as: greater thickness of the new formed capsule, more interstitial fibrosis and a higher number of megakaryocytes and polymorphonuclear leucocytes in the red pulp. There was a higher expression of large and medium lymphocytes in the germinative centers of the not implanted portion, compared to the splenic autoimplants of infected mice. Comparison with subgroups of healthy animals showed that extrafollicular lymphocytes increased in number in the splenic autoimplants. Differences between healthy animals and those with schistosomiasis were due to parenchymal changes caused by schistosomotic disease and by a higher number of brown pigment and plasma cells. There was no difference in number, localization and antigenic material present in the splenic schistosomotic granulomas, both in not implanted portion of the spleen and autoimplants.

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Fig. 1</b>	Aspecto histológico de fígado de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 50 X).....	106
<b>Fig. 2</b>	Aspecto histológico de fígado de camundongo na fase crônica da esquistossomose. Fibrose portal estrelada e granulomas (Tricrômico de Masson, 25 X).....	106
<b>Figs. 3 e 4</b>	Verme adulto de <i>S. mansoni</i> em ramo porta de fígado de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 50 X).....	106
<b>Fig. 5</b>	Cápsula esplênica neoformada em auto-implante de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).....	107
<b>Fig. 6</b>	Cápsula esplênica neoformada em auto-implante de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).....	107
<b>Fig. 7</b>	Cápsula esplênica na porção não-implantada do baço de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).....	107
<b>Fig. 8</b>	Cápsula esplênica na porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).....	107
<b>Fig. 9</b>	Fibrose intersticial na porção não-implantada do baço de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).....	108
<b>Fig. 10</b>	Fibrose intersticial na porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).....	108
<b>Fig. 11</b>	Fibrose intersticial em auto-implante esplênico de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).....	108
<b>Fig. 12</b>	Fibrose intersticial em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).....	108
<b>Figs. 13 e 14</b>	Centro Germinativo de folículo linfóide na porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose. Linfócitos de tamanhos médio e grande em porção central do folículo (H.E., 200 X).....	109
<b>Figs. 15 e 16</b>	Centro Germinativo em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose. Menor expressão de linfócitos de tamanhos médio e grande em porção central do folículo (H.E., 200 X)	109

<b>Fig. 17</b>	Centro Germinativo de folículo linfóide na porção não-implantada do baço de camundongo sadio (H.E., 200 X).....	110
<b>Fig. 18</b>	Centro Germinativo de folículo linfóide em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 200 X).....	110
<b>Figs. 19 e 20</b>	Centro Germinativo de folículo linfóide em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 200 X).....	110
<b>Fig. 21</b>	Bainha linfóide peri-arteriolar em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 200 X).....	111
<b>Fig. 22</b>	Proliferação de linfócitos típicos em área extrafolicular em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 50 X).....	111
<b>Fig. 23</b>	Leucócitos polimorfonucleares em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 400 X).....	111
<b>Fig. 24</b>	Precursos eritrocitários em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 400 X).....	111
<b>Fig. 25</b>	Proliferação plasmocitária em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 500 X).....	112
<b>Figs. 26 e 27</b>	Proliferação plasmocitária em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 1000 X).....	112
<b>Fig. 28</b>	Megacariócitos em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 400 X).....	113
<b>Fig. 29</b>	Megacariócitos em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 500 X).....	113
<b>Fig. 30</b>	Pigmento castanho escuro em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 50 X).....	113
<b>Fig. 31</b>	Pigmento castanho escuro em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 200 X).....	113
<b>Fig. 32</b>	Granuloma com ovos viáveis de <i>S. mansoni</i> na porção não-implantada do baço (H.E., 200 X).....	114
<b>Fig. 33</b>	Granulomas com ovo viável e cascas de ovos de <i>S. mansoni</i> em auto-implante esplênico (H.E., 200 X).....	114
<b>Fig. 34</b>	Granuloma com ovo viável de <i>S. mansoni</i> em auto-implante esplênico (H.E., 400 X).....	114

<b>Fig. 35</b>	Granuloma com cascas de ovos de <i>S. mansoni</i> junto ao pâncreas adjacente ao auto-implante esplênico (H.E., 200 X).....	114
<b>Fig. 36</b>	Aspecto histológico da porção não-implantada do baço de camundongo sadio (H.E., 25 X).....	115
<b>Fig. 37</b>	Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 25 X).....	115
<b>Fig. 38</b>	Aspecto histológico da porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 25 X).....	116
<b>Fig. 39</b>	Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 25 X).....	116
<b>Fig. 40</b>	Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 25 X).....	117
<b>Fig. 41</b>	Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 25 X).....	117
<b>Fig. 42</b>	Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 50 X).....	118
<b>Fig. 43</b>	Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E., 50 X).....	118

## **LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1</b>	Médias dos pesos, em gramas, dos fígados, em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	93
<b>Tabela 2</b>	Médias dos pesos, em gramas, dos animais e dos tecidos esplênicos, em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	94
<b>Tabela 3</b>	Percentuais dos pesos, em gramas, dos fragmentos esplênicos implantados em relação aos dos baços inteiros e dos fragmentos esplênicos resgatados em relação aos dos implantados, em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	95
<b>Tabela 4</b>	Estudo histológico do tecido fibroconjuntivo nos fragmentos de auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço, de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	100
<b>Tabela 5</b>	Estudo histológico dos componentes da polpa branca nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	101
<b>Tabela 6</b>	Estudo histológico da vascularização nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	102
<b>Tabela 7</b>	Estudo histológico da celularidade na polpa vermelha nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	103
<b>Tabela 8</b>	Estudo histológico sobre a presença de pigmento de coloração acastanhada intra e extra-celular nos auto-implantes esplênicos e na porção não implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	104
<b>Tabela 9</b>	Média do número de auto-implantes esplênicos resgatados por animal, à data do sacrifício, em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.....	104
<b>Tabela 10</b>	Médias do número de granulomas por casos com granulomas em tecido esplênico de animais na fase crônica da esquistossomose.....	105

## **LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

ATPase	enzima conversora da adenosina trifosfato
° C	Graus Celsius
CD3+	célula T madura
CD4 +	linfócito T auxiliar (ou <i>helper</i> )
CD8+	linfócito T citotóxico ou citolítico (ou <i>cytotoxic</i> )
CD22+	linfócito B
CD45RB	linfócito T de memória
células B	células bursa dependentes
células T	células timo dependentes
CG	Centro Germinativo
<i>clearance</i>	depuração, eliminação, clareamento
DPO	Dia Pós Operatório
FHE	Forma hepatoesplênica
Fig(s)	Figura(s)
g	grama
GIDE	Grupo Interdepartamental de Estudos sobre Esquistossomose
H. & E.	Hematoxilina & Eosina
HP	histopatológico
<i>i.e</i>	isto é
IgM	Imunoglobulina M
LD50	dose letal que leva à morte de 50% de cada grupo estudado
μ	micra
mg	miligrama
MG	Minas Gerais
ml	mililitro

mm	milímetro
PALS	bainha linfóide periarteriolar
PE	Pernambuco
PVPI	polivinil pirrolidona iodo
<i>S. mansoni</i>	<i>Schistosoma mansoni</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TCSC	tecido celular subcutâneo
TH	célula T auxiliar
ufc	unidades formadoras de colônia
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco

# **INTRODUÇÃO**

O baço, órgão considerado na antiguidade como “cheio de mistérios” por Galeno, e como destituído de importância para a vida até meados do século passado, teve, ao longo dos anos a sua estrutura, fisiologia e função desvendadas (McCLUSKY et al, 1999). É o maior órgão do sistema retículo-endotelial, desempenha destacado papel no sistema imunológico, estando envolvido na defesa contra microorganismos sanguíneos circulantes, agindo através do processo de fagocitose, ou da produção de anticorpos (BALFANZ et al, 1976; COONEY et al, 1979).

A remoção cirúrgica do baço pode ser necessária por diversas razões, incluindo traumas (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968; RABELO; ABRANTES & DRUMOND, 1991), doenças hematológicas (KING & SHUMACKER, 1952; ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968) e na esquistossomose (BRANDT; TAVARES & FREI CANECA, 1993; PETROIANU, 2003b).

A esquistossomose mansônica é endêmica em nosso país; tem no estado de Pernambuco, localidades com prevalência elevada e ainda preocupante, mesmo após implantação das campanhas de controle, pelos programas nacionais de saúde (AMARAL & PORTO, 1994; FAVRE et al, 2001). A forma hepatoesplênica da fase crônica da doença, devido à embolização de ovos na circulação porta, com fibrose hepática e instalação de hipertensão venosa pré-sinusoidal, exibe alterações congestivas, cursando com hepatomegalia e esplenomegalia, esta última também atribuída, à hiperplasia do sistema retículo-endotelial e à produção de gamaglobulina, em decorrência de estimulação antigênica de produtos do parasita de *S. mansoni* e de seus ovos (ANDRADE, 1962; ANDRADE & ANDRADE, 1965). Esplenectomia para correção do hiperesplenismo e das complicações digestivas hemorrágicas, é realizada como uma das opções terapêuticas (PETROIANU, 2003b).

Modelo de esquistossomose experimental utilizando camundongo tem se mostrado apropriado para pesquisa nesta área (ANDRADE, 1962; WU et al, 1982; ANDRADE & GRIMAUD, 1986; WYLER et al, 1987; SARIN et al, 1991; ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997; COUTINHO et al, 1997).

Estudos têm questionado a importância da esplenectomia como fator determinante de deficiência imunológica; o experimento de Morris & Bullock (1919), mostrou a associação entre ausência do baço e aumento na susceptibilidade à infecção, teve confirmação clínica em 1952 por King & Shumacker, e foi corroborado posteriormente por outros achados de sepse fulminante em indivíduos esplenectomizados, em diferentes faixas etárias, sobretudo em crianças (RABELO; ABRANTES & DRUMOND, 1991; JUGENBURG et al, 1999). A sepse pode ocorrer até muitos anos depois do procedimento cirúrgico, mesmo após imunização e antibioticoprofilaxia terem sido instituídas (JUGENBURG et al, 1999). Adicionalmente, foi verificado que os que desenvolviam esplenose, ou seja, implante acidental de partes do baço após ruptura traumática (BUCHBINDER & LIPKOFF, 1939), exibiam menor risco de infecção (DICKERMAN et al, 1979), quando comparados aos que tinham seu baço extirpado, sem a detecção de nenhum tecido esplênico funcional. Porém, casos de septicemia em humanos são relatados, mesmo em indivíduos com tecido esplênico residual e viável (RICE & JAMES, 1980; COHEN & FERRANTE, 1982).

Desta forma, foi despertado o interesse em se conhecer as causas responsáveis pelo aumento na morbi-mortalidade pós-esplenectomia, os agentes etiológicos implicados, e alternativas de preservação se não de todo, pelo menos de parte do tecido esplênico.

Vários estudos experimentais e em humanos foram conduzidos com esses intuítos. Os microorganismos comumente implicados no processo infeccioso são o *Streptococcus pneumoniae* (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968; BALFANZ et al, 1976; JUGENBURGH et al, 1999) e outros germes encapsulados como o *Haemophilus influenza* e a

*Neisseria meningitides* (KING & SCHUMACKER, 1952; ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968). Constituindo-se o modelo com animais submetidos ao desafio bacteriano pneumocócico, quer intravenosamente (BRADSHAW & THOMAS JR, 1982a, 1982b; PATEL et al, 1982; STEELY et al, 1988), quer intra-peritoneal (VEGA et al, 1981), ou sob a forma aerolizada; a fim de reproduzir um modelo mais próximo da via de infecção humana (DICKERMAN et al, 1979), o mais empregado para análise da suposta proteção conferida pelos implantes esplênicos.

Verificou-se que a ausência do baço estava atrelada à redução nos níveis séricos de imunoglobulinas, à diminuição na formação de anticorpos, à deficiência de tuftisina (CONSTANTOPOULOS et al, 1973), à ausência na produção de substâncias leucofilicas, responsáveis pela opsonização, causando menor remoção de antígenos sanguíneos, ao surgimento de corpos de Howell-Jolly (BENJAMIN et al, 1978) e de hemácias envelhecidas no sangue periférico (COHEN & FERRANTE, 1982); com função imunológica, de filtração e fagocítica prejudicadas. Métodos preventivos como a imunização com vacinação anti-pneumocócica e a terapia antibacteriana profilática passaram, então, a ser indicados em indivíduos asplênicos (BALFANZ et al, 1976; AIGNER et al, 1980; JUGENBURGH et al, 1999).

O trabalho de Campos Christo (1962) sobre anatomia segmentar do baço, trouxe grande contribuição para a cirurgia conservadora desse órgão, sugerindo a esplenectomia parcial no trauma. Alternativas cirúrgicas para preservação do máximo de tecido esplênico têm sido propostas, incluindo a esplenectomia segmentar, que mantém a vascularização original do baço (COONEY et al, 1979; HORTON et al, 1982; PATEL et al, 1982; STEELY et al, 1988) e o auto-implante esplênico, no qual fragmentos de baço têm a vascularização interrompida (PERLA, 1936; TAVASSOLI; RATZAN &

CROSBY, 1973; JOHNSON & WEISS, 1989; TORRES et al, 1994; ALVES et al, 1999; BRANDT et al, 2001; ADEODATO, 2004).

Apesar da grande maioria dos estudos sobre regeneração de auto-implante de baço demonstrar a re-estruturação do tecido esplênico, com achados histológicos dos implantes semelhantes aos dos órgãos normalmente inseridos (PERLA, 1936; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; CARR & TURK, 1992; MAESAWA & SAKUMA, 1992; TORRES et al, 1994) e funções preservadas (CONSTANTOPOULOS et al, 1973; LIKHITE, 1975; PEARSON et al, 1978; AIGNER et al, 1980; ORDA et al, 1981; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; STEELY et al, 1988; PETROIANU, 2003a), há ainda controvérsia, com alguns trabalhos não exibindo quadro estrutural dos implantes totalmente definido (ALVES et al, 1999) e inviabilidade funcional dos mesmos (COHEN & FERRANTE, 1982; MOORE et al, 1983). Pesquisas sobre regeneração histológica de tecido esplênico implantado foram conduzidas apenas em animais sadios, não existindo uma análise minuciosa na literatura, entretanto, em portadores de esquistossomose. Com relação a essa doença há dados do processo regenerativo de implante de baço referentes ao restabelecimento da capacidade funcional (BRANDT et al, 2001; PETROIANU, 2003a), mas não sobre o estudo histológico. Observações microscópicas preliminares são relatadas no trabalho de Adeodato (2004).

Quanto à localização, o grande omento mostrou-se o sítio mais apropriado para a implantação quando comparado a outros locais (IINUMA et al, 1992), por sua rica vascularização, com fácil re-integração do tecido (RODRIGUES et al, 1991; IINUMA et al, 1992) e manutenção do mesmo na circulação porta (VEGA et al, 1981; PATEL et al, 1982).

Estudos sobre a regeneração do tecido esplênico implantado, realizado de forma seqüencial em animais de experimentação, mostraram que esse processo desenvolve-se em duas etapas: a princípio, ocorre a necrose quase completa do implante avascular e, posteriormente, a regeneração se processa centripetamente, a partir de estreita faixa de tecido

viável em sua porção mais externa, estabelecendo anastomoses com os vasos do tecido circundante, que penetram o implante (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; TORRES et al, 1994; PETROIANU, 2003a).

Reconhecendo o papel do baço na defesa imunológica, a importância da sua preservação na tentativa de evitar infecção bacteriana pós-esplenectomia e o não relato na literatura mundial de estudo histológico sobre regeneração de auto-implante esplênico em portadores de esquistossomose, um modelo animal foi criado; usando camundongos saudáveis e com esquistossomose na fase crônica da doença, com o propósito de comparar, sob o aspecto da regeneração histológica, o tecido esplênico obtido de auto-implantes oito semanas após as operações, com a porção do baço removida durante realização de esplenectomia e não implantada dos respectivos animais.

## **LITERATURA**

## 2.1 Forma hepatoesplênica da esquistossomose mansônica

A esquistossomose, doença antiga, detectada em múmias egípcias de pessoas que viveram por volta do ano de 3.500 a.C.; teve seu agente etiológico, verme trematódeo, descoberto à necropsia por Theodore Bilharz, em 1851, no Egito, em vasos mesentéricos. No Brasil, acredita-se ter sido introduzida pelos portos de Salvador e do Recife, com o comércio e tráfico de escravos africanos. Foi reconhecida sua existência no país em 1907, sendo confirmada em 1908, quando da descrição pelo médico baiano Pirajá da Silva, do verme adulto de *Schistosoma mansoni* (AMARAL & PORTO, 1994).

A área com maior possibilidade de transmissão da esquistossomose compreende 17 das 27 Unidades Federadas do Brasil. No Nordeste, região do país onde a doença apresenta a maior prevalência, a contaminação é propiciada pela precariedade de condições sanitárias e pela falta de conscientização da população a respeito da doença (AMARAL & PORTO, 1994).

Para a população brasileira, foi estimado em 7,1 milhões o número de portadores de esquistossomose em 1996 e em 6,3 milhões em 1997 (KATZ & PEIXOTO, 2000). Admite-se que no Brasil existam acima de 100.000 portadores de hipertensão por esquistossomose hepatoesplênica, potenciais candidatos ao tratamento cirúrgico (KELNER, 1992). Em Pernambuco, assim como em outros estados do país, a esquistossomose constitui-se em problema de Saúde Pública; são altos os percentuais de localidades com prevalência elevada, com vários municípios hiperendêmicos e com taxas de mortalidade altas, mesmo com a morbidade das formas graves e a taxa de mortalidade terem mostrado tendência descendente no País, a partir de 1989 (AMARAL & PORTO, 1994). A área endêmica da doença em PE, abrange o conjunto de localidades desde o Litoral até parte do Agreste, correspondente a

17,5% do total do Estado, abrangendo 47% dos municípios, dos quais a maioria está situada na zona Litoral Mata (FAVRE et al, 2001).

Cinco foram as campanhas de controle quimioterápico desenvolvidas pelos programas nacionais de saúde entre 1977 e 1996. Em 1975 foi implementado o Programa Especial de Controle da Esquistossomose (PECE), apresentando fases: preparatória (1976-1977), de ataque (1978) e de vigilância (1979-1980) As suas ações em PE reduziram substancialmente a prevalência da esquistossomose na grande maioria dos municípios do estado, permitindo identificar e delimitar a área endêmica da doença. Em 1980, o PECE assumiu características mais perenes, tornando-se o Programa de Controle da Esquistossomose (PCE), cuja primeira fase ocorreu no período de 1980-1986, e segunda fase a partir de 1991. Apesar de ter havido diminuição da prevalência da doença em ambas as zonas Litoral-Mata e Agreste, a maior parte dos municípios ainda possui localidades com prevalência acima de 50% (FAVRE et al, 2001). Desde 1993 vem sendo implementada a descentralização das ações de controle da esquistossomose, intensificando-se as mesmas, a partir de 1999, quando as Secretarias Municipais passaram a assumir gradativamente o controle desta endemia em seus territórios (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001).

Na cadeia epidemiológica da esquistossomose, o caramujo funciona como hospedeiro intermediário (tendo como espécies de importância epidemiológica: *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria straminea* e *Biomphalaria tenagophila*), o homem como hospedeiro definitivo e a água do meio ambiente, quando contaminada por miracídeos e cercárias, como veículo de transmissão para ambos os hospedeiros (AMARAL & PORTO, 1994).

No ciclo de vida do *S. mansoni* no hospedeiro humano, as cercárias após serem liberadas dos caramujos e sob estímulo fototrópico da luz solar, penetram a pele ou as membranas mucosas do homem, sendo algumas vezes acompanhada por prurido leve e eritema puntiforme. As metacercárias ou esquistossômulos, migram através do sistema

venoso e linfático para os pulmões, passam para o lado esquerdo do coração e circulação geral, e finalmente alcançam as veias portais intra-hepáticas, onde maturam em vermes adultos fêmeas e machos cerca de 27 a 28 dias após sua entrada. Migram contra a corrente sanguínea, se acasalam nos vasos mesentéricos, principalmente na veia mesentérica inferior e nos vasos hemorroidários, e após a fertilização, fêmeas se alojam em pequenos ramos dessas veias para oviposição, sobretudo na submucosa e na mucosa do cólon distal e reto (DÍAZ-RIVERA et al, 1957; RASO, 1995). Cerca de 25% dos ovos eliminados pelos parasitos e vermes mortos abandonam a veia mesentérica inferior e são levados pelo fluxo do sangue portal em direção ao fígado até serem retidos nas finas ramificações terminais da veia porta (KELNER, 1992).

A fase aguda da infecção esquistossomótica passa por três períodos curtos, que correspondem à passagem de esquistossômulos através da pele, dos pulmões e o seu estabelecimento no sistema venoso mesentérico. É totalmente desenvolvida, mediante a maciça liberação de antígenos dos ovos com a oviposição. Após a fase hiperérgica aguda, insidiosa e freqüentemente não reconhecida, advém a fase crônica da doença, correspondendo ao estabelecimento de um equilíbrio relativo que envolve regulação complexa da resposta do hospedeiro ao parasita, com redução das respostas sistêmicas e delimitação da reação aos sítios habitados pelos parasitas ou envolvidos pelos seus ovos (BOROJEVIC, 1992).

Alterações vasculares (angiogênese, fleboesclerose, estreitamento e oclusão) ocorrem devido à obstrução súbita e disseminada de radículas portais pelos granulomas periovulares. O desenvolvimento seqüencial de obstrução da veia porta intra-hepática, seguida pela abertura de veias colaterais periportais e contínua chegada de ovos de *S. mansoni*, sendo alojados nessas colaterais, é de fundamental importância na patogênese da fibrose "pipestem". Embora carga parasitária seja um dos principais fatores da patogênese da fibrose hepática; este fator sozinho não é suficiente para produzir esta lesão característica (ANDRADE; SILVA &

SOUZA, 1997). Reação do hospedeiro é também requerida para o desenvolvimento da clássica e sistematizada fibrose periportal, uma vez que má nutrição inibe o seu desenvolvimento, provavelmente por deprimir as respostas imunológicas, como observadas na redução do tamanho e alteração na composição dos granulomas periovulares (COUTINHO et al, 1997).

Avaliação ultra-sonográfica tem sido utilizada para monitorização da condição hemodinâmica portal em pacientes esquistossomóticos, revelando diminuição significativa da média dos diâmetros da veia porta e discreto aumento do diâmetro da artéria hepática (BRANDT; TAVARES & FREI CANECA, 1993).

As repercussões funcionais da hipertensão porta sobre o sistema circulatório venoso inclui: dilatação e tortuosidade das veias, desde as esofágicas e gástricas até as retais superiores (hemorroidárias internas). Com varizes presentes em todo o sistema digestivo e neoformações venosas e varicosidades no pedículo esplênico, em torno do baço, em todo o retroperitônio e na parede abdominal anterior (PETROIANU, 2003b). A obstrução vascular secundária aos efeitos dos ovos de *S. mansoni* nas vênulas portais, gerando hipertensão portal é apontada como a responsável pelas varizes esofageanas e pelo hiperesplenismo secundário (DÍAZ-RIVERA et al, 1957).

Entre as afecções que podem cursar com hipertensão do sistema porta e estado circulatório hiperdinâmico, destaca-se a forma hepatoesplênica da esquistossomose (FHE) (SARIN et al, 1991), clinicamente caracterizada por hepatoesplenomegalia, com variáveis graus de pancitopenia e de hiperesplenismo, usualmente na ausência de falência hepato-celular (DÍAZ-RIVERA et al, 1957; ANDRADE, SILVA & SOUZA, 1997). A complicação mais grave é a hemorragia, que ocorre em menos de 10% dos

portadores e tem sido mais encontrada no esôfago inferior e na parte alta do estômago (cárdia e fundo), a partir de veias neoformadas de paredes mais frágeis (PETROIANU, 2003b), sendo considerada a junção esôfago-gástrica como “zona vulnerável” (KELNER, 1992).

A base anatômica da FHE é representada pela lesão descrita por Symmers, em 1904, sob o nome de “*clay-pipe stem cirrhosis*”, classicamente conhecida como fibrose de Symmers (RASO, 1995). Estudo anatomopatológico de fígados da FHE, revela a macroscopia, tecido fibroso esbranquiçado, formando placas, as quais alargam os espaços portais. Pela microscopia óptica, granulomas periovulares e fibrose distribuem-se preferencialmente ao longo dos espaços portais (ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997; COUTINHO et al, 1997). Estes espaços apresentam-se alargados pela fibrose e sobressaem como áreas estreladas densas (ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997). Ramos da veia porta podem mostrar várias lesões, incluindo peri-flebite, endo-flebite, e obstrução por granulomas. Dilatação e espessamento intimal de ramos principais da veia porta, e formação de novos canais vasculares congestos e de paredes finas, constituem a neoangiogênese. Infiltração portal focal ou difusa, geralmente pouco proeminente, é formada por linfócitos, leucócitos eosinófilos polimorfonucleares e plasmócitos. Observa-se ainda proliferação de ductos biliares (COUTINHO et al, 1997) e a presença de pigmento esquistossomótico, de coloração castanho escura em células fagocitárias e nos granulomas, também presente nos baços (RASO, 1995).

No processo desencadeador da fibrose, a secreção simultânea de fatores específicos dos ovos e citocinas agindo nas células teciduais conjuntivas, induz à secreção local de múltiplos componentes da matriz conjuntiva (glicosaminoglicans, glicoproteínas tais como fibronectina, laminina, isotipos de colágeno) (NISHIMURA et al, 1985; GRIMAUD et al, 1987). O material derivado do ovo possui fator fibrogênico podendo agir diretamente sobre as células envolvidas na fibrogênese ou através de um mecanismo antigênico envolvendo linfócitos T sensibilizados e macrófagos (RASO, 1995).

A esplenomegalia é atribuída à congestão causada pela hipertensão portal devido à ação mecânica (obstrutiva) de ovos e/ou parasitas na circulação porta intra-hepática, combinada à hiperplasia do sistema retículo-endotelial esplênico, em reação a antígenos liberados pelos vermes e seus ovos, quando destruídos nos tecidos, estimulando a produção de anticorpos específicos (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961) e ao estado de hipersensibilidade associado a essa resposta imunológica (ZWINGENBERGER et al, 1988). A ocorrência de hiperplasia esplênica difusa, ainda em estágios precoces da infecção esquistossomótica, antes mesmo da oviposição, demonstra que a reação no baço ocorre inicialmente contra produtos circulantes originados dos parasitas (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961).

Através de métodos imunocitoquímicos em modelo de esquistossomose experimental, foi observada a presença de gamaglobulina em células mesenquimais de fígado e de baço e em granulomas hepáticos. Células contendo gamaglobulina na polpa vermelha do baço aumentaram progressivamente em número, com a duração da infecção, coincidindo com o aumento progressivo do peso e da consistência do órgão, e com a hiperplasia retículo-endotelial, a plasmocitose, a congestão passiva crônica, a atrofia linfóide, o aumento nas fibras de colágeno e de reticulina (ANDRADE, 1962) e o desenvolvimento de granulomas (ANDRADE & ANDRADE, 1965).

Na produção de imunoglobulinas, está implicada a estimulação policlonal de células B esplênicas. Apesar de ativação não-específica do sistema imune, modulação programada e controlada de respostas, a nível sistêmico e periférico, é detectada ao longo da evolução da doença; da fase aguda para a crônica e para a crônica tardia. Esplenomegalia é acompanhada por aumento no número total de linfócitos no baço, com maior quantidade de células B, em relação às T, em todas as fases da doença. Ativação linfocitária (estimada pela quantificação de linfócitos “grandes”) está consideravelmente aumentada no baço de camundongos

infectados, devido a ambas subpopulações de células B e T; com ativação de células B sendo mantida ao passar da fase aguda para a crônica, enquanto ativação de célula T exhibe progressiva diminuição (EL-CHEIKH et al, 1994). De acordo com a ativação celular e produção de imunoglobulinas, pode-se inferir que a evolução para a fase crônica leve à modificação do subtipo linfocitário TH, com diminuição progressiva do característico TH2 da fase aguda e aumento na regulação do subtipo TH1 (BOROJEVIC, 1992; EL-CHEIKH et al, 1994).

Sobre o conceito de que a esplenomegalia macroscópica vista na esquistossomose tem base imunológica, Mahmoud & Woodruff (1978) verificaram que o estágio precoce de aumento no peso do baço acontecia antes de qualquer evidência de patologia hepática causada pelo bloqueio pré-sinusoidal devido à presença de ovo de *S. mansoni* no fígado, com a subsequente hipertensão porta. O aumento no peso esplênico relativo, expressado pela percentagem do peso do baço pelo peso do corpo, foi estatisticamente significativo nos esquistossomóticos, quando comparados aos não infectados; sendo ainda maior essa diferença com o aumento da duração da infecção para 8 a 12 semanas. Com a administração de um potente imunossupressor, o 6-Mercaptopurina, foram abolidos os estágios precoces da esplenomegalia. Posteriormente no curso da infecção, e com a contínua deposição de ovos no parênquima hepático, existiu um rápido aumento no peso esplênico, indicando que a esplenomegalia depende não apenas de fatores ligados ao parasita, mas também das respostas imunes do hospedeiro à infecção, resultando também da fagocitose no baço, de eritrócitos danificados na circulação, e não principalmente da hipertensão portal.

Métodos histoquímicos demonstraram que a esplenomegalia esquistossomótica deve-se inicialmente à estimulação antigênica do tecido linfo-reticular, surgindo tardiamente no curso da infecção, os aspectos congestivos (ANDRADE, 1962), e verificaram que células reticulares são mais numerosas do que o suposto, pelo emprego de métodos histológicos,

revelando a natureza reticular de células fusiformes, comprimidas pela distensão dos seios venosos e confundidas com fibroblastos (ANDRADE & ANDRADE, 1965).

O granuloma esquistossomótico ao ovo é apontado com uma fonte rica de moléculas biologicamente ativas que estimulam *in vitro* uma variedade de funções fibroblásticas, as quais são importantes na formação das cicatrizes. Se estes fatores forem também secretados *in vivo*, é provável que participem na patogênese da fibrose tecidual na esquistossomose, e possam servir como um modelo apropriado para estudar características imunomoduladoras da interação entre inflamação crônica e fibrose (WYLER et al, 1987).

Este processo granulomatoso observado na esquistossomose, está sob controle da regulação imunológica, consistindo o granuloma numa manifestação de reação de hipersensibilidade retardada (WARREN; DOMINGO & COWAN, 1967). O mesmo apresenta fases de maturação e de involução (HSU et al, 1972; LENZI; SOBRAL & LENZI, 1987; RASO, 1995), sendo apontado como sítio de síntese de fatores estimuladores de fibroblastos para a produção de fibronectina e colágeno (WYLER et al, 1987). Fibronectina e colágeno tipo III são alguns dos componentes das fibras de reticulina, de natureza heteróloga (AL ADNANI, 1985; PARISE et al, 1985). No entanto, os granulomas mostram-se capazes de secretar além de fatores que estimulam a síntese do colágeno (WYLER et al, 1987), também proteases colagenolíticas para a sua degradação (TAKAHASHI; DUNN & SEIFTER, 1980; TRUDEN & BOROS, 1985), ocorrendo um balanço entre síntese e digestão de elementos estruturais da matriz extracelular (TAKAHASHI; DUNN & SEIFTER, 1980).

Com a progressão da doença esquistossomótica, o granuloma periовular hepático passa por modificações no tamanho, na composição celular e no aspecto. Sendo esse fenômeno denominado de “modulação imunológica”. Ocorrem alterações nos tipos de colágeno encontrados dentro das lesões do fígado (WU et al, 1982; RASO et al, 1983; AL ADNANI, 1985; JUNQUEIRA et al, 1986; GRIMAUD et al, 1987). Métodos bioquímicos

(WU et al, 1982) e imunocitoquímicos (ANDRADE & GRIMAUD, 1986) têm mostrado que a matriz do granuloma periovular nos estágios precoces da infecção, contém grande quantidade de colágeno tipo III. Colágeno tipo I está presente em menor quantidade, mas gradualmente aumenta com a evolução da infecção (WU et al, 1982; ANDRADE & GRIMAUD, 1986; SILVA et al, 2000) e tipo IV (WU et al, 1982; PARISE et al, 1985; ANDRADE & GRIMAUD, 1986; ANDRADE & GRIMAUD, 1988) e laminina (SILVA et al, 2000) são escassos ou estão ausentes (AL ADNANI, 1985). A grande quantidade de matriz extracelular consiste na principal alteração responsável pelo aspecto morfológico da modulação (SILVA et al, 2000).

A evolução da resposta do hospedeiro aos ovos de *S. mansoni* em animais experimentais, é dividida em cinco estágios segundo Hsu et al, (1972): a) estágio fracamente reativo ou não reativo, quando os ovos são imaturos, ao mesmo tempo que gradualmente atraem células mononucleares, neutrófilos e eosinófilos; b) estágio exsudativo, quando os ovos estão maduros e são circundados por um microabscesso, com muitos neutrófilos e alguns eosinófilos; c) estágio exsudativo-produtivo, quando os histiócitos e as células epitelióides envolvem o ovo e o microabscesso, e são, por sua vez, circundados por fibroblastos; d) estágio produtivo, o granuloma ao redor dos ovos consiste de três zonas: uma interna de células epitelióides, histiócitos e ocasionalmente células gigantes; uma intermediária de fibroblastos e uma externa de linfócitos, histiócitos, plasmócitos e alguns eosinófilos. O miracídio pode estar vivo ou morto durante este estágio; e) estágio de involução, quando o ovo é reduzido em tamanho, está usualmente desintegrado e a casca está circundada por algumas fibras colágenas.

Em todos os estágios, mesmo após 134 semanas de infecção, a deposição contínua de novos ovos causa granulomas exsudativos, exsudativo-produtivos, proliferativos e cicatriciais.

O estágio final da reação periovular pode apresentar três diferentes padrões: a) cicatriz espessa; b) cicatriz fina (ou cicatriz residual) e c) pigmentada residual (LENZI et al, 1987).

Estudos têm demonstrado a maior frequência de complicações infecciosas no paciente esquistossomótico, tanto clínicas, na fase aguda da doença (GAZZINELLI et al, 1985; LAMBERTUCCI, 1993), como cirúrgicas na fase crônica (FERRAZ et al, 1991; FERRAZ et al, 1982; FERRAZ et al, 1993), quando comparado à população geral. Apresentando os portadores de hipertensão portal esquistossomótica, risco significativamente maior de infecção de ferida, quando submetidos à cirurgia limpa, limpa-contaminada ou contaminada, em relação a pacientes portadores de outras patologias submetidos aos mesmos tipos de intervenção (FERRAZ et al, 1982) Todavia, esse maior risco para infecção de ferida pode estar relacionado ao ato operatório de esplenectomia e não à doença esquistossomótica (FERRAZ et al, 1991).

Lambertucci et al, em 1990, de Belo Horizonte, descreveram a associação da presença de abscessos hepáticos múltiplos em pacientes esquistossomóticos na fase aguda.

Lima & Maluf (1995), em relato de caso isolado, descreveram a associação de múltiplos abscessos hepáticos e esquistossomose crônica, excluída a associação de outras doenças sistêmicas.

Musso et al (1996), no Espírito Santo, examinaram retrospectivamente 65 casos de abscessos hepáticos em crianças, verificando sua associação com *S. mansoni* através da pesquisa de ovos do parasita em amostras de fezes; em 29 desses pacientes, cujas culturas identificaram a etiologia estafilocócica do abscesso, o parasita não foi visualizado nas amostras das fezes.

Em relato de caso foi sugerido ser a esquistossomose, na sua forma crônica, causa predisponente para a formação de abscessos hepáticos piogênicos múltiplos, principalmente em regiões endêmicas (LIMA & MALUF, 1995; MENDES; NETO & LEAL, 1999).

Concernente ao diagnóstico desta doença, usualmente emprega-se método de exame coprocópico Kato-Katz em amostras de fezes (ZWINGENBEGER et al, 1988; AMARAL & PORTO, 1994; KATZ & PEIXOTO, 2000). De forma mais invasiva, confirmação pode ser feita através de biópsia retal ou hepática (DÍAZ-RIVERA et al, 1957).

No que diz respeito ao tratamento clínico para esta parasitose, o medicamentoso é realizado com Oxaminiquine ou Praziquantel (ZWINGENBEGER et al, 1988; AMARAL & PORTO, 1994). O Oxaminiquine consiste em droga eficaz, segura e de fácil administração, na dose única de 20 mg/kg para crianças e 15 mg/kg para adultos (AMARAL & PORTO, 1994). Mais recentemente, em estudo realizado na zona canavieira de Pernambuco, o Praziquantel (60 mg/kg) vem sendo introduzido em campanhas desenvolvidas pela Fundação Nacional de Saúde (Funasa) em substituição ao Oxaminiquine, com redução de todos os índices de infecção no seguimento clínico, quais sejam: prevalência e intensidade da infecção e de re-infecção, além de aumento na negatificação da doença (BECK et al, 2001).

Com a instituição do tratamento curativo, há considerável diminuição nas alterações inflamatórias, tanto nos granulomas, quanto nos espaços porta, sem causar aumento na intensidade das lesões hepáticas, pela desintegração dos vermes e pela liberação de produtos tóxicos e antigênicos (ANDRADE & GRIMAUD, 1986).

Há, no entanto, estudo murino demonstrando que após tratamento quimioterápico para essa parasitose, não há modificação qualitativa no granuloma periovular. Uma vez que, durante a evolução espontânea do granuloma no fígado, este passa por fases de inflamação, de fibrogênese aumentada, de morte do miracídeo e de reabsorção parcial ou total da fibrose; com o tratamento apenas provocando a reabsorção incompleta da fibrose em todos os granulomas ao mesmo tempo (ANDRADE & GRIMAUD, 1986, 1988).

A esplenectomia exclusiva foi a intervenção cirúrgica mais utilizada na hipertensão portal causada pela esquistossomose hepatoesplênica. É insatisfatória nos casos com

antecedentes de hemorragia digestiva alta, em decorrência de recidiva em cerca de 50% a 60% desses e proporciona resultados favoráveis nos portadores sem antecedentes de sangramento digestivo. Dentre as opções cirúrgicas paliativas que foram recomendadas quando de episódios hemorrágicos prévios, está a esplenectomia associada à ligadura intraesofágica de varizes do esôfago (KELNER, 1992). Esta consiste na grande contribuição do Prof. Salomão Kelner ao tratamento cirúrgico da esquistossomose, operação que leva o seu nome e adotada por muito tempo como a de escolha na hemorragia por ruptura de varizes de esôfago, decorrente de hipertensão portal e rebelde às medidas conservadoras na urgência. Fundamenta-se na associação dos benefícios da esplenectomia com um tratamento local das varizes na chamada “zona vulnerável”. Este mesmo procedimento foi ainda indicado em caráter eletivo, nos pacientes que apresentaram mais de um episódio de sangramento, por ruptura de varizes do esôfago, mesmo que controlado agudamente na urgência com a terapêutica clínica instituída. A esplenectomia também passou a ser uma indicação cirúrgica nos portadores de esquistossomose na fase crônica que desenvolvem o hiperesplenismo como complicação da sua doença. A remoção do baço hiperfuncionante nesses pacientes leva à normalização do número de elementos figurados do sangue, destruídos inadequadamente pela hiperatividade esplênica (KELNER & SILVEIRA, 1997).

Associada a esplenectomia total pode ser realizada além da ligadura da veia gástrica esquerda, o auto-implante no grande eplon de parte do baço, em casos de hemorragia digestiva alta por hipertensão portal esquistossomótica (BRANDT; TAVARES & FREI CANECA, 1993).

Petroianu (2003b) considera o melhor tratamento cirúrgico para hipertensão portal na esquistossomose, a realização de esplenectomia subtotal e ligadura de vasos do estômago e do esôfago para desconexão portavarizes, com sutura contínua de todas as varizes gástricas até o

esôfago distal. A presença de varizes ou a esplenomegalia por si só, não constituem indicação cirúrgica.

Sendo a esplenectomia inevitável, pode-se optar por abordagens conservadoras de preservação de tecido esplênico por meio de esplenectomia subtotal e de auto-implantes, reduzindo-se assim as graves adversidades da asplenia cirúrgica (PETROIANU, 2003a).

## 2.2 Modelos animais de experimentação

Estudo experimental em animais permite que modelos inéditos sejam testados (ADEODATO, 2004), é justificado por conferir o aprendizado no animal vivo, e assim ser o método preferível na substituição do treinamento em *anima nobili*. No entanto, por vezes percebe-se restrição ou inibição no uso de animais na área científica por redução de custos, racionalização do uso de animais e respeito humanitário aos mesmos (CÂMARA & COELHO, 2003).

Experimentação em modelo animal com camundongos mostrou-se a mais apropriada para se estudar a hemodinâmica portal na fase crônica da esquistossomose, já que mimetiza os achados clínicos e patológicos da doença em humanos (SARIN et al, 1991). A fibrose periportal em camundongos observada nestes estudos, se constitui em um bom modelo experimental, pois é reprodutível de forma prática, e em base de benefício do custo operacional, o melhor disponível (COUTINHO et al, 1997; ADEODATO, 2004).

Os modelos murinos foram utilizados de forma ampla na esquistossomose, com investigação de aspectos relacionados à patogênese e às alterações histológicas da esplenomegalia (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1960; ANDRADE, 1962), à fibrose “*pipestem*” do fígado (WYLER et al, 1987; ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997; COUTINHO et al, 1997) e aos isotipos de colágeno da fibrose hepática (WU et al, 1982;

ANDRADE & GRIMAUD, 1986; SILVA et al, 2000). Verifica-se concordância no estudo sobre patogênese da fibrose esquistossomótica, quando investigada através de modelo animal (ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997) e por meio de material de necrópsia em humanos (MAGALHÃES FILHO; MENEZES & BARROS COELHO, 1960).

O tipo de granuloma mais estudado é o periovular hepático esquistossomótico devido às facilidades na obtenção em camundongos, ao isolamento em grandes quantidades e a reprodução *in vitro*, tornando-se um modelo para estudos sobre matriz extracelular e para fatores solúveis envolvidos na estimulação fibroblástica e síntese colágena (WYLER et al, 1987), que inclui a seqüência de deposição dos tipos geneticamente diferentes de colágeno, e a fisiopatologia da degradação da matriz extracelular (ANDRADE & GRIMAUD, 1986).

Pesquisas em diferentes espécies animais têm permitido o melhor entendimento da estrutura e da função do baço humano, testando hipóteses em modelos experimentais (CLAASSEN, 1991; TIMENS, 1991; PETROIANU, 1993), e dessa forma, demonstrando a necessidade de preservação de tecido esplênico, passando-se a realizar menor número de esplenectomia total, maior número de esplenectomia parcial (PETROIANU, 1993) ou de auto-implantes (CLAASSEN, 1991). No entanto, informações obtidas em uma dada espécie nem sempre podem ser transportadas em sua íntegra para uma outra, necessitando prudência na extrapolação de dados obtidos de experimentação animal para situação humana (COHEN & FERRANTE, 1982; CLAASSEN, 1991; TIMENS, 1991).

Dentre os animais de experimentação, o rato em particular, promove um modelo animal atrativo para estudo do baço, devido às similaridades na população dos compartimentos celulares (TIMENS, 1991). Além desta espécie animal, outros mamíferos já foram utilizados, incluindo cobaias, coelhos, gatos e cães (PETROIANU, 1993).

Apesar das similaridades existentes entre diferentes espécies, no que diz respeito à função das células esplênicas, pesquisas mais detalhadas ainda são necessárias (CLAASSEN, 1991).

Verificou-se que os efeitos da esplenectomia na imunidade humoral, como defeitos na opsonização, no sistema de complemento, nos anticorpos e na fagocitose, exibem resultados semelhantes entre os humanos e os animais de experimentação. De forma similar, são também a resposta à vacina e as taxas de infecção causadas por organismos encapsulados e parasitas intra-eritrocitários. Em nenhum modelo animal, entretanto, é o efeito da esplenectomia na imunidade celular totalmente esclarecido (FRANCKE & NEU, 1981).

Nas diferenças observadas entre espécies, as células mióides no retículo da polpa vermelha esplênica presentes no homem não desempenham atividade contrátil e conjectura-se, portanto, que o baço humano não exerce papel importante como reservatório de sangue, como o observado em outras espécies animais (TIMENS, 1991). Outras diferenças abrangem a não-visualização histológica do seio marginal na polpa branca de baços humanos, estando este presente nos baços de roedores (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997).

### **2.3 Importância funcional da preservação de tecido esplênico**

Não há menção do baço na Bíblia, mas a anatomia, função e acometimento deste órgão foram discutidos em alguns trechos no Talmud da Babilônia (2º a 6º séculos) (ROSNER, 1972).

Filósofos como Hipócrates e Platão atribuíram ao baço a função de absorção, tendo sido Aristóteles o primeiro a especular sobre esta função, denominando o baço de “fígado bastardo”. Galeno adicionalmente, postulou uma direta relação com o fígado, proscrevendo a atividade digestiva do baço. No entanto, as similaridades entre os dois órgãos foram refutadas

por Andreas Vesalius, com formulação de uma teoria sanguínea esplênica. Para Harvey, o baço continuava a servir para modificar o sangue, quer através de filtração direta ou indireta. Wharton, Bartholin e Schenck postularam atividade secretória para o mesmo. As idéias de Hewson foram usadas como ponto de partida para pesquisa na natureza linfática da fisiologia esplênica e seu papel na hematopoese (McCLUSKY et al, 1999).

Dentre as principais funções desempenhadas pelo baço estão: a de filtração do sangue, realizada pelos macrófagos dos capilares embainhados, pelos cordões da polpa vermelha e pelo endotélio sinusal (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997), com capacidade de fagocitose de antígenos pobremente opsonizados, facilitada pela lentificação do fluxo sanguíneo ao passar pela estrutura da polpa vermelha esplênica (TIMENS, 1991), com remoção de antígenos não específicos de patógenos (DIJKSTRA & KRAAL, 1991); a de remoção de glóbulos vermelhos envelhecidos da corrente circulatória, com produção a partir da hemoglobina, de bilirrubina para ser utilizada pelo fígado e com extração de ferro para ser utilizado na gênese de novos glóbulos vermelhos pela medula óssea (HAM, 1967); a de função imunológica, como produtor de células B e T (HAM, 1967; VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997), desempenhando importante papel na resposta precoce do sistema imune (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997), sobretudo na zona marginal contendo células B e células apresentadoras de antígeno, na indução aos antígenos pobremente imunogênicos (TIMENS, 1991); a de hematopoese, observada em humanos durante a vida fetal e sob certas condições patológicas, estando sobretudo presente em baços de roedores; a de função de reservatório de fator VIII, plaquetas, granulócitos e ferro, não sendo importante como reservatório de sangue em humanos (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997).

O baço é necessário para a elaboração de substâncias que favorecem a opsonização de organismos encapsulados, sendo o principal sítio de fagocitose (FRANCKE & NEU, 1981). Através da fagocitose pelos macrófagos esplênicos, o sangue é depurado de células anormais,

de parasitas e de partículas estranhas ao organismo. Não existe segmentação funcional do baço quanto à propriedade fagocitária (PETROIANU, 1993).

Este órgão já foi no passado, acreditado como produtor do riso e da gargalhada. Indivíduos com baço intumescido teriam riso tolo e, se o tumor esplênico fosse extirpado, o riso iria cessar, passando a exibir aparência sisuda em suas faces (ROSNER, 1972).

A despeito de suas funções, a importância do baço passou realmente a ser entendida quando King & Shumacker (1952), documentaram infecção fulminante pós-esplenectomia em cinco crianças abaixo de seis meses de idade, submetidas a este procedimento devido à anemia hemolítica congênita. Com ocorrência de dois óbitos e cultura sanguínea identificando *Haemophilus influenzae* e meningococo. Posteriormente seguiram-se outros relatos (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968).

A frequência mais elevada de sepse pós-esplenectomia ocorre dentro dos dois anos seguintes à operação, de forma ainda mais precoce quando imunização não é realizada (JUGENBURGH et al, 1999). Numa série composta por 1467 pacientes, a frequência total de infecção grave após esplenectomia foi de 2,8%, sendo de 1,1% nos com 01 ano de vida ou mais (ERICKSON, BURGERT JR & LYNN, 1968).

Pacientes de 0 a 5 anos ao tempo da esplenectomia apresentaram maior taxa de infecção que pacientes mais velhos. Imunização pneumocócica precoce esteve associada a baixo risco de infecção, quer pré ou pós-operatoriamente. Entretanto, imunização realizada antes da cirurgia conferiu menor chance em desenvolver séria infecção (JUGENBURGH et al, 1999).

Devido à possibilidade de infecção fulminante pós-esplenectomia, a qual não está restrita apenas a crianças (MOORE et al, 1983), e estando diante da necessidade de remoção do baço em várias situações, quer por injúrias traumáticas (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968; CONSTANTOPOULOS et al, 1973; ORDA et al, 1981; COHEN &

FERRANTE, 1982), ou iatrogênicas (STEELY et al, 1988) durante vagotomia ou ressecção gástrica (ORDA et al, 1981), incidentalmente (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968), quer por hipertensão portal por doença parasitária (BRANDT; TAVARES & FEI CANECA, 1993; PETROIANU, 2003b), quer por doenças hematológicas ou oncológicas (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968; ORDA et al, 1981; COHEN & FERRANTE, 1982), ou por talassemia ou Doença de Gaucher (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968), ou por patologias congênitas (ERICKSON; BURGERT JR & LYNN, 1968; BENJAMIN et al, 1978); pode-se tentar a preservação de tecido esplênico, baseado em alternativas cirúrgicas como: a esplenectomia parcial, com preservação do suprimento vascular sanguíneo (BRADSHAW & THOMAS JR, 1982a, 1982b; POUCHÉ et al, 1986; PETROIANU, 2003a; ADEODATO, 2004) e o auto-implante esplênico, no qual é interrompido o suprimento vascular para o tecido (PERLA, 1936; TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973; LIKHITE, 1975; BENJAMIN et al, 1978; DICKERMAN et al, 1979; COONEY et al, 1979; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; HORTON et al, 1982; PATEL et al, 1982; MOORE et al, 1983; CORAZZA et al, 1984; STEELY et al, 1988; JOHNSON & WEISS, 1989; SASAKI, 1990; RODRIGUES et al, 1991; CARR & TURK, 1992; IINUMA et al, 1992; TORRES et al, 1994; ALVES et al, 1999; BRANDT et al, 2001; PETROIANU, 2003a; ADEODATO, 2004).

Vários foram os estudos realizados para elucidar se o auto-implante esplênico conferia proteção contra infecções (LIKHITE, 1975; COONEY et al, 1979; DICKERMAN et al, 1979; HORTON et al, 1982; PATEL et al, 1982; STEELY et al, 1988), as quais são usualmente fatais em indivíduos esplenectomizados (KING & SCHUMACKER, 1952).

Pode-se inferir que auto-implantes esplênicos heterotópicos reassumem a função desempenhada pelo baço tóxico. Uma vez que complexos imunes antígeno-anticorpo foram capturados 21 dias após o implante, na parte central de folículos primários, com distribuição e

quantidade similares às do baço tópico após 90 dias. E atividade enzimática de ATPase de regiões da polpa branca de implantes foi similar à observada em baços normais, após 56 dias (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982).

Com o intuito de avaliar qual alternativa seria mais factível em prevenir infecção fulminante pós-esplenectomia, métodos como esplenectomia parcial, auto-implante esplênico e imunização com vacina pneumocócica foram estudados em relação ao mérito de cada procedimento. A imunização por vacinação mostrou-se um dos mais importantes fatores que contribuíram para a sobrevida após a esplenectomia. A esplenectomia parcial foi a alternativa cirúrgica mais apropriada quando da necessidade de remoção do baço, sendo preferível ao auto-implante esplênico, por estar associada com mais altos títulos de anticorpos após imunização, melhor *clearance* bacteriano, maior apreensão esplênica e hepática de organismos pneumocócicos e aumento da taxa de sobrevida. O implante esplênico apresenta todas essas características, mas com menor capacidade (COONEY et al, 1979).

Sendo assim, associadas às cirurgias para preservação de tecido esplênico pós-esplenectomia, passaram a ser indicadas medidas profiláticas, com administração de antibioticoterapia com penicilina (BALFANZ et al, 1976; AIGNER et al, 1980), ou com sulfametoxazol-trimetoprim ou eritromicina, em pacientes alérgicos à penicilina (FRANCKE & NEU, 1981), além de vacina pneumocócica polivalente, devendo ser iniciada, a despeito do motivo para a esplenectomia e mantida por um período de 5 anos. Encurtamento desse uso para cinco meses é relatado, devido a implantes esplênicos exibirem função normal já a esta época (AIGNER et al, 1980). Pois nem faixa etária, nem período de tempo seguindo esplenectomia promovem proteção absoluta (BALFANZ et al, 1976).

Em observações posteriores, profilaxia com imunização e antibioticoterapia têm elevado a resistência ao pneumococo causador de doença respiratória e aumentado a habilidade do sistema imune em debelar organismos invasivos (JUGENBURGH et al, 1999).

A vacinação e a profilaxia antibiótica, assim como o autotransplante esplênico parecem prevenir a sepse fulminante pós-esplenectomia em crianças (WILLFÜHR; WESTERMANN & PABST, 1992).

O tecido autotransplantado passou a ser empregado como uma opção nas situações em que não é possível esplenorrafia ou esplenectomia parcial (COONEY et al, 1979) no tratamento de injúrias esplênicas iatrogênicas ou traumáticas (STEELY et al, 1988), podendo promover resistência ao hospedeiro (PATEL et al, 1982), no entanto, a eficácia do método é considerada, por alguns, como inferior à eliminação de bactérias pelo baço intacto (HORTON et al, 1982).

Sabe-se que o baço é requerido para processar antígenos administrados intravenosamente. O baço *in situ* com seu suprimento arterial intacto serve tanto para filtrar o sangue de partículas antigênicas, como para elaborar opsoninas e imunoglobulina M (IgM) a fim de uma remoção mais eficiente dessas partículas pelo fígado (COONEY et al, 1979). Decréscimo nos valores de IgM é observado nos pacientes esplenectomizados (ORDA et al, 1981). No entanto, restabelecimento não apenas dos níveis de IgM, mas também de componentes do sistema complemento como C3 e C4 e da função de *clearance* no sangue foram obtidos, retornando aos valores normais, na 9ª semana pós-operatória de implantes esplênicos em humanos (AIGNER et al, 1980).

Atestando ainda a capacidade funcional do tecido esplênico regenerado, corpos de Howell-Jolly, células alvo e hemácias envelhecidas, normalmente presentes no sangue após esplenectomia, desapareceram em pacientes que desenvolveram esplenose (PEARSON et al, 1978). Além do mais, foi demonstrado que em animais de experimentação com autotransplante esplênico, atividade gamaglobulina leucofílica retorna ao normal, assim como atividade opsônica sérica requerida para defesa contra invasão bacteriana (LIKHITE, 1975).

Apesar de haver concordância que após esplenectomia a taxa de hemácias envelhecidas exibe alterações em seus valores, há divergências no que diz respeito à normalização dessa taxa com a presença de esplenose (COHEN & FERRANTE, 1982).

Defeitos na fagocitose devido à deficiência de tuftisina, peptídeo estimulador da fagocitose, têm sido relatados em indivíduos esplenectomizados, sendo encontrados valores normais ou próximos a estes, quando da possibilidade de ocorrência de esplenose (CONSTANTOPOULOS et al, 1973; ORDA et al, 1981) ou de auto-implante (BRANDT et al, 2001).

Dados da literatura revelaram que a eficácia das funções desempenhadas pelos auto-implantes esplênicos depende de fatores como: aporte sanguíneo (RICE & JAMES, 1980; STEELY et al, 1988; RODRIGUES et al, 1991; ALVES et al, 1999), sítio anatômico de implantação (PATEL et al, 1982; RODRIGUES et al, 1991; IINUMA et al, 1992), número de fragmentos implantados (BRANDT et al, 2001), volume ou espessura de cada fragmento (PERLA, 1936; BRADSHAW & THOMAS JR, 1982a; PATEL et al, 1982; MOORE et al, 1983; CORAZZA et al, 1984; STEELY et al, 1988) e intervalo de tempo para ocorrer regeneração (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; PATEL et al, 1982; POUCHÉ et al, 1986; TORRES et al, 1994).

Fatores protetores favoráveis após desafio pneumocócico (injeção intra-peritoneal) incluem: massa e localização dos baços autotransplantados e o peso do resultante esplênico à autópsia (VEGA et al, 1981). Já Willführ, Westermann & Pabst (1992), afirmam que não a massa, mas a estrutura histológica dos auto-implantes esplênicos é de fundamental importância para conferir proteção contra infecção pneumocócica.

Foi pensado que autotransplante esplênico teria um papel limitado em filtrar o sangue, devido à diminuição no seu suprimento vascular. No entanto, o baço autotransplantado mostrou-se funcionalmente ativo no *clearance* de microorganismos, removendo o inóculo

bacteriano intravenoso de forma mais eficiente, quando do aumento na porcentagem do volume enxertado. O aumento na sobrevida e no *clearance* bacteriano, vistos no autotransplante esplênico, dependem significativamente segundo Steely et al (1988) das substâncias humorais elaboradas pelo baço autotransplantado, em resposta a antígenos específicos; os antígenos, uma vez opsonizados, tornam o fígado capaz de removê-los do sangue, podendo ser estes de origem pneumocócica, eritrócitos envelhecidos ou outros antígenos.

O efeito protetor conferido pelo implante esplênico contra a sepse pneumocócica é maior quando realizado no grande omento, do que fora da circulação porta. A taxa de sobrevida ao desafio bacteriano intravenoso é de 100% na cirurgia simulada (abertura da cavidade abdominal, seguida de manipulação do baço, porém sem sua extirpação), de 89% no auto-implante e de 56% na esplenectomia total (PATEL et al, 1982).

De fato, o aumento na dose letal que leva à morte de 50% (LD50) por sepse fulminante, eleva em proporção ao aumento no tamanho dos remanescentes esplênicos; esplenectomia de 25, 50 e 75% estiveram associadas com altas LD50, quando comparadas à da esplenectomia total. Discreta redução na LD50 do grupo com retirada de 75% do baço para o totalmente esplenectomizado, pode ser indicativo de massa esplênica crítica para o implante. Com grande efeito protetor 05 semanas após esplenectomia de 75% do baço, em relação a esplenectomia total (BRADSHAW & THOMAS JR, 1982a). A diferença na proteção a despeito dos comparáveis graus de esplenectomia pode ter sido atribuída ao fato de que 05 semanas pós-operatórias é o tempo para ocorrer substancial regeneração esplênica após esplenectomia parcial (BRADSHAW & THOMAS JR, 1982b).

No entanto, não foi observada diferença estatisticamente significativa na morte por sepse, se o autotransplante era de todo ou de metade do baço, ou mesmo se era realizada simulação de esplenectomia. Apesar de divergência com outros estudos, quanto ao percentual

de massa de tecido esplênico necessário para conferir proteção, há concordância que o autotransplante possa funcionar imunologicamente e restaurar proteção para os organismos asplênicos expostos aos pneumococos, sendo inquirido que a esplenose que se segue ao trauma esplênico pode ser responsável pela baixa, mas ainda real incidência de infecção bacteriana fulminante nesses pacientes (DICKERMAN et al, 1979).

Em contraste à idéia de que a esplenose confere proteção contra sepse fulminante, dados em crianças sugerem que pacientes com tecido esplênico residual estejam em risco elevado de infecção, devido ao baixo nível de resposta imune; pois mesmo com a presença de 70%, 45% e 20% de volume esplênico normal, a função imune permaneceu anormal. No entanto, em pacientes esplenectomizados por acometimento esplênico por doença ou por trauma, e sem evidência de tecido esplênico residual, parâmetros imunes estiveram reduzidos e normal, respectivamente. E desta forma, a anormalidade imune possivelmente esteve atribuída à doença primária (COHEN & FERRANTE, 1982).

Corroborando esse pensamento, foram descritos dois casos de septicemia pneumocócica fulminante, mesmo com tecido esplênico heterotópico presente, sob a forma de esplenose pós-trauma. Um em garota de 12 anos e outro em homem de 19 anos, 8 e 9 anos após esplenectomia, com implantes pesando até 3 g e 92 g, respectivamente. Em vista de grande massa de tecido esplênico residual e a não proteção contra infecção conferida, o alterado suprimento sanguíneo pode aqui assumir maior importância que a quantidade de tecido esplênico, em determinar competência imunológica (RICE & JAMES, 1980).

Quanto à localização apropriada para os fragmentos esplênicos a serem auto-implantados, o omento gastrocólico enquadra-se no sítio satisfatório, desde que apresenta rico suprimento vascular e permite fácil re-integração do tecido (RODRIGUES et al, 1991; IINUMA et al, 1992), impede a migração dos auto-implantes e os mantém localizados na circulação porta, onde o baço está normalmente situado (VEGA et al, 1981; PATEL et al,

1982). A função esplênica mostra níveis mais elevados de anticorpos nos fragmentos esplênicos implantados no omento gastrocólico, quando comparado a outros locais de implantação (IINUMA et al, 1992); a função retículo-endotelial dos implantes confere proteção antibacteriana de forma satisfatória, especialmente se fragmentos de todo o órgão é implantado (VEGA et al, 1981). Além do mais, não existem dificuldades técnicas durante o procedimento de auto-implante, este não difere muito do tempo cirúrgico gasto para realizar esplenectomia e resulta em boa viabilidade do tecido e em baixas taxas de complicações pós-operatórias (WILLIAMS; PATEL & HINSHAW, 1982). Tecidos esplênicos auto-implantados no omento gastrocólico, mostram ter capacidade regenerativa, apresentando regeneração histológica completa após um período de 28 dias (TORRES et al, 1994), com revascularização do tecido se processando centripetamente (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; TORRES et al, 1994), e iniciando de forma precoce, já no 3º dia após o implante (PERLA, 1936; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; ALVES et al, 1999).

O potencial da neovascularização da bolsa de omento é ultrapassado pela colocação de grandes implantes (STEELY et al, 1988), permitindo a implantação de fatias do tecido, a preservação da arquitetura esplênica (PATEL et al, 1982). No que se refere à quantidade ótima a ser auto-implantada, há relato afirmando ser de 80% do baço para alcançar sobrevida máxima em modelo de sepse pneumocócica (STEELY et al, 1988), requerendo o tecido implantado tempo para regenerar e hipertrofiar antes de proteger o animal contra a sepse (PATEL et al, 1982).

Autotransplantes para a cavidade peritoneal produzem a mais favorável sobrevida, seguindo desafio pneumocócico. À autopsia, a massa de baços recuperados, se correlaciona bem com o tamanho original do baço transplantado, e assim, se correlaciona com uma maior duração da sobrevida do camundongo (VEGA et al, 1981).

Segundo Willführ, Westermann & Pabst (1992), a arquitetura do tecido esplênico regenerado depende da idade do receptor por ocasião do ato cirúrgico, com o processo de regeneração ocorrendo melhor nos organismos mais jovens do que nos mais velhos. Autotransplante de tecido esplênico em ratos adultos resultou em grande área de tecido fibrótico e de polpa vermelha, enquanto os compartimentos da polpa branca, em especial a zona marginal foram pobremente desenvolvidos. Em contraste, nos animais recém-nascidos, após implante de tecido esplênico imaturo, os compartimentos da polpa branca dos autotransplantes regenerados assemelharam-se aos dos baços normais.

Rodrigues et al (1991), verificaram em estudo comparativo da viabilidade de fragmento de tecido esplênico autólogo implantado no omento maior e na tela subcutânea de ratas, integração parcial e moderada em ambas as localizações até o 21º dia pós-operatório. Contudo, observaram uma tendência à melhor integração dos fragmentos no omento maior, por existir maior e melhor irrigação, às custas da neoformação de arteríolas através da cápsula para o tecido implantado. Em decorrência disso, houve uma diminuição da necrose do parênquima, aumento no número de elementos neoformados subcapsulares (que posteriormente se diferenciaram em pseudofolículos e folículos linfóides) e menor fibrose da cápsula e do parênquima do fragmento autotransplantado no omento maior.

Outros locais de implantes esplênicos já realizados incluem: compartimento do músculo reto abdominal (BENJAMIN et al, 1978), espaço subfrênico e parede abdominal (AIGNER et al, 1980).

Avaliando ainda a viabilidade do fragmento de tecido esplênico auto-implantado, a espessura do mesmo assume papel fundamental em preservá-la. Fatias finas mostraram-se com maior capacidade que as espessas (CORAZZA et al, 1984).

Foi observado que em fragmentos maiores de baço transplantados para a parede abdominal, em torno do 3º dia pós-transplante, as suas metades externas tinham sido

completamente substituídas por uma rede de células reticulares sinciciais, as quais invadiram a área central do tecido necrótico com projeções tipo digitiformes. A formação de seios esplênicos não ocorreu, embora capilares contendo células sangüíneas tenham sido observados. Em transplantes menores, por volta da mesma data, as células reticulares haviam regenerado e tinham quase completamente coberto o transplante, exibindo uma rede de seios na polpa vermelha (PERLA, 1936).

Em face da necessidade de manutenção de tecido esplênico viável em pacientes com esquistossomose portadores da FHE, avaliações morfológica e funcional de auto-implantes esplênicos foram realizadas a fim de verificar eficácia dos mesmos em localização ectópica. Foi visto que todos os implantes esplênicos apresentaram na cintilografia, captação de radiofármaco, mostrando-se esta satisfatória na grande maioria dos casos (91,3%). Os nódulos esplênicos que se apresentaram insuficientes, estiveram presentes em número menor que cinco; correspondendo estes mesmos nos únicos casos que exibiram positividade para os corpos de Howell Jolly no sangue periférico; indicando que a filtração esplênica esteve associada à quantidade remanescente de tecido esplênico, e por outro lado, sendo confirmado que o auto-implante esplênico no omento maior é método eficaz de enxertia e de manutenção da função esplênica de filtração (BRANDT et al, 2001).

A preservação de parte do baço com o auto-implante esplênico, além de proporcionar recuperação funcional esplênica, com manutenção da capacidade de filtração através da função fagocitária dos macrófagos (PETROIANU, 2003a), e da produção do peptídeo estimulador da fagocitose (tuftsina), oferece ainda resposta imunológica pela vacinação pneumocócica (BRANDT et al, 2001).

Moore et al (1983) descrevem que a apreensão de radionuclídeos por implantes esplênicos pode não estar relacionada com uma função imunológica normal, pois, apesar de ter havido retenção do marcador em auto-implantes esplênicos no grande omento e ainda

vacinação pneumocócica, após o auto-implante do baço ocorreu um quadro clínico típico de infecção fulminante pós-esplenectomia cinco meses depois. Como fatores possivelmente responsáveis pela falência dos implantes em conferir proteção a infecções, suspeitaram ter sido a massa crítica do tecido implantado, inferior a necessária para remoção adequada do sangue de organismos encapsulados e função hepática deteriorada por cirrose.

Avaliando o efeito da esplenectomia na modulação do granuloma esquistossomótico, Hood & Boros (1980) verificaram a nível experimental, que o baço pode exercer um papel regulador na reação granulomatosa. Esplenectomia realizada durante o pico da resposta granulomatosa (8<sup>a</sup> semana de infecção), acarretou em um acentuado aumento no tamanho dos granulomas hepáticos, quando analisados na 12<sup>a</sup> semana, com diferença estatisticamente significativa ao serem comparados aos controles não esplenectomizados. Entretanto, quando o procedimento cirúrgico foi realizado entre a 1<sup>a</sup> e 4<sup>a</sup> semana de infecção, não existiu diferença no tamanho da referida lesão hepática.

Arruda, Santoro & Sadigursky (1993) verificaram que a ausência do baço afetou a modulação dos granulomas hepáticos apenas nas fases tardias da infecção e que a principal diferença entre os tipos de granuloma foi com relação à quantidade de tecido fibroso, podendo este órgão desempenhar papel na fibrogênese do granuloma ao ovo.

Animais cronicamente infectados com *S. mansoni* e esplenectomizados foram menos propensos a desenvolver granulomas periportais sistematizados e fibrose, com focos de degradação do colágeno mais frequentes e mais acentuados (ANDRADE et al, 1998); como observado em experimento prévio (ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997). Análises morfométricas mostraram nenhuma diferença no desenvolvimento da fibrose “*pipestem*” entre os grupos com e sem esplenectomia, com relação ao tempo da realização da cirurgia (01 semana antes, 01, 04 e 08 semanas após exposição pelas cercárias de *S. mansoni*), ao peso do baço, à presença de anticorpos anti-idiotípicos, ao número de ovos no fígado e ao tipo e

tamanho de granulomas periovulares (ANDRADE et al, 1998); confrontando estes últimos dados com os resultados de Hood & Boros (1980), no que diz respeito ao tamanho dos granulomas, e com os de Arruda, Santoro & Sadigursky (1993), concernente ao estágio evolutivo dos mesmos.

A maior expressão de linfócitos CD8<sup>+</sup> em baços de indivíduos portadores da FHE da esquistossomose fortalece a hipótese de que esse órgão participa da modulação da resposta imune nesses pacientes (SANTOS et al, 2000).

## **2.4 Aspectos histológicos**

### **2.4.1 do baço sadio**

O baço foi considerado um órgão enigmático, cheio de mistério, afirmado por Galeno. Sua história é repleta de fábulas e mitos, mas também contém realidades. Da Antigüidade à Renascença, foram realizados vários estudos sobre a estrutura, a função e a anatomia do órgão; médicos gregos e romanos foram os primeiros a uniformizarem a anatomia e a fisiologia. O questionamento sobre a necessidade do baço para a sobrevivência foi discutido por estudiosos como Galeno, Vesalius, Malpighi, Billroth, Gray, Gross e Mayo por quase 2000 anos. Highmore descreveu a túnica externa e as trabéculas esplênicas. Sendo Marcello Malpighi (1628-1694), denominado o “fundador da anatomia microscópica”, quem marcou uma nova era na história da fisiologia do baço, derrubando as afirmações místicas de seus predecessores. Pouco foi adicionado às descrições de Malpighi até 1969, quando Ruysch argumentou que este órgão vascular era composto por uma rede de artérias, veias e linfáticos, que incorporavam grupos de vasos capilares organizados em arranjos convolutos. Van Leeuwenhoek (1708) foi o primeiro a descrever a estrutura do baço, como observada ao

microscópio. O primeiro livro de histologia sobre o baço foi publicado por Rudolf Albert von Kölliker em 1847. Billroth forneceu grande contribuição à histologia esplênica pela descrição dos cordões localizados entre os seios venosos da polpa vermelha (McCLUSKY et al, 1999).

Apesar do vasto estudo na literatura sobre o baço, permanecem ainda dúvidas a respeito da histologia e da função do mesmo na espécie humana, contribuindo para isto o fato de ser este órgão extremamente vulnerável à autólise em espécimes obtidos para estudo após a morte, o que dificulta sua interpretação e limita o seu detalhamento (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997).

O baço humano possui a forma semelhante à de um feijão (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997), ou as dimensões e a forma aproximadas a de um punho fechado (HAM, 1967). Sua localização anatômica habitual é ao nível das 9<sup>a</sup>, 10<sup>a</sup> e 11<sup>a</sup> costelas esquerdas, com seu maior eixo paralelo a elas. A cor purpúrea varia de acordo com a quantidade de sangue nele presente, sendo mais friável e de menor consistência que os demais órgãos do corpo (HAM, 1967). Em adultos o órgão pesa cerca de 150 a 250 g, sendo de menor tamanho em indivíduos mais idosos, mesmo sem aparente hipofunção. Na superfície de corte, a polpa branca pode ser distinguida da vermelha, por apresentar pequenos nódulos acinzentados, medindo cerca de 01 mm (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997).

O baço é vascularizado pela artéria esplênica, que se divide em sete ou oito ramos no hilo, que penetram o órgão e seguem as trabéculas mais grossas (artérias trabeculares). Posteriormente ramificam-se, abandonam as trabéculas, penetram no parênquima esplênico como artérias centrais e passam a ser sustentadas por fibras reticulares da polpa esplênica, as quais retêm linfócitos em suas malhas (WOLF & NEIMAN, 1989). À medida que as bainhas de sustentação das artérias se condensam em uma de suas faces, são formados nódulos linfáticos, cada um deles irrigados por uma artéria folicular e suas ramificações; estas abandonam o nódulo em direção à polpa vermelha, dividindo-se em dois a seis ramos,

denominados de artérias peniciliares. Dividem-se então em duas ou três arteríolas e transformam-se em capilares; as veias abandonam o baço em contraponto às artérias, reunindo-se posteriormente para constituírem a veia esplênica (HAM, 1967).

De forma abrangente, a estrutura do baço pode ser vista como uma rede tridimensional de células fibroblásticas de retículos e de matriz extracelular produzida por essas células (DIJKSTRA & KRAAL, 1991).

Estudo microscópico de baço humano revelou ser este circundado por cápsula lisa recoberta por serosa, não exibindo músculo liso, em contraste a muitas outras espécies animais. Placas fibróticas ou calcificadas de causas desconhecidas podem estar presentes na superfície (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997). Outro autor afirma ser a cápsula constituída por fibras colágenas e elásticas, com fibroblastos e também por algumas fibras musculares lisas. As trabéculas formadas pelo mesmo material da cápsula, penetram no parênquima do órgão a partir do hilo, e em menor proporção, da cápsula, podendo ser observados nelas, artérias, veias e nervos. A polpa vermelha é composta por tecido reticular frouxo rico em capilares e atravessada por sinusóides venosos, com células endoteliais alongadas em suas paredes tendo fissura longitudinal (HAM, 1967; VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997), estas células são circundadas e mantidas por fibras reticulares arciformes (HAM, 1967). Situada entre sinusóides adjacentes, a polpa vermelha, assemelha-se a um cordão, sendo por isso essas áreas denominadas de cordões pulparem ou de Billroth. Abundâncias de glóbulos vermelhos estão presentes nos interstícios dos cordões pulparem, além de outros tipos celulares como linfócitos, células retículo-endoteliais fixas ou livres, monócitos, alguns neutrófilos e eosinófilos. No citoplasma, tanto das células fixas do retículo endotelial, como dos macrófagos livres, pode se observar um pigmento férrico de cor couro-acastanhado (hemossiderina) e pigmento não ferruginoso (bilirrubina, hematóidina ou pigmento biliar) (HAM, 1967). Apesar da polpa vermelha estar associada com a função de

filtração, uma grande parte da mesma não exhibe terminações capilares ou, especialmente capilares embainhados, correspondendo à área não filtrante, contendo pequenos agregados de linfócitos (B e T) e fagócitos mononucleares. Fazendo ainda parte dessa polpa, existe uma área ao longo da árvore vascular contendo linfócitos e plasmócitos, constituindo em rima perivascular. A polpa branca formada pelos compartimentos de células B e T. Os folículos de células B, secundários, exibem centros germinativos (CG), são circundados pela zona do manto (anel de linfócitos pequenos) e mais externamente pela zona marginal (anel de linfócitos de médio tamanho). As áreas de células T formadas por pequenos linfócitos contendo vasos linfáticos margeando artérias. E a zona perifolicular, uma área entre a polpa branca e a vermelha, contém muitos eritrócitos, estando ausente uma estrutura sinusoidal normal (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997).

A presença de baços acessórios (pequenos pedaços extras de tecido esplênico com histologia normal e completa das polpas branca e vermelha) foi encontrada em até 25% de autópsias realizadas em humanos (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997). Estes correspondem ao desenvolvimento embriológico do baço e diferentemente da esplenose, recebem suprimento sanguíneo através de um ramo pequeno da artéria esplênica e contêm uma real cápsula com componentes de músculo liso e tecido elástico (ORDA et al, 1981). No entanto, nem sempre era bem estabelecida a distinção entre nódulos esplenóticos e baços acessórios, sobretudo se estes últimos assumissem topografia não usual e história de trauma abdominal não fosse documentada (BUCHBINDER & LIPKOFF, 1939).

A polpa branca esplênica, onde muitas respostas imunes acontecem, é formada por três compartimentos: bainha linfóide periarteriolar (PALS), folículos e zona marginal, com cada um desses contendo diferentes subpopulações de linfócitos e tipos característicos de células não-linfóides (DIJKSTRA & KRAAL, 1991).

PALS circunda artéria central, sendo constituída em sua porção interna, principalmente por células T e mais externamente por células T, B e macrófagos. A maioria das células T desse compartimento são CD4+. Foliculos são formados sobretudo por células B. A zona marginal, que circunda PALS e foliculos, contém células B, macrófagos e relativamente poucas células T. Ambas as subpopulações de células CD4+ e CD8+ podem ser encontradas na zona marginal e na polpa vermelha (VAN DEN EERTWEGH & CLAASSEN, 1991).

Em geral, dois grandes grupos de células não-linfóides contribuem para o micro-ambiente de órgãos linfóides: células reticulares fibroblásticas e células endoteliais, derivadas de precursores locais e de fagócitos mononucleares, provenientes de um precursor na medula óssea. Ambos os tipos de células não-linfóides são heterogêneas, tendo diferentes fenótipos e funções (DIJKSTRA & KRAAL, 1991).

Elementos não-linfóides da polpa branca incluem fibras de reticulina, macrófagos, metalófilos marginais, macrófagos de corpos tingíveis, células dendríticas foliculares e células interdigitantes características da PALS (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982).

Torres et al (1994), descrevem a histologia do baço normal como tecido esplênico do tipo reticular, com células reticulares, linfócitos e macrófagos, cápsula fibroelástica e trabéculas apontando em direção à região central. Entre a cápsula e a trabécula há pequena quantidade de tecido compacto com vários vasos sanguíneos. Polpa vermelha formada principalmente por seios, apresentando um extensivo plexo de espaços sanguíneos irregulares com dilatações. A polpa branca é constituída por foliculos linfóides com arteríolas centrofoliculares (ramos das artérias trabeculares), localizadas de forma excêntrica em relação aos foliculos. Tais arteríolas mostram-se também envolvidas por capa de linfáticos composta de uma rede de células reticulares e por uma armação de fibras reticulares com grande número de linfócitos. No centro germinativo (CG) são encontrados linfócitos em diferentes fases de

maturação, macrófagos e plasmócitos. A zona marginal é constituída principalmente por linfócitos e células reticulares.

Os achados histológicos do baço de camundongos mostram ser este envolvido por cápsula fibrosa com algumas células musculares lisas. Finas trabéculas partem da cápsula para o interior do órgão, as quais, juntamente com fibras reticulares, formam uma rede, cujos espaços são preenchidos com polpa esplênica. A polpa branca, constituída por tecido linfático, forma lençóis contínuos ao redor de arteríolas. Quando estes nódulos linfáticos exibem arteríola em porção central constituem os corpúsculos Malpighianos. Estes, dependendo do seu estado de atividade, podem exibir área central mais clara, com linfócitos jovens apresentando mitoses. Esta área central é circundada por anel denso de linfócitos maduros pequenos. Os espaços em torno dos seios venosos terminais são preenchidos por polpa vermelha formando cordões esplênicos. Fibras reticulares, células reticulares primitivas e macrófagos fixos, formam uma armação de suporte. Ao lado de elementos linfáticos e de células sangüíneas circulantes estão macrófagos livres, pequenos grupos de mielócitos, eritroblastos e plasmócitos. Desde que a polpa vermelha de camundongos normais contém muitos linfócitos e poucos eritrócitos, esta não é bem demarcada da polpa branca. Megacariócitos são comumente encontrados, embora seu número varie consideravelmente de animal a animal (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961).

Em outro estudo experimental, a histologia dos baços de camundongos sadios revelou ser a maior parte do tecido esplênico constituída pela polpa branca, representada por nódulos de tecido linfóide dotados de células de núcleo pouco denso, com cromatina granular e nucléolo bem evidente e com halo citoplasmático levemente basófilo. Figuras de mitose foram raras. Entre os nódulos linfóides, a polpa vermelha se dispunha em estreitas faixas, com muitas hemácias nos seios venosos e nos cordões esplênicos. Foram observados focos de

mielopoese, identificados pela presença de hemácias nucleadas, leucócitos jovens e megacariócitos (ANDRADE, 1962).

Diferenças histológicas foram, no entanto, observadas entre baços humanos e de roedores. Seio marginal (localizado entre as zonas do manto e marginal) não foi notado em baços humanos e sim nos de ratos e de camundongos. Sendo assim, um retorno de linfócitos do lúmen dos seios venosos para dentro do tecido esplênico é conhecido em baços de roedores, no qual linfócitos migram através das paredes do que é chamado o seio marginal na polpa branca (VAN KRIEKEN & TE VELDE, 1997).

#### **2.4.2 do baço sadio implantado**

Esplenose é o termo utilizado para o auto-implante acidental de tecido esplênico que pode ocorrer após a ruptura traumática do baço (BUCHBINDER & LIPKOFF, 1939). Geralmente os implantes esplênicos são numerosos e estão localizados dentro da cavidade peritoneal; entretanto, esplenose extra-abdominal também pode ocorrer (CARR & TURK, 1992).

Em relato de três casos de esplenose, estudo histológico dos fragmentos dos baços implantados no grande omento revelou cápsulas fibrosas finas e ocasionais folículos linfóides, alguns dos quais projetados através dessa. Estruturas trabeculares incluindo os vasos trabeculares usuais do baço foram ausentes. Alguns folículos apresentaram atividade germinal com artérias pequenas adjacentes e cordões e seios da polpa foram bem formados. No segundo caso relatado pelos mesmos autores, aproximadamente 40 implantes esplênicos foram resgatados do omento, cujo diâmetro variou de 0.3 a 3.0 cm. Tais implantes apresentaram moderada infiltração dos cordões de Billroth por plasmócitos. Não foram observadas: atividade germinal nos folículos, estruturas vasculares e trabeculares, nem

significante atividade fagocítica. Folículos ocasionais estiveram presentes nos cortes histológicos, alguns dos quais externamente à cápsula fibrosa fina; leucócitos polimorfonucleares foram infreqüentes. No 3º caso, múltiplos e pequenos nódulos azul-avermelhados foram notados no mesentério e na superfície serosa dos intestinos. Microscopicamente, foram confirmados serem implantes esplênicos típicos. Nos três casos a cápsula fibrosa estava destituída de tecido elástico e músculo liso, estando também ausentes trabéculas e seus respectivos vasos; entretanto, o número de folículos linfóides por campo de baixo aumento e estruturas da polpa vermelha foram similares aos dos baços originais (FLEMING; DICKSON & HARRISON JÚNIOR, 1976).

Porém, em estudos histológicos de nódulos de esplenose de diferentes pacientes, foi visualizada cápsula colagenosa, contendo poucas fibras musculares lisas e elásticas, assim como trabéculas de tecido conjuntivo, com fibras elásticas emitidas a partir da cápsula e seios venosos bem definidos, contendo em seus lúmens linfócitos, células mononucleares e leucócitos polimorfonucleares. As áreas intersinusoidais exibiram linfócitos e monócitos. Foram vistos muitos folículos linfóides bem definidos em alguns dos casos analisados, mas também coleções indefinidas de linfócitos e ausência de formação de folículos em outro. Os nódulos de esplenose assemelharam-se ao tecido esplênico normal, exceto pela redução no número de folículos linfóides, trabéculas, e, ocasionalmente pelo arranjo atípico de vasos sanguíneos (BUCHBINDER & LIPKOFF, 1939).

Foi sugerido que os achados histológicos exibidos nos implantes esplênicos são dependentes do suprimento sangüíneo local para os tecidos auto-implantados (STEELY et al, 1988; JOHNSON & WEISS, 1989; CARR & TURK, 1992; ALVES et al, 1999), o qual é proveniente das novas artérias que penetram a cápsula derivada do tecido fibroso e do de granulação reativo circundante (FLEMING; DICKSON & HARRISON JÚNIOR, 1976).

Para os implantes inseridos no mesentério, seus vasos originaram-se das artérias mesentéricas e/ou gastroepiplóicas, os localizados no leito esplênico tiveram seus suprimentos sangüíneos dos ramos das artérias esplênica ou gástrica curta, com vasos sangüíneos no tecido conjuntivo em torno do implante, aumentados e numerosos. A remoção do auto-implante esplênico de seus leitos, levou a algum grau de sangramento, três dias após suas implantações, confirmando o desenvolvimento precoce da neovascularização já a esta data, pela recuperação de micro-esferas fluorescentes na periferia dos auto-implantes, quando injetadas através do plexo venoso orbital. Com o tempo, a concentração das micro-esferas aumentou e estas passaram a ser encontradas mais profundamente no parênquima esplênico, fora da polpa branca e da vermelha. Este padrão foi observado quando a polpa branca era ainda rudimentar, representada por bainha linfóide periarteriolar (ALVES et al, 1999).

De fato, em dias precoces após a implantação, um bom suprimento sangüíneo para a porção externa do tecido pode resultar em enxerto esplênico bem desenvolvido; enquanto é escassa a vascularização, mais provável é estar associada a uma estrutura pobremente desenvolvida. Desta forma, implantes esplênicos podem ser histologicamente indistinguíveis do baço normal, apresentando polpa branca bem desenvolvida com arteríolas centrais, centros germinativos focais, distribuição normal de linfócitos T e B (bainhas de linfócitos T periarteriolares, células B confinadas no centro germinativo, exceto por raras células espalhadas dentro da polpa vermelha), estruturas trabeculares e cápsulas ricas em elastina (CARR & TURK, 1992). A regeneração do TCSC adjacente provê ao implante uma cápsula mais espessa, com vários canais vasculares e pequenas trabéculas (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973).

Foi verificado que a formação da polpa branca em auto-enxerto esplênico de camundongos sadios tem início no 5º dia pós-enxertia, é completada ao 28º dia, sendo identificados dois padrões distintos de regeneração. Em um padrão houve o surgimento em

estágios precoces, de folículos contendo somente células B, os quais progrediram para polpa branca, com bainhas de linfócitos periarteriolas pobres desenvolvidas. Em um outro padrão, bainhas de linfócitos periarteriolas surgiram primeiramente, com posterior formação de folículos linfóides na periferia dos mesmos. Essas duas maneiras de re-estruturação da polpa branca, mostraram que as células T surgiram depois das células B, parecendo estar relacionadas ao aparecimento de células estromais com afinidade para cada tipo de linfócito. A imunidade celular pode estar alterada nos auto-enxertos, baseada nas observações em camundongos, de aumento de polpa branca com bainhas de linfócitos pobremente desenvolvidas e no atraso do surgimento de células T; achados estes possivelmente responsáveis pela função incompleta de auto-enxertos em humanos (SASAKI, 1990).

Pouché et al (1986), descreveram não apenas duas, mas três maneiras de regeneração do tecido linfóide a nível experimental, quando da esplenectomia parcial: confluência de mantos linfóides de folículos contíguos, hiperplasia de micro-nódulos linfóides prepeniciliares e expansão de mantos linfóides cobrindo ramificações de artérias centrofoliculares e peniciliares perifoliculares.

Em humanos, são citados casos em que o exame histológico *post-mortem* do baço por infecção fulminante, revelou ausência de trabéculas fibrosas e de vasos associados em esplenose pós-trauma (RICE & JAMES, 1980) e depleção linfocítica e alguma fibrose em implantes esplênicos (MOORE et al, 1983).

Durante o processo de regeneração de implantes esplênicos heterotópicos, células mesenquimais cresceram centripetamente a partir da periferia do implante, juntamente com a formação de uma nova rede de reticulina. A organização de fibras reticulares na polpa branca (PALS, folículo, zona marginal) ocorreu de forma simultânea ao surgimento de células linfóides nestes compartimentos. Considera-se provável que a distribuição de linfócitos e a arquitetura da polpa branca sejam determinadas pela reticulina formada pelas células

reticulares, a partir da transformação das células mesenquimais que penetram o implante esplênico (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982). Durante a 2ª e a 3ª semanas pós-implante, as células do tecido conjuntivo pareceram diferenciar-se em células reticulares esplênicas (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973).

Os linfócitos B e T, por sua vez, também podem estar implicados na regulação da regeneração dos diferentes compartimentos esplênicos, por sobreviverem à quase completa necrose nos implantes avasculares de tecido esplênico, proliferando e migrando para órgãos linfóides e não-linfóides (WESTERMANN & PABST, 1997).

A pesquisa do processo de regeneração da polpa branca em tecido esplênico autotransplantado no grande omento a nível experimental demonstrou que, após três dias do procedimento cirúrgico, todos os implantes apresentaram-se necróticos. Após sete dias, houve regeneração gradual de tecido esplênico na periferia do implante, exibindo hematopoese. No 10º dia, ocorreu acúmulo de linfócitos em torno de arteríolas, semelhante à PALS dos baços normais, mas principalmente constituído por linfócitos B, com escassos linfócitos T; mostrando que a regeneração da polpa branca teve seu início nesta forma de acúmulo de linfócitos. Após duas semanas, a polpa branca apresentou tendência à distribuição na periferia, com linfócitos T e B localizados em PALS e em folículo linfóide, e polpas branca e vermelha se tornaram distinguíveis em todos os implantes. Surgiram ainda células dendríticas foliculares. Com três semanas, zona marginal foi observada em todos os implantes e todos os compartimentos (polpa vermelha, PALS, folículo linfóide e zona marginal) estiveram presentes. Nenhum tecido necrótico foi visto com oito semanas. E com vinte e quatro e quarenta e oito semanas, todos os implantes revelaram estrutura lobular (MAESAWA & SAKUMA, 1992).

Durante a formação da polpa branca em camundongos, foi vista infiltração de linfócitos, formando estrutura não esférica, mas contendo várias células características de um

folículo, como células reticulares e linfócitos aos sete dias de autoenxerto esplênico. Aos dez dias, estrutura esférica da polpa branca foi formada, a partir da PALS, contendo capilares e linfócitos pequenos e escuros, circundados por eritrócitos extravasados. Aos vinte e oito dias, folículo com células reticulares escuras e linfócitos claros apareceram em região excêntrica à bainha periarteriolar, com polpa branca separada da zona marginal por capilares. Comparando ao baço normal, o autoenxerto esplênico em camundongo mostrou proeminente desenvolvimento da camada de fibroblasto entre a polpa branca e a zona marginal, com nítida separação entre estas camadas. Em baço topograficamente localizado, a divisa entre zona marginal e folículo não é evidente, devido à marcada infiltração de linfócitos e a camada de fibroblastos ser pobremente desenvolvida (SASAKI,1990).

Seqüência histológica dos eventos na regeneração dos auto-implantes esplênicos, tem sido analisada experimentalmente no TCSC (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982), na parede abdominal (PERLA, 1936) e no omento gástrico (TORRES et al, 1994).

Nos estágios sucessivos de desvitalização e de regeneração de implantes esplênicos, a necrose já é evidente nas 2 horas seguintes ao procedimento cirúrgico (PERLA, 1936), sofrendo os implantes, rápida degeneração dentro das primeiras 24 horas, permanecendo apenas uma zona fina (rima) de células reticulares viáveis na periferia. Por volta do 3º dia esta rima expande, com proliferação acentuada de células reticulares na zona externa (PERLA, 1936; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982), as quais penetram o centro necrótico do implante (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973) e formam um padrão de seio. A esta época, capilares são encontrados na rima em regeneração, originados de muitos vasos sanguíneos recentemente formados no tecido conjuntivo que circunda o implante; estes atravessam a cápsula em direção à porção necrótica central, com neoformação vascular centrípeta (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; TORRES et al, 1994). Há divergências na

questão temporal da necrose. Esta é dita no 5º dia, ocupar 1/2 do implante e no 6º, cerca de 1/3 em porção central (PERLA, 1936). Porém, ainda foi observada no 7º dia envolver os 2/3 centrais, mas com plasmócitos, macrófagos e linfócitos em processo de formação, e no 14º dia ocupar 1/3 (TORRES et al, 1994) ou estar ausente (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982). No entanto, há consenso que ocorre re-organização celular e estrutural. Regeneração completa se processando do 12º ao 21º dia (PERLA, 1936). Folicúlos linfóides são observados a partir do 21º dia (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982). No 28º dia, o implante exhibe regeneração completa, podendo ser comparado à histologia do baço normal; o suprimento vascular é evidente, a polpa vermelha está definida e a polpa branca apresenta folicúlos linfóides, com linfócitos maduros, CG ativos, PALS e zonas marginais bem diferenciadas (TORRES et al, 1994). Contudo, o aspecto definitivo de polpa vermelha esplênica passa a ser evidente entre o 21º e o 28º dias e apenas no 35º dia, o de polpa branca (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973), com o restabelecimento da integridade histológica dos implantes esplênicos (COONEY et al, 1979). Os primeiros folicúlos secundários são percebidos apenas após 56 dias (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982); no entanto, aos trinta dias pós-implante ainda foram encontrados pouco tecido esplênico e extensas áreas de necrose rodeadas por tecido fibroso, com arquitetura esplênica normal observada aos noventa dias (PETROIANU, 2003a).

A histogênese dos elementos esplênicos na regeneração do implante repete o desenvolvimento ontogenético do baço, sendo sugerido que os elementos principais deste órgão têm uma origem comum no retículo mesenquimal. Células reticulares de baços adultos parecem reter sua potencialidade para diferenciação e podem ser as precursoras dos elementos celulares estruturais, podendo vir a constituir o tecido linfoblástico. Filogeneticamente, é possível que a polpa inteira do baço (vermelha e branca) se desenvolva a partir de um retículo mesenquimal ancestral comum (PERLA, 1936). Com o processo de regeneração claramente

se originando da camada periférica, que escapou do processo degenerativo, sofrido pela porção central do implante (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973).

Há um relato que, mesmo após 10 semanas da realização do auto-implante esplênico na cavidade abdominal, a zona marginal, um achado típico de qualquer baço murino intacto, esteve rudimentar ou ausente (ALVES et al, 1999). Este estudo contrasta com outro que afirma que o tamanho da polpa branca e a espessura da zona marginal em auto-enxerto esplênico, é praticamente a mesma que a do baço normal (SASAKI,1990).

Biópsia após 13 meses de implantação de fragmento de baço, devido a osteopetrose congênita em humanos, revelou abundante tecido eritropoiético (BENJAMIN et al, 1978). Quatorze dias após auto-implante esplênico, existiam na área de regeneração pequenas células com núcleo escuro, correspondendo a precursores de eritrócitos (TORRES et al, 1994).

Com relação às características de crescimento do baço, distintos processos celulares mostraram influenciar no ganho ponderal dos mesmos. Trinta dias após o implante, o aumento no peso do fragmento esplênico esteve atribuído às lesões inflamatórias pós-cirúrgicas, principalmente presentes no parênquima próximo à superfície de corte, sem nenhuma significância regenerativa. Passados 90 dias, houve reajuste da trama vascular do folículo malpighiano, devido à proliferação capilar dentro dos nódulos linfóides (hiperplasia vascular intrafolicular), com proliferação simultânea de vasos prepeniciliares (hiperplasia vascular perifolicular). Ocorreu a formação de nova estrutura, reproduzindo as características morfológicas foliculares (desenvolvimento hiperplásico angiolímfóide). A hiperplasia envolveu essencialmente a polpa branca, consistindo em substrato anatômico de restauração funcional de hematopoese e de imunidade. A polpa vermelha não mostrou regeneração real, mas hiperplasia, sugerindo uma reação tecidual de adaptação (POUCHÉ et al, 1986).

Animais que foram submetidos à esplenectomia parcial tiveram segmentos esplênicos significativamente menores do que os baços intactos. Implantes esplênicos foram ainda

menores do que os segmentos esplênicos resultantes da esplenectomia parcial. O peso médio do tecido esplênico removido de cada grupo experimental correspondeu a 0.49 g (enxerto esplênico), 0.6 g (esplenectomia parcial) e 1.1 g (controles) (COONEY et al, 1979).

Em modelo experimental de sepse estreptocócica, os auto-implantes de baços recuperados dos animais previamente saudáveis que morreram de sepse, foram mais pesados em alguns grupos, do que aqueles dos sobreviventes, que removeram os organismos infecciosos. Histologicamente, sendo explicado pelo aumento no edema e na resposta inflamatória vistos nos animais que sucumbiram à sepse. Em geral, os pesos dos auto-implantes cresceram à medida que a percentagem dos pesos dos fragmentos implantados aumentava. Mas o implante maior que 25% do peso do baço, entretanto, resultou em perda de 40-50% no peso do fragmento esplênico, quando recuperado à autópsia. Exame histológico revelou acréscimo na quantidade de fibrose, de hemorragia e de necrose, com alguma diminuição no número de folículos linfóides da polpa branca, nos auto-implantes de 100% do baço, quando comparado aos de 25%. Podendo a necrose e a fibrose nos grandes implantes serem devido à inabilidade do crescimento limitado de capilares para suprir o tecido esplênico (STEELY et al, 1988).

Em outro estudo de sepse pneumocócica, exame *post-mortem* dezoito semanas após o auto-implante de baço no omento, demonstrou regeneração em todos os fragmentos de tecido esplênico. O volume do tecido recuperado foi aproximadamente três vezes o do implantado, sendo histologicamente indistinguível do baço normal (PATEL et al, 1982).

Auto-implante esplênico intraperitoneal de todo e de metade do baço, em camundongos expostos ao *Streptococcus pneumoniae* oito semanas após o procedimento cirúrgico, foi analisado histologicamente cerca de três semanas pós-infecção bacteriana. O tecido esplênico de ambos os grupos auto-implantados diferiu dos baços normais somente em relação a dois aspectos: 1) esteve distribuído em múltiplos nódulos circundados por uma

pseudocápsula fibrótica, espessa e 2) o suprimento sanguíneo para cada nódulo consistiu de vários pequenos vasos penetrando em um lado do implante (DICKERMAN et al, 1979).

O peso do baço esteve em função do peso do animal. Já o peso dos implantes esplênicos recuperados mostrou-se em função do volume implantado, do intervalo de tempo decorrido entre a colocação e o resgate e da seqüência dos eventos da regeneração. Existiu correlação linear entre o peso do tecido implantado e o recuperado, para implantes pesando menos que 100 mg; com o rato como animal de experimentação. Para os maiores que este valor, não existiu correspondente aumento, com até mesmo discreta diminuição no peso do tecido recuperado (devido à taxa de regeneração ser significativamente mais lenta, quando comparada à da necrose; com grandes implantes a necrose prosseguiu e a parte central colapsou antes que o processo regenerativo pudesse alcançá-la). Pedacos de tecido menores que 02 mg regeneraram bem. No tocante à variante temporal, durante os primeiros dois dias, ocorreu uma discreta diminuição no peso do implante, com posterior aumento discreto nos quatro dias seguintes. Durante a segunda semana reduziu menos que 10% do seu peso original e permaneceu baixo por vários dias. Durante a 4ª semana, ocorreu um segundo ganho no peso e no final da 5ª semana, o peso do implante estabilizou acima do peso original do tecido. Essas alterações no peso se correlacionaram com a seqüência de eventos histogenéticos necessárias à completa regeneração do implante. A camada externa foi sempre mais diferenciada do que a zona central, e desta forma, em grandes implantes a zona periférica pôde ter o tecido esplênico desenvolvido de forma definitiva, enquanto a zona central não teve mais do que uma camada de células do tecido conjuntivo proliferando e penetrando na zona necrótica. Já pequenos implantes atingiram o definitivo quadro histológico do baço em um menor período de tempo (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973).

Para que seja possível atribuir que as modificações histológicas observadas em tecido esplênico, resultante de auto-implante, correspondam a processo real de regeneração, a avaliação da capacidade funcional do referido tecido se faz necessária.

Contribuição significativa a esta questão supracitada, foi conferida por Adeodato (2004), que verificou que as populações de linfócitos CD4, CD8 e CD45RB foram restabelecidas nos auto-implantes esplênicos de camundongos saudáveis e esquistossomóticos, quando estudados pela citometria de fluxo, de forma comparativa com o baço intacto e com o remanescente esplênico vascularizado. A exposição à doença esquistossomótica e/ou a exposição à intervenção cirúrgica não produziram alterações nessas subpopulações celulares.

No entanto, a determinação dos subtipos de linfócitos (B, T, CD4+ e CD8+) no sangue não parece ser de valor para predizer a função protetora dos remanescentes esplênicos ou dos auto-implantes (WILLFÜHR, WESTERMANN & PABST, 1992).

Por outro lado, estudos experimentais asseguram que tecido esplênico residual contribui para a produção de anticorpos (AIGNER et al, 1980; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982) e assim proporciona proteção contra infecções bacterianas (LIKHTE, 1975; COONEY et al, 1979; DICKERMAN et al, 1979; VEGA et al, 1981; BRADSHAW & THOMAS JR, 1982a, 1982b; HORTON et al, 1982; PATEL et al, 1982; STEELY et al, 1988; WILLFÜHR; WESTERMANN & PABST, 1992).

#### **2.4.3 do baço com esquistossomose mansônica**

A esplenomegalia na forma hepatoesplênica da esquistossomose foi principalmente atribuída à expansão congestiva da polpa vermelha, em consequência à dilatação dos seios venosos e por espessamento difuso de suas paredes, juntamente com o alargamento da trabécula fibrosa, com relativa, mas não absoluta, diminuição da polpa branca. O

espessamento dos cordões esplênicos cursou com o aumento nos componentes da matriz, especialmente colágeno tipo IV e laminina. Depósito de colágeno intersticial (tipos I e III) ocorreu em pequenas áreas focais da polpa vermelha, fora das paredes dos seios venosos, nos folículos linfóides, na zona marginal, na proximidade das trabéculas fibrosas e nos nódulos sidero-escleróticos. Ultra-estruturalmente, paredes dos seios venosos foram delimitadas por membrana basal contínua, duas vezes mais espessa que o habitual, e circundadas por esplenócitos e eventualmente, por macrófagos, plasmócitos e linfócitos. Cápsula, septo e trabécula mostraram espessamento proporcional ao aumento global no peso e no volume do baço, com vasos sangüíneos no interior da trabécula sem alterações evidentes, sendo de diferença estatística significativa a espessura da trabécula e não a da cápsula, em relação ao órgão sadio. Folículos linfóides apresentaram variados graus de hiperplasia (com área central folicular clara), de atrofia e de fibrose, consistindo em alterações imprevisíveis; por vezes todas estas vistas, em diferentes folículos em mesma secção de baço examinada. Material hialino, observado no centro de alguns folículos, mostrou-se positivo para gamaglobulina, e esteve presente também dentro do citoplasma de células plasmocitárias em muitas áreas do baço (FREITAS et al, 1999).

Histologicamente, a esplenomegalia esquistossomótica corresponde a uma hiperplasia linfo-reticular, tendo início já no terceiro dia após a infecção (estágio toxêmico). As alterações se tornam mais evidentes após quarenta dias, provavelmente como um resultado da maior atividade fagocítica, devido à destruição dos parasitas adultos e dos ovos nos tecidos do hospedeiro. Em comparação à infecção única, a re-infecção exhibe lesões hiperplásicas esplênicas mais exuberantes, sendo cada vez mais intensas à medida que ocorre a intervalos de tempo mais curtos, de forma semanal ou diária (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961).

Em relação à seqüência evolutiva das alterações esplênicas na esquistossomose, quatro etapas distintas foram identificadas: a 1<sup>a</sup> correspondendo à fase de hiperplasia folicular, caracterizada por aumento do centro reacional do folículo; a 2<sup>a</sup> ao apagamento do folículo, com limites menos precisos; a 3<sup>a</sup> ao espessamento progressivo do retículo esplênico, com acentuada celularidade da polpa vermelha, e presença de vários monócitos, linfócitos grandes, médios e pequenos, plasmócitos, macrófagos e granulócitos; a 4<sup>a</sup> à fibrose dos cordões de Billroth, da cápsula e das trabéculas, com redução no número e atrofia dos folículos linfóides, congestão da polpa vermelha de grau variável e persistência da hiperplasia celular desta polpa (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1960).

Em estudo realizado por Andrade (1962) sobre esquistossomose, baços exibiram na polpa branca, figuras de mitose proeminentes nos folículos linfóides, nas primeiras semanas e raras células contendo gamaglobulina. Com o avanço da infecção surgiram nesta polpa muitas células reticulares, em contraste com os baços saudáveis. As alterações na polpa vermelha variaram segundo a fase da infecção: da segunda até a oitava semana após a infecção, esta foi muito celular e a partir daí até a décima oitava semana se tornaram mais evidentes os achados congestivos. Além da hiperplasia e da hipertrofia das células reticulares dos cordões esplênicos e dos seios venosos, surgiram células com moderada ou intensa pironinofilia citoplasmática, exibindo vários graus intermediários de diferenciação plasmocitária; a maioria exibiu citoplasma abundante, denso e núcleo arredondado, ligeiramente excêntrico, com nítida membrana nuclear, cromatina dispersa em grãos grosseiros e nucléolo pouco evidente. Aumento progressivo no número de células expressando gamaglobulina, identificadas como plasmócitos pela presença de núcleo excêntrico, se tornou particularmente numeroso por volta da décima oitava semana. A presença de ovos de *S. mansoni* foi registrada excepcionalmente, com numerosos eosinófilos na polpa vermelha (ANDRADE, 1962).

O trabalho desenvolvido por Andrade & Andrade (1965) apresenta resultados semelhantes ao descrito anteriormente pelo mesmo autor (ANDRADE, 1962) no que diz respeito às alterações hiperplásicas e atróficas da polpa branca, aos aspectos congestivos, à ocorrência freqüente de focos de mielopoese e de plasmocitogênese e à pouca freqüência de espessamento colágeno dos seios venosos. E, de forma adicional, identifica células de permeio às reticulares na polpa vermelha: eosinófilos, polimorfonucleares e ocasionais mastócitos, além da disposição multilobar da vascularização esplênica e de circulação fechada, sugerindo que os seios venosos possam funcionar como fistulas arteríolo-venulares intra-esplênicas. Observa como achados pouco freqüentes: pigmento no citoplasma de células reticulares, a não apresentação de reação para ferro ou cálcio, nem coloração pelo P.A.S., bem como evidências de leuco ou eritrofagocitose.

Contrastando com os achados de alterações fibróticas descritas por Magalhães Filho & Coutinho-Abath (1960), Andrade & Andrade (1965) não verificaram proliferação fibroblástica esplênica em nenhum dos 318 casos estudados em humanos. A fibrose foi um achado excepcional; com feixes colágenos nos cordões esplênicos surgindo em torno de arteríolas (fibrose adventicial), como seqüela de focos hemorrágicos por ruptura vascular (nódulos de Gandy-Gamna), e na periferia de alguns folículos linfóides.

Em baços humanos de portadores da FHE da esquistossomose mansônica foram observados espessamento capsular e septal por deposição colágena. PALS e folículos secundários com grande CG foram visualizados, com área folicular 17,2% maior que a observada em baços saudáveis. Zonas marginal e do manto foram individualizadas. Os sinusóides foram dilatados e congestos e ocasionais nódulos de Gandy-Gamma foram vistos. Células T CD3<sup>+</sup> foram especialmente encontradas na PALS, enquanto T CD4<sup>+</sup>, TCD8<sup>+</sup> e células B CD22<sup>+</sup> predominaram nos centros foliculares (SANTOS et al, 2000).

A média dos pesos dos baços de camundongos acometidos pela doença esquistossomótica esteve aumentada, exibindo diferenças estatísticas, quando comparada aos seus controles (animais sadios). Esta diferença foi ainda maior no grupo de animais em que houve re-infecção diária, durante cinco dias consecutivos, em relação aos que foram infectados semanalmente ou de forma única (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961).

Na FHE da esquistossomose, o baço pode aumentar de até dez, ou mais vezes, o seu volume normal (KELNER, 1992). O peso de baços em humanos variou de 420 a 2540 g (FREITAS et al, 1999), sendo categorizada a esplenomegalia como de média intensidade para valores de baço entre 400-650 g e, acentuada, além de 650 g (RASO, 1995). Em modelo experimental, a média do peso dos baços de camundongos mantidos em dieta habitual, dezesseis semanas após infecção com cercárias foi de 327 +/- 107 mg e de correspondentes malnutridos correspondeu a 78 +/- 29 mg (COUTINHO et al, 1997).

## **OBJETIVOS**

### 3.1 Geral

Avaliar, através de estudo histológico, a regeneração de fragmentos de baço implantados no grande omento (auto-implantes), em camundongos saudáveis e na fase crônica da esquistossomose mansônica, submetidos à esplenectomia total e ao auto-implante esplênico de parte do baço.

### 3.2 Específicos

- ❖ Verificar histologicamente a ocorrência ou não da regeneração dos auto-implantes de camundongos saudáveis e na fase crônica da esquistossomose, comparando-os com a porção não-implantada do baço dos respectivos animais, obtida por ocasião da realização de esplenectomia total, seguida do auto-implante de parte do baço;
- ❖ Observar se há diferença nos achados histológicos da regeneração dos auto-implantes esplênicos, entre camundongos saudáveis e na fase crônica da esquistossomose;
- ❖ Avaliar o número, o tipo de material antigênico e a localização de granulomas esquistossomóticos nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço.

## **MATERIAL E MÉTODO**

#### **4.1 Desenho cronológico do estudo**

O estudo em modelo experimental, sob o ponto de vista cronológico, foi elaborado em três tempos distintos e complementares entre si:

##### **4.1.1 Primeiro tempo – Infecção esquistossomótica**

Foram utilizados para este estudo 32 camundongos albinos não-isogênicos, fêmeas adultas, oriundos do biotério do GIDE da UFMG. Dezesesseis destes foram infectados com aproximadamente 25 cercárias de *Schistosoma mansoni* (cepa Belo Horizonte - BH/MG) aos 02 meses de vida (grupo E), conforme técnica rotineira do biotério, que consiste na injeção de 01 ml da suspensão de cercárias em solução fisiológica, no TCSC da nuca do animal (PELLEGRINO & MACEDO, 1955); dezesseis animais sadios da mesma linhagem, sexo e idade foram mantidos como controles, nas mesmas condições de vida do biotério, com ração e água *ad libitum* (grupo S).

##### **4.1.2 Segundo tempo – Operações e obtenção da porção não-implantada do baço**

Aos 180 dias de vida, 120 dias após a infecção pelo *S. mansoni*, espaço de tempo em que, no grupo de camundongos com esquistossomose, são esperadas as alterações fisiopatológicas da forma crônica da doença, cada animal dos grupos S e E foi submetido a esplenectomia total, seguida do auto-implante de fatias de parte do baço no grande omento. Na ocasião do procedimento cirúrgico, a porção do baço que não foi implantada foi destinada para estudo histopatológico (HP), mantida a divisão por grupos e criando-se os subgrupos S1

e E1. Ao final das cirurgias, os animais foram reconduzidos à rotina de alimentação e demais condições de vida do biotério.

#### **4.1.3 Terceiro tempo – Sacrifício dos animais e obtenção dos auto-implantes esplênicos**

Oito semanas após o procedimento cirúrgico todos os animais do estudo foram sacrificados, sendo removidos para estudo HP os fragmentos de baços implantados na cavidade abdominal, os quais passaram a integrar os subgrupos S2 e E2. Também o fígado de cada animal foi retirado e destinado para estudo HP, com o objetivo de confirmar ou excluir as alterações decorrentes da esquistossomose, na sua fase crônica.

#### **4.2 Anestesia dos animais**

Os animais foram inicialmente sedados com diazepam, cerca de 04 minutos antes de praticado o procedimento cirúrgico: esplenectomia total, com auto-implante esplênico. Em cada camundongo foi injetado em seringa milimetrada 0,05 ml de diazepam (Diempax® 10 mg - 02 ml) na dose de 0,25 mg, via intraperitoneal.

Em seguida foram pesados e colocados à mesa de operação (Anexos 1 e 2). Realizada anti-sepsia com solução iodada e tricotomia do hipocôndrio esquerdo com lâmina de barbear, sendo então os animais anestesiados com 0,05 ml da diluição de pentobarbital sódico (100 mg - 02 ml) em 4,7 ml de água destilada, correspondendo na dose de 0,75 mg, via intraperitoneal.

### 4.3 Procedimentos cirúrgicos

As intervenções cirúrgicas foram realizadas no Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da UFMG, em condições de anti-sepsia, com campos e instrumental esterilizados para cada grupo operado.

Através de uma incisão oblíqua no flanco esquerdo, após anti-sepsia da pele com solução de PVPI a 10 %, o baço foi mobilizado, sendo os pedículos vasculares ligados com fio de algodão 3-0 para a remoção do órgão.

Após a remoção dos baços inteiros, os mesmos foram micropesados em balança de precisão METTLER AE 50, sobre papel de alumínio esterilizado, sendo em seguida fatiados no sentido transversal, com espessura aproximada de 1,0 mm. O tecido esplênico não-implantado na cavidade abdominal foi micropesado sobre papel de alumínio não-estéril. Obteve-se o peso do tecido esplênico auto-implantado por subtração do peso do baço inteiro pelo peso da porção não-implantada do baço (Anexos 1 e 2).

O auto-implante consistiu na colocação de 05 fatias do baço em bolsa confeccionada no omento maior, ao longo da grande curvatura do estômago, correspondendo ao volume de cerca de  $2/3$  do peso total do baço, no caso de animais sadios, e ao volume de aproximadamente  $1/2$  do peso total do órgão, no caso de animais na fase crônica da esquistossomose. A incisão foi suturada em 02 planos, músculo-aponeurótico e tela subcutânea-pele, respectivamente, com chuleio simples de fio de seda 5-0. Os animais foram observados até assumirem a função motora, retornando às condições usuais do cativeiro, em gaiolas separadas por subgrupo.

Atenção especial foi dedicada à presença ou não de baços acessórios, quando do ato operatório.

#### **4.4 Acompanhamento e evolução pós-operatórios**

Os animais foram numerados e identificados sequencialmente por marcação de ácido pícrico na cabeça, dorso e patas; foram acompanhados em relação ao comportamento, à alteração do peso, à atividade motora, ao apetite e ao estado dos pêlos. Foram mantidos em gaiolas separadas por subgrupos, limpas 02 vezes por semana, sob as mesmas condições de vida do biotério, sendo oferecidas ração e água *ad libitum*; desde o início da pesquisa.

Nos momentos críticos, *i.e.*, pós-operatório até o 7º DPO, foram observados a cada 6 horas. Animais que apresentassem alterações nos parâmetros estudados eram isolados dos demais em gaiolas separadas para observação mais próxima da sua evolução individualizada; observações diárias foram registradas em protocolos individuais.

#### **4.5 Sacrifício dos animais**

Oito semanas após o procedimento cirúrgico de auto-implante esplênico, os camundongos foram sacrificados por secção medular, através de deslocamento cervical, sob anestesia por inalação de éter sulfúrico. Em seguida, colocados em decúbito dorsal, sendo realizada laparotomia ampla, na forma de “H” deitado e autopsiados, com retirada dos fígados e dos auto-implantes esplênicos, os quais foram pesados e encaminhados para estudo anatomopatológico (Anexos 1 e 2).

As peças cirúrgicas de cada animal foram colocadas em recipientes separados e identificadas.

## **4.6. Macroscopia**

### **4.6.1 do fígado**

Foi observado à necropsia o aspecto macroscópico de todos os fígados dos animais, quanto ao peso, à cor, a superfície externa e de corte, sendo os órgãos em seguida colocados em recipientes separados com formol a 10% tamponado.

### **4.6.2 do tecido esplênico**

Em todos os animais, foi observado por ocasião do procedimento cirúrgico o aspecto macroscópico do baço inteiro, da porção não-implantada do baço e dos fragmentos esplênicos auto-implantados quanto ao peso, à cor e à superfície externa.

Após o sacrifício dos animais esses mesmos parâmetros de estudo acima descritos foram também verificados para os fragmentos esplênicos resgatados após o auto-implante e de forma adicional registrado o número de fragmentos recuperados (Anexos 1 e 2).

Todo o material retirado dos camundongos foi acondicionado em recipientes individualizados contendo formol a 10% tamponado para fixação dos tecidos e submetidos a estudo HP posterior.

## **4.7 Microscopia**

### **4.7.1 do fígado**

Os fígados resgatados de todos os animais foram analisados histologicamente pelas colorações da Hematoxilina & Eosina (H.& E.) e do Tricrômico de Masson, seguindo-se ao processamento técnico-laboratorial incluindo desidratação em álcool a concentrações crescentes, lavagem em xylol, emblocamento em parafina e cortes histológicos em secções de 04  $\mu$  no micrótomo. O estudo pela microscopia óptica incluiu a verificação dos parâmetros histológicos de normalidade (preservação arquitetural, ausência de estruturas e/ou células consideradas como estranhas, alteradas em número, forma ou aspecto citológico) e das alterações hepáticas decorrentes do acometimento pela doença esquistossomótica em sua fase crônica.

### **4.7.2 do tecido esplênico**

A porção não-implantada de baço e os auto-implantes esplênicos resgatados à necrópsia dos animais foram submetidos ao mesmo processamento laboratorial para confecção de lâminas de histologia, como descrito para o tecido hepático.

Na avaliação histológica da capacidade de regeneração dos auto-implantes esplênicos de camundongos foi considerado o desenvolvimento da polpa vermelha com quantificação da celularidade (leucócitos, plasmócitos, precursores eritrocitários, hemácias e megacariócitos) presente nos seios e sinusóides; da polpa branca, o tecido linfóide, com as regiões perifoliculares (tecido linfóide extrafolicular) e centrofoliculares, sendo analisado o grau de ativação folicular, através da verificação de linfócitos de tamanhos médio e grande e de

figuras de mitose no CG; o tecido fibroso, pela espessura da cápsula e das trabéculas e a intensidade da fibrose intersticial quando presente (em áreas focais da polpa vermelha e nas proximidades das trabéculas fibrosas); a vascularização, pelo estudo dos vasos trabeculares, das artérias centrais, das artérias foliculares e suas ramificações, das artérias peniciliares, dos vasos capilares sanguíneos e dos sinusóides da polpa vermelha; a formação de granulomas, considerando o número, o tipo de material antigênico (ovo viável, ovo não viável, casca de ovo de *S. mansoni*) e a localização dos mesmos no parênquima esplênico (central e periférica); a presença de pigmento acastanhado, disposto de forma intra-citoplasmática em células macrofágicas, no interstício celular ou depositado em tecido fibroso.

As mesmas variáveis histológicas foram também estudadas na porção não-implantada do baço dos respectivos animais, para efeito de comparação entre os subgrupos.

Gradações para espessura da cápsula e das trabéculas, incluíram espessa, média e fina.

Fibrose intersticial, folículos linfóides, linfócitos de tamanhos médio e grande no CG dos folículos, tecido linfóide extrafolicular, vascularização, leucócitos polimorfonucleares, plasmócitos, células da série eritrocitária incluindo precursores eritrocitários e hemácias, megacariócitos e pigmento acastanhado foram graduados quanto a verificação em ausente, mínima, + (leve), ++ (moderada) e +++ (intensa).

Figuras de mitose no centro germinativo, PALS e granulomas foram registrados quanto a sua presença ou ausência.

A análise histológica foi realizada por dois patologistas em momentos diferentes, entrando em um consenso quando da discordância em quaisquer dos parâmetros histológicos, quanto à graduação estipulada por cada um em separado. Tendo sido ao final, criada uma única tabela para cada item estudado (Anexos 3 a 7).

#### 4.8 Análise estatística

Testes do Qui-Quadrado foram aplicados aos resultados do estudo histológico da porção não-implantada do baço e dos auto-implantes, de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose, analisando os valores entre os subgrupos de um mesmo grupo (S1 e S2, E1 e E2) e entre subgrupos semelhantes de grupos diferentes (S1 e E1, S2 e E2). Quando a frequência esperada foi menor que 5, foi utilizado o Teste de Fisher.

Para comparação entre os grupos S (sadios) e E (esquistossomóticos) das médias dos pesos: dos animais, dos baços inteiros, dos fragmentos de baços auto-implantados, dos fragmentos de baços resgatados a autópsia, dos fígados; dos números de fragmentos esplênicos resgatados a autópsia e das variáveis relativas ao estudo dos granulomas, foi utilizado o teste t de Student para duas amostras homoscedásticas, teste bicaudal.

Foram consideradas diferenças estatisticamente significantes, para valores de  $p < 0,05$ .

Percentagem simples foi realizada, referente ao valor do peso dos fragmentos esplênicos implantados e aos resgatados após auto-implantes, em ambos os grupos de animais (S e E).

## **RESULTADOS**

## 5.1 Macroscopia

### 5.1.1 do fígado

Os fígados obtidos ao tempo do sacrifício apresentaram-se nos animais sadios com as superfícies externa e de corte, acastanhadas e lisas, e, nos portadores da fase crônica da esquistossomose, os fígados eram maiores, exibiram, a superfície externa acinzentada, opaca, levemente irregular e a superfície de corte compacta, acinzentada, e com discretas áreas pardacentas.

Existiu diferença estatisticamente significativa ao serem comparadas as médias dos pesos dos fígados ( $p < 0,001$ ) dos grupos de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose (Tabela 1).

**Tabela 1.** Médias dos pesos, em gramas, dos fígados em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

	<i>Grupo S</i>	<i>Grupo E</i>	<i>Teste t de Student</i>
Fígado	1,8940	2,7182	$p < 0,001$

### 5.1.2 do tecido esplênico

Os baços dos animais removidos por ocasião da esplenectomia eram significativamente aumentados em volume nos camundongos do grupo E, em relação aos do grupo S (Tabela 2). Independente do grupo, todos os baços exibiram a superfície externa lisa, violácea. Ao serem seccionados transversalmente para obtenção da porção não-implantada e dos fragmentos para o auto-implante no grande omento, a superfície de corte era compacta,

violácea. Os fragmentos esplênicos resgatados à necropsia, após o auto-implante, apresentaram-se aderidos aos sítios de implantação, a maioria ao grande omento e ao pâncreas, e em menor proporção às paredes gástrica e intestinal.

Não foram observados baços acessórios.

Existiu diferença estatisticamente significativa ao serem comparadas as médias dos pesos dos baços inteiros ( $p < 0,0001$ ) e dos fragmentos de baços implantados ( $p < 0,0001$ ), dos grupos de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose. Não houve diferença ao se comparar as médias dos pesos dos animais e dos fragmentos esplênicos resgatados após o auto-implante (Tabela 2).

**Tabela 2.** Médias dos pesos, em gramas, dos animais e dos tecidos esplênicos, em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

<i>Médias dos pesos</i>	<i>Grupo S</i>	<i>Grupo E</i>	<i>Teste t de Student</i>
Animais	34,1875	34,2375	$p > 0,05$
Baços Inteiros	0,1125	0,2829	$p < 0,0001$
Fragmentos Implantados	0,0708	0,1426	$p < 0,0001$
Fragmentos Resgatados	0,0908	0,0770	$p > 0,05$

O volume esplênico implantado correspondeu a aproximadamente 2/3 (62,93%) do peso do baço inteiro, no grupo de animais sadios e a 1/2 (50,39%) no grupo de animais na fase crônica da esquistossomose (Tabela 3).

No grupo de animais sadios, ocorreu um aumento na média dos pesos dos fragmentos esplênicos resgatados à data do sacrifício, em relação à média dos pesos dos fragmentos esplênicos auto-implantados, à pesagem por ocasião do auto-implante, correspondendo a um ganho de 28,16%. Nos animais com esquistossomose, a média dos

pesos dos fragmentos esplênicos resgatados equivaleu a aproximadamente metade (53,99%) dos pesos dos fragmentos auto-implantados (Tabela 3).

**Tabela 3.** Percentuais dos pesos, em gramas, dos fragmentos esplênicos implantados em relação aos dos baços inteiros e dos fragmentos esplênicos resgatados em relação aos implantados, em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

	<i>Grupo S</i>	<i>Percentagem</i>	<i>Grupo E</i>	<i>Percentagem</i>
Baços Inteiros	0,1125		0,2829	
Fragmentos Implantados	0,0708	62,93	0,1426	50,39
Fragmentos Resgatados	0,0908	28,16	0,0770	- 53,99

## 5.2 Estudo histológico

### 5.2.1 do tecido hepático

Todos os fígados dos animais do grupo S (sadios) exibiram aspecto microscópico dentro dos padrões da normalidade, sem evidências de acometimento pela doença esquistossomótica (Fig. 1).

O exame histológico confirmou a presença de alterações parenquimatosas características do acometimento hepático na fase crônica da esquistossomose. Foram observados no espaço porta e periportal: fibrose, infiltrado inflamatório variável, neoformação vascular e granulomas, por vezes contendo ovos, miracídeos ou vermes do parasito (Figs. 2 a 4).

### 5.2.2 do tecido esplênico

Foi observada uma maior espessura da cápsula esplênica neoformada nos auto-implantes esplênicos, tanto dos animais sadios (Fig. 5), quanto dos portadores de esquistossomose (Fig. 6), com valores estatisticamente significativos ( $p < 0,001$ ) quando comparados à porção não-implantada dos respectivos baços (Figs. 7 e 8). Não houve diferença estatisticamente significativa ao serem comparados os dois subgrupos de auto-implantes entre si (Tabela 4).

Com relação à espessura da trabécula esplênica, houve diferença estatística significativa entre a porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose ( $p= 0,01$ ) (Tabela 4).

A fibrose intersticial esteve ausente ou foi leve na porção não-implantada do baço de ambos os subgrupos de animais (Figs. 9 e 10), assumindo intensidade moderada e intensa apenas nos auto-implantes esplênicos (Figs. 11 e 12). A diferença foi estatisticamente significativa ao serem comparados os auto-implantes esplênicos com sua respectiva porção não-implantada ( $p < 0,001$ ) (Tabela 4).

A presença de folículos linfóides não diferiu de forma significativa no tecido esplênico de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose, quer de auto-implantados ou de porção não-implantada (Tabela 5).

Linfócitos de tamanhos médios e grandes no centro dos folículos linfóides foram observados em maior quantidade na porção não-implantada do baço de animais portadores de esquistossomose (Figs. 13 e 14), com diferenças estatisticamente significativas em relação aos auto-implantes (Figs. 15 e 16) dos mesmos animais ( $p < 0,001$ ) e à porção não-implantada (Fig. 17) dos animais sadios ( $p < 0,01$ ), mas não ao se comparar este último subgrupo com os seus respectivos auto-implantes (Figs. 18 a 20) (Tabela 5).

Mitoses estiveram presentes de forma freqüente nos centros germinativos do tecido esplênico de todos os subgrupos de animais, não estando ausente em nenhuma das porções não-implantadas dos baços de animais com esquistossomose. Em relação à freqüência de figuras de mitose nos centros germinativos, não ocorreu diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos de animais sadios, nem entre os subgrupos de animais com esquistossomose, nem ao se comparar os subgrupos com a porção não-implantada do baço entre si ou com auto-implantes (Tabela 5).

Em todos os subgrupos de animais estudados, PALS foram observados, não sendo ausente em nenhum deles (Fig. 21) (Tabela 5).

Foi verificada uma maior expressão de linfócitos em áreas extrafoliculares nos subgrupos de animais submetidos ao auto-implante (Fig. 22); esta diferença foi estatisticamente significativa entre os subgrupos de animais sadios ( $p=0,01$ ) (Tabela 5).

A vascularização foi de intensidade moderada e intensa em praticamente todos os tecidos esplênicos estudados, com exceção de apenas um auto-implantado de animal sadio, o qual foi leve. Não existiu diferença estatística entre os subgrupos de animais sadios, nem entre os subgrupos de animais auto-implantados (Tabela 6).

Leucócitos polimorfonucleares estiveram presentes em maior número nos subgrupos de animais auto-implantados (Fig. 23). Houve diferença estatisticamente significativa entre os subgrupos de animais sadios entre si ( $p<0,05$ ) e entre os subgrupos de animais portadores de esquistossomose entre si ( $p<0,01$ ) (Tabela 7).

Precusores eritrocitários (Fig. 24) foram observadas em todos os subgrupos de animais, sem diferença estatística entre os mesmos (Tabela 7).

Foi verificada uma maior quantidade de hemácias na polpa vermelha de tecidos esplênicos de camundongos na fase crônica da esquistossomose, tanto nos auto-implantes

quanto na porção não-implantada do baço, quando comparados aos respectivos subgrupos de animais sadios, sem diferença estatisticamente significativa entre eles (Tabela 7).

Em nenhum dos tecidos esplênicos dos animais com esquistossomose deixou de ser verificada a presença de plasmócitos (Figs. 25 a 27) ou estes estiveram presentes em quantidade mínima. Diferenças estatisticamente significativas existiram entre os animais sadios e os portadores de esquistossomose, ao se comparar quer as porções não-implantadas dos baços ( $p < 0,001$ ), quer os auto-implantes ( $p < 0,001$ ) entre si (Tabela 7).

Megacariócitos ocorreram em maior número nos auto-implantes esplênicos, tanto dos animais sadios (Fig. 28), quanto dos portadores de esquistossomose (Fig. 29), tendo esses subgrupos apresentado diferenças estatísticas significativas em relação à porção não-implantada do baço dos respectivos animais ( $p < 0,01$ ) (Tabela 7).

Pigmento acastanhado foi detectado em moderada e intensa quantidade no tecido esplênico auto-implantado de animais na fase crônica da esquistossomose (Figs. 30 e 31), disposto no interior de células fagocitárias ou de forma extracelular, depositado em tecido fibroso intersticial e cicatricial, sendo a diferença estatisticamente significativa ao ser comparado com o subgrupo de auto-implantes de animais sadios (Tabela 8).

A média do número de fragmentos esplênicos auto-implantados e resgatados à data do sacrifício dos animais, não diferiu entre os subgrupos de animais sadios e com esquistossomose (Tabela 9).

A média do número total de granulomas pelo número total de casos com granulomas, bem como a média do número total de granulomas contendo ovos viáveis (Figs. 32 a 34), ou cascas de ovo, ou sem restos ovulares visíveis, pelo número de casos com granulomas para cada variável em particular, não apresentou diferenças estatisticamente significativas, ao serem comparados entre si, os subgrupos de tecidos esplênicos acometidos pela esquistossomose, ou seja, a porção não-implantada (E1) e os auto-implantes (E2). Não houve

também diferença entre os referidos subgrupos de estudo, com relação às médias do número de granulomas, de acordo com sua localização no tecido esplênico, se central ou periférico ( $p > 0,05$ ) (Tabela 10).

Em três casos de auto-implantes esplênicos estudados, foi observada a formação de granuloma em localização extraparenquimatosa: em tecido conjuntivo pericapsular e em área adjacente ao tecido pancreático, com presença de casca de ovo de *Schistosoma mansoni* em seu interior (Fig. 35).

O achado histológico de regeneração de auto-implantes esplênicos foi similar ao aspecto histológico da porção não-implantada do baço, ao serem comparados entre si os subgrupos de um mesmo grupo (Figs. 36 a 43).

**Tabela 4.** Estudo histológico do tecido fibroconjuntivo nos fragmentos de auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço, de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

<i>Tecido Estudado</i>	<i>Número de animais</i>			
	<i>Subgrupo S1</i>	<i>Subgrupo S2</i>	<i>Subgrupo E1</i>	<i>Subgrupo E2</i>
<b>Cápsula</b>				
Fina	16	03	16	02
Média/Espessa	0	13	0	14
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 18,66	p< 0,001		
E1 e E2	X <sup>2</sup> =21,46	p< 0,001		
S1 e E1	----	----		
S2 e E2	Fisher	p> 0,05		
<b>Trabécula</b>				
Fina	13	08	05	02
Média/Espessa	03	08	11	14
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 2,22	p> 0,05		
E1 e E2	Fisher	p> 0,05		
S1 e E1	X <sup>2</sup> = 6,22	p= 0,01		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 3,64	p> 0,05		
<b>Fibrose</b>				
<b>Intersticial</b>				
Ausente	15	0	12	0
+	01	07	04	01
++ ou +++	0	09	0	15
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 28,5	p< 0,001		
E1 e E2	X <sup>2</sup> = 28,8	p< 0,001		
S1 e E1	----	----		
S2 e E2	----	----		

+ = leve; ++ = moderada; +++ = intensa

**Tabela 5.** Estudo histológico dos componentes da polpa branca nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

<i>Componentes</i>	<i>Número de animais</i>			
	<i>Subgrupo S1</i>	<i>Subgrupo S2</i>	<i>Subgrupo E1</i>	<i>Subgrupo E2</i>
<b>Folículos linfóides</b>				
+ e ++	07	06	04	08
+++	09	10	12	08
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 0,0	p> 0,05		
E1 e E2	X <sup>2</sup> = 1,2	p> 0,05		
S1 e E1	X <sup>2</sup> = 0,55	p> 0,05		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 0,13	p> 0,05		
<b>Linfócitos médios/ grandes (CG)</b>				
+	07	05	0	4
++	07	08	07	12
+++	02	03	09	0
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 0,6	p> 0,05		
E1 e E2	X <sup>2</sup> =14,3	p< 0,001		
S1 e E1	X <sup>2</sup> = 11,45	p< 0,01		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 3,91	p> 0,05		
<b>Mitoses (CG)</b>				
Presente	12	13	16	15
Ausente	04	03	0	01
S1 e S2	Fisher	p> 0,05		
E1 e E2	Fisher	p> 0,05		
S1 e E1	Fisher	p> 0,05		
S2 e E2	Fisher	p> 0,05		
<b>PALS</b>				
Presente	16	16	16	16
Ausente	0	0	0	0
S1 e S2	----	----		
E1 e E2	----	----		
S1 e E1	----	----		
S2 e E2	----	----		
<b>Linfócitos extrafoliculares</b>				
+	10	02	11	05
++ e +++	06	14	05	11
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 6,53	p= 0,01		
E1 e E2	X <sup>2</sup> = 3,13	p> 0,05		
S1 e E1	X <sup>2</sup> = 0,0	p> 0,05		
S2 e E2	Fisher	p> 0,05		

+ = leve; ++ = moderada; +++ = intensa

**Tabela 6.** Estudo histológico da vascularização nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

<i>Vascularização</i>	<i>Número de Animais</i>			
	<i>Subgrupo S1</i>	<i>Subgrupo S2</i>	<i>Subgrupo E1</i>	<i>Subgrupo E2</i>
+	0	01	0	0
++ e +++	16	15	16	16
S1 e S2	Fisher	p> 0,05		
E1 e E2	----	----		
S1 e E1	----	----		
S2 e E2	Fisher	p> 0,05		

+ = leve; ++ = moderada; +++ = intensa

**Tabela 7.** Estudo histológico da celularidade na polpa vermelha nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

<i>Celularidade</i>	<i>Número de animais</i>			
	<i>Subgrupo S1</i>	<i>Subgrupo S2</i>	<i>Subgrupo E1</i>	<i>Subgrupo E2</i>
<b>Leucócitos</b>				
Mínima/+	16	11	16	08
++ e +++	0	05	0	08
S1 e S2	Fisher	p< 0,05		
E1 e E2	Fisher	p< 0,01		
S1 e E1	----	----		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 0,52	p> 0,05		
<b>Precursores eritrocitários</b>				
+	09	04	06	09
++	07	12	10	07
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 2,07	p> 0,05		
E1 e E2	X <sup>2</sup> = 0,5	p> 0,05		
S1 e E1	X <sup>2</sup> = 0,5	p> 0,05		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 2,07	p> 0,05		
<b>Hemácias</b>				
+ e ++	13	12	08	10
+++	03	04	08	06
S1 e S2	Fisher	p> 0,05		
E1 e E2	X <sup>2</sup> = 0,49	p> 0,05		
S1 e E1	X <sup>2</sup> = 3,35	p= 0,07		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 0,56	p> 0,05		
<b>Plasmócitos</b>				
Ausente/mínima	11	12	0	0
+	05	04	12	11
++	0	0	04	05
S1 e S2	Fisher	p> 0,05		
E1 e E2	----	----		
S1 e E1	X <sup>2</sup> = 13,85	p< 0,001		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 16,13	p< 0,001		
<b>Megacariócitos</b>				
+	0	08	0	09
++	04	05	09	05
+++	12	03	07	02
S1 e S2	X <sup>2</sup> = 13,51	p< 0,01		
E1 e E2	X <sup>2</sup> = 12,92	p< 0,01		
S1 e E1	----	----		
S2 e E2	X <sup>2</sup> = 0,26	p> 0,05		

+ = leve; ++ = moderada; +++ = intensa

**Tabela 8.** Estudo histológico sobre a presença de pigmento de coloração acastanhada intra e extra-celular nos auto-implantes esplênicos e na porção não-implantada do baço de animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

<i>Pigmento</i>	<i>Número de animais</i>			
	<i>Subgrupo S1</i>	<i>Subgrupo S2</i>	<i>Subgrupo E1</i>	<i>Subgrupo E2</i>
Ausente	04	06	0	0
+	12	08	16	02
++ e +++	0	02	0	14
S1 e S2	$X^2= 3,2$	$p> 0,05$		
E1 e E2	----	----		
S1 e E1	----	----		
S2 e E2	$X^2= 18,6$	$p< 0,001$		

+ = leve; ++ = moderada; +++ = intensa

**Tabela 9.** Média do número de auto-implantes esplênicos resgatados por animal, à data do sacrifício, em animais sadios e na fase crônica da esquistossomose.

	<i>Número de animais</i>		
	<i>Subgrupo S2</i>	<i>Subgrupo E2</i>	<i>Teste t de Student</i>
Nº IR*	4	4,0625	$p> 0,05$

\*Nº IR= Número de implantes esplênicos resgatados.

**Tabela 10.** Médias do número de granulomas por casos com granulomas em tecido esplênico de animais na fase crônica da esquistossomose.

<i>Granulomas</i>	<i>Médias</i>		<i>Teste t de Student</i>
	<i>Subgrupo E1</i>	<i>Subgrupo E2</i>	
<b>Total</b>	07	4,1	p> 0,05
<b>Material antigênico</b>			
Ovo viável	2,4	2,14	p> 0,05
Ovo não viável	02	1,25	p> 0,05
Casca de ovo	1,33	2,33	p> 0,05
Sem restos ovulares	06	1,75	p> 0,05
<b>Localização</b>			
central	2,4	03	p> 0,05
periférico	06	3,88	p> 0,05

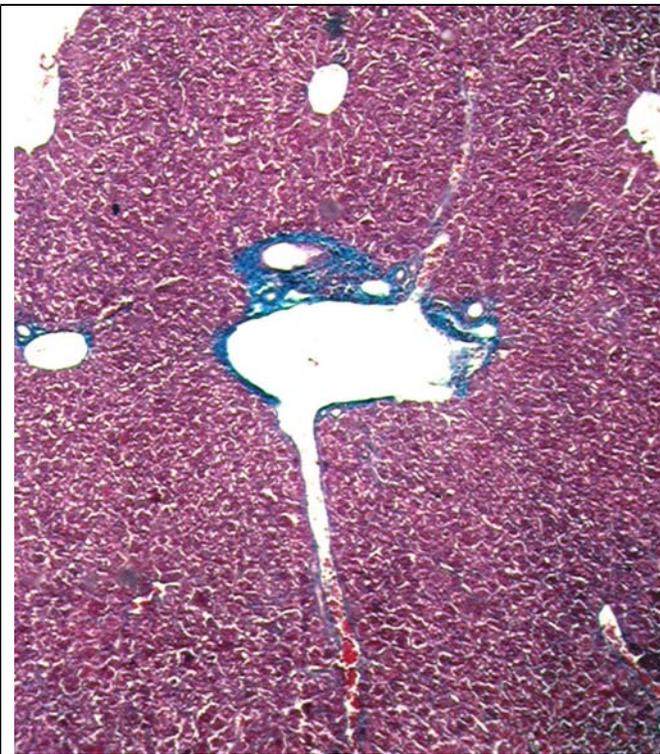


Fig. 1 – Aspecto histológico de fígado de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 50 X).

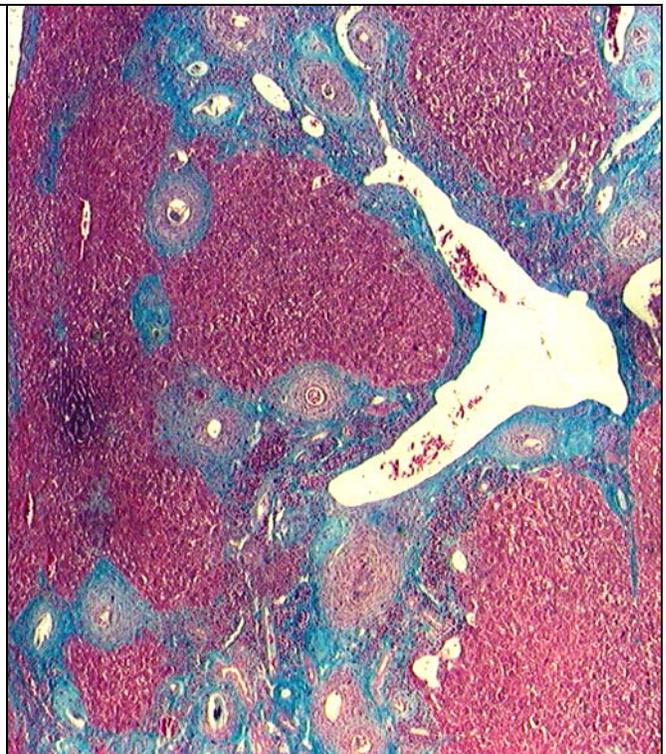
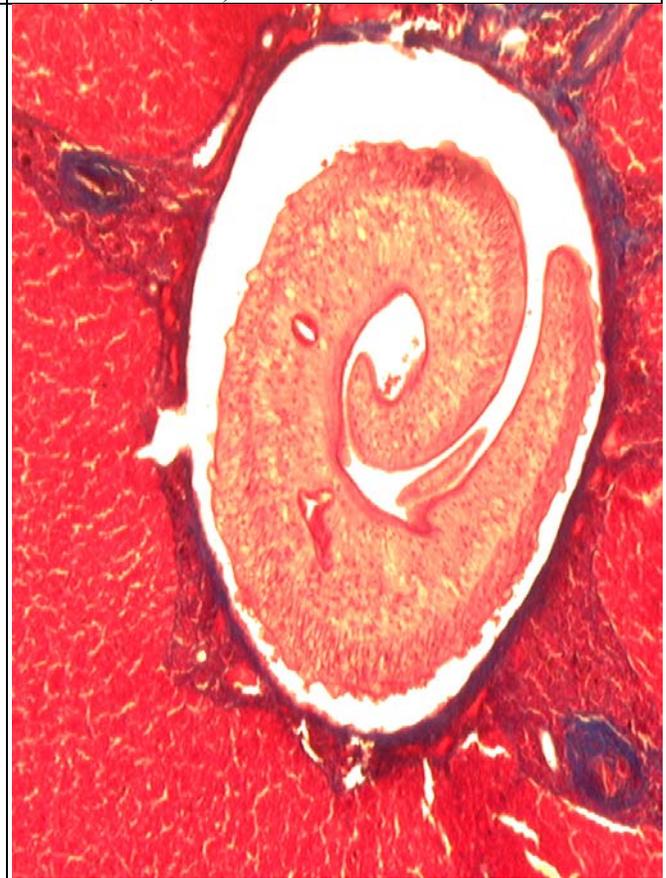
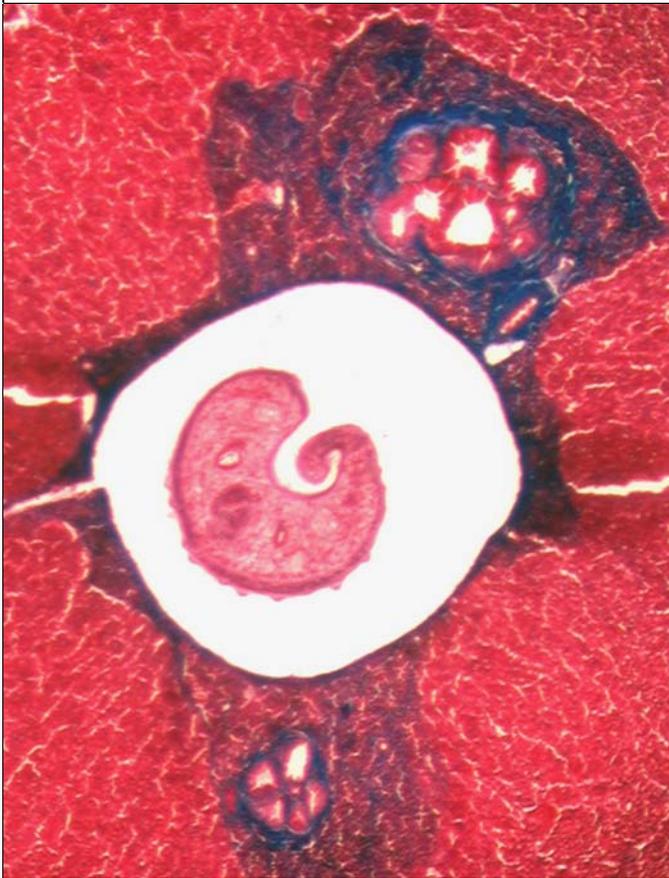


Fig. 2 – Aspecto histológico de fígado de camundongo na fase crônica da esquistossomose. Fibrose portal estrelada e granulomas (Tricrômico de Masson, 25 X).



Figs. 3 e 4 – Verme adulto de *S. mansoni* em ramo porta de fígado de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 50 X).

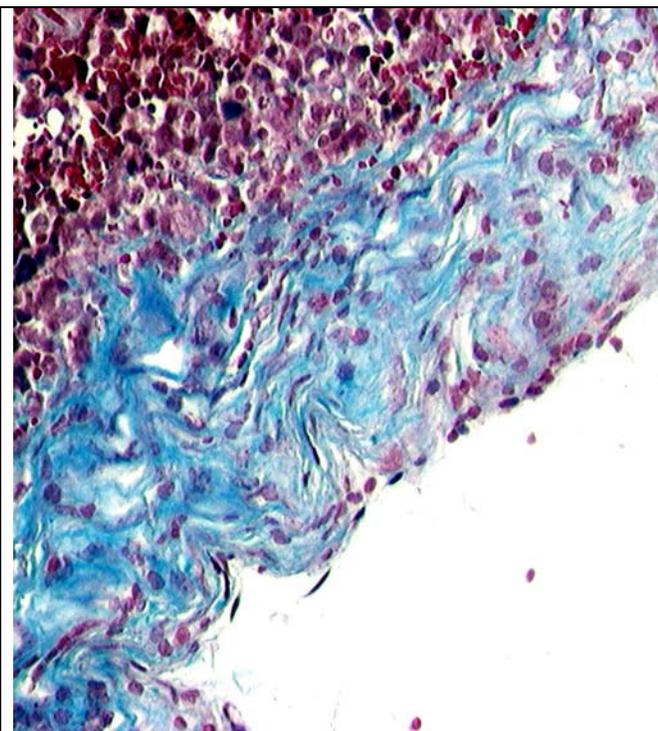


Fig. 5 – Cápsula esplênica neoformada em auto-implante de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).

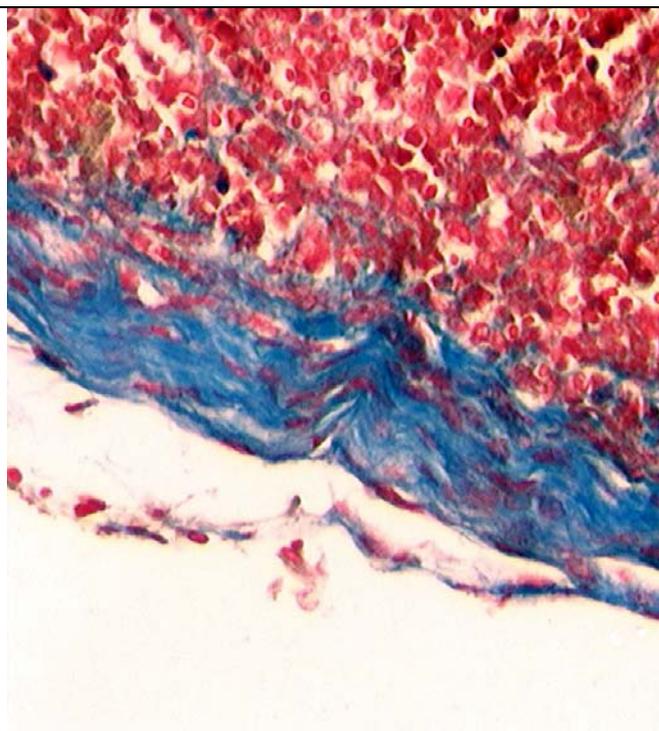


Fig. 6 – Cápsula esplênica neoformada em auto-implante de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).

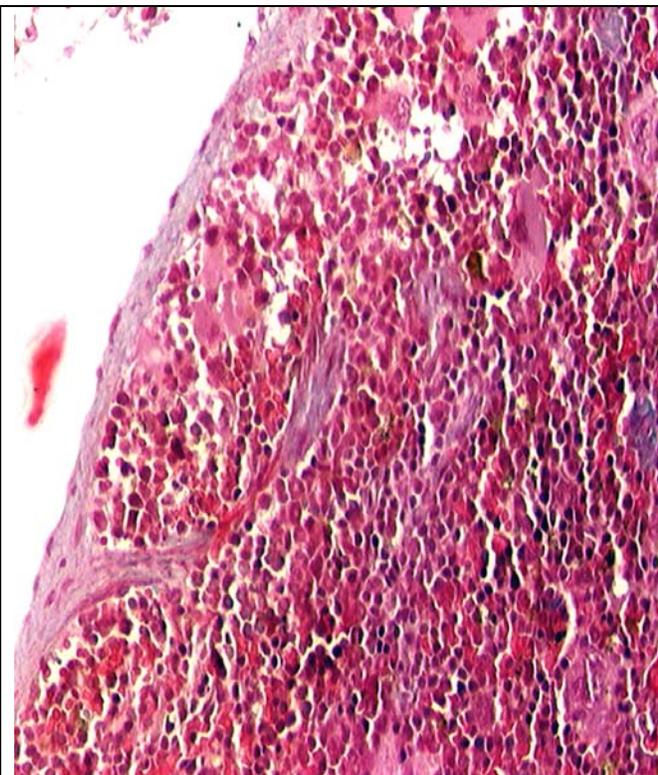


Fig. 7 – Cápsula esplênica na porção não-implantada do baço de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).

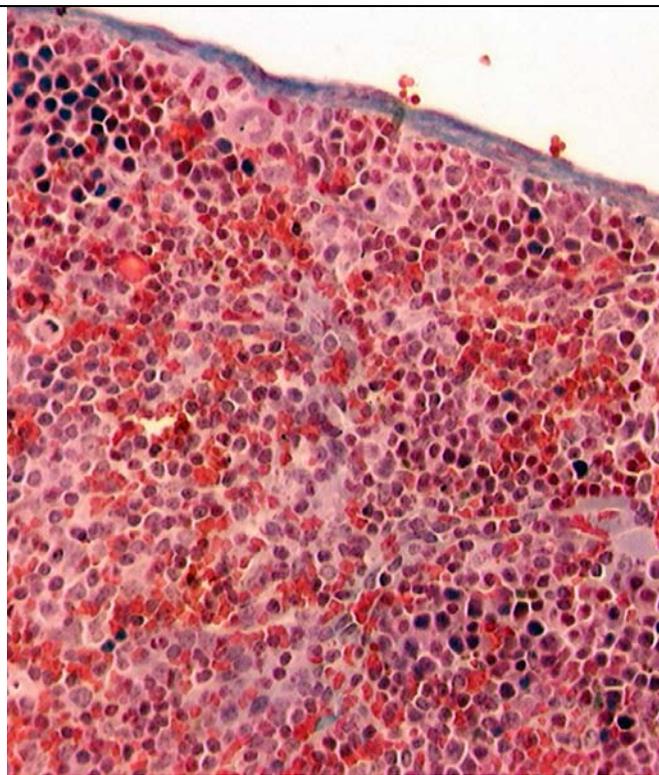


Fig. 8 – Cápsula esplênica na porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).

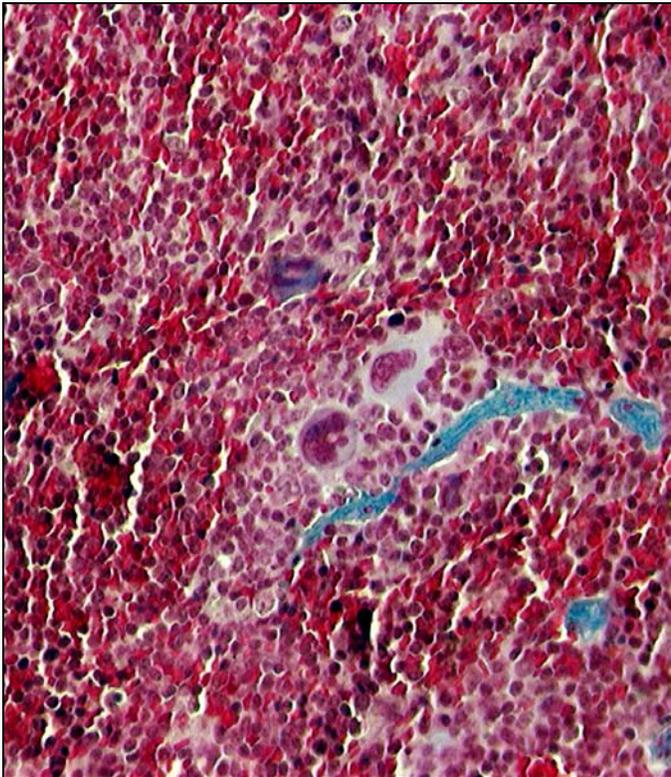


Fig. 9 – Fibrose intersticial na porção não-implantada do baço de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).

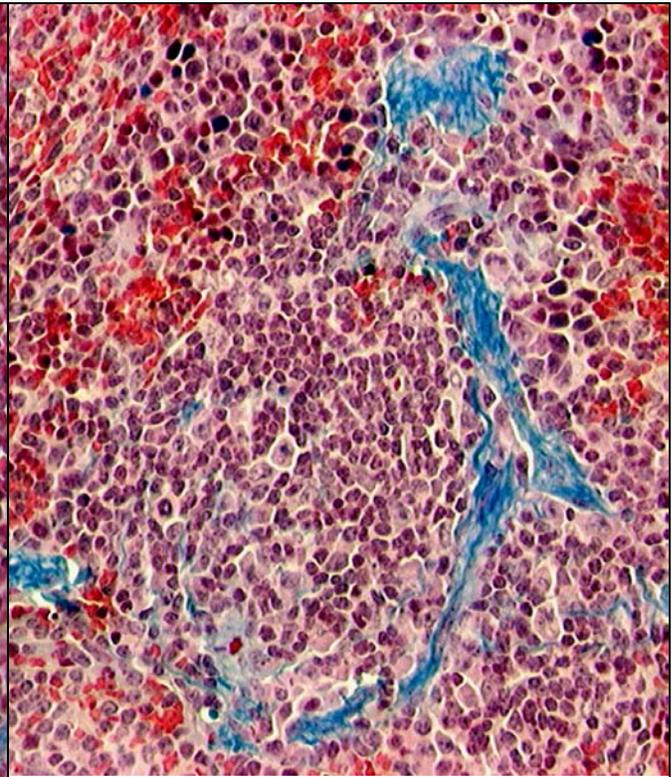


Fig. 10 – Fibrose intersticial na porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).

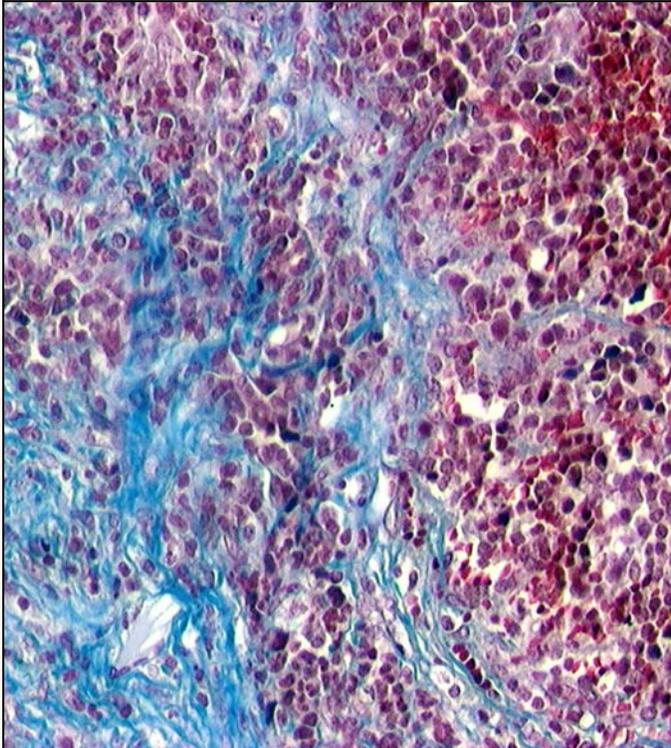


Fig. 11 – Fibrose intersticial em auto-implante esplênico de camundongo sadio (Tricrômico de Masson, 200 X).

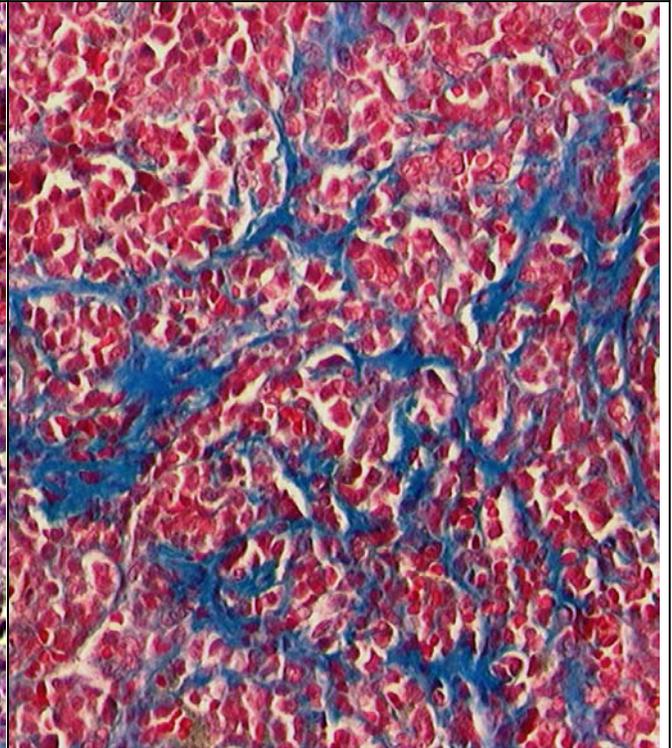
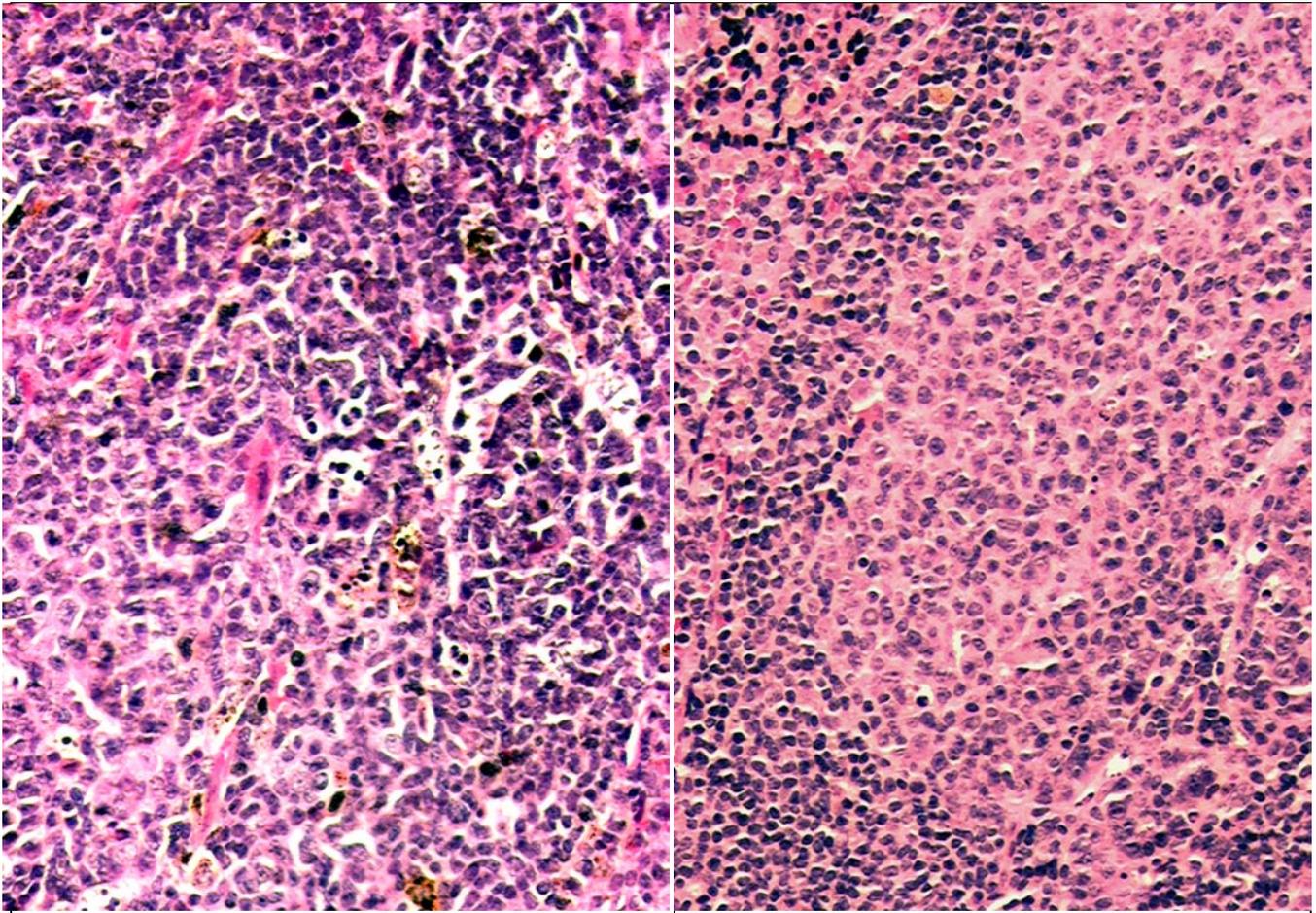
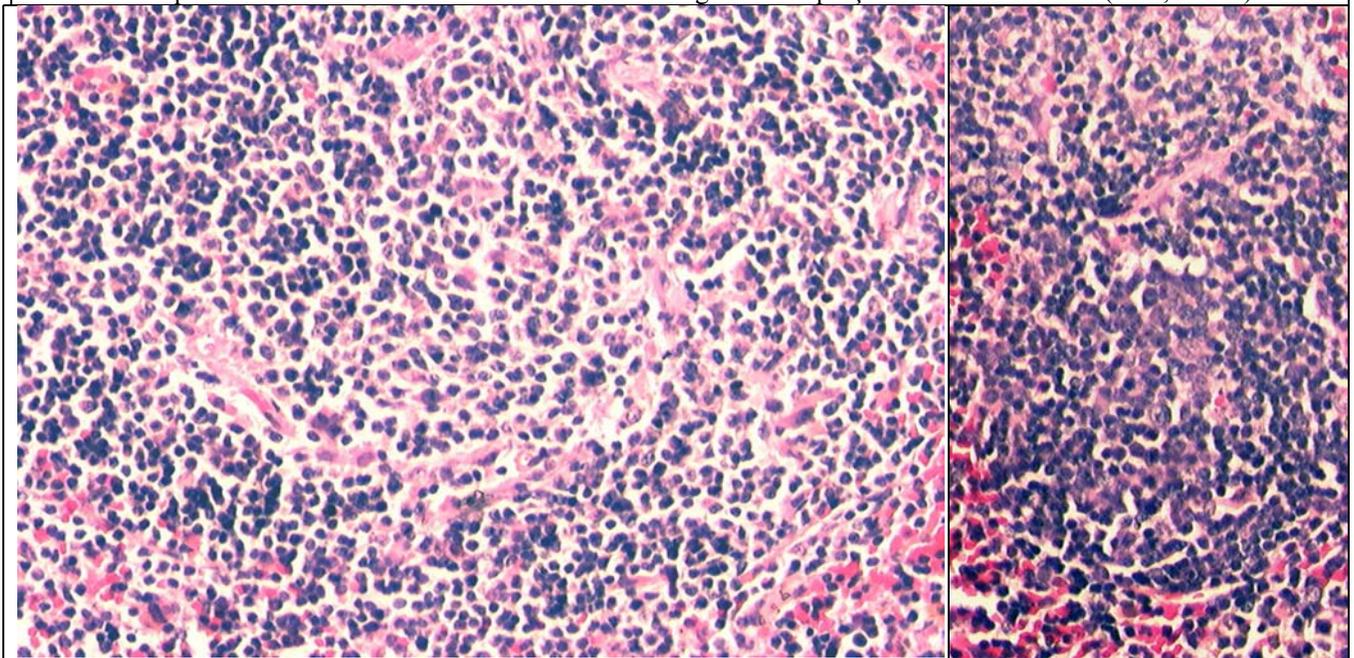


Fig. 12 – Fibrose intersticial em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (Tricrômico de Masson, 200 X).



Figs. 13 e 14 – Centro Germinativo de folículo linfóide na porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose. Linfócitos de tamanhos médio e grande em porção central do folículo (H.E., 200 X).



Figs. 15 e 16 – Centro Germinativo em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose. Menor expressão de linfócitos de tamanhos médio e grande em porção central do folículo (H.E., 200 X).

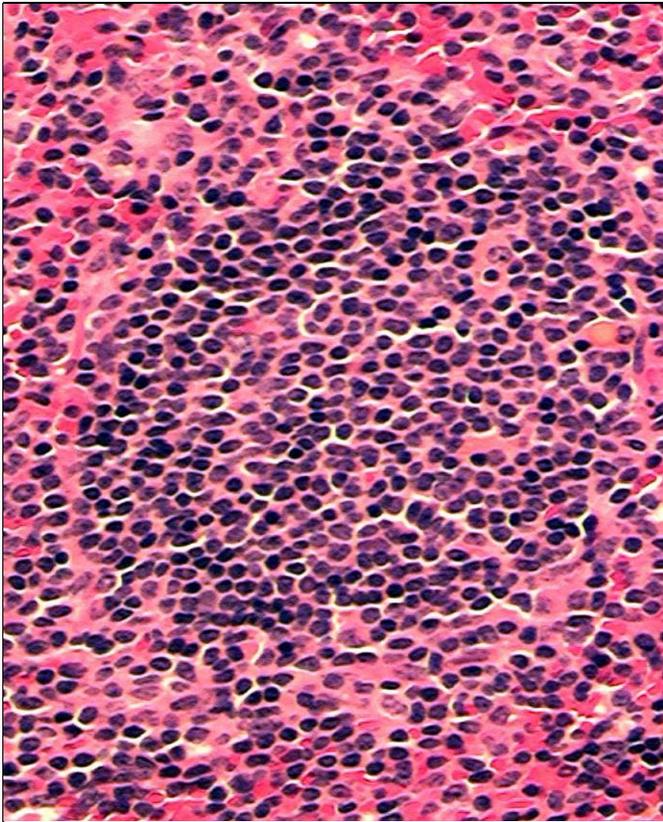


Fig. 17 – Centro Germinativo de folículo linfóide na porção não-implantada do baço de camundongo sadio (H.E., 200 X).

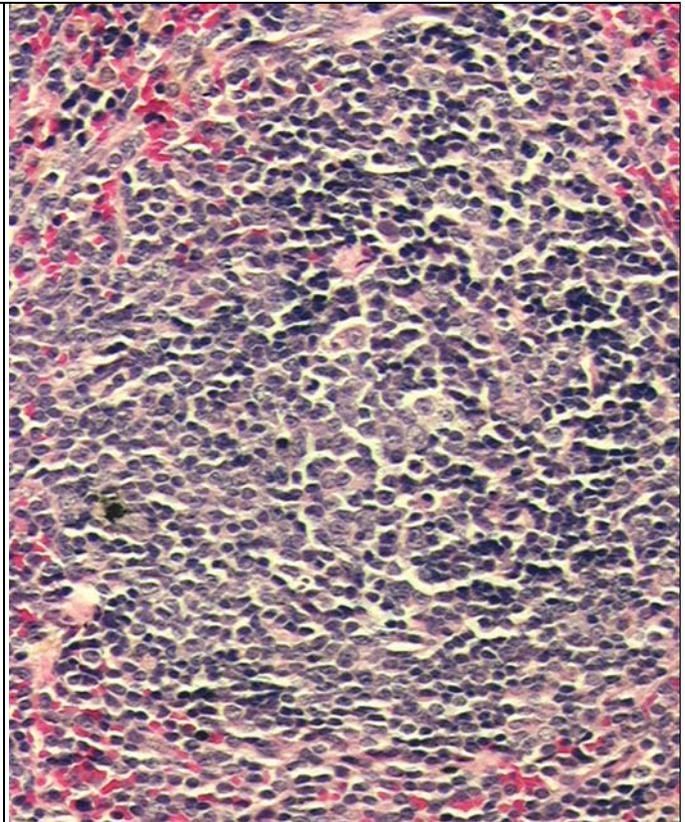
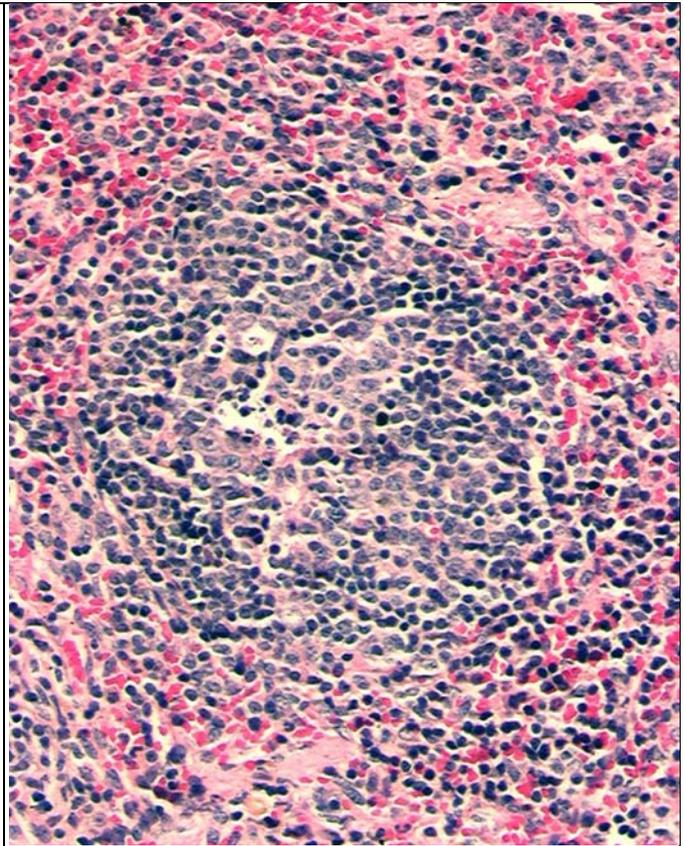
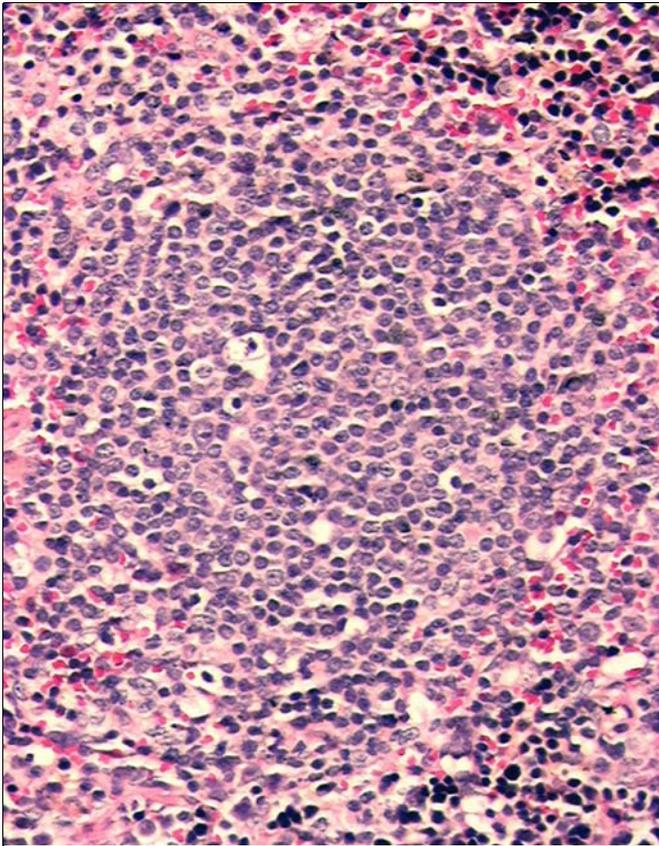


Fig. 18 – Centro Germinativo de folículo linfóide em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H. E., 200 X).



Figs. 19 e 20 – Centro Germinativo de folículo linfóide em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 200 X).

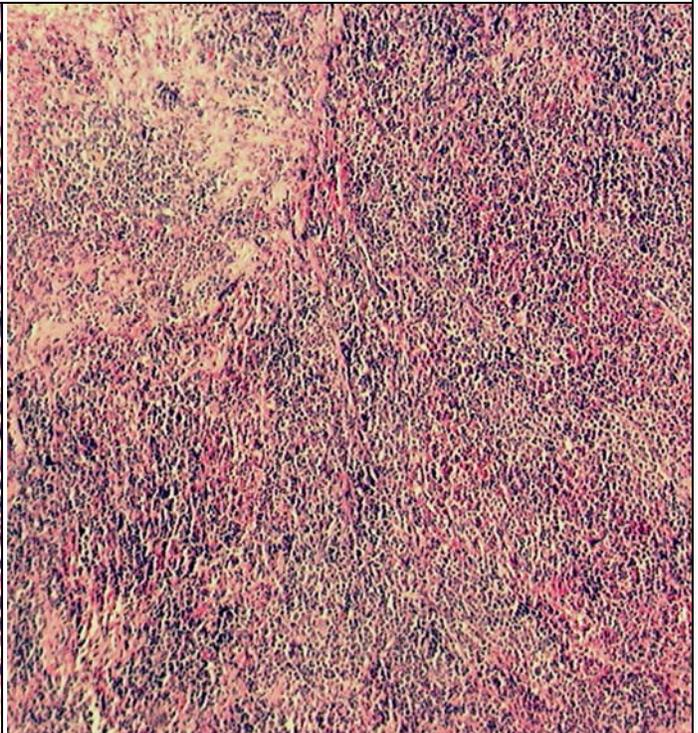
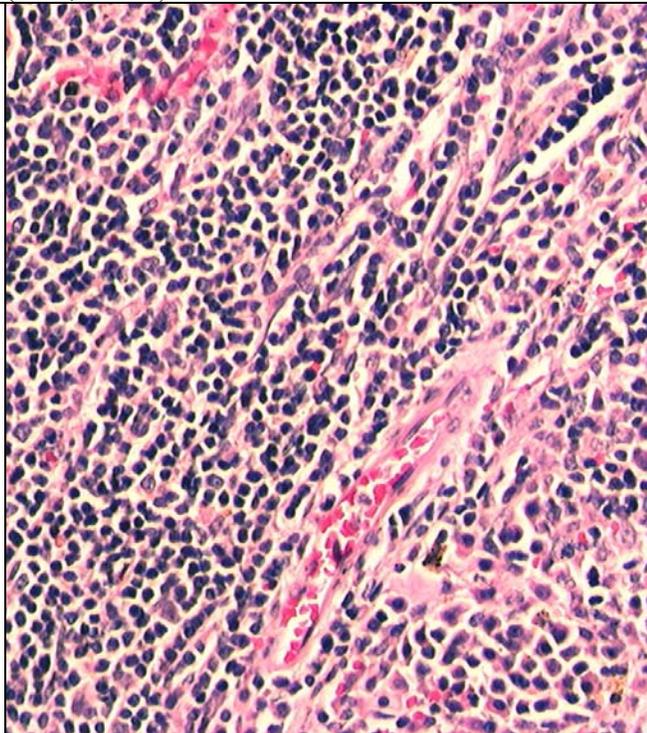


Fig. 21 – Bainha linfóide peri-arteriolar em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H. E., 200 X).

Fig. 22 – Proliferação de linfócitos típicos em área extrafollicular em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E., 50 X).

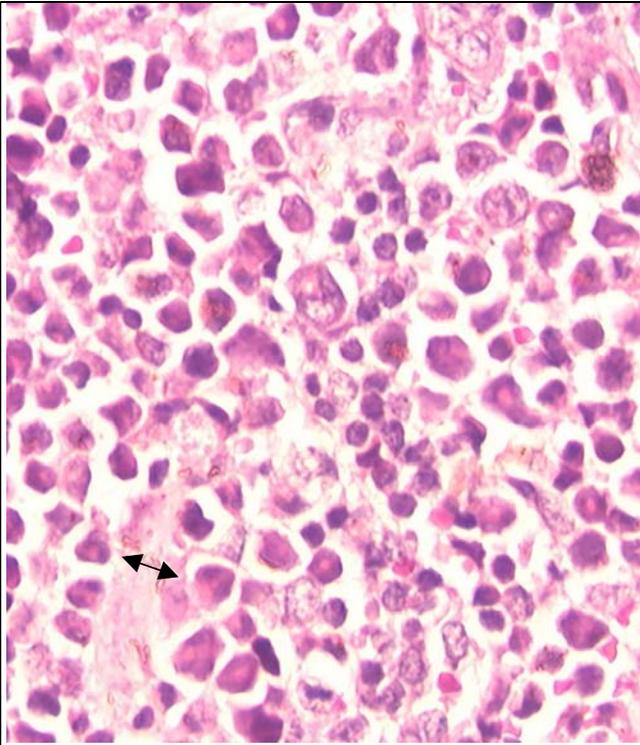


Fig. 23 – Leucócitos polimorfonucleares em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E, 400 X).

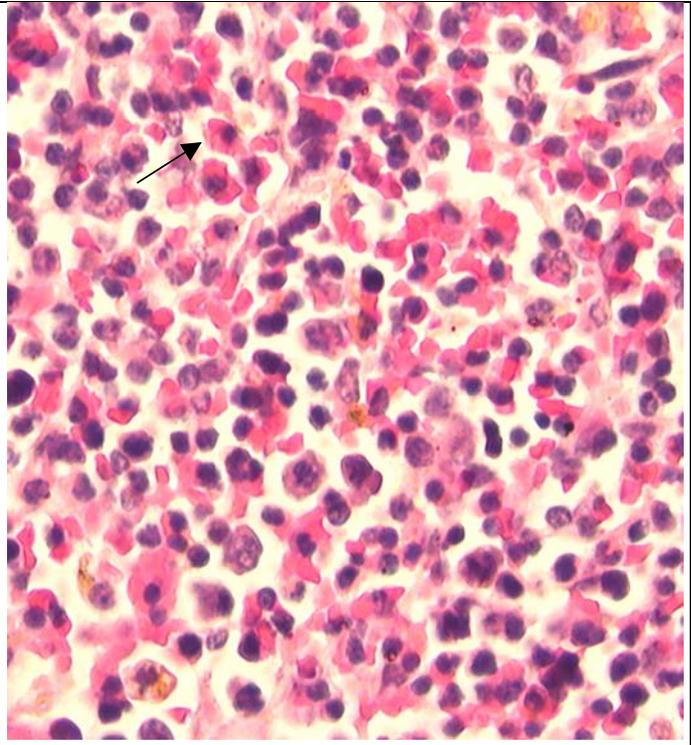


Fig. 24 – Precursos eritrocitários em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 400 X).

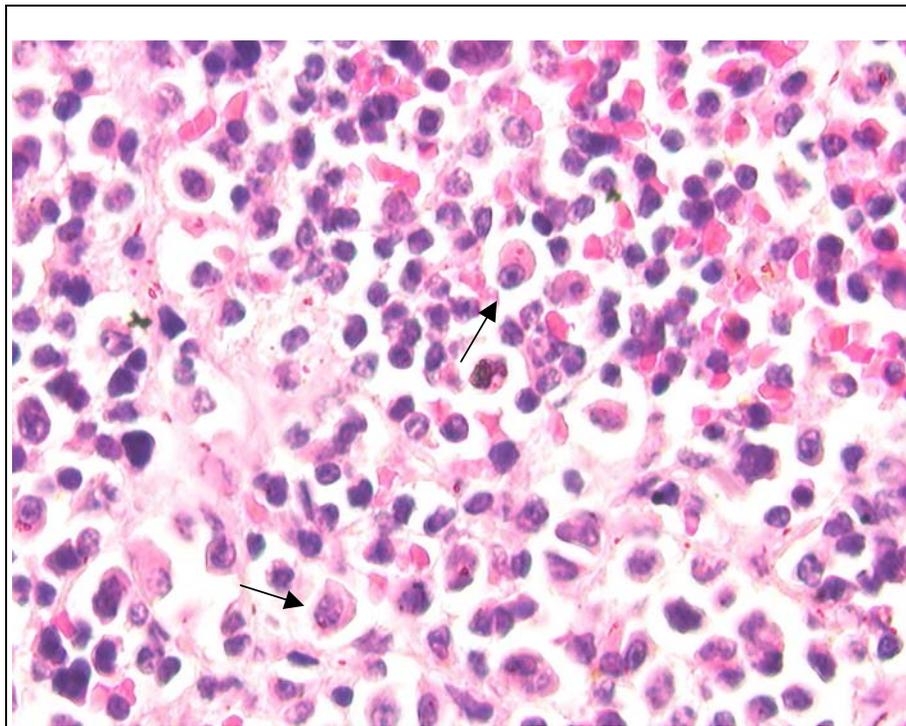
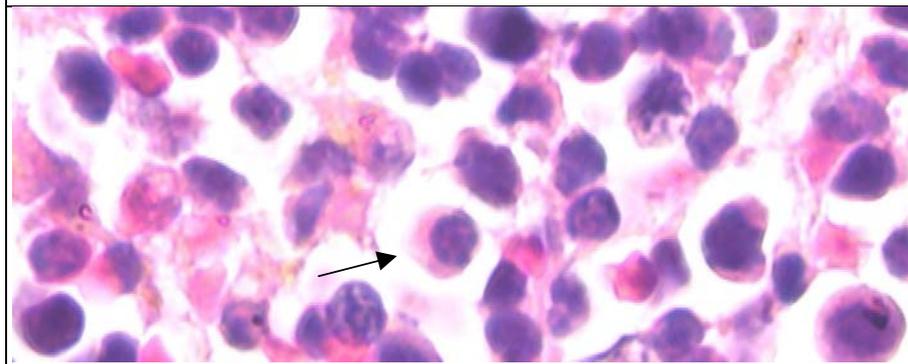
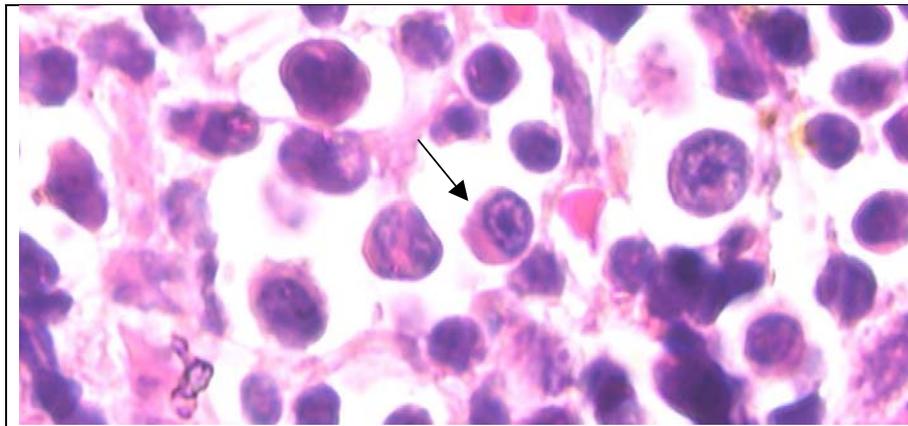


Fig. 25 – Proliferação plasmocitária em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 500 X).



Figs. 26 e 27 – Proliferação plasmocitária em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 1000 X).

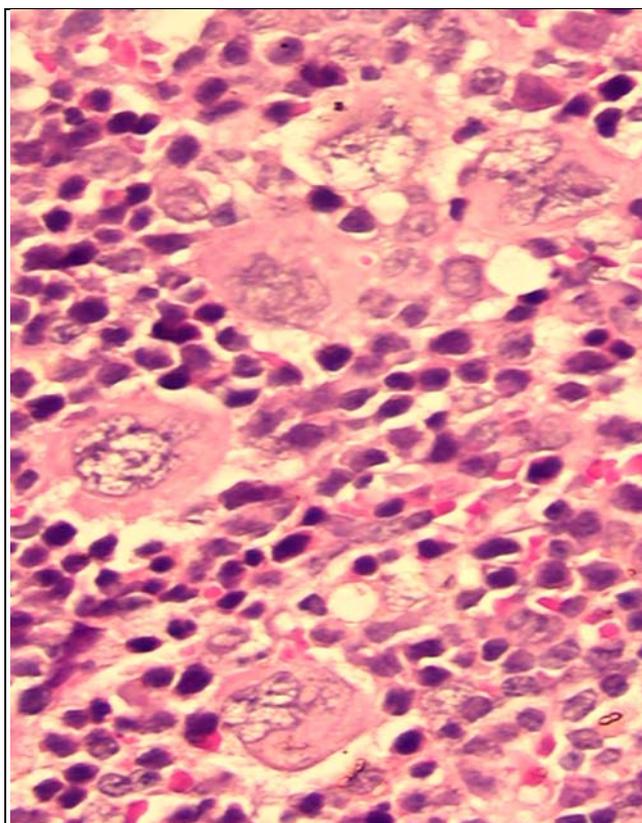


Fig. 28 – Megacariócitos em auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E, 400 X).

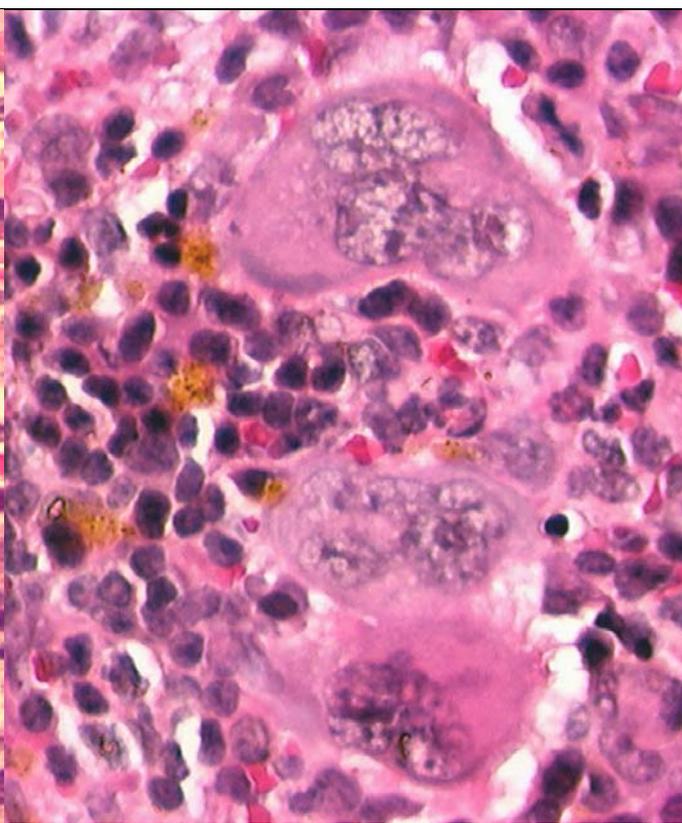


Fig. 29 – Megacariócitos em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 500 X).

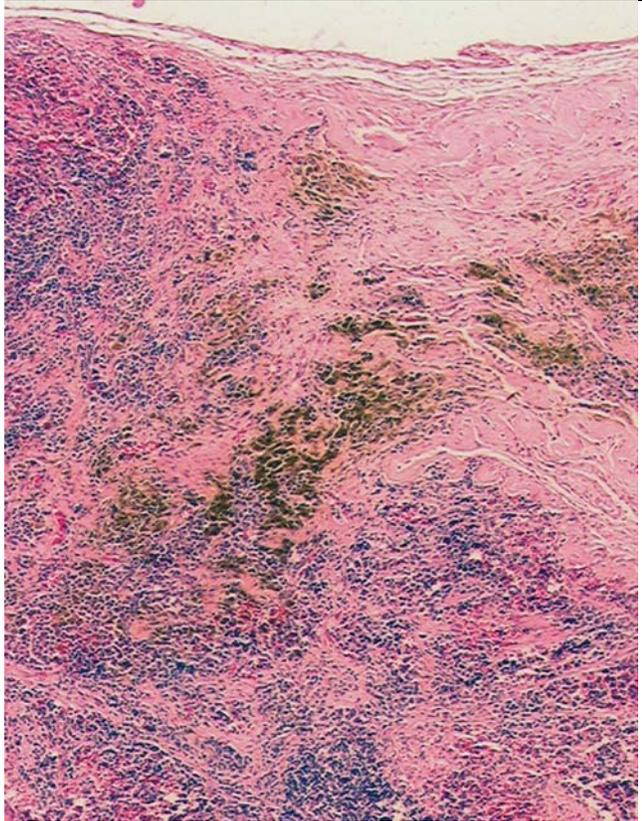


Fig. 30 – Pigmento castanho escuro em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 50 X).

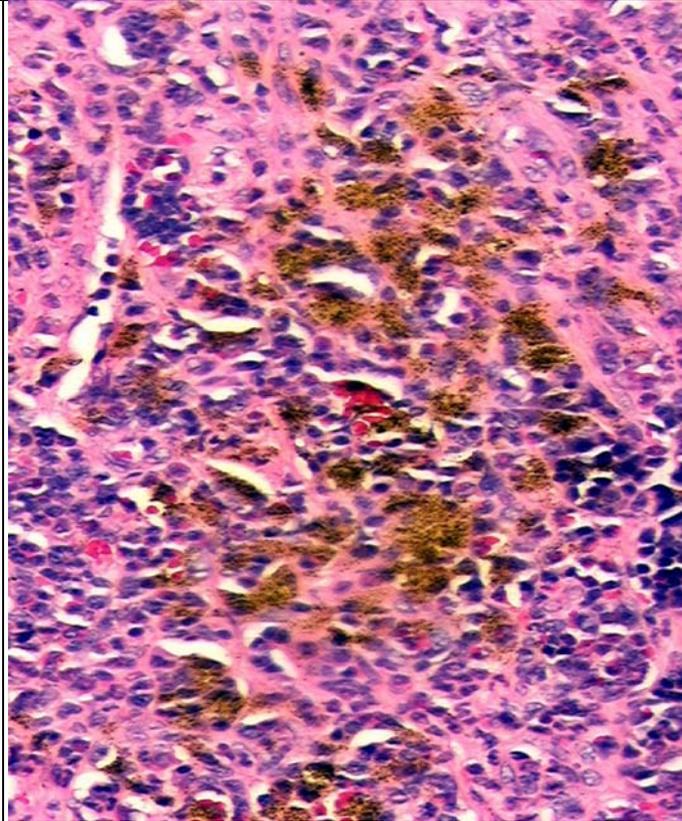


Fig. 31 – Pigmento castanho escuro em auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 200 X).

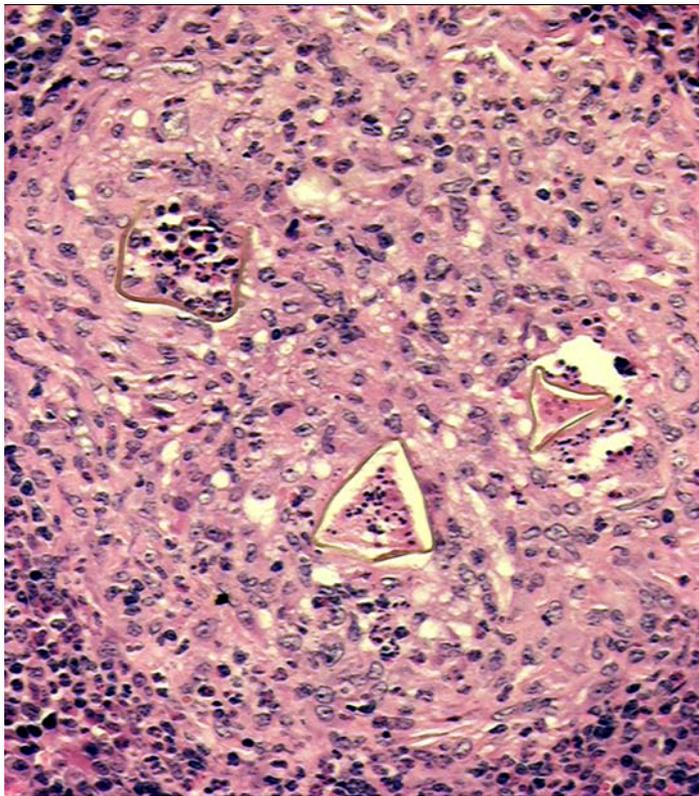


Fig. 32 – Granuloma com ovos viáveis de *S. mansoni* na porção não-implantada do baço (H. E., 200 X).

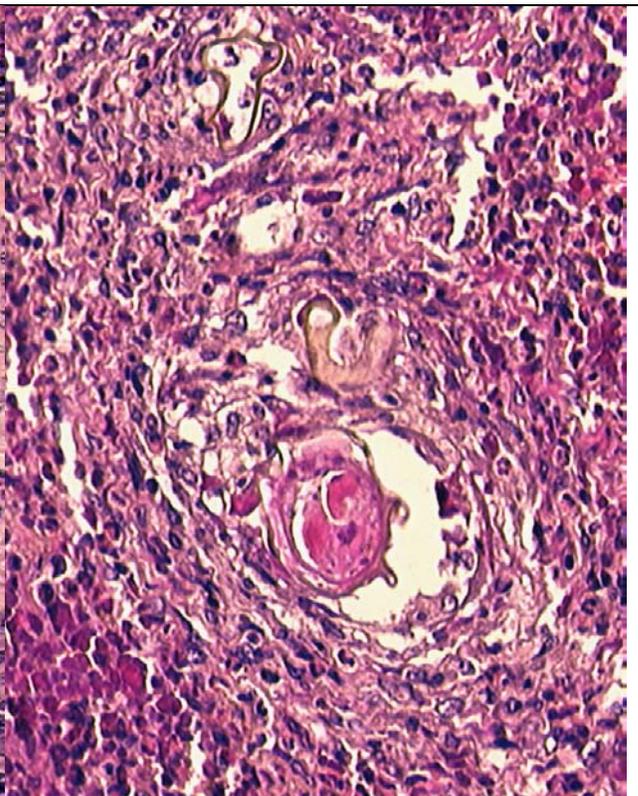


Fig. 33 – Granulomas com ovo viável e cascas de ovos de *S. mansoni* em auto-implante esplênico (H. E., 200 X).

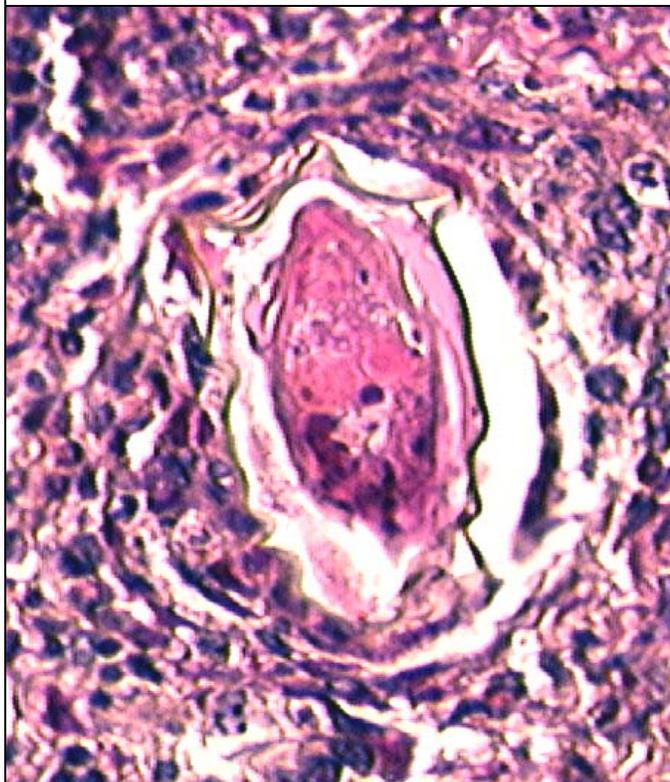


Fig. 34 – Granuloma com ovo viável de *S. mansoni* em auto-implante esplênico (H. E., 400 X).

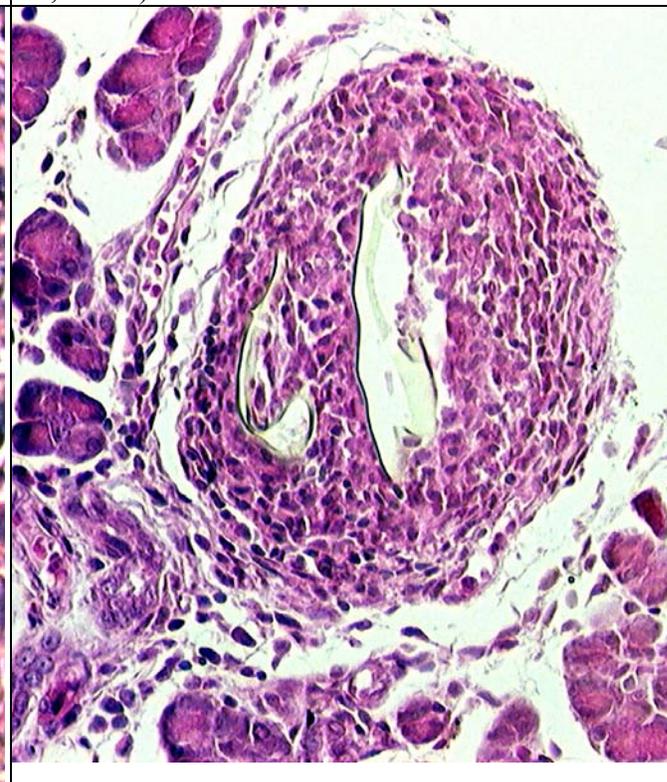


Fig. 35 – Granuloma com cascas de ovos de *S. mansoni* junto ao pâncreas adjacente ao auto-implante esplênico (H. E., 200 X).

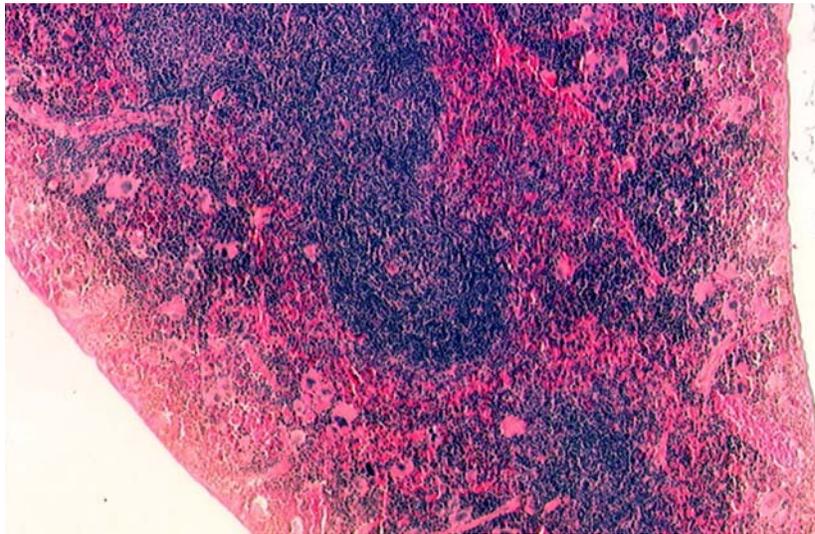


Fig. 36 – Aspecto histológico da porção não-implantada do baço de camundongo sadio (H.E, 25 X).

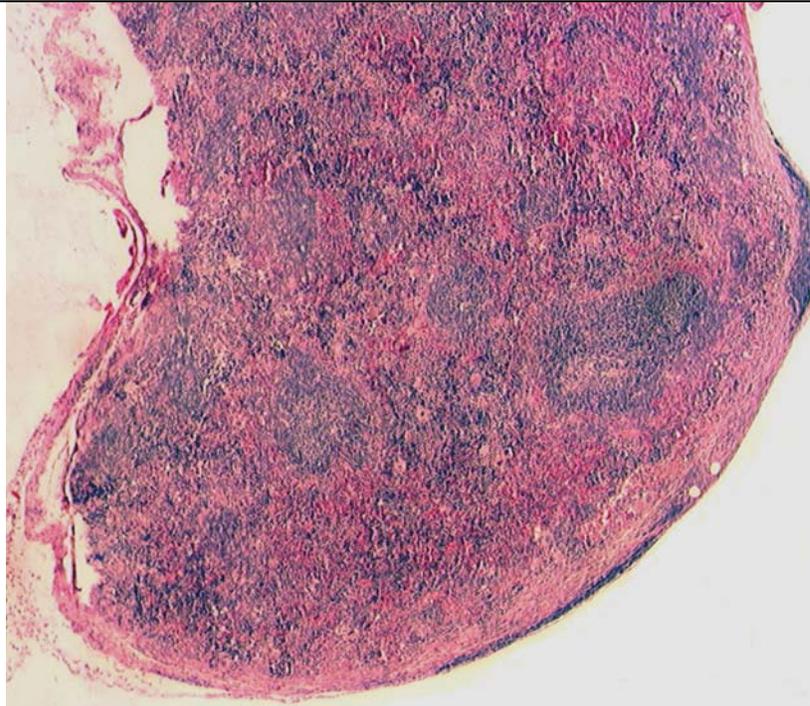


Fig. 37 – Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E, 25 X).

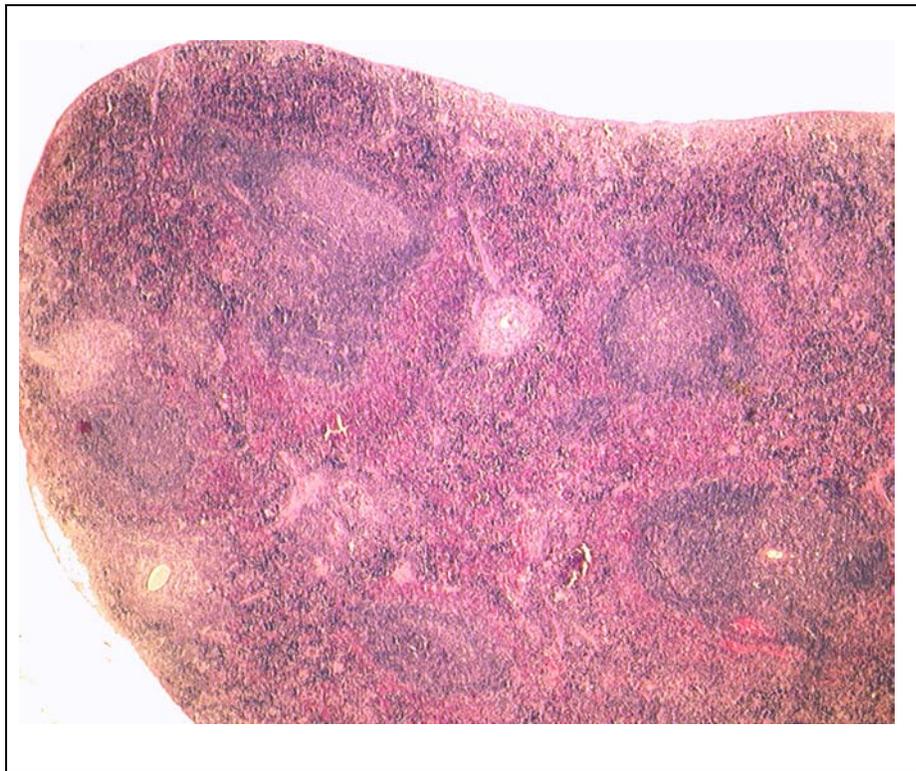


Fig. 38 – Aspecto histológico da porção não-implantada do baço de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 25 X).

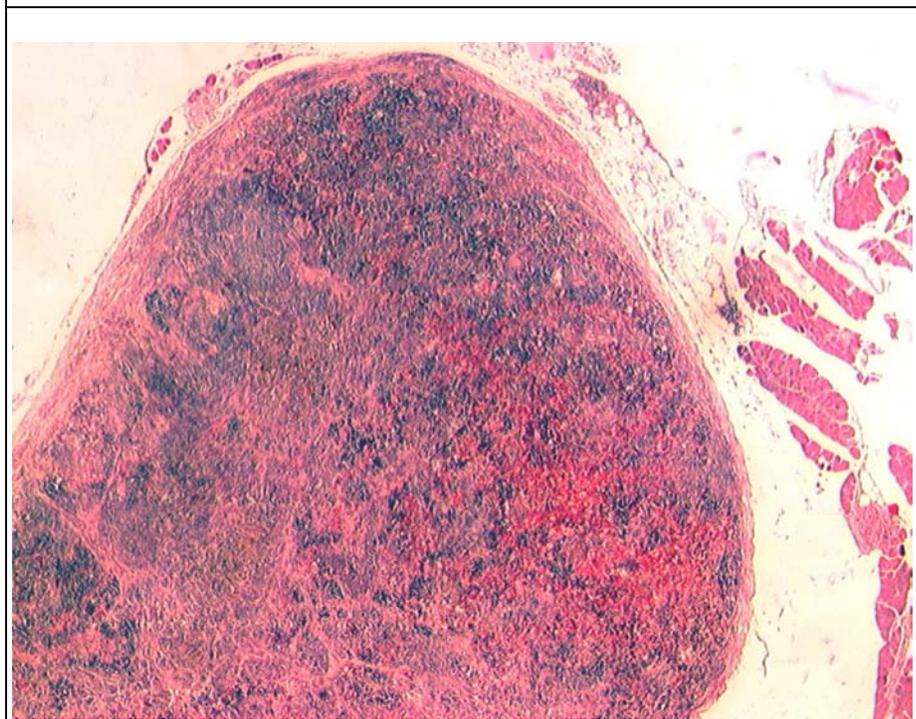


Fig. 39 – Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 25 X).

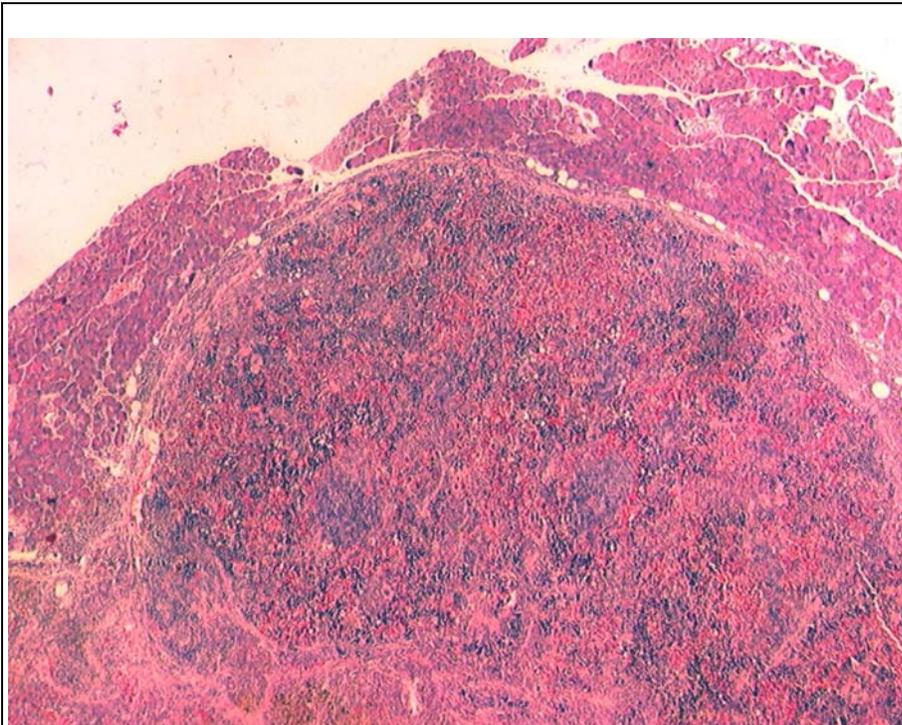


Fig. 40 – Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 25 X).

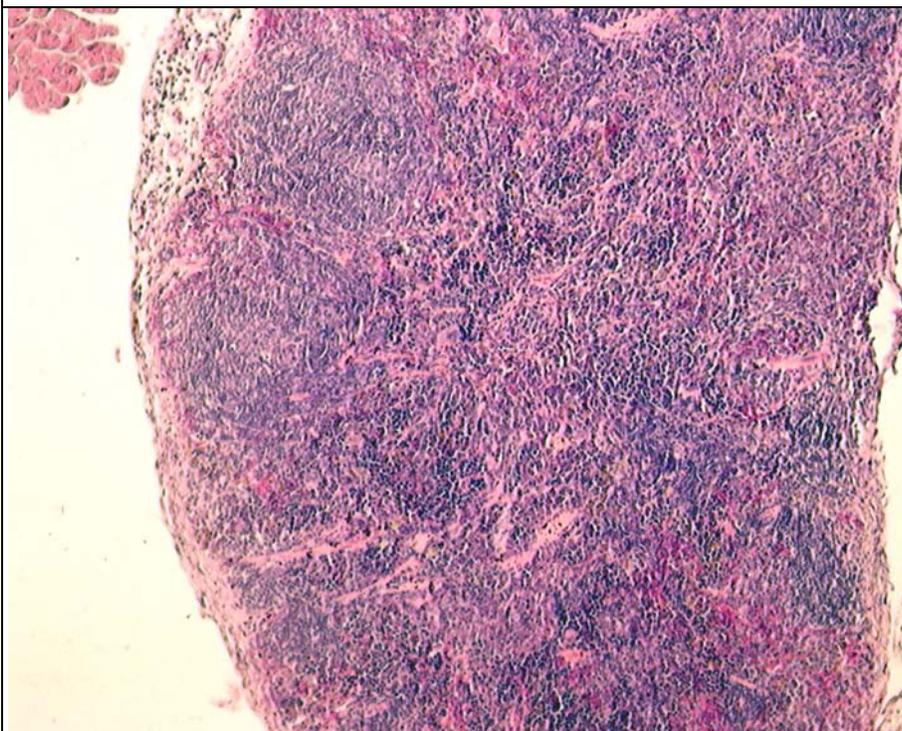


Fig. 41 – Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 25 X).

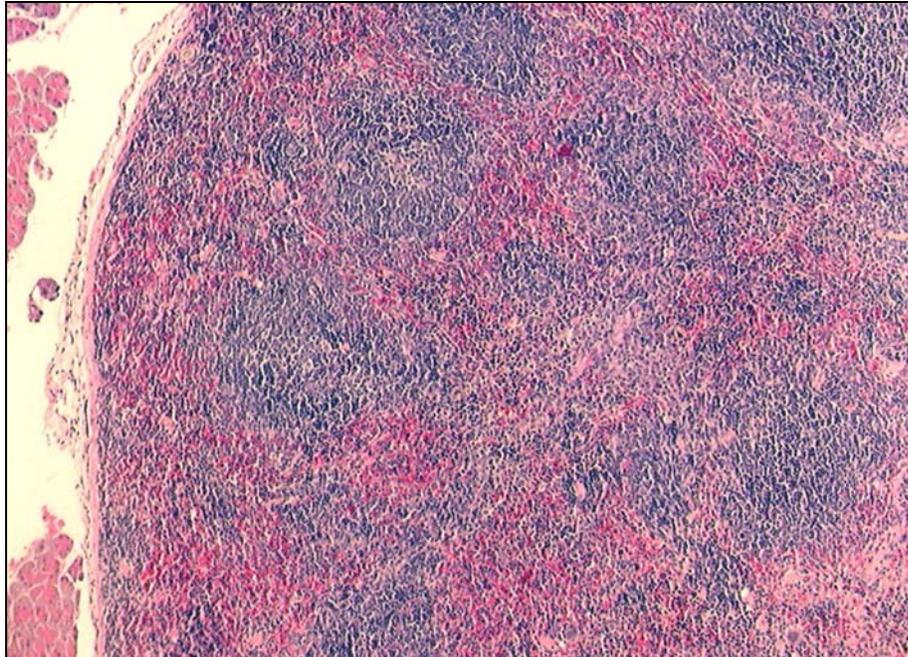


Fig. 42 – Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo sadio (H.E, 50 X).

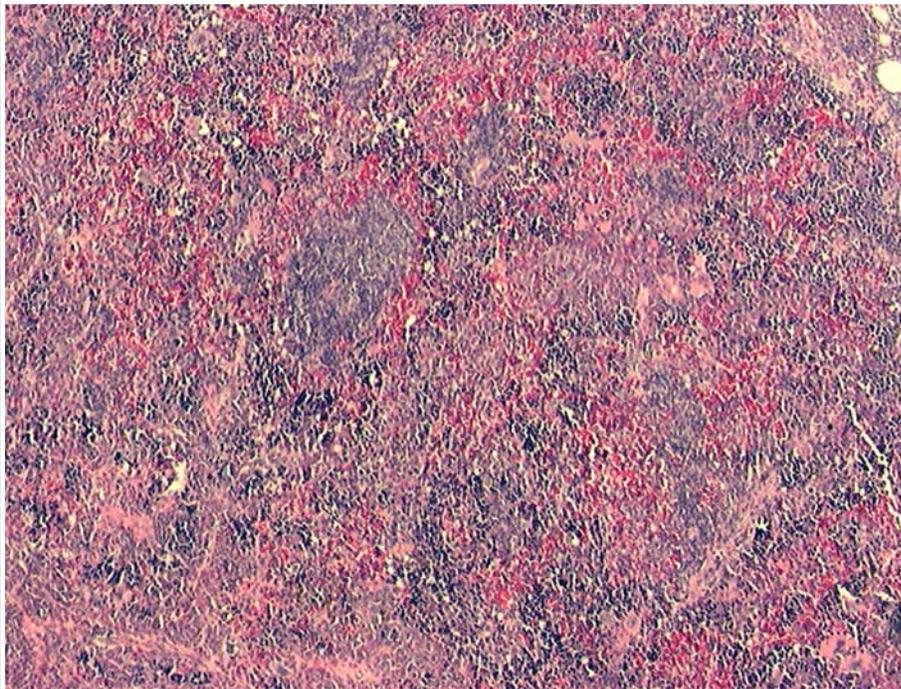


Fig. 43 – Aspecto histológico de regeneração de auto-implante esplênico de camundongo na fase crônica da esquistossomose (H.E, 50 X).

## **DISCUSSÃO**

## **6.1 Sobre o modelo animal**

Primeiramente é preciso ser questionado o quanto o “modelo murino” realmente representa as alterações observadas na esquistossomose avançada no homem. Desta forma, os resultados desse estudo devem ser analisados com cautela quanto à extrapolação para outra espécie animal.

No entanto, experimentos prévios demonstraram ser este modelo apropriado para estudo da esquistossomose (ANDRADE, 1962; WU et al, 1982; ANDRADE & GRIMAUD, 1986; WYLER et al, 1987; SARIN et al, 1991; TIMENS, 1991; ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997; COUTINHO et al, 1997), reproduzindo os achados clínicos, patológicos e hemodinâmicos de forma satisfatória, quando comparados aos dos humanos (SARIN et al, 1991).

A infecção esquistossomótica foi obtida através da inoculação subcutânea de 25 cercárias de *S. mansoni*, procedimento este comumente realizado por outros investigadores, com objetivo alcançado com sucesso (PELLEGRINO & MACEDO, 1955; COUTINHO et al, 1997), o que justifica o emprego desse método em pesquisa científica. Esta forma de infecção foi empregada neste estudo, não apenas por ser esta a utilizada para produção de esquistossomose no GIDE da UFMG; local onde a parte prática deste experimento foi executada, mas, sobretudo, pelos excelentes resultados obtidos (ADEODATO, 2004).

## **6.2 Sobre as alterações nas medidas de peso de órgãos na doença esquistossomótica**

### **6.2.1 o fígado**

A hepatomegalia aqui verificada pelo aumento na média dos pesos dos fígados dos animais na fase crônica da esquistossomose, ao ser comparada à média dos pesos desta

víscera dos animais sadios, veio a confirmar o já descrito na literatura (RASO, 1995; ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997).

### **6.2.2 o baço**

A esplenomegalia verificada em baços de animais na fase crônica da esquistossomose, concordou com achados anteriores de aumento do baço documentados em modelos experimentais (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1960, 1961; MAHMOUD & WOODRUFF, 1978) e em humanos portadores dessa forma da doença (KELNER, 1992; FREITAS et al, 1999). Já está bem definido na literatura que o aumento no peso do baço na esquistossomose, ocorre de forma progressiva, com a duração da infecção, como decorrente da hiperplasia esplênica difusa, secundária à congestão pela hipertensão portal e à hiperplasia do sistema retículo-endotelial (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1960, 1961; ANDRADE, 1962) coincidindo com resposta imunológica com produção de anticorpos (ZWINGENBERGER et al, 1988; EL-CHEIKI et al, 1994), frente à estimulação antigênica dos produtos originados do parasita causador da doença.

Em relação ao volume, peso e consistência do baço na esplenomegalia esquistossomótica, polpa branca assumiu pouca importância por alterações nesses parâmetros (FREITAS et al, 1999).

### **6.2.3 Os auto-implantes esplênicos**

A diferença na proporção de tecido esplênico implantado no grande omento entre os animais sadios (2/3) e com esquistossomose (1/2), deveu-se ao fato dos implantes esplênicos serem todos da mesma espessura, fatiados no sentido transversal do órgão, e o baço dos animais acometidos pela doença esquistossomótica exibir hipertrofia difusa do mesmo.

Embora em termos percentuais o volume esplênico implantado no grupo de animais sadios tenha sido maior, correspondendo a 62,93% do peso total do baço, enquanto que entre

os animais na fase crônica da esquistossomose foi de 50,39%, o peso dos fragmentos esplênicos implantados correspondeu ao dobro nos camundongos acometidos pela doença, por serem os baços dos camundongos na fase crônica da esquistossomose bem mais pesados que os dos animais sadios. No entanto, apesar de duas vezes mais pesados, quando do implante esplênico, o peso resgatado 08 semanas após foi similar entre os dois grupos de estudo. Em relação ao peso dos fragmentos esplênicos resgatados, houve um ganho dos fragmentos de baços implantados, relativo a 28,16%, entre os sadios e uma redução de cerca da metade do peso auto-implantado nos com esquistossomose.

De forma geral, os pesos dos auto-implantes esplênicos recuperados foram vistos crescer, à medida que o volume implantado aumentou até certo percentual de implante. Para implantes maiores que 25% do peso do baço, foi verificada uma redução de 40-50% no peso dos implantes recuperados, em relação ao volume implantado (STEELY et al, 1988).

Neste estudo, o percentual de 62,93% (sadios) e de 50,39% (na fase crônica da esquistossomose) do peso total dos fragmentos de baços implantados, foram divididos em cerca de 05 fatias, o que representa respectivamente 12,59% e 10,08%, para cada uma, apresentando cada fatia peso abaixo de 25% do peso total do baço. Apesar disto, o peso dos implantes esplênicos recuperados dos animais com esquistossomose foi reduzido à metade. A única diferença existente nos auto-implantes esplênicos dos animais com esquistossomose em relação aos dos sadios, além do comprometimento esplênico pela doença, foi a de serem as fatias maiores em tamanho absoluto e portanto mais pesadas (aproximadamente o dobro do peso, equivalendo cada a 25,35% do peso total do baço sadio, o que está discretamente acima do peso de 25%), porém proporcionalmente menores em relação ao volume total do baço acometido pela doença.

Em experimento utilizando rato e não camundongo, o peso dos implantes esplênicos esteve na dependência do volume implantado, do intervalo de tempo entre a implantação e seu

resgate e a seqüência dos eventos de regeneração. Para implantes menores que 100 mg, houve correlação linear no ganho do peso. No entanto, para implantes maiores, pesando acima deste valor, além de não ter ocorrido ganho no peso, houve até leve redução no peso do implante recuperado. Fato este atribuído à menor taxa da capacidade regenerativa em relação à da necrose (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973). Baseado nesta observação, um dos fatores que poderia estar relacionado à redução no peso dos implantes de animais com esquistossomose, seria a incapacidade regenerativa em alcançar todo o implante, frente ao processo de necrose, uma vez que o peso do fragmento esplênico implantado dos com esquistossomose foi o dobro dos sadios. Dificuldades adicionais surgem para análise comparativa, por não existirem trabalhos na literatura que tenham estudado o processo regenerativo de implantes esplênicos na doença esquistossomótica, tendo sido estabelecida comparação com os dados obtidos em auto-implantes de animais sadios.

Sabe-se que as diferenças estatísticas são ainda maiores ao se comparar o tamanho dos baços inteiros com os implantes esplênicos, do que com os remanescentes esplênicos vascularizados após a esplenectomia parcial, com o peso médio do implante esplênico de 0,49 g e do remanescente de 1,1 g (COONEY et al, 1979).

Com relação ao espaço de tempo, verificou-se redução no peso do implante esplênico por volta da 2.<sup>a</sup> semana pós-implante, com ganho no peso na 4.<sup>a</sup> semana e, na 5.<sup>a</sup> semana estabilizando acima do peso original, pela presença de células sanguíneas na zona externa do implante e pela instalação da fase regenerativa (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973). Como foi utilizado nesse estudo o intervalo de 08 semanas entre a implantação e o resgate dos fragmentos esplênicos e, portanto, maior que 05 semanas, o estabelecimento do processo regenerativo poderia explicar o ganho de peso dos implantes esplênicos em animais sadios.

Observou-se que em casos de ressecção parcial do baço, os remanescentes esplênicos tiveram aumento no peso após 30 dias, devido às alterações inflamatórias e após 90 dias, devido à hiperplasia vascular intrafolicular e perifolicular (POUCHÉ et al, 1986).

### **6.3 Sobre a cirurgia do auto-implante esplênico**

O baço está localizado no quadrante superior esquerdo da cavidade peritoneal, e constitui-se em parte integrante do sistema venoso portal. Experimentos prévios demonstraram que auto-implantes esplênicos desempenham melhor papel protetor contra infecção pneumocócica, quando situados na cavidade peritoneal (RODRIGUES et al, 1991; VEGA et al, 1981), consistindo em sítio privilegiado para os implantes, sobretudo se realizado no omento (PATEL et al, 1982). Implantes subcutâneos e baços devascularizados *in situ* drenam via circulação sistêmica, enquanto os da cavidade peritoneal drenam via portal para o fígado (VEGA et al, 1981). Além do mais, o omento mostrou-se em topografia adequada por serem satisfatórios: o suprimento vascular sanguíneo (RODRIGUES et al, 1991; IINUMA et al, 1992), o procedimento cirúrgico (WILLIAMS; PATEL & HINSHAW, 1982) e a regeneração histológica (TORRES et al, 1994). A opção neste estudo pelo auto-implante no grande omento, levou em consideração os vários benefícios e a maior eficácia imunológica dos implantes nessa topografia. Os tecidos esplênicos desta forma, foram implantados em uma bolsa criada no grande omento, por ser este considerado sítio apropriado para implante, tendo sido confirmada a re-integração dos mesmos, permitindo que o processo de regeneração acontecesse.

Na tentativa de assegurar suprimento capilar sanguíneo adequado para os auto-implantes esplênicos, foram os mesmos fatiados (STEELY et al, 1988), com redução de seus

volumes (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973), uma vez que a implantação de fatias permite que haja preservação arquitetural do tecido (PATEL et al, 1982).

Com relação ao volume a ser auto-implantado, 25% do tecido esplênico é apontado como provável massa crítica para conferir proteção anti-pneumocócica (BRADSHAW & THOMAS JR, 1982a), sendo afirmado como quantidade ótima, o implante de 80% do baço (STEELY et al, 1988). Desta forma, optou-se por cerca de 2/3 do baço a ser auto-implantado, consistindo em 62,93% do volume do órgão destinado para implante, no caso dos animais sadios e a 1/2 (50,39%) do órgão, em se tratando de animais na fase crônica da esquistossomose.

Foi escolhido o intervalo de tempo de 08 semanas, decorrido entre o auto-implante esplênico e o sacrifício dos animais, a fim de assegurar que a regeneração esplênica estivesse concluída a este tempo. Cinco semanas foi o tempo determinado por alguns pesquisadores, como necessário para ocorrer regeneração esplênica eficaz (BRADSHAW & THOMAS JR, 1982b). Apesar de afirmado que com 04 semanas já é possível ser observada regeneração completa (TORRES et al, 1994), há, no entanto, estudo apontando que os primeiros folículos secundários da polpa branca só foram vistos com 56 dias, ou seja, com 08 semanas (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982).

Apesar de demonstrado que tecido esplênico auto-implantado e, portanto, com interrupção do suprimento vascular sanguíneo, é capaz de desempenhar a produção de anticorpos e a função de fagocitose, este o faz de forma menos apropriada, quando comparado ao remanescente esplênico vascularizado após a esplenectomia parcial (COONEY et al, 1979; HORTON et al, 1982; PATEL et al, 1982; STEELY et al, 1988). No entanto, esta foi a alternativa operatória escolhida em virtude de consistir por vezes em único modelo possível em ser feito, quando de injúrias traumáticas com laceração do pedículo esplênico e com intensa fragmentação do órgão. Sendo preferível a tentativa de preservação do baço, do que a

sua extirpação. Tendo sido realizada esplenectomia total em pacientes quando lesões esplênicas traumáticas ocorreram em número igual ou maior que três (RABELO; ABRANTES & DRUMOND, 1991).

## **6.4 Sobre o estudo histológico**

### **6.4.1 do tecido hepático**

Os aspectos macroscópicos e microscópicos das secções de tecido hepático foram estudados para propósito de confirmação da doença esquistossomótica pós-inóculo subcutâneo do *S. mansoni*. Não se tratando, pois, de objetivo deste estudo a análise minuciosa das modificações provocadas pela parasitose neste órgão em particular.

As alterações nos espaços portais e periportais dos fígados de animais com esquistossomose na fase crônica da doença encontradas nesta análise, conferiram com aquelas já bem documentadas em outros estudos, como: angiogênese, fibrose, infiltrado inflamatório e formação de granulomas (ANDRADE; SILVA & SOUZA, 1997; COUTINHO et al, 1997).

### **6.4.2 do tecido esplênico**

Foi afirmado que o processo de regeneração do implante esplênico repete o desenvolvimento ontogenético do baço (PERLA, 1936), mas que de forma contrária a este processo, a regeneração do implante ocorre em um ambiente maduro, possivelmente sem que os fatores limitantes da imaturidade interfiram (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982). Os auto-implantes esplênicos realizados neste estudo regeneraram em condições de maturidade dos diversos sistemas do animal de experimentação, devido serem os camundongos adultos

por ocasião da cirurgia de auto-implante, e desta forma, inferimos que estiveram abolidos fatores ligados à imaturidade.

Os achados histológicos de maior quantidade de tecido fibrótico nos auto-implantes esplênicos, concordam com os de Willführ, Westermann & Pabst (1992), de Moore et al (1983) e de Tavassoli, Ratzan & Crosby (1973).

Neste experimento, verificou-se uma espessura maior da cápsula neoformada e maior ocorrência e intensidade de fibrose intersticial nos auto-implantes, tanto dos animais sadios, quanto dos portadores da fase crônica da esquistossomose. A argumentação de Steely et al (1988) para justificar a maior quantidade de fibrose intersticial encontrada em implantes maiores ou de todo o baço, como decorrente do crescimento limitado de capilares para suprir o tecido esplênico, foi considerada não se aplicar a este estudo, uma vez que os fragmentos foram implantados no grande omento em fatias de espessura de cerca de 1,0 mm. A cápsula neoformada também apresentou reação fibrótica exuberante, como observada ser espessa em auto-implantes esplênicos intraperitoneais (DICKERMAN et al, 1979) e em TCSC, quando analisada 11 semanas e 5 semanas, respectivamente, após o procedimento cirúrgico, possivelmente devido à regeneração do tecido adjacente ao implante (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973). Há discordância quanto à espessura da cápsula no trabalho desenvolvido por Fleming, Dickson & Harrison Júnior (1976), que observaram ser esta fina.

Não foi verificada uma maior espessura na cápsula esplênica na porção não-implantada do baço dos animais na fase crônica da esquistossomose em relação à dos animais sadios. Como previamente demonstrado em humanos, não ser este parâmetro de diferença estatística significativa, ao serem comparados baços acometidos pela doença com os sadios (FREITAS et al, 1999). Resultados discordantes foram relatados no estudo de Santos et al (2000).

Atribui-se à liberação de antígenos específicos dos ovos de *S. mansoni* e à produção de citocinas pelo hospedeiro (NISHIMURA et al, 1985; GRIMAUD et al, 1987;) a responsabilidade pelo estímulo da atividade fibroblástica, implicada na formação de granulomas (WYLER et al, 1987). Neste estudo, a análise da fibrose intersticial não incluiu a fibrogênese decorrente de formações granulomatosas em tecidos esplênicos de animais portadores da esquistossomose; a fibrose intersticial foi avaliada de forma independente da ocorrência dessas formações. Soma-se ainda, que não foi possível realizar um estudo estatístico comparativo, com relação a esta variável entre os animais sadios e os doentes. Assim, a doença esquistossomótica não pareceu assumir um papel de relevância no processo de fibrogênese independente da formação de granuloma, o que vem corroborar os achados de Andrade & Andrade (1965) em relação à ausência de proliferação fibroblástica e ao achado excepcional de fibrose na esplenomegalia esquistossomótica.

As trabéculas fibrosas apresentaram-se mais espessas na porção não-implantada do baço acometida pela esquistossomose, do que na sua correspondente dos animais sadios. Tal observação já era esperada, uma vez que as trabéculas exibiram espessamento proporcional ao aumento global no peso e no volume do baço, com diferença estatisticamente significativa em relação aos dos baços de indivíduos sadios, como anteriormente relatado em humanos (FREITAS et al, 1999). Outros autores também verificaram uma forte correlação positiva entre o peso do baço e o grau de espessamento conjuntivo das trabéculas, a nível experimental (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1960).

Apesar das trabéculas esplênicas terem apresentado uma maior espessura em maior número de auto-implantes esplênicos em relação às da porção não-implantada do baço, esta diferença não foi estatisticamente significativa, como a observada em relação à espessura da cápsula. As trabéculas, estruturas histologicamente formadas pelos mesmos constituintes da cápsula, penetram o parênquima do baço tanto pelo hilo, como em menor proporção, através

da cápsula (HAM, 1967). Nos auto-implantes, na inexistência do hilo do órgão, estas penetram o tecido através da cápsula, e possivelmente, também a partir dos pequenos vasos neoformados que penetram o implante, advindos do tecido adjacente (DICKERMAN et al, 1979). Contudo, apesar de as trabéculas terem sido observadas em todos os auto-implantes, o que confirma o achado de estudos anteriores (PERLA, 1936; BUCHBINDER & LIPKOFF, 1939; CARR & TURK, 1992; TORRES et al, 1994), há relatos de outros autores quanto à não-formação das mesmas em casos de esplenose (FLEMING; DICKSON & HARRISON JÚNIOR, 1976; RICE & JAMES, 1980).

Células precursoras da série eritrocitária, consideradas as pequenas, com núcleo escuro (TORRES et al, 1994) e picnótico, com citoplasma eosinofílico foram identificadas nos auto-implantes em quantidade similar a da porção não-implantada do baço. Em implante esplênico tecido eritropoiético foi abundante em indivíduos com osteopetrose congênita (BENJAMIN et al, 1978).

Sabe-se que a esplenomegalia na esquistosomose hepatoesplênica exhibe como principal alteração dilatação congestiva dos seios venosos e espessamento dos cordões esplênicos (FREITAS et al, 1999). Apesar de maior número de hemácias ter sido vista na porção não-implantada do baço de animais na fase crônica da esquistossomose quando comparada a dos sadios, esse parâmetro estudado não apresentou diferença estatisticamente significativa, podendo o fato dever-se ao tamanho da amostra estudada. Com relação à análise da espessura dos cordões esplênicos, esta não foi realizada, uma vez que avaliações ultra-estrutural e por imunofluorescência não consistiram em métodos empregados nesta pesquisa.

A presença de plasmócitos, células produtoras de anticorpos, já era esperada nos auto-implantes esplênicos, uma vez que na literatura, os nódulos esplenóticos exibiram cordões de Billroth infiltrados por plasmócitos, em moderada quantidade (FLEMING; DICKSON & HARRISON JÚNIOR, 1976); similarmente, complexos de antígeno-anticorpo foram

observados em auto-implantes, 21 dias após este procedimento cirúrgico ser realizado (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982). O maior número de plasmócitos na porção não-implantada do baço e em auto-implantes esplênicos de camundongos na fase crônica da esquistossomose, está de acordo com a maior produção de anticorpos na FHE da doença (ANDRADE et al, 1961; ZWINGENBERGER et al, 1988). Foi demonstrado ser gamaglobulina, o material hialino observado no centro de alguns folículos linfóides e no citoplasma de células plasmocitárias em muitas áreas do baço (FREITAS et al, 1999), sobretudo na polpa vermelha esplênica; com aumento progressivo de gamaglobulina com a evolução da doença se tornando proeminente por volta da décima oitava semana após a infecção (ANDRADE, 1962), cursando os portadores da esquistossomose, com hipergamaglobulinemia e ativação linfocitária esplênica (EL-CHEIKH et al, 1994). Plasmocitogênese foi observada no mesentério de camundongos cronicamente infectados com esquistossomose, com produção local de células secretando anticorpos para a cavidade abdominal (BOROJEVIC, 1992). E esplenomegalia foi também atribuída à hiperplasia retículo-endotelial, além da observação de células contendo gamaglobulina na polpa vermelha (ANDRADE & ANDRADE, 1965).

É provável que o número de plasmócitos na polpa vermelha seja maior do que o registrado neste estudo e que células de diferenciação plasmocitária intermediárias tenham sido deixadas de ser registradas, uma vez que o método utilizado para análise empregou apenas a coloração de H.& E. para a investigação de plasmócitos, sendo apenas considerados como tais, as células que morfológicamente não deixavam dúvidas quanto às suas características: núcleos arredondados, excêntricos, em “roda de carroça”, e citoplasma basofílico. Não foi empregado estudo imunocitoquímico adicional, como anteriormente já realizado (ANDRADE, 1962).

A polpa vermelha dos baços de camundongos normalmente exibe eritroblastos e plasmócitos, além de muitos linfócitos e poucos eritrócitos, não sendo, portanto, bem diferenciada da polpa branca pelo número elevado de linfócitos (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961). Aumento na quantidade de precursores mielóides foi visto em baços e em granulomas, quando da fase crônica da esquistossomose (BOROJEVIC, 1992). No entanto, nos auto-implantes esplênicos deste estudo de animais acometidos pela esquistossomose, não foram observadas maiores quantidades de células da linhagem eritrocitária, nem de megacariócitos, quando comparados aos auto-implantes realizados em camundongos sadios. Megacariócitos foram mais numerosos nos auto-implantes, quando comparados à porção não-implantada do baço. Na literatura, há referência aos mesmos, relatando serem estes ocasionais no tecido esplênico auto-implantado (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973), ou estarem presentes em baços de camundongos em diferentes quantidades, variando de animal a animal (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961).

A observação de células pequenas, com diminutos núcleos e com citoplasma eosinofílico foram reconhecidas como pertencentes à série eritrocitária, correspondendo a hemácias jovens (nucleadas). Este achado, juntamente com a presença de megacariócitos nos implantes esplênicos, demonstram que os mesmos, após sofrerem processo de regeneração, mantiveram a mielopoese, semelhante àquela identificada em baços sadios (ANDRADE, 1962).

No que diz respeito aos leucócitos polimorfonucleares, verificou-se diferença entre os dois subgrupos de animais sadios e os dois subgrupos de animais na fase crônica da esquistossomose, com maior número predominando nos auto-implantes, o que pode ser parcialmente atribuído às lesões inflamatórias pós-cirúrgicas, como aquelas observadas na esplenectomia parcial (POUCHÉ et al, 1986).

Granulomas estiveram presentes tanto na porção não-implantada do baço, como nos auto-implantes de alguns camundongos na fase crônica da esquistossomose. Como até a presente pesquisa não houve trabalho científico que analisasse histologicamente auto-implantes esplênicos em portadores de esquistossomose, não foi possível estabelecer comparação de parâmetros estudados nesses auto-implantes com outros nas mesmas condições de doença. A ocorrência dos granulomas na porção não-implantada dos animais concorda com o achado ocasional dos mesmos em baços de indivíduos com a FHE da esquistossomose (SANTOS et al, 2000).

A verificação de granulomas em localização pericapsular, no tecido conjuntivo adjacente ao implante, coincide com dados da literatura que afirmam que o suprimento sangüíneo é re-estabelecido por anastomoses com vasos do tecido que circundam o implante (ALVES et al, 1999; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982). Neste caso, tratar-se-iam de conexões vasculares com vasos mesentéricos, uma vez que a postura dos ovos de *S. mansoni* é carregada por esta circulação.

Granulomas também foram observados na intimidade dos auto-implantes de tecido esplênico que regeneraram, ocorrendo em maior número na periferia, por vezes enfileirados, e em menor quantidade na porção central. Tais achados corroboram que o processo de vascularização se processa centripetamente, à medida que a regeneração acontece, a partir de vasos neoformados que penetram o auto-implante. Pode-se inferir que tais granulomas encontrados em porção central, não correspondem aos que sobreviveram a fase avascular, e sim aos que se formaram a partir de produtos antigênicos, como o ovo e sua casca, trazidos pelos vasos neoformados. Pois a localização mais profunda no tecido, corresponde à parte do auto-implante que deve ter sofrido total necrose, como afirmado por estudos seqüenciais da evolução do processo regenerativo (PERLA, 1936; TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY,

1973; DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; MAESAWA & SAKUMA, 1992; TORRES et al, 1994).

Nos auto-implantes esplênicos dos camundongos com e sem doença esquistossomótica, a polpa branca exibiu os mesmos compartimentos presentes na porção não-implantada do baço, com folículos linfóides com CG ativado, linfócitos maduros e PALS; como previamente observado em experimento incluindo apenas animais saudáveis, mas não com esquistossomose (TORRES et al, 1994).

É, no entanto, tal achado discordante no que diz respeito aos compartimentos da polpa branca com os de Willführ, Westermann & Pabst (1992); apesar do tecido esplênico auto-implantado ter sido maduro, uma vez que os camundongos deste estudo eram adultos e não jovens, quando do ato operatório, a polpa branca exibiu regeneração completa, sendo comparável a sua estrutura normal. Os referidos autores encontraram polpa branca pobremente desenvolvida quando realizado implante esplênico em semelhante situação.

Neste estudo PALS foram observados em todos os tecidos esplênicos analisados, reafirmando sua verificação em relatos anteriores (DIJKSTRA & LANGEVOORT, 1982; SASAKI, 1990; MAESAWA & SAKUMA, 1992; TORRES et al, 1994). Foram registrados quanto a sua presença e não graduados quanto ao seu desenvolvimento. Na formação da polpa branca em auto-implante esplênico utilizando camundongo sadio, dois padrões distintos foram reconhecidos, com PALS pobremente desenvolvidos (SASAKI, 1990). Pouché et al (1986) descreveram três maneiras de regeneração do tecido linfóide.

A ativação dos folículos linfóides foi baseada nos achados histológicos de mitoses em linfócitos e de porção central do folículo mais clara (MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH, 1961), com presença de linfócitos de tamanhos médio e grande. Apesar de maior número de casos de auto-implantes esplênicos de camundongos infectados com esquistossomose ter exibido figuras de mitose em CG, essa verificação não foi de diferença

estatística significativa quando comparada a do auto-implante sem doença. Maior ativação linfocitária, estimada pela presença de células grandes, não foi maior nos auto-implantes esplênicos de camundongos com esquistossomose, em relação aos dos animais saudáveis, como afirmado por El-Cheick et al (1994) ocorrer em ambas as subpopulações de linfócitos B e T.

Em baços acometidos pela esquistossomose foram verificadas alterações histológicas distintas na polpa branca, como: hiperplasia, atrofia e fibrose dos folículos linfóides; consideradas como variadas e imprevisíveis (FREITAS et al, 1999). No presente estudo, os folículos linfóides não foram observados quanto a esses parâmetros supracitados, e sim graduados de acordo com sua presença no tecido esplênico, se maior ou em menor quantidade.

Na esquistossomose é descrita a presença de pigmento acastanhado, denominado de pigmento esquistossomótico (RASO, 1995). Neste estudo, pigmento acastanhado foi encontrado em maior quantidade nos auto-implantes esplênicos de animais doentes, em relação aos dos animais saudáveis, correspondendo também o subgrupo E2 ao que mais apresentou tecido fibroso. Em estágio final da reação granulomatosa periovular, o granuloma pode se apresentar como cicatriz pigmentada residual (LENZI et al, 1987).

Os achados histológicos dos tecidos esplênicos auto-implantados exibiram a representação de todos os compartimentos do órgão habitualmente localizado na cavidade abdominal, quer de animais saudáveis ou com esquistossomose, como previamente relatado em outras pesquisas realizadas apenas em animais saudáveis, sendo histologicamente indistinguíveis do baço normalmente inserido (TAVASSOLI; RATZAN & CROSBY, 1973; PATEL et al, 1982; CARR & TURK, 1992; TORRES et al, 1994). Este estudo, pois, corrobora os demais no que concerne à verificação do processo de regeneração de fragmentos de baço implantados na cavidade abdominal, mais especificamente no grande omento.

Sabendo-se que a estrutura histológica dos auto-implantes esplênicos é considerada como essencial para que seja conferida proteção anti-pneumocócica (WILLFÜHR; WESTERMANN & PABST, 1992), pode ser inferido que os auto-implantes que regeneraram, passaram a desempenhar dentre as funções comumente realizadas pelo baço, a capacidade de conferir proteção contra microorganismos infectantes, apesar de nenhum tipo de mensuração referente a esta questão ter sido realizada.

## **CONCLUSÕES**

- ❖ Verificou-se regeneração dos auto-implantes esplênicos em todos os camundongos sadios e na fase crônica da esquistossomose;
- ❖ Os achados histológicos dos auto-implantes esplênicos, de forma geral, assemelharam-se aos da respectiva porção não-implantada do baço, verificando-se os constituintes da polpa branca e da polpa vermelha;
- ❖ Diferenças estatísticas significativas existentes entre os auto-implantes esplênicos e a porção não-implantada do baço, quer em animais sadios ou na fase crônica da esquistossomose, corresponderam a: maior espessura da cápsula neoformada, maior ocorrência de fibrose intersticial, maior número de leucócitos polimorfonucleares e de megacariócitos nos auto-implantes;
- ❖ Maior expressão de linfócitos de tamanhos médio e grande no centro germinativo dos folículos linfóides ocorreu na porção não-implantada do baço do que nos auto-implantes esplênicos de camundongos na fase crônica da esquistossomose;
- ❖ Linfócitos extrafoliculares foram observados em maior número nos auto-implantes esplênicos de animais sadios em relação à porção não-implantada;
- ❖ Ao serem comparados os auto-implantes esplênicos entre si, as diferenças consistiram em: maior número de células plasmocitárias e de pigmento acastanhado nos animais portadores da fase crônica da esquistossomose, além das alterações conseqüentes à doença, como presença de estruturas de ovos e de miracídeos, com reações granulomatosas parenquimatosas;
- ❖ Granulomas esquistossomóticos não diferiram quanto ao número, à localização no tecido esplênico e ao material antigênico presente em seu interior, entre os subgrupos de animais portadores da fase crônica da doença.

## **REFERÊNCIAS**

ADEODATO, L., C., L. **Subpopulações de linfócitos CD4, CD8 e CD45RB em enxertos esplênicos autólogos heterotópicos de camundongos sadios e esquistossomóticos: estudo comparativo com o baço intacto e o remanescente esplênico vascularizado.** 2004. 97 p. Tese (Doutorado em Cirurgia) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2004.

AIGNER, K.; DOBROSCHKE, J.; WEBER, E., G.; SCHWEMMLE, K.; BAUER, M., TEUBER, J.; HELMKE, K. Successful reimplantation of splenic tissue after neonatal abdominal trauma. **The Lancet**, London, v. 16, p. 360-361, 1980.

AL ADNANI, M., S. Concomitant immunohistochemical localization of fibronectin and collagen in schistosome granuloma. **The Journal of Pathology**, Chichester, v. 147, p. 77-85, 1985.

ALVES, H., J.; VIANA, G.; MAGALHÃES, M., M.; ARANTES, R., M., E.; COELHO, P., M., Z.; CUNHA-MELO, J., R. Kinetics of neovascularisation of splenic autotransplants in mice. **Journal of Anatomy**, London, v. 195, p. 387-392, 1999.

AMARAL, R., S. & PORTO, M., A., S. Evolução e situação atual do controle da esquistossomose no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 27, s. III, p. 73-90, 1994.

ANDRADE, Z.A. Aspectos experimentais da esplenomegalia da esquistossomose. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 4, n. 4, p. 249-255, 1962.

ANDRADE, Z., A. & ANDRADE, S., G. Patologia do baço na esquistossomose hepatoesplênica. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 7, n. 4, p. 218-227, 1965.

ANDRADE, Z., A. & GRIMAUD, J., A. Evolution of the schistosomal hepatic lesions in mice after curative chemotherapy. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 124, p. 59-65, 1986.

ANDRADE, Z., A. & GRIMAUD, J., A. Morphology of chronic collagen resorption. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 132, n. 2, p. 389-399, 1988.

ANDRADE, Z., A.; SILVA, L., M. & SOUZA, M., M. An experimental approach to the pathogenesis of "pipestem" fibrosis (Symmers' fibrosis of the liver). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 92, n. 5, p. 699-706, 1997.

ANDRADE, Z., A.; SILVA, L., M.; SOUZA, M., M.; SADIGURSKY, M.; BARBOSA JÚNIOR, A.; OLIVEIRA, I., R. Role of the spleen on the pathogenesis of schistosomal periportal (pipestem) fibrosis of the liver: an experimental approach. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 59, p. 557-562, 1998.

ARRUDA, S., M.; SANTORO, F. & SADIGURSKY, M. Evaluation of spleen cell population and effect of splenectomy on granuloma modulation in BALB/c mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 88, p. 97-102, 1993.

BALFANZ, J., R.; NESBIT JR, M., E.; JARVIS, C.; KRIVIT, W. Overwhelming sepsis following splenectomy for trauma. **The Journal of Pediatrics**, St. Louis, v. 88, n. 3, p. 458-460, 1976.

BECK, L.; FAVRE, T., C.; PIERI, O., S.; ZANI, L., C.; DOMAS, G., G.; BARBOSA, C., S. Replacing Oxamniquine by Praziquantel against *Schistosoma mansoni* infection in a rural community from the sugar-cane zone of northeast Brazil: an epidemiological follow-up. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, p. 165-167, 2001.

BENJAMIN, J., T.; KOMP, D., M.; SHAW, A.; MCMILLAN, C., W. Alternatives to total splenectomy: two case reports. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v. 13, n. 2, p. 137-138, 1978.

BOROJEVIC, R. Experimental murine schistosomiasis mansoni: establishment of the chronic phase of the disease. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, s. IV, p. 171-174, 1992.

BRADSHAW, P., H. & THOMAS JR, C., G. Partial esplenectomy and overwhelming infection in rats. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 32, p. 173-175, 1982a.

BRADSHAW, P., H. & THOMAS JR, C., G. Regeneration of splenic remnants after partial splenectomy in rats. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 32, p. 176-181, 1982b.

BRANDT, C., T.; TAVARES, D., J., S. & FREI CANECA, O., A. Esquistossomose cirúrgica na criança: recidiva hemorrágica e contribuição da ultrassonografia na avaliação da hemodinâmica portal. **Anais da Faculdade de Medicina**, Recife, v. 38, n. 2, p. 3-5, 1993.

BRANDT, C., T.; MACIEL, D., T.; FREI CANECA, O., A.; DE CASTRO, C., M., M., B.; DE ARAÚJO, L., B. Autotransplant of spleen tissue in children with schistosomiasis: evaluation of splenic function after splenosis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, p. 117-122, 2001.

BUCHBINDER, J., H. & LIPKOFF, C., J. Splenosis: multiple peritoneal splenic implants following abdominal injury. **Surgery**, St. Louis, p. 927- 934, 1939.

CÂMARA, R., D. & COELHO, A., R., B. Reflexões sobre possíveis exageros na proteção aos animais utilizados em experimentação científica. **Anais da Faculdade de Medicina**, Recife, v. 48, n. 1, p. 1-2, 2003.

CAMPOS-CHRISTO, M. Segmental resections of the spleen. Report on the first eight cases operated on. **O Hospital**, v. 62, n. 3, p. 187-204, 1962.

CARR, N., J. & TURK, E., P. The histological features of splenosis. **Histopathology**, Oxford, v. 21, p. 549-553, 1992.

CLAASSEN, E. Histological organization of the spleen: implications for immune functions in different species. **Research in Immunology**, Paris, v. 142, n. 4, p. 315-316, 1991.

COHEN, R., C. & FERRANTE, A. Immune dysfunction in the presence of residual splenic tissue. **Archives of Disease in Childhood**, London, v. 57, n. 7, p. 523-527, 1982.

CONSTANTOPOULOS, A.; NAJJAR, V., A.; WISH, J., B.; NECHELES, T., H.; STOLBACH, L., L. Defective phagocytosis due to tuftsin deficiency in splenectomized subjects. **American Journal of Diseases in Child**, Chicago, v. 125, n. 5, p. 663-665, 1973.

COONEY, D., R.; DEARTH, J., C.; SWANSON, S., E.; DEWANJEE, M., K.; TELANDER, R., L. Relative merits of partial splenectomy, splenic reimplantation, and immunization in preventing postsplenectomy infection. **Surgery**, St. Louis, v. 86, n.4, p. 561-569, 1979.

CORAZZA, G., R.; TAROZZI, C.; VAIRA, D.; FRISONI, M.; GASBARRINI, G. Return of splenic function after splenectomy: how much tissue is needed? **BMJ**, London, v. 289, p. 861-864, 1984.

COUTINHO, E., M.; DE SOUZA, M., M.; SILVA, L., M.; CAVALCANTI, C., L.; DE ARAUJO, R., E.; BARBOSA JUNIOR, A., A.; CHEEVER, A., W.; ANDRADE, Z., A. Pathogenesis of schistosomal "pipestem" fibrosis: a low-protein diet inhibits the development of "pipestem" fibrosis in mice. **International Journal of Experimental Pathology**, Oxford, v. 78, p. 337-342, 1997.

DÍAZ-RIVERA, R., S.; RAMOS-MORALES, F.; SOTOMAYOR, Z., R.; LICHTENBERG, F.; GARCÍA-PALMIERI, M., R.; CINTRÓN-RIVERA, A., A.; MARCHAND, E., J. The pathogenesis of Manson's schistosomiasis. **Annals of Internal Medicine**, Philadelphia, v. 47, n. 6, p. 1082-1107, 1957.

DICKERMAN, J., D.; HORNER, S., R.; COIL, J., A.; GUMP, D., W. The protective effect of intraperitoneal splenic autotransplants in mice exposed to an aerosolized suspension of type III *Streptococcus pneumoniae*. **Blood**, New York, v. 54, n.2, p. 354-358, 1979.

DIJKSTRA, C., D. & LANGEVOORT, H., L. Regeneration of splenic tissue after autologous subcutaneous implantation: development of non-lymphoid cells in the white pulp of the rat spleen. **Cell & Tissue Research**, Berlin, v. 222, n. 1, p. 69-79, 1982.

DIJKSTRA, C., D. & KRAAL, G. Non-lymphoid cells in the splenic white pulp. **Research in Immunology**, Paris, v. 142, n. 4, p. 325-328, 1991.

EL-CHEIKH, M., C.; DUTRA, H., S.; MINÓPRIO, P.; BOROJEVIC, R. Increase of B-lymphocyte number and activity during experimental murine schistosomiasis mansoni. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 27, p. 1605-1617, 1994.

ERICKSON, W., D.; BURGERT JR, O. & LYNN, H., B. The hazard of infection following splenectomy in children. **American Journal of Disease in Child**, Chicago, v. 116, p. 1-12, 1968.

FAVRE, T., C.; PIERI, O., S.; CONSTANÇA, S., B.; BECK, L. Avaliação das ações de controle da esquistossomose implementadas entre 1977 e 1996 na área endêmica de Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 34, n. 6, p. 569-576, 2001.

FERRAZ, E., M.; LIMA FILHO, J., F., C.; LIMA, F., E., A.; PORFIRIO, L.; KELNER, S. Infecção pós-operatória na esquistossomose hepatoesplênica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 1-4, 1982.

FERRAZ, E., M.; BACELAR, T., S.; FERRAZ, A., A., B.; PAGNOSSIN, G.; HENRIQUES FILHO, G., A., T., M.; MARIZ, F., E., N. Infecção de ferida pós-esplenectomia em pacientes com ou sem esquistossomose hepatoesplênica. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p. 75-79, 1991.

FERRAZ, A., A., B.; SANTOS JUNIOR, M., A.; MATHIAS, C., A., C.; MAGALHÃES, M.; BACELAR, T., S.; FERRAZ, E., M. Modelo de peritonite experimental em camundongos esquistossomóticos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 8, n. 1, p. 28-31, 1993.

FLEMING, C., R.; DICKSON, E., R. & HARRISON JÚNIOR, E., G. Splenosis: autotransplantation of splenic tissue. **The American Journal of Medicine**, New York, v. 61, p. 414-419, 1976.

FRANCKE, E., L. & NEU, H., C. Postsplenectomy Infection. **Surgical Clinics of North America**, Philadelphia, v. 61, n. 1, p. 135-155, 1981.

FREITAS, C., R., L.; BARBOSA JÚNIOR, A., A.; FERNANDES, A., L., M.; ANDRADE, Z., A. Pathology of the spleen in hepatosplenic schistosomiasis. Morphometric evaluation and extracellular matrix changes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 94, n. 6, p. 815- 822, 1999.

GAZZINELLI, G.; LAMBERTUCCI, J., R.; KATZ, N.; ROCHA, R., S.; LIMA, M., S.; COLLEY, D., G. Immune responses during human schistosomiasis mansoni. Immunologic status of patients with acute infections and after treatment. **Journal of Immunology**, Baltimore, v. 135, p. 2121-2127, 1985.

GRIMAUD, J., A.; BOROS, D., L.; TAKIYA, C.; MATHEW, R., C.; EMONARD, H. Collagen isotypes, laminin and fibronectin in granulomas of the liver and intestines of *Schistosoma mansoni* infected mice. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 37, n. 2, p. 335-344, 1987.

HAM, A., W. Tecido hematopoiético. In: \_\_\_\_\_. **Histologia**. 3 ed. Brasileira. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1967. p. 291-398.

HOOD, A., T. & BOROS, D., L. The effect of splenectomy on the pathophysiology and egg-specific immune response of *Schistosoma mansoni*-infected mice. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v. 29, n. 4, p. 586-591, 1980.

HORTON, J.; OGDEN, M., E.; WILLIAMS, S.; COLN, D. The importance of splenic blood flow in clearing pneumococcal organisms. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 195, n. 2, p. 172-176, 1982.

HSU, S., Y., L.; HSU, H., F.; DAVIS, J., R.; LUST, G., L. Comparative studies on the lesions caused by eggs of *Schistosoma japonicum* and *Schistosoma mansoni* in livers of albino mice and rhesus monkeys. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 66, p. 89-97, 1972.

IINUMA, H.; OKINAGA, K.; SATO, S.; TOMIOKA, M.; MATSUMOTO, K. Optimal site and amount of splenic tissue for autotransplantation. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 53, p. 109-116, 1992.

JOHNSON, J. & WEISS, L. Electron microscopic study of subcutaneous and intraperitoneal splenules in the mouse. **American Journal of Anatomy**, New York, v. 158, p. 89-100, 1989.

JUGENBURG, M.; HADDOCK, G.; FREEDMAN, M., H.; FORD-JONES, L.; EIN, S., H. The morbidity and mortality of pediatric splenectomy: does prophylaxis make difference? **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v. 34, n. 7, p. 1064-1067, 1999.

JUNQUEIRA, L., C., U.; MONTES, G., S.; TOLEDO, O., M., S.; JOAZEIRO, P., P. Morphological, histochemical and biochemical observations on the connective tissue matrix of *in situ* and isolated hepatic granulomas in experimental murine schistosomiasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, London, v. 80, p. 27-41, 1986.

KATZ, N. & PEIXOTO, S., V. Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 33, n. 3, p. 303-308, 2000.

KELNER, S. & SILVEIRA, M. **Varizes de esôfago na esquistossomose mansônica**. Recife: Ed.Universitária da UFPE, 1997.

KELNER, S. Critical evaluation of surgical treatment of schistosomotic portal hypertension. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 87, s. IV, p. 357-368, 1992.

KING, H. & SHUMACKER, H., B. Splenic studies. I. Susceptibility to infections after splenectomy performed in infancy. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 136, n. 2, p. 239-242, 1952.

LAMBERTUCCI, J., R.; TEIXEIRA, R.; NAVARRO, M., M., M.; COELHO, P., M., Z.; FERREIRA, M., D. Liver abscess and acute schistosomiasis. A new association. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 23, p. 239-240, 1990.

LAMBERTUCCI, J., R. Acute schistosomiasis: clinical, diagnostic and therapeutic features. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 35, p. 399-404, 1993.

LENZI, H., L.; SOBRAL, A., C., L. & LENZI, J., A. The fate of the granulomes in chronic murine schistosomiasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 20, p. 37-40, 1987.

LIKHTE, V., V. Opsonic and leucophilic globulin in chronically splenectomized rats with or without heterotopic autotransplanted splenic tissue. **Nature**, v. 253, p. 742-743, 1975.

LIMA, V., C., P. & MALUF, F., C. Schistosomiasis: predisposing cause for the formation of hepatic abscess? Case report. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 37, n. 3, p. 277-280, 1995

MAESAWA, C. & SAKUMA, T. Microscopic features of the regeneration of white pulp in auto-transplanted spleens in rats. **Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology**, Berlin, v. 421, p. 41-45, 1992.

MAGALHÃES FILHO, A. & COUTINHO-ABATH, E. Lesões esplênicas iniciais na esquistossomose mansônica humana. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 2, n. 5, p. 251-259, 1960.

MAGALHÃES FILHO, A.; MENEZES, H. & BARROS COELHO, R. Patogênese da fibrose hepática na esquistossomose mansoni (estudo das alterações vasculares portais mediante modelo plástico). **Revista da Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 6, n. 4, p. 284-293, 1960.

MAGALHÃES FILHO, A. & COUTINHO-ABATH, E. Splenic reactions in swiss albino mice to single and multiple infections with *Schistosoma mansoni*. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v.10, n. 3, p. 356-364, 1961.

MAHMOUD, A., A., F. & WOODRUFF, A., W. The causation of splenomegaly in schistosomiasis in mice. **Clinical Science and Molecular Medicine**, London, v. 54, p. 397-401, 1978.

McCLUSKY, D., A.; SKANDALAKIS, L., J.; COLBORN, G., L.; SKANDALAKIS, J., E. Tribute to a triad: history of splenic anatomy, physiology, and surgery – part 1. **World Journal of Surgery**, New York, v. 23, n. 3, p. 311-325, 1999.

MENDES, A., F., L.; NETO, B., J. & LEAL, T., A. Abscesso hepático piogênico associado à esquistossomose. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 26, n.4, p. 249-251, 1999.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde, Recife, 2001. Disponível em <[http://dtr2001.saude.gov.br/sus/epi/situacao\\_doenças/situacao.htm#esquistossomose](http://dtr2001.saude.gov.br/sus/epi/situacao_doenças/situacao.htm#esquistossomose)>. Acesso em: 03 out. 2004.

MOORE, G., E.; STEVENS, R., E.; MOORE, E., E.; ARAGON, G., E. Failure of splenic implants to protect against fatal postsplenectomy infection. **The American Journal of Surgery**, New York, v. 146, p. 413-414, 1983.

MORRIS, D., H. & BULLOCK, F., D. The importance of the spleen in the resistance to infection. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 70, p. 513, 1919.

MUSSO, C.; PEREIRA, F., E.; DETTOGNI, R., V.; FERREIRA, M., A. Pyogenic liver abscess and schistosomiasis mansoni in the state of Espírito Santo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 29, n. 4, p. 359-362, 1996.

NISHIMURA, M.; ASAH, M.; HAYASHI, M.; TAKAZONO, I.; TANAKA, Y.; KOHDA, H.; URABE, H. Extracellular matrix in hepatic granulomas of mice infected with *Schistosoma mansoni*. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, Chicago, v. 109, p. 813-818, 1985.

ORDA, R.; BARAK, J.; BARON, J.; SPIRER, Z. Postsplenectomy splenic activity. **Annals of Surgery**, Philadelphia, v. 194, n. 6, p. 771-774, 1981.

PARISE, E., R.; SUMMERFIELD, J., A.; HAHN, E.; WIEDMANN, K., H.; DOENHOFF, M., J. Basement membrane proteins and type III procollagen in murine schistosomiasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene**, London, v. 79, p. 663-670, 1985.

PATEL, J.; WILLIAMS, J., S.; NAIM, J., O.; HINSHAW, J., R. Protection against pneumococcal sepsis in splenectomized rats by implantation of splenic tissue into an omental pouch. **Surgery**, St. Louis, v. 91, n.6, p. 638-641, 1982.

PEARSON, H., A.; JOHNSON, D.; SMITH, K., A.; TOULOUKIAN, R., I. The born again spleen. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 298, p. 1389-1392, 1978.

PELLEGRINO, J. & MACEDO, D., G. A simplified method for the concentration of cercarie. **Journal of Parasitology**, Lawrence, v. 41, p. 329-330, 1955.

PERLA, D. The regeneration of autoplasic splenic transplants. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 12, p. 665-675, 1936.

PETROIANU, A. **Estudo quantitativo da função fagocitária de macrófagos em baços íntegros e em remanescentes de esplenectomia subtotal, em mamíferos**. 1993. 118 p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 1993.

PETROIANU, A. Avaliação da função fagocitária em remanescentes de esplenectomia subtotal e auto-implante esplênico autógeno. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 25-30, 2003a.

PETROIANU, A. Tratamento cirúrgico da hipertensão porta na esquistossomose mansoni. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 36, n. 2, p. 253-265, 2003b.

POUCHÉ, A.; CHIODERA, P.; BOSIO, P.; ALLEVI, G.; TIBERIO, G. Experimental splenic regeneration. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v. 162, p. 25-30, 1986.

RABELO, G., D.; ABRANTES, W., L. & DRUMOND, D., A., F. Esplenectomia *versus* cirurgia conservadora no trauma esplênico. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, Rio de Janeiro, v. 18, n. 3, p. 80-86, 1991.

RASO, P.; TOPPA, N., H.; OLIVEIRA, D., M.; LEMOS, F., P. Tipos de colágeno na fibrose hepática esquistossomótica de Symmers. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, Uberaba, v. 16, p. 202-205, 1983.

RASO, P. Esquistossomose mansônica. In: BRASILEIRO FILHO, G.; PITTELLA, J.E.H. & PEREIRA, F.E.L. **Bogliolo Patologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. p. 1124-1145.

RICE, H., M. & JAMES, P., D. Ectopic splenic tissue failed to prevent fatal pneumococcal septicemia after splenectomy for trauma. **Lancet**, London, v. 15, p. 565-566, 1980.

RODRIGUES, A., Z.; NIGRO, A., J., T.; PAIVA, E., R.; SEMENTILLI, A.; TAVARES, N., M. Estudo comparativo da viabilidade de fragmento de tecido esplênico autólogo implantado no omento maior ou na tela subcutânea de ratas. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 6, n.2, p. 64-67, 1991.

ROSNER, F. The spleen in the Talmud and other early jewish writings. **Bulletins of History of Medicine**, Baltimore, v. 46, p. 82-85, 1972.

SANTOS, O., C.; FIGUEREDO-SILVA, J.; SILVEIRA, M., J., C.; MONTENEGRO, L., T.; BRANDT, C., T.; EVANGELISTA, J.; MEIRA, M., R., L. The splenic follicle in human hepatosplenic schistosomiasis mansoni: a histological, immunohistochemical and morphometric study. **Anais da Faculdade de Medicina**, Recife, v. 45, n. 2, p. 94-99, 2000.

SARIN, S., K.; MOSCA, P.; SABBÀ, C.; GROSZMANN, R., J. Hyperdynamic circulation in chronic murine schistosomiasis model of portal hypertension. **Hepathology**, St. Louis, v. 13, n. 3, p. 581-584, 1991.

SASAKI, K. Splenic autotransplantation in nude mice: the formation of white pulp. **APMIS**, Copenhagen, v. 98, p. 507-513, 1990.

SILVA, L., M.; FERNANDES, A., L., M.; BARBOSA JÚNIOR, A.; OLIVEIRA, I., R.; ANDRADE, Z., A. Significance of schistosomal granuloma modulation. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 95, n. 3, p. 353-361, 2000.

STEELY, W., M.; SATAVA, R., M.; BRIGHAM, R., A.; SETSER, E., R.; DAVIES, R., S. Splenic autotransplantation: determination of the optimum amount required for maximal survival. **Journal of Surgical Research**, New York, v. 45, p. 327-332, 1988.

TAKAHASHI, S.; DUNN, M., A. & SEIFTER, S. Liver collagenase in murine schistosomiasis. **Gastroenterology**, New York, v. 78, p. 1425-1431, 1980.

TAVASSOLI, M.; RATZAN, R., J. & CROSBY, W., H. Studies on regeneration of heterotopic splenic autotransplants. **Blood**, New York, v. 41, p. 701-709, 1973.

TIMENS, W. The human spleen and the immune system: not just another lymphoid organ. **Research in Immunology**, Paris, v. 142, n. 4, p. 316-320, 1991.

TORRES, O., J., M.; DIETZ, U., A.; LIMA, E., J., B.; LODDO, G.; SALAZAR, R., M.; MALAFAIA, O. Histological evaluation of the regeneration of splenic autotransplants experimental study in rats. **Acta Cirúrgica Brasileira**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 81-87, 1994.

TRUDEN, J., L. & BOROS, D., L. Collagenase, elastase, and nonspecific protease production by vigorous or immunomodulated liver granulomas and granuloma macrophages/eosinophils of *S. mansoni*-infected mice. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 121, p. 166-175, 1985.

VAN KRIEKEN, J., H., J., M. & TE VELDE, J. Spleen. In: STERNBERG, S., S. **Histology for Pathologists**. 2. ed. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997. p. 675-685.

VAN DEN EERTWEGH, A., J., M. & CLAASSEN, E. T cells in the spleen: localization, cytokine production and cell/cell interactions. **Research in Immunology**, Paris, v. 142, n. 4, p. 334-339, 1991.

VEGA, A.; HOWELL, C.; KRASNA, I.; CAMPOS, J.; HEYMAN, S.; ZIEGLER, M.; KOOP, E. Splenic autotransplantation: optimal functional factors. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v. 16, n. 6, p. 898-904, 1981.

WARREN, K., S.; DOMINGO, E., O. & COWAN, R., B., T. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. **The American Journal of Pathology**, Bethesda, v. 51, n. 5, p. 735-748, 1967.

WESTERMANN, J. & PABST, R. Autotransplantation of the spleen in the rat: donor leucocytes of the spleen fragment survive implantation to migrate and proliferate in the host. **Cell & Tissue Research**, Berlin, v. 287, n. 2, p. 357-364, 1997.

WILLFÜHR, K., U.; WESTERMANN, J. & PABST, R. Splenic autotransplantation provides protection against fatal sepsis in young but not in old rats. **Journal of Pediatric Surgery**, New York, v. 27, n. 9, p. 1207-1212, 1992.

WILLIAMS, J., S.; PATEL, J., M. & HINSHAW, J., R. Omental pouch technique for reimplantation of the spleen. **Surgery, Gynecology & Obstetrics**, Chicago, v. 155, p. 730-731, 1982.

WOLF, B., C. & NEIMAN, R., S. Embriology and anatomy. In: \_\_\_\_\_. **Disorders of the spleen**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1989. p. 3-19.

WU, C., H.; GIAMBRONE, M., A.; HOWARD, D., J.; ROJKIND, M.; WU, G., J. The nature of the collagen in hepatic fibrosis in advanced schistosomiasis. **Hepathology**, St. Louis, v. 2, p. 366-371, 1982.

WYLER, D., J.; EHRLICH, H., P.; POSTLETHWAITE, R., R.; MURPHY, M., M. Fibroblast stimulation in schistosomiasis. VII. Egg granulomas secrete factors that stimulate collagen and fibronectin synthesis. **The Journal of Immunology**, Baltimore, v. 138, n. 5, p. 1581-1586, 1987.

ZWINGENBERGER, K.; FELDMEIER, H.; QUEIROZ, J., A., N.; SIQUEIRA, J., G., V.; AUTO, H., F.; ALENCAR, J., E.; BIENZLE, U. Liver involvement in human schistosomiasis mansoni. Assessment by immunological and biochemical markers. **Parasitology Research**, Berlin, v. 74, p. 448-455, 1988.

- 
1. O formato das referências bibliográficas desta dissertação, seguiu as normas estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Origem: NRB 6023:2002.
  2. A estrutura dos elementos textuais desta dissertação, seguiu as normas estabelecidas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Origem: NRB 14724:2002.

**ANEXOS**

## ANEXO 1

### Pesos do Grupo S

n.º Animal	Animal (g)	Baço T (g)	Frag I (g)	Baço N (g)	Frag R (g)	N.º IR	Fígado (g)
1	35	0,1024	0,0725	0,0299	0,0402	3	1,6851
2	31,7	0,1116	0,0716	0,04	0,0762	4	1,4437
3	38,5	0,0458	0,0342	0,0116	0,0434	5	1,9553
4	31,1	0,1091	0,071	0,0381	0,0859	3	1,485
5	40,4	0,0732	0,0626	0,0106	0,0628	2	2,3178
6	34,2	0,0666	0,0509	0,0157	0,0507	2	1,4891
7	37,8	0,2356	0,1343	0,1013	0,0232	2	1,9216
8	42,8	0,0551	0,0472	0,0079	0,0229	2	1,8567
9	25,4	0,0804	0,0472	0,0332	0,0193	3	1,03872
10	37,9	0,108	0,0553	0,0527	0,2253	10	2,44
11	35,4	0,1437	0,0979	0,0458	0,0378	3	2,6879
13	31,6	0,1434	0,0766	0,0668	0,0708	2	2,07
15	25,9	0,111	0,0787	0,0323	0,1783	6	1,6234
16	28	0,1654	0,0919	0,0735	0,1208	4	1,7727
17	34,5	0,1542	0,0878	0,0664	0,1609	6	2,477
18	36,8	0,0954	0,0536	0,0418	0,2339	7	2,04
M ÉD IA	34,1875	0,1125563	0,0708313	0,041725	0,090775	4	1,8940013
D P	4,9923775	0,0479401	0,0245673	0,0257535	0,071636	2,2803509	0,4399369

<sup>a</sup> Peso (g)= Peso do animal, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>b</sup> Baço T (g)= Peso do baço inteiro, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>c</sup> Frag I (g)= Peso dos fragmentos esplênicos implantados, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>d</sup> Baço N (g)= Peso da porção não-implantada do baço, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>e</sup> Frag R (g)= Peso dos auto-implantes esplênicos resgatados, em gramas, a data do sacrifício

<sup>f</sup> N.º IR= Número de fragmentos de auto-implantes esplênicos resgatados, a data do sacrifício

<sup>g</sup> Fígado (g)= Peso do fígado, a data do sacrifício

## ANEXO 2

### Pesos do Grupo E

n.º Animal	Animal (g)	Baço T (g)	Frag I (g)	Baço N (g)	Frag R (g)	N.º IR	Fígado (g)
1	26,8	0,3637	0,1753	0,1884	0,0365	3	1,9723
2	37,9	0,2633	0,1223	0,141	0,041	2	2,4725
3	37,1	0,1763	0,0917	0,0846	0,1395	4	4,44
4	36,2	0,3574	0,1798	0,1776	0,0504	4	2,7808
5	30,4	0,2032	0,1199	0,0833	0,079	1	2,43
6	21,8	0,4729	0,2271	0,2458	0,0873	8	1,5864
7	33,7	0,1581	0,0748	0,0833	0,0657	4	3,1973
8	28,6	0,2445	0,1405	0,104	0,062	4	2,53
9	31,5	0,2449	0,1098	0,1351	0,05	7	2,6302
11	40,1	0,2365	0,1355	0,101	0,0573	3	2,18
12	39,2	0,256	0,1262	0,1298	0,111	5	3,3143
13	35,2	0,3039	0,1722	0,1317	0,09	3	2,59
14	33,6	0,1855	0,1055	0,08	0,0922	4	2,6
15	34,2	0,3878	0,1857	0,2021	0,0355	5	2,2569
16	35	0,4015	0,1846	0,2169	0,1187	3	2,6451
18	46,5	0,2714	0,1304	0,141	0,1155	5	3,865
M ÉD IA	34,2375	0,2829313	0,1425813	0,14035	0,076975	4,0625	2,718175
D P	5,7794896	0,0904724	0,0409317	0,0521746	0,0322794	1,7308476	0,7038311

<sup>a</sup> Peso (g)= Peso do animal, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>b</sup> Baço T (g)= Peso do baço inteiro, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>c</sup> Frag I (g)= Peso dos fragmentos esplênicos implantados, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>d</sup> Baço N (g)= Peso da porção não-implantada do baço, em gramas, a data do procedimento cirúrgico

<sup>e</sup> Frag R (g)= Peso dos auto-implantes esplênicos resgatados, em gramas, a data do sacrifício

<sup>f</sup> N.º IR= Número de fragmentos de auto-implantes esplênicos resgatados, a data do sacrifício

<sup>g</sup> Fígado (g)= Peso do fígado, a data do sacrifício

### ANEXO 3

#### Estudo Histológico do Tecido Esplênico Subgrupo (S1)

SUBGRUPO S1															
N°	cápsula	trabécula	fib. Interst.	foliculos linfóides			PALS	Linf extrafo	vascularização	hemácias	leucócitos	plasmócitos	prec. eritro.	megacariócitos	pigmento
				número	Linf md/gde	mitoses									
1	F	F	0	++	+	A	P	++	++	++	+	mínimo	++	+++	+
2	F	F	0	+++	++	P	P	++	+++	+++	+	+	++	+++	+
3	F	F	0	++	+	A	P	+	+++	+	mínimo	mínimo	+	++	+
4	F	F	0	+++	++	P	P	+	+++	++	mínimo	0	+	+++	0
5	F	F	0	++	++	P	P	++	++	+	+	+	+	+++	0
6	F	M	0	++	++	P	P	+	+++	+	mínimo	mínimo	++	+++	+
7	F	F	0	+++	+	P	P	+	++	+	+	+	++	+++	+
8	F	F	0	++	+	A	P	++	++	++	+	mínimo	+	+++	+
9	F	M	0	++	+	A	P	+	++	+	mínimo	mínimo	+	++	+
10	F	M	0	+++	+++	P	P	++	+++	+	mínimo	mínimo	+	+++	+
11	F	F	0	+++	+	P	P	+	+++	+	mínimo	mínimo	++	+++	+
12	F	F	0	++	++	P	P	+	++	+++	mínimo	+	+	+++	+
13	F	F	0	+++	+	P	P	+	+++	+++	mínimo	mínimo	++	++	+
14	F	F	0	+++	+++	P	P	++	++	+	+	mínimo	+	++	0
15	F	F	mínimo	+++	++	P	P	+	+++	+	mínimo	mínimo	+	+++	0
16	F	F	0	+++	++	P	P	+	++	++	+	+	++	+++	+

F= fino; M= médio; += leve; +++= moderado; ++++= intenso; A= ausente; P= presente

Fib. Interst. = fibrose intersticial

Linf md/gde = linfócitos de tamanhos médio e grande

prec. eritro. = precursores eritrocitários

Linf. extrafo. = linfócitos extrafoliculares

prec. eritro. = precursores eritrocitários

## ANEXO 4

### Estudo Histológico do Tecido Esplênico Subgrupo S2

SUBGRUPO S2																
N°	cápsula	trabécula	fib. Interst.	folículos linfóides			mitoses	PALS	Linf extrafo	vascularização	hemácias	leucócitos	plasmócitos	prec. eritro.	megacariócitos	pigmento
				número	Linf md/gde											
1	M	M	++	+++	++	P	P	++	+++	++	++	+	++	+++	++	
2	M	M	+	+++	+++	P	P	+	+++	++	++	mínimo	++	+++	+	
3	F	F	+	+++	++	P	P	+++	++	+	++	+	++	+++	++	
4	M	E	+++	++	+	P	P	++	+	+	++	mínimo	++	+	+	
5	E	M	++	+	+	A	P	++	++	+	++	0	+	+	0	
6	M	M	+	+++	+	A	P	++	++	++	+	0	++	+	0	
7	M	M	++	++	++	P	P	++	++	++	+	0	++	+	+	
8	M	M	++	+++	+	P	P	+	++	+	+	0	+	+	+	
9	M	F	++	++	+	A	P	++	+++	+++	+	0	++	+	+	
10	F	F	+	+++	+++	P	P	++	+++	++	+	0	++	++	0	
11	M	M	++	++	++	P	P	++	++	+	+	0	++	+	0	
12	F	F	++	+++	++	P	P	++	+++	+++	+	+	++	++	+	
13	M	F	++	+++	++	P	P	++	+++	+++	+	+	++	++	0	
14	M	F	+	+++	+++	P	P	++	+++	+++	+	0	+	+	0	
15	M	F	+	++	++	P	P	++	++	+	+	mínimo	+	++	+	
16	M	F	+	+++	++	P	P	++	++	+	+	mínimo	++	++	+	

F= fino; M= médio; += leve; ++= moderado; +++= intenso; A= ausente; P= presente

Fib. Interst. = fibrose intersticial

Linf md/gde = linfócitos de tamanhos médio e grande

prec. eritro. = precursores eritrocitários

Linf. extrafo. = linfócitos extrafolículos

prec. eritro. = precursores eritrocitários

## ANEXO 5

### Estudo Histológico do Tecido Esplênico SUBGRUPO E1

SUBGRUPO E1															
Nº	cápsula	trabécula	fib. Interst.	foliculos linfóides			PALS	Linf extrafo	vascularização	hemácias	leucócitos	plasmócitos	prec. eritro.	megacariócitos	pigmento
				número	Linf md/gde	mitoses									
1	F	F	+	+++	++	P	P	+	++	++	+	+	++	+++	+
2	F	M	0	+++	+++	P	P	+	+++	+++	+	++	++	++	+
3	F	F	+	+++	+++	P	P	+	++	+++	+	+	++	++	+
4	F	M	0	++	++	P	P	++	++	+	+	++	+	++	+
5	F	M	0	+++	++	P	P	+	+++	+++	+	+	++	+++	+
6	F	M	0	+++	+++	P	P	++	+++	+++	+	++	++	+++	+
7	F	M	0	+++	+++	P	P	+	++	+++	+	+	++	+++	+
8	F	M	0	++	++	P	P	+	++	++	+	++	+	++	+
9	F	F	+	+++	+++	P	P	+	+++	+++	+	+	++	++	+
10	F	M	0	+++	+++	P	P	++	++	+	+	+	+	+++	+
11	F	M	0	+++	+++	P	P	+	++	++	+	+	+	++	+
12	F	F	0	+++	+++	P	P	+	++	+	+	+	++	+++	+
13	F	M	+	++	++	P	P	++	+++	+++	+	+	+	++	+
14	F	M	0	++	++	P	P	++	++	+	+	+	+	++	+
15	F	F	0	+++	+++	P	P	+	++	++	+	+	++	++	+
16	F	M	0	+++	++	P	P	+	+++	+++	+	+	++	+++	+

F= fino; M= médio; += leve; ++= moderado; +++= intenso; A= ausente; P= presente

Fib. Interst. = fibrose intersticial

Linf md/gde = linfócitos de tamanhos médio e grande

prec. eritro. = precursores eritrocitários

Linf. extrafo. = linfócitos extrafoliculares

prec. eritro. = precursores eritrocitários

## ANEXO 6

### Estudo Histológico do Tecido Esplênico SUBGRUPO E2

SUBGRUPO E2																
Nº	cápsula	trabécula	fib. Interst.	folículos linfóides			mitoses	PALS	Linf extrafo	vascularização	hemácias	leucócitos	plasmócitos	prec. eritro.	megacariócitos	pigmento
				número	Linf md/gde											
1	M	M	++	++	++	P	P	+++	++	+++	++	++	+	++	+++	
2	M	M	+++	++	+	P	P	++	++	+++	+++	+	+	+	+++	
3	M	M	++	+++	++	P	P	+	++	+++	++	++	+	+	++	
4	E	E	++	++	+	A	P	+	++	+	++	+	+	++	++	
5	F	F	++	++	+	P	P	++	++	++	+	+	+	+	++	
6	M	M	++	++	+	P	P	++	++	+++	++	+	+	+	+++	
7	M	M	++	+++	++	P	P	++	++	++	++	++	+	+	+	
8	F	F	++	+++	++	P	P	++	++	+++	+	+	+	+	+++	
9	M	M	+	+++	++	P	P	++	++	+	+	+	++	+	++	
10	M	M	+++	++	++	P	P	+	++	+	+	+	++	+++	++	
11	M	M	++	++	++	P	P	+++	+++	++	+	+	++	+++	++	
12	E	M	++	++	++	P	P	+	+++	+	+	+	++	+	+	
13	M	M	+++	+++	++	P	P	++	+++	+++	+	++	++	+	+++	
14	E	E	+++	+++	++	P	P	++	++	++	++	+	++	++	++	
15	M	M	+++	+++	++	P	P	++	++	++	++	++	++	++	++	
16	E	M	+++	+++	++	P	P	+	++	++	+	+	+	++	+++	

F= fino; M= médio; += leve; ++= moderado; +++= intenso; A= ausente; P= presente

Fib. Interst. = fibrose intersticial

Linf md/gde = linfócitos de tamanhos médio e grande

prec. eritro. = precursores eritrocitários

Linf. extrafo. = linfócitos extrafoliares

prec. eritro. = precursores eritrocitários

## ANEXO 7

### Granulomas Esquistossomóticos

SUBGRUPO E1								
N °	total	ovo viável	Tipo de material antigênico			Localização no tecido esplênico		
			ovo não viável	casca de ovo	sem restos ovulares	central	periférico	
1	0	0	0	0	0	0	0	
2	0	0	0	0	0	0	0	
3	0	0	0	0	0	0	0	
4	1	1	0	0	0	0	1	
5	0	0	0	0	0	0	0	
6	0	0	0	0	0	0	0	
7	1	0	0	1	0	1	0	
8	0	0	0	0	0	0	0	
9	0	0	0	0	0	0	0	
10	0	0	0	0	0	0	0	
11	26	6	2	2	16	8	18	
12	3	2	0	0	1	1	2	
13	7	2	0	1	4	1	6	
14	4	1	0	0	3	1	3	
15	0	0	0	0	0	0	0	
16	0	0	0	0	0	0	0	

SUBGRUPO E2								
N °	total	ovo viável	Tipo de material antigênico			Localização no tecido esplênico		
			ovo não-viável	casca de ovo	sem restos ovulares	central	periférico	
1	0	0	0	0	0	0	0	
2	7	2	0	3	2	5	2	
3	1	0	1	0	0	0	1	
4	4	0	1	2	1	0	4	
5	0	0	0	0	0	0	0	
6	5	5	0	0	0	0	5	
7	12	1	2	6	3	0	12	
8	1	1	0	0	0	0	1	
9	1	0	1	0	0	1	0	
10	0	0	0	0	0	0	0	
11	0	0	0	0	0	0	0	
12	0	0	0	0	0	0	0	
13	3	1	0	1	1	0	3	
14	0	0	0	0	0	0	0	
15	3	2	0	1	0	0	3	
16	4	3	0	1	0	0	4	

