



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**  
Centro Biomédico  
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Adriana Matias da Silva

**Avaliação quantitativa e qualitativa das alterações no tecido esplênico  
de camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos**

Rio de Janeiro

2012

Adriana Matias da Silva

**Avaliação quantitativa e qualitativa das alterações no tecido esplênico de camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Machado-Silva

Coorientadora: Dra. Renata Heisler Neves

Rio de Janeiro

2012

CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

S586 Silva, Adriana Matias da.

Avaliação quantitativa e qualitativa das alterações no tecido esplênico de camundongos esquistossomóticos e displidêmicos / Adriana Matias da Silva. – 2012. 121 f.

Orientador: José Roberto Machado-Silva.

Coorientadora: Renata Heisler Neves.

Dissertação (Mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. Pós-graduação em Biologia Humana Experimental.

1. Schistosoma mansoni – Teses. 2. Baço – anormalidades. 3. Esplenopatias. 4. Esplenomegalia. 5. Hemossiderina. 6. Dislipidemia. I. Silva, José Roberto Machado. II. Neves, Renata Heisler. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Braga. IV Título.

CDU 616.411

Autorizo apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Adriana Matias da Silva

**Avaliação quantitativa e qualitativa das alterações no tecido esplênico de camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 27 de abril de 2012.

Banca Examinadora:

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. José Roberto Machado-Silva (Orientador)  
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Ana Carolina Stumbo Machado  
Departamento de Histologia e Embriologia - UERJ

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Regina Reis Amendoeira  
Fundação Oswaldo Cruz/Fiocruz

Rio de Janeiro

2012

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha família, em especial à memória de meus avós, Anézio Martins de Brito e Raimunda Vitalina da Silva, por terem acreditado que meus sonhos poderiam se tornar realidade.

## AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. José Roberto Machado-Silva, do Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia- FCM – UERJ, por ter me recebido em seu laboratório e com isso ter aberto as portas e possibilidades na minha vida profissional;

À Dra. Renata Heisler Neves, do Departamento de Helminologia, IOC/FIOCRUZ, pela oportunidade dada, incentivo, confiança em mim depositada, que tornou possível a realização deste trabalho;

À Dra. Christiane Leal Corrêa, minha colaboradora, pelo carinho, paciência e pela competência ao transmitir seu vasto conhecimento;

À Prof<sup>a</sup> Dra. Michele Costa-Silva, pela indicação valiosa dada no início desta trajetória;

À Regina Maria Figueiredo de Oliveira pela acolhida no laboratório;

À Doutoranda Vanessa Coelho de Góes pela amizade, ajuda e apoio nas rotinas laboratoriais.

À Mestranda, Adriana Cardoso Gomes, por ter tido a oportunidade de conhecê-la e saber que compartilhamos visões bem semelhantes da vida;

À Doutoranda Alba Cristina Miranda de Barros Alencar pelo carinho, amizade e estímulo dado durante toda a minha estada no laboratório;

Aos amigos do Laboratório de Helminologia Romero Lascasas Porto, FCM/UERJ, nas pessoas de Frederico Wallace Leitão, Luciana Brandão Bezerra, Cristiane Pezzi Gil de Souza, Priscila Maria da Silva e Carmelita Pereira Rodrigues que conviveram comigo ao longo desses anos e que sempre demonstraram companheirismo e tolerância nos momentos nebulosos da minha jornada;

A todos os meus mestres, que contribuíram na minha formação e realização dos meus créditos com êxito;

Aos meus pais, irmãos e amigos, que me deram incentivo para a realização deste trabalho;

A todos que mesmo não citados aqui contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho;

Ao meu marido, Paulo de Tarso, pelo amor, dedicação, apoio e companheirismo durante a realização deste trabalho;

À minha filha, Camille, pela paciência infinita... Por compreender a mãe, pelos dias infundáveis de ausência;

A Deus que me deu força para perseverar no meu propósito e não esmorecer diante das dificuldades...

## RESUMO

SILVA, Adriana Matias. *Avaliação quantitativa e qualitativa das alterações no tecido esplênico de camundongos esquistossomóticos e dislipidêmicos*. 2012. 72f. Dissertação (Mestrado em Biologia Humana e Experimental) – Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

Neste estudo, investigamos a organização qualitativa e quantitativa do tecido esplênico na fase aguda (nona semana) da infecção pelo *Schistosoma mansoni* em camundongos *Swiss* alimentados com uma dieta hipercolesterolêmica (29% lipídios) ou uma ração padrão (12% de lipídios). O volume do baço foi medido pelo método de Scherle. Os cortes histológicos (5µm) foram corados com hematoxilina-eosina, Lennert's Giemsa e Picrosirius. O tecido foi avaliado por histopatologia, morfometria e estereologia. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Graph Pad InStat. Nossos resultados demonstraram que tanto a dieta quanto a infecção determinam perturbações em compartimentos esplênicos. Camundongos infectados, independentemente da dieta, tiveram aumento do baço ( $P=0,004$ ) e arquitetura esplênica desorganizada quando comparado aos não infectados. O compartimento de polpa branca foi reduzida, enquanto a polpa vermelha e centro germinativo foram aumentadas ( $P<0,01$ ). Camundongos infectados alimentados com alto teor de gordura apresentaram maior diâmetro de polpa branca ( $P=0,013$ ) do que os não infectados. O exame microscópico do baço de camundongos não infectados alimentados com ração hipercolesterolêmica indicou que a polpa branca foi reduzida e indistinta. Além disso, camundongos infectados mostraram infiltrados celulares caracterizados por células polimorfonucleares, com mitose linfocítica intensa e células de Mott. Hemossiderina tende a ser em menor grau em camundongos infectados em comparação com os controles não infectados. A polpa vermelha mostrou um aumento significativo ( $P=0,008$ ) no número médio de megacariócitos em comparação com camundongos não infectados. Camundongos alimentados com dieta padrão mostraram granuloma exsudativo-produtivo em torno de ovos do *S. mansoni* distribuídas apenas escassamente na polpa vermelha, enquanto que uma resposta do tecido caracterizada por uma infiltração de células em camundongos alimentados com alto teor de gordura foi encontrado. Os resultados do estudo sugerem que a ingestão de dieta rica em gorduras e a infecção contribuíram para a desorganização esplênica.

Palavras-chave: *Schistosoma mansoni*. Dieta hipercolesterolêmica. Arquitetura esplênica. Histopatologia. Morfometria. Estereologia.



## ABSTRACT

The effect of the changes promoted by hypercholesterolemia and experimental schistosomiasis infection on splenic architecture has remained elusive. In this study, we investigated the qualitative and quantitative organization of the splenic tissue in the acute phase (ninth week) of *Schistosoma mansoni* infection of mice fed either a hypercholesterolemic (29% lipids) or a standard chow (12% lipids). Spleen volume was measured by Scherlis Method. Histological sections (5µm) were stained with hematoxylin-eosin, Lennert's Giemsa and Picrosirius. The splenic disorganization was evaluated by histopathology, morphometry and stereology. Our major findings demonstrated that both diet and infection determined perturbations in splenic compartments. Infected mice, regardless of diet, had larger spleen (Student's t-test, P=0.004) and disorganized splenic architecture than in corresponding uninfected mice, for which no histopathology was evident. The white pulp compartment was reduced, whereas red pulp and germinal center were enhanced (Student's t-test, P<0.01), as demonstrated by stereology. High-fat fed infected mice showed larger white pulp diameter (Student's t-test, P=0.013) than in corresponding uninfected mice. Microscopic examination of spleen from uninfected mice fed hypercholesterolemic chow showed that white pulp was reduced and indistinct. In addition, infected mice showed cellular infiltrates characterized by polymorphonuclear cells, with intensive lymphocytic mitosis and Mott cells. Hemosiderin deposits tended to be in less extent in infected mice compared with uninfected controls. The red pulp compartment showed a significantly (Student's t-test, P=0.008) increased average number of megakaryocytes compared with uninfected mice. Standard fed mice showed exudative-productive granuloma around schistosome eggs distributed only sparsely in the red pulp, whereas a tissue reaction characterized by a cell infiltration in high-fat fed mice was found. The results of the present study suggest that both fat diet intake and infection contributed to splenic disorganization.

Keyword: *Schistosoma mansoni*. Hypercholesterolemic chow. Splenic architecture. Histopathology. Morphometry. Stereology.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Mapa de distribuição da esquistossomose no Brasil.....	14
Figura 2	Vermes adultos de <i>Schistosoma mansoni</i> - Carmim clorídrico, 4x.....	15
Figura 3	Ciclo evolutivo do <i>Schistosoma mansoni</i> .....	16
Figura 4	Aspecto macroscópico (esquerda) e microscópico (direita) do baço de camundongos não infectados alimentados com dieta padrão corados com Hematoxilina & Eosina.....	21
Figura 5	Esquema de análise estereológica.....	28
Figura 6	Fotomicrografia do granuloma esplênico exsudativo-produtivo de camundongos infectados com <i>Schistosoma mansoni</i> alimentados com dieta padrão.....	31
Figura 7	Fotomicrografias do tecido esplênico (H&E) de camundongos SW alimentados com dieta padrão, não infectados (SC) ou infectado com <i>Schistosoma mansoni</i> (ISC).....	33
Figura 8	Fotomicrografias do tecido esplênico (H&E) de camundongos SW alimentados com dieta hipercoleristêmica, não infectados (HFC) ou infectados com <i>Schistosoma mansoni</i> (IHFC) .....	34
Figura 9	Densidade de volume dos compartimentos do tecido esplênico .....	36

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Obtenção de um preparado histológico permanente: etapas do processamento histológico da fixação do órgão até a montagem da lâmina .....	25
Tabela 2	Técnicas de coloração empregadas.....	26
Tabela 3	Volume do baço (g) de camundongos esquistossomóticos alimentados com dieta hipercoleristêmica ou dieta normal.....	30
Tabela 4	Avaliação morfométrica do menor e maior diâmetro ( $\mu\text{m}$ ) da polpa branca do tecido esplênico de camundongos SW alimentados com dieta padrão e com dieta hipercoleristêmica, infectados ou não com <i>Schistosoma mansoni</i> .....	37
Tabela 5	Quantificação de células megacariócitos presentes na polpa vermelha do tecido esplênico (número de células por área - $48000 \mu\text{m}^2$ ) .....	38

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

- SC - Grupos de animais alimentados com dieta controle
- ISC - Grupos de animais infectados e alimentados com dieta controle
- HFC - Grupos de animais alimentados com dieta hiperlipídica
- IHFC - Grupos de animais infectados e alimentados com dieta hiperlipídica
- Vvpb - Densidade de volume da polpa branca
- Vvpv - Densidade de volume da polpa vermelha
- Vvcg - Densidade de volume do centro germinativo
- HE - Hematoxilina e Eosina

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	14
1	<b>OBJETIVOS.....</b>	22
1.1	<b>Geral .....</b>	22
1.2	<b>Específicos.....</b>	22
2	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	23
2.1	<b>Origem dos animais.....</b>	23
2.2	<b>Processamento histológico e técnicas de coloração para microscopia de luz .....</b>	24
2.3	<b>Avaliação histopatológica.....</b>	27
2.4	<b>Análise estereológica.....</b>	27
2.5	<b>Análise morfométrica.....</b>	28
2.6	<b>Quantificação dos tipos celulares envolvidos na resposta inflamatória.....</b>	29
2.7	<b>Quantificação de megacariócitos na polpa vermelha.....</b>	29
2.8	<b>Análise estatística.....</b>	29
3	<b>RESULTADOS.....</b>	30
3.1	<b>Análise Biométrica.....</b>	30
3.2	<b>Avaliação histopatológica.....</b>	30
3.3	<b>Análise estereológica.....</b>	35
3.4	<b>Análise morfométrica.....</b>	36
3.5	<b>Quantificação dos tipos celulares envolvidos na resposta inflamatória.....</b>	37
3.6	<b>Quantificação de células megacariócitos na polpa vermelha.....</b>	38
4	<b>DISCUSSÃO.....</b>	39
5	<b>CONCLUSÕES.....</b>	44
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	45
	<b>APÊNDICE - A high-fat diet associated with acute schistosomiasis mansoni causes disorganization in splenic architecture in mice .....</b>	51