UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

VICTOR ANTONIO SANTOS VIANA

ESTUDO HISTOLÓGICO DA MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA EM RATOS WISTAR MACHOS

Aracaju/SE
2016

VICTOR ANTONIO SANTOS VIANA

ESTUDO HISTOLÓGICO DA MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA EM RATOS WISTAR MACHOS

Monografia apresentada à Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à conclusão do curso de Medicina do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Orientador: Profa. Dra. Karina Conceição Gomes Machado de Araújo

Aracaju/SE
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE MEDICINA

ESTUDO HISTOLÓGICO DA MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA EM RATOS WISTAR MACHOS

Monografia apresentada à Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à conclusão do curso de Medicina do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Aracaju, _____/_____/_____

Autor: Victor Antonio Santos Viana

VICTOR ANTONIO SANTOS VIANA

ESTUDO HISTOLÓGICO DA MIELORRADICULOPATIA ESQUISTOSSOMÓTICA EM RATOS WISTAR MACHOS

Monografia apresentada à Universidade Federal de Sergipe como requisito parcial à conclusão do curso de Medicina do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde.

Aprovada em ____/____/_____

_____
Orientadora: Profa. Dra. Karina Conceição Gomes Machado de Araujo
Universidade Federal de Sergipe

BANCA EXAMINADORA

_____
Universidade Federal de Sergipe

_____
Universidade Federal de Sergipe

_____
Universidade Federal de Sergipe

AGRADECIMENTOS

A Deus por ter me dado saúde e força para superar todos os desafios que surgiram ao longo desses últimos 6 anos.

Aos meus pais, Antônio e Maria, sem os quais eu não teria chegado até aqui.

A minha irmã, Vanessa, por estar sempre junto a mim, que independente da distância física, nunca deixou dúvida de que sempre poderei contar com seu apoio.

A toda minha família, em especial a minhas tias, Salete e Fátima, por cuidarem de mim sempre que houve necessidade.

A minha orientadora Profa. Dra. Karina Conceição, por ser um exemplo de pessoa e profissional a ser seguido. Peça fundamental para o desenvolvimento desta monografia.

A esta universidade e a todo o seu corpo docente, responsáveis pela minha formação como médico.

Aos meus amigos de turma, responsáveis por uma parcela importante do meu aprendizado, em especial a Suy e Carol, amigas dentro e fora da faculdade.

A todos os que participaram direta ou indiretamente, o meu MUITO OBRIGADO.

RESUMO

A esquistossomose mansônica é uma doença parasitária grave, de veiculação hídrica de evolução crônica, cujo agente etiológico é o *Schistosoma mansoni*. Trata-se de uma das doenças parasitárias mais prevalentes no mundo. Ocorre em cerca de 70 países, com 207 milhões de pessoas infectadas e 700 milhões em áreas de risco e há anos vem sendo neglicenciada. Dentre as mais variadas formas de apresentação clínica, o acometimento medular é um dos mais importantes devido a grande morbidade que gera. O desenvolvimento de um modelo experimental para a mielorradiculopatia permite uma melhor observação de todos os eventos que ocorrem durante esse tipo de manifestação, não apenas nas alterações histológicas, mas também nas alterações humorais, comportamentais, etc.

Palavras Chaves: *Schistosoma mansoni*; Mielorradiculopatia; Modelo experimental.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1: Cortes histológicos de animais do grupo experimental D20 evidenciando a presença de ovos na comissura anterior;
- Figura 2: Corte histológico do grupo experimental D20;
- Figura 3:Fragmento de um ovo próximo ao canal central da medula.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- CEPA: Comitê de Ética em Pesquisa Animal;
- UFS: Universidade Federal de Sergipe;
- SBCAL: Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório;
- LAPENE: Laboratório de Pesquisa em Neurociência;
- HU: Hospital Universitário;
- PBS: Phosphate buffered saline.

SUMÁRIO

I..REVISÃO DE LITERATURA..……10
1. INTRODUÇÃO.....…….10
2. EPIDEMIOLOGIA……...…….....…….....…..11
3. ETIOLOGIA……..11
4.CICLO BIOLÓGICO…….11
5. MANIFESTAÇÕES CLINICAS……..12
6. MODELO ANIMAL……..13
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……14
II. NORMAS PARA PUBLICAÇÃO E ARTIGO.....16
1 DIRETRIZES PARA AUTORES…….……16
2 CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO……..16
3 DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTORAL……17
4 POLITICA DE PRIVACIDADE……...17
5 TAXAS PARA AUTORES…….17
6 ARTIGO……..18

I. REVISÃO DE LITERATURA

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma enfermidade parasitária de veiculação hídrica provocada por trematódeos do gênero *Schistossomas.* São seis as espécies que podem causar a doença no homem, entretanto no Brasil observa-se apenas a transmissão da *S. mansoni,* presente significativamente também na África.

O tráfico de escravos do continente africano e sua utilização na lavoura canavieira, atividade que exigia grande aporte hídrico, foram os responsáveis pela instalação do parasita no Brasil. Inicialmente a doença encontrava-se localizada apenas na região Nordeste, mais precisamente nas zonas rurais.

O deslocamento populacional durante os ciclos econômicos ao longo da história, principalmente a partir da década de 80, presença abundante do hospedeiro intermediário, as características hídricas nacionais, como o grande número de rios e coleções de água doce, além dos grandes volumes pluviométricos são alguns dos fatores que justificam a disseminação do trematódeo no país (Barreto, 1982).

Outros fatores que podem ser considerados para justificar a propagação da doença, tanto em âmbito nacional quanto internacional, são a longevidade dos vermes adultos, a grande capacidade de postura das fêmeas e o caráter crônico da doença que acabam por resultar na existência de muitos doentes que eliminam ovos do helminto por vários anos (Pordeus et al, 2008).

Por possuir um caráter crônico e sintomatologia variável, a esquistossomose gera uma grande morbidade para os indivíduos infectados. Além disso, por se tratar de uma doença bastante prevalente, o custo para o tratamento em fases tardias da doença acaba se tornando muito oneroso para o serviço publico.

O presente trabalho visa a criação de um modelo animal para a mielorradiculopatia esquistossomótica, uma das apresentações clínicas da doença de grande impacto para o paciente, sob o ponto de vista histológico e comportamental, este último avaliado em um outro momento do projeto. A produção de um modelo poderá servir no futuro como uma ferramenta de pesquisa para novas formas de diagnostico e tratamento, além de acrescentar o nosso entendimento sobre a doença.

2. EPIDEMIOLOGIA

A esquistossomose é uma doença endêmica em 52 países da América do Sul, Caribe, África e da região oriental do Mediterrâneo. Representa um grave problema de saúde pública pela grande morbidade que gera e por estar diretamente relacionada à pobreza, pois falta de saneamento básico e necessidade de acesso às águas naturais para atividades diárias estão diretamente ligadas à infecção (Katz e Peixoto, 2000).

No Brasil, o primeiro inquérito nacional para estimar a prevalência da doença foi realizado pela Divisão de Organização Sanitária, publicada em 1950. Esse levantamento foi realizado em 11 estados brasileiros, sendo feitos 440.786 exames, obtendo-se prevalência média de 10,1% para o Brasil (Katz e Peixoto, 2000). Em Sergipe, a transmissão é endêmica em 51 dos 75 municípios existentes. A prevalência média do estado em 2004 foi 10,5% em 10.262 pessoas examinadas. A doença é mais prevalente em municípios das zonas da mata e do litoral.

3. ETIOLOGIA

A esquistossomose é uma doença parasitária, de caraterísticas distintas na fase aguda e crônica, causada pelo helminto da classe *Trematoda* e do gênero *Schistossomas.* Como já dito anteriormente, apenas a espécie *Schistossoma mansoni* possui relevância nacional.

O verme apresenta dimorfismo sexual, o macho possui cerca de 1cm enquanto a fêmea 1,5cm, aproximadamente. O macho possui um canal no qual a fêmea se aloja durante a reprodução, o chamado canal ginecofáro. Possui o homem como hospedeiro definitivo e principal reservatório, onde o encontramos na forma adulta e realiza reprodução sexuada e caramujos do gênero *Biomphalaria* como hospedeiros intermediários.

4. CICLO BIOLÓGICO

O ciclo biológico do helminto pode ser dividido de forma simplista em duas fases, a primeira assexuada e uma segunda sexuada.

Inicialmente, os ovos do helminto são liberados junto com as fezes dos indivíduos infectados. Esses ovos em contato com coleções hídricas, em condições ideais de salinidade e temperatura, eclodem e liberam uma larva ciliada, chamada miracídio, capaz de mover-se ativamente, responsável pela infecção do hospedeiro intermediário, que são os caramujos do gênero *Biomphalaria,* das espécies: *B. glabrata, B. tenagophila* e *B. Straminea,* encontrados em coleções de água doce e com baixa correnteza (Dias, 1994).

Ao menos uma das especies de caramujo pode ser encontrada em cada um dos estados da federação, mas a *B. glabrata* é considerado o mais importante nas Américas devido a sua vasta distribuição geográfica, além de características próprias que resultam numa grande capacidade de infecção e transmissão da doença. (Rey, 1993).

Após um período de quatro a seis semanas as larvas abandonam o caramujo na forma de cercárias, estas, em contato com a pele ou mucosas, podem penetrar ativamente fazendo com que o indivíduo adquira a infecção, iniciando a segunda fase, a fase sexuada, que ocorre principalmente no homem, seu hospedeiro definitivo e principal reservatório. Outros mamíferos, como primatas, ruminantes e marsupiais podem ser considerados como hospedeiros permissivos, apesar de não estar muito clara a participação desses outros animais na transmissão e epidemiologia da doença. (Souza e Lima, 1997).

Duas a seis semanas após a penetração, as larvas se desenvolvem no organismo do indivíduo e este passa a eliminar ovos junto com as fezes, possibilitando um novo ciclo do agente e perpetuando assim a transmissão da doença (Pordeus et al, 2008)

5. MANIFESTAÇÕES CLINICAS

Na fase aguda, que ocorre logo após a contaminação, podem surgir no local em que a cercária invade o tecido, geralmente pés e pernas, uma pápula eritematosa com prurido intenso, conhecido com coceira do nadador, resultado de um processo inflamatório local, com duração de aproximadamente uma semana.

Com relação à doença na fase crônica, a formação dos granulomas em diferentes órgãos é responsável pelas manifestações clínicas, como o granuloma hepático na hipertensão portal, a forma pseudotumoral com granulomas no omento ou parede intestinal, a neurológica acometendo principalmente a medula e a forma vásculo-

pulmonar, além disso, reações antígeno-anticorpo podem ocorrer de forma maciça levando a deposição de imunocomplexos, com lesão renal em vários graus. (Souza et al, 2011).

A mielorradiculopatia esquistossomótica é a forma ectópica da doença mais comum, nem sempre sintomática, visto que estudos de biópsia *post-mortem* em indivíduos previamente sem queixas demonstraram algum grau de lesão medular em 20% a 30% dos casos.

Uma série de fatores está ligada a presença ou não dos sintomas, como a quantidade e localização dos ovos, resposta do hospedeiro, etc. Quando os sintomas surgem, mais frequentemente apresentam-se como um acometimento da medula toracolombar, como lombalgia, perda ou diminuição da força e/ou sensibilidade nos membros inferiores além de distúrbios urinários (Souza et al, 2011).

Na esquistossomose, ha exposição do sistema imune do indivíduo infectado a uma série de antígenos do parasita e do ovo que geram respostas celulares e humorais. Na tentativa de se identificar os mecanismos patogênicos e protetores desencadeados pela infecção, vários estudos têm sido desenvolvidos em modelos experimentais, inclusive modelos animais.

6. MODELO ANIMAL

Hoje, o modelo animal é utilizado em praticamente todos os campos de pesquisa biológica (Russel, 2001). O código de Nuremberg determina que qualquer experimentação em humanos seja precedida pela experimentação em animais, dessa forma, o uso de animais em pesquisas científicas têm se mostrado de grande valia para o estudo de fenômenos biológicos diversos (Da Matta, 2010). É inadequado o uso de seres humanos na investigação de processos fisiopatológicos, assim como de tratamentos e procedimentos médicos por razões éticas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARRETO, M. L. **Esquistossomose Mansônica. Distribuição da doença e organização social do espaço.** 1982. 136f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal da Bahia, Bahia.

PORDEUS, Luciana Cavalcante. **A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006: uma revisão de literatura; Epidemiol**. Serv. Saúde, Brasília, 17(3):163-175, jul-set 2008.

KATZ, Naftale; PEIXOTO, Sérgio Viana. **Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil**; Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; mai-jun, 2000.

DIAS, L.C.S.; GLASSER, C.M.; MARÇAL Jr, O.; BONESSO, P. I. **Epidemiologia da esquistossomose mansônica na área de baixa endemicidade.** Cad Saúde Pública, v. 10, n. 2, 1994.

REY, L. Non. **Human vertebrate hosts of Schistosoma mansoni and schistosomiasis transmission in Brazil**. Res. Rev. Parasitol, v. 52, 1993.

SOUZA, C.P.; LIMA, L. C. **Moluscos de interesse parasitológico do Brasil**. 1. ed.

Belo Horizonte: FIOCRUZ/ Centro de Pesquisa René Rachou, 1997.

BARBOSA, C.S; MONTENEGRO, S.M.L.; ABATH, F.G.; DOMINGUES, A.L.C. **Eventos epidemiológicos relacionados à transmissão da esquistossomose em áreas rurais e urbanas de Pernambuco.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 96, p. 169, 172, 2002.

DAMATTA, Renato Augusto. **Modelos animais na pesquisa biomedica**; Scientia Medica (Porto Alegre) 2010; volume 20, número 3, p. 210-211.

RUSSEL, B. **História do pensamento ocidental;** São Paulo: Ed. Publicações S/A; 2001.

SANTOS, Eustáquio Claret dos. **Perfil clínico e aspectos diagnosticos da mielorradiculopatia esquistossomotica**; Arq. Neuro-Psiquiatria. [online]. 2001, vol.59, n.3B, pp.772-777

SOUZA, Felipe Pereira Carlos de. **Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural**; Revista Brasileira de Clinica Medica; São Paulo; 2011.

VALENÇA, Patrícia Lima Falcão. **Esquistossomose mansoni humana:** Influência da IL-10 no fenótipo celular do granuloma In vitro; Fundação Oswald Cruz; Rio de Janeiro; 2000.

II. NORMAS PARA PUBLICAÇÃO E ARTIGO

1. DIRETRIZES PARA AUTORES

Os artigos devem ser preparados de acordo com o modelo que consta no artigo-exemplo encontrado no site da revista. Um arquivo com um tutorial completo para submissão pode ser acessado no mesmo site. São aceitos artigos em Português, Inglês ou Espanhol.

No ato de envio do artigo o autor deve:

1. Indicar obrigatoriamente a área do conhecimento, de acordo com a lista a seguir, e uma subárea, de preenchimento livre.

Grandes áreas do conhecimento:

Ciências Agrárias;

Ciências Biológicas;

Ciências da Saúde;

Ciências Exatas e da Terra;

Ciências Humanas, Letras e Artes;

Ciências Sociais Aplicadas;

Engenharias e Computação;

Multidisciplinar.

2. Indicar 3 possíveis nomes de avaliadores (nome completo, email e instituição em que trabalha) para o trabalho. Os avaliadores indicados devem ser pesquisadores de reconhecida competência no tema do trabalho e que não tenham participado do desenvolvimento do artigo submetido. Não indicar avaliadores da mesma instituição de origem do(s) autore(s) da submissão, visando evitar conflito de interesses. Editores da revista Scientia Plena não deverão ser indicados para a avaliação.

2. CONDIÇÕES PARA SUBMISSÃO

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista.

2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapassem 2MB). Arquivos em .pdf não devem ser submetidos.

3. Os artigos estão preparados de acordo com o modelo que consta no artigo-exemplo: http://scientiaplena.org.br/public/journals/1/Modelo_Artigo_2015.docx

4. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos na seção da revista “Diretrizes para Autores”.

5. Indicar, no campo de Comentários ao Editor, área e subárea do conhecimento do trabalho.

6. Indicar, no campo de Comentários ao Editor, 3 possíveis avaliadores para a submissão (nome completo, email e instituição em que trabalha).

3. DECLARAÇÃO DE DIREITO AUTORAL

Autores que publicam nesta revista concordam com os seguintes termos:

1. Autores mantém os direitos autorais e concedem à revista o direito de primeira publicação, com o trabalho simultaneamente licenciado sob a “Licença Creative Commons Attribution” que permite o compartilhamento do trabalho com reconhecimento da autoria e publicação inicial nesta revista.

2. Autores têm autorização para assumir contratos adicionais separadamente, para distribuição não-exclusiva da versão do trabalho publicada nesta revista (ex.: publicar em repositório institucional ou como capítulo de livro), com reconhecimento de autoria e publicação inicial nesta revista.

3. Autores têm permissão e são estimulados a publicar e distribuir seu trabalho online (ex.: em repositórios institucionais ou na sua página pessoal) a qualquer ponto antes ou durante o processo editorial, já que isso pode gerar alterações produtivas, bem como aumentar o impacto e a citação do trabalho publicado.

4. POLÍTICA DE PRIVACIDADE

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou a terceiros.

5. TAXAS PARA AUTORES

Caso o manuscrito submetido seja aceito para publicação, será necessário o pagamento de uma Taxa de Publicação de Artigo para auxiliar nos custos de publicação.

Terá desconto na taxa de submissão:

1. Sócio adimplente da Associação Sergipana de Ciência;

2. Avaliador que tenha emitido parecer solicitado pela revista.

SCIENTIA PLENA VOL. X, NUM. X 2016
www.scientiaplena.org.br doi: 10.14808/sci.plena.2016.XXXXXX

Estudo histológico da mielorradiculopatia esquistossomótica em ratos wistar machos

Histologic study of schistosomiasis myeloradiculopathy in male Wistar rats

V. A. Viana[1*]; K. C. G. M. Araujo[2]

[1]*Departamento de Medicina /PROBP, Universidade Federal de Sergipe, 49000000, Aracaju-Sergipe, Brasil*

[2]*Departamento de Morfologia/PROBP, Universidade Federal de Sergipe, 49000000, Aracaju-Sergipe, Brasil*

**victor_se@hotmail.com*

(Recebido em 1 de janeiro de 2016; aceito em 2 de janeiro de 2016)

A esquistossomose mansônica é uma doença parasitária grave, de veiculação hídrica de evolução crônica, cujo agente etiológico é o *Schistosoma mansoni*. Trata-se de uma das doenças parasitárias mais prevalentes no mundo. Ocorre em cerca de 70 países, com 207 milhões de pessoas infectadas e 700 milhões em áreas de risco e há anos vem sendo neglicenciada. Dentre as mais variadas formas de apresentação clinica, o acometimento medular é um dos mais importantes devido a grande morbidade que gera. O desenvolvimento de um modelo experimental para a mielorradiculopatia permite uma melhor observação de todos os eventos que ocorrem durante esse tipo de manifestação, não apenas nas alterações histológicas, mas também nas alterações humorais, comportamentais entre outros.
Palavras-chave: esquistossomose, mielorradiculopatia, histológicas.

Schistosomiasis mansoni is a serious parasitic chronic disease, waterborne, whose etiologic agent is Schistosoma mansoni. It is one of the most prevalent parasitic disease in the world. It occurs in about 70 countries, with 207 million people infected and 700 million in risk areas and for years has been neglected. Among the various forms of clinical presentation, spinal cord involvement is one of the most important due to high morbidity it generates. The development of an experimental model for myeloradiculopathy allows better observation of all events that occur during this type of event, not only in the histological changes, but also in humoral, behavioral and others.
Keywords: Schistosomiasis, myeloradiculopathy, histological.

1. INTRODUÇÃO

A esquistossomose é uma doença endêmica em 52 países da América do Sul, Caribe, África e da região oriental do Mediterrâneo. Representa um grave problema de saúde publica pela grande morbidade que gera e por estar diretamente relacionada à pobreza, pois falta de saneamento básico e necessidade de acesso a águas naturais para atividades diárias estão diretamente ligadas à infecção (Katz e Peixoto 2000).

No Brasil, o primeiro inquérito nacional para estimar a prevalência da doença foi realizado pela Divisão de Organização Sanitária, publicada em 1950. Esse levantamento foi realizado em 11 estados brasileiros, sendo feitos 440.786 exames, obtendo-se prevalência média de 10,1% para o Brasil (Katz e Peixoto 2000). Em Sergipe, a transmissão é endêmica em 51 dos 75 municípios existentes. A prevalência média do estado em 2004 foi 10,5% em 10.262 pessoas examinadas. A doença é mais prevalente em municípios das zonas da mata e do litoral.

O ciclo biológico do helminto pode ser resumido da seguinte maneira: ovos da *S. mansoni* são liberados junto com as fezes de indivíduos portadores, esses ovos em contato com coleções hídricas em condições ideais de salinidade e temperatura eclodem e liberam uma larva, chamada miracídio, responsável pela infecção do hospedeiro intermediário, nesse caso espécies de caramujos do gênero *Biomphalaria* como a *B. glabrata, B. tenagophila e B. straminea.* Após um período de quatro a seis semanas as larvas abandonam o caramujo na forma de cercárias, estas ao contato com a pele ou mucosas podem penetrar ativamente fazendo com que o indivíduo adquira a infecção. Duas a seis semanas após a penetração, as larvas se desenvolvem no organismo do

doi: 10.14808/sci.plena.2016.XXXXXX

indivíduo e este passa a eliminar ovos junto com as fezes, possibilitando um novo ciclo do agente e perpetuando a transmissão da doença (Pordeus et al, 2007) . Com relação à doença, formação dos granulomas em diferentes órgãos é responsável pelas manifestações clínicas, como o granuloma hepático na hipertensão portal , a forma pseudotumoral com granulomas no omento ou parede intestinal, a neurológica acometendo principalmente a medula e forma vásculo-pulmonar, além disso, reações antígeno-anticorpo podem ocorrer de forma maciça levando a deposição de imunocomplexos lesando os rins (Souza et al 2011).

O acometimento do sistema nervoso central ao longo do curso da esquistossomose vem ganhando destaque na literatura e um dos problemas que podem ser citados é a dificuldade no seu reconhecimento, dificultando o diagnostico e dessa forma subestimando o real número de acometidos (Santos et al 2001).

A mielorradiculopatia esquistossomótica é a forma ectópica da doença mais comum, nem sempre sintomática, visto que estudos de biópsia *post-mortem* em indivíduos previamente sem queixas demonstraram algum grau de lesão medular em 20% a 30% dos casos. Uma série de fatores está ligada a presença ou não dos sintomas como a quantidade e localização dos ovos, resposta do hospedeiro, etc. Quando os sintomas surgem, mais frequentemente apresentam-se como um acometimento da medula toracolombar, como lombalgia, perda ou diminuição da força e/ou sensibilidade nos membros inferiores além de distúrbios urinários (Souza et al 2011). Na esquistossomose, a exposição do sistema imune do indivíduo infectado a uma serie de antígenos do parasita e do ovo que geram respostas celulares e humorais. Na tentativa de se identificar os mecanismos patogênicos e protetores desencadeados pela infecção, vários estudos têm sido desenvolvidos em modelos experimentais, inclusive modelos animais.

É inadequado o uso de seres humanos na investigação de processos fisiopatológicos, assim como de tratamentos e procedimentos médicos por razões éticas. O código de Nuremberg determina que qualquer experimentação em humanos seja precedida pela experimentação em animais, dessa forma, o uso de animais em pesquisas científicas têm se mostrado imprescindível e de grande valia para o estudo de fenômenos biológicos diversos (Da Matta 2010). Hoje, o modelo animal é utilizado em praticamente todos os campos de pesquisa biológica (Russel 2001).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 ANIMAIS

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal desta Universidade (CEPA/UFS) com o protocolo 11/2013. Após a aprovação do comitê foi solicitado ao Biotério Central da Universidade Federal de Sergipe 50 ratos *Wistar* machos, adultos jovens com 8 a 12 semanas de vida, pesando entre 300 e 500 gramas e com condições gerais e de motricidade normais. Todos os procedimentos seguiram as normas estabelecidas pela Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

Durante todo o período, os animais foram mantidos no Laboratório de Pesquisa em Neurociências (LAPENE, Hospital Universitário/UFS), em rack ventilada com mini-isoladores, separados por grupo experimental e tiveram livre acesso à água e ração própria para roedores. A luminosidade foi mantida com ciclo claro-escuro de 12/12 h (luz das 6 às 18 horas) e temperatura de 23 + 2°C. Após o termino dos procedimentos experimentais os animais foram eutanasiados por meio de uma injeção intraperitoneal na dose de 150 mg/kg de tiopental sódico (Cristália, SP, Brasil), submetidos a perfusão com formol a 10% com posterior retirada da medula espinal e conservação da mesma em frascos com a mesma solução. As carcaças foram acondicionadas em sacos para resíduo infectante e coletadas pelo setor responsável por esses resíduos no Hospital Universitário (HU).

Os animais foram divididos em dois grandes grupos experimentais, o grupo “infectado” e o grupo “controle” e cada um destes subdivididos em quatro outros grupos de acordo com o dia em que seriam eutanasiados. Assim tivemos D5, D10, D20 e D30, compostos por cinco animais cada, que foram eutanasiados com 5, 10, 20 e 30 dias respectivamente.

doi: 10.14808/sci.plena.2016.XXXXXX

2.2 INFECÇÃO

Durante o procedimento de infecção, tanto o grupo experimental como o controle foram anestesiados com tiopental sódico via intraperitoneal. No grupo experimental injetou-se uma suspensão de ovos de *S. mansoni* de 20µL (concentração de 25.000 ovos/mL) no espaço subaracnóideo de cada rato, utilizando uma seringa de 1ml. Os animais do grupo controle foram submetidos ao mesmo procedimento, mas com administração de solução estéril tampão-fosfato (PBS) no espaço subaracnóideo.

2.3 PREPARAÇÃO HISTOLÓGICA

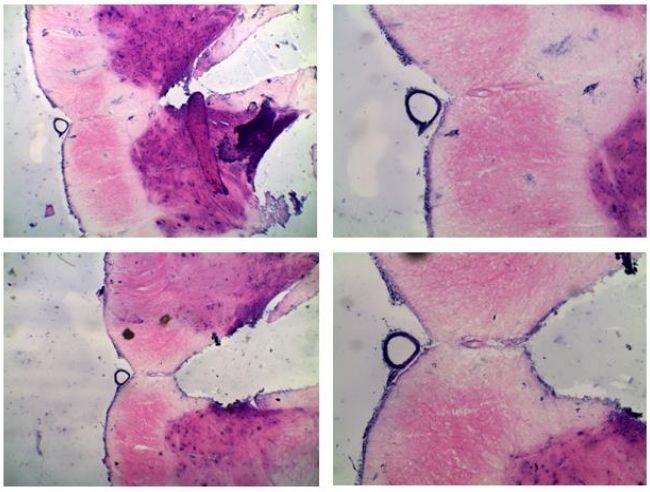
Os animais dos grupos infectados e controles foram eutanasiados no 5º dia experimental (D5), 10º dia experimental (D10), 20º dia experimental (D20), 30º dia experimental (D30), através da administração de tiopental sódico via intraperitoneal na dose de 150mg/kg, conforme as regras e regulamentações do Comitê de Ética em Pesquisas animais da Universidade Federal de Sergipe. Após a administração e efeito anestésico, os animais foram submetidos a perfusão com solução formol a 10% com bomba infusora, em seguida a medula espinhal foi cuidadosamente retirada do canal vertebral e armazenada em frascos contendo formol a 10% por mais duas horas quando então foi transferida para frascos contendo solução crioprotetora contendo sacarose por no mínimo 2 dias.

Para o procedimento de montagem das lâminas, o segmento medular de T10 a L5 foi submetido a cortes histológicos em criostato no plano transversal com intervalo de 20µm, fixado em lâminas de vidro e corado por meio da técnica de hematoxilina-eosina. As alterações histológicas foram avaliadas quanto à presença de ovos e/ou granulomas além de agregados de células inflamatórias.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a preparação das lâminas e posterior coloração com a técnica de hematoxilina-eosina os cortes foram observados no microscópio para busca dos ovos de *S. mansoni*, granulomas ou infiltrado inflamatório. Durante a observação pode-se constatar a presença de ovos em alguns cortes, com predileção para se inserir na comissura anterior da medula, porém não se sabe se decorrente do fluxo liquórico ou retirada dos ovos localizados em outros locais durante o processo de preparação das lâminas.

Nas figuras 1 e 2 pode-se observar a deposição de ovos na comissura anterior da medula dos animais do grupo experimental D20, sem entretanto haver um infiltrado inflamatório ou granulomas, formações que não foram observadas durante o estudo em



nenhum dos animais. Na figura 3 vê-se fragmento de um ovo localizado em região próxima ao canal medular.

doi: 10.14808/sci.plena.2016.XXXXXX

Figura 1: Cortes histológicos de animais do grupo experimental D20 evidenciando a presença de ovos na comissura anterior.

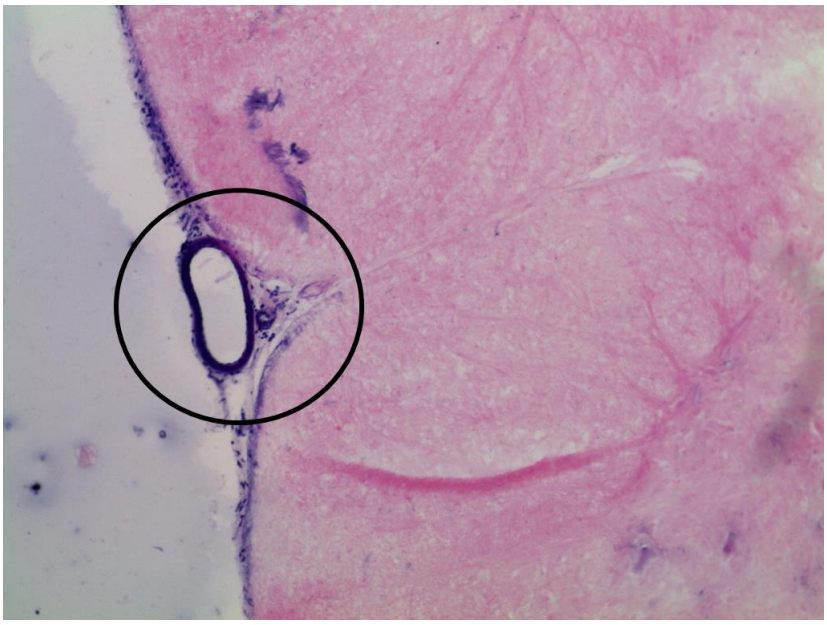


Figura 2: Corte histológico de animal do grupo experimental D20.

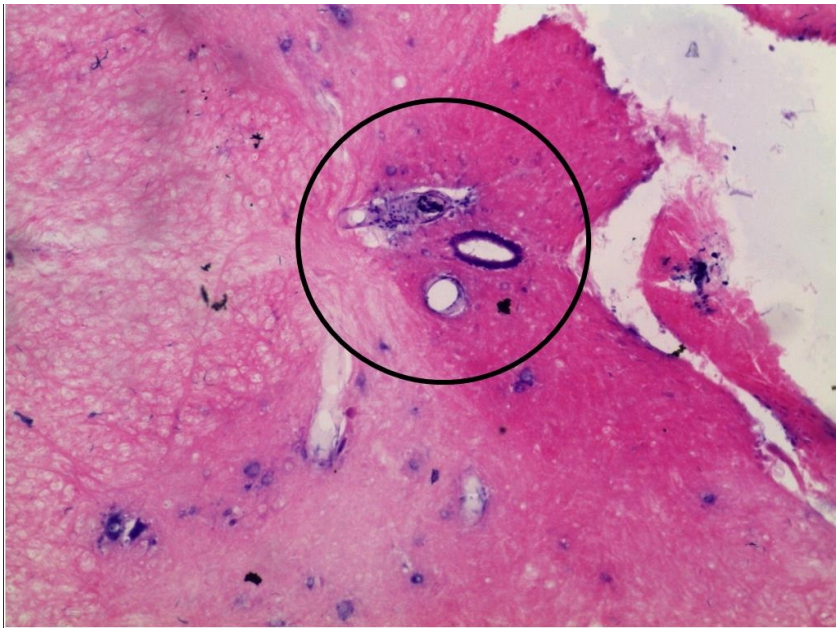


Figura 3: Fragmento de um ovo próximo ao canal central da medula.

O início da deposição dos ovos pelos vermes adultos de S. mansoni ocorre por volta do 40º dia após a infecção através de cercárias e baseados nas observações feitas no perfil de citocinas presentes, alguns autores sugerem que os ovos, e não outro estágio de vida do parasita são os principais responsáveis pela formação do granuloma (Valença 2000). É difícil fazer uma comparação com estudos anteriores de infecção por S. mansoni visto que a infecção realizada nesses estudos se dá através das cercárias via tegumento enquanto que no presente estudo a infecção se dá através da injeção intratecal de solução contendo ovos.

Após a infecção, o hospedeiro fica exposto a uma série de antígenos do parasita e inicia, em diferentes momentos, respostas humorais e celulares, especificas e inespecíficas. Novas respostas ocorrem quando o verme passa a depositar ovos, apresentando nova gama de antígenos, e estes a

doi: 10.14808/sci.plena.2016.XXXXXX

se fixar em diferentes órgãos. Encontrar ovos na medula é um evento independente do tempo, visto que a infecção ocorre através da injeção direta de ovos via intratecal. Diferentemente, a presença de infiltrado inflamatório e de granulomas são dependentes do tempo. Alternativas para contornar esse problema seria a criação de mais grupos, com tempos maiores de infecção, sensibilização prévia dos animais aos antígenos ou monitorização do padrão de citocinas ou eosinofilia, avaliando dessa forma não apenas o fator histológico, mas também humoral e celular.

4. CONCLUSÃO

Com base nos resultados obtidos através da metodologia aplicada conclui-se que o modelo desenvolvido mostrou-se satisfatório e reprodutível para avaliação do acometimento medular da esquistossomose, com identificação de ovos de *S. mansoni* nos cortes histológicos dos animais no grupo experimental.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DAMATTA, Renato Augusto. **Modelos animais na pesquisa biomedica**; Scientia Medica (Porto Alegre) 2010; volume 20, número 3, p. 210-211.

2. KATZ, Naftale; PEIXOTO, Sérgio Viana. **Análise crítica da estimativa do número de portadores de esquistossomose mansoni no Brasil**; Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; mai-jun, 2000.

3. PORDEUS, Luciana Cavalcante. **A ocorrência das formas aguda e crônica da esquistossomose mansônica no Brasil no período de 1997 a 2006:** uma revisão de literatura; Epidemiol. Serv. Saúde, Brasília, 17(3):163-175, jul-set 2008.

4. Russell, B. **História do pensamento ocidental;** São Paulo: Ed. Publicações S/A; 2001.

5. Santos, Eustáquio Claret dos. **Perfil clínico e aspectos diagnosticos da mielorradiculopatia esquistossomotica**; Arq. Neuro-Psiquiatria. [online]. 2001, vol.59, n.3B, pp.772-777

6. SOUZA, Felipe Pereira Carlos de. **Esquistossomose mansônica: aspectos gerais, imunologia, patogênese e história natural**; Revista Brasileira de Clinica Medica; São Paulo; 2011.

7. VALENÇA, Patrícia Lima Falcão. **Esquistossomose mansoni humana:** Influência da IL-10 no fenótipo celular do granuloma In vitro; Fundação Oswald Cruz; Rio de Janeiro; 2000.