



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária**

**Programa de Pós-graduação em Saúde Animal**

**ANÁLISE MORFOQUANTITATIVA DE TIMO E BAÇO  
DE GATOS FELV-POSITIVOS NATURALMENTE  
INFECTADOS**

**FLÁVIA AZEVEDO CAVALCANTI DE MELO**

**DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
EM SAÚDE ANIMAL**

**BRASÍLIA/DF**

**JANEIRO/2013**



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA**

**ANÁLISE MORFOQUANTITATIVA DE TIMO E BAÇO DE  
GATOS FELV-POSITIVOS NATURALMENTE INFECTATOS**

FLÁVIA AZEVEDO CAVALCANTI DE MELO

ORIENTADOR: PROF. DR. EDUARDO MAURÍCIO MENDES DE LIMA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

EM SAÚDE ANIMAL

PUBLICAÇÃO: 067/2013

BRASÍLIA/DF

JANEIRO/2013

## REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA E CATALOGAÇÃO

**MELO, F. A. C. Análise morfoquantitativa do timo e baço de gatos FeLV-positivos naturalmente infectados.** Brasília: Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília, 2013, 26p. Dissertação de Mestrado.

Documento formal, autorizado reprodução desta dissertação de mestrado para empréstimo ou comercialização, exclusivamente para fins acadêmicos, foi passado pelo autor à Universidade de Brasília e acha-se arquivado na Secretaria do Programa. O autor reserva para si os outros direitos autorais, de publicação. Nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrita do autor. Citações são estimuladas, desde que citada a fonte.

Melo, Flávia Azevedo Cavalcanti de

Análise morfoquantitativa do timo e baço de gatos FeLV positivos naturalmente infectados/ Flávia Azevedo Cavalcanti de Melo orientação de Eduardo Maurício Mendes de Lima. Brasília, 2013. 26p.: il.

Dissertação de mestrado (M) – Universidade de Brasília/ Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2013.

1. Análise Quantitativa
2. Timo
3. Baço
4. Gato I. MELO, F. A. C. II. Título


UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

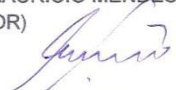
**ANÁLISE QUANTITATIVA DE TIMO E BAÇO DE GATOS FELV-POSITIVOS  
NATURALMENTE INFECTADOS**


FLÁVIA AZEVEDO CAVALCANTI DE MELO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
SUBMETIDA AO PROGRAMA DE PÓS  
GRADUAÇÃO EM SAÚDE ANIMAL,  
COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS A OBTENÇÃO DE  
GRAU DE MESTRE EM SAÚDE ANIMAL

APROVADA POR:

  
EDUARDO MAURÍCIO MENDES DE LIMA, DOUTOR (UnB)  
(ORIENTADOR)

  
MARCELO ISMAR SILVA SANTANA, DOUTOR (UnB)  
(EXAMINADOR INTERNO)

  
FERNANDA RODRIGUES AGRESTE, DOUTORA (USP)  
(EXAMINADOR EXTERNO)

BRASÍLIA, 29 DE JANEIRO DE 2013

Dedico esse trabalho ao destino, à Deus ou à força maior, que sempre me leva a caminhos não planejados e que no final, tudo dá certo.

Ao Bonifácio, que foi o responsável pela escolha da Medicina Veterinária fazer sentido. Por causa dele, eu me encontrei.

## **AGRADECIMENTOS**

Ao meu orientador que tornou tudo isso possível. Através de você eu tive a oportunidade de exercer a profissão na minha área, no melhor lugar possível e não poderia ser melhor. O que sou hoje como clínica, eu devo a você. Obrigada pelos conselhos, pela paciência e por ser mais do que um tutor, por ser um amigo desde os primórdios de 2004.

Ao André e demais alunos que me ajudaram.

## SUMÁRIO

	Página
LISTA DE ABREVIATURAS.....	viii
LISTA DE FIGURAS .....	ix
RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xi
<b>CAPÍTULO I</b>	
REFERENCIAL TEÓRICO.....	1
Timo.....	2
Baço.....	3
OBJETIVOS.....	4
REFERÊNCIAS.....	5
<b>CAPÍTULO II</b>	
INTRODUÇÃO .....	8
MATERIAL E MÉTODOS.....	9
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	10
CONCLUSÃO .....	14
REFERÊNCIAS.....	14
<b>CAPÍTULO III</b>	
INTRODUÇÃO .....	17
MATERIAL E MÉTODOS.....	18
RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	20
CONCLUSÃO .....	22
REFERÊNCIAS.....	22
<b>CAPÍTULO IV</b>	
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	25
<b>ANEXO</b>	
Declaração de aprovação do projeto Análise quantitativa e morfológica de timo e baço de gatos naturalmente infectados com o vírus da FeLV.....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS

DNA	ácido desoxirribonucleico
FeLV	leucemia viral felina
FIV	Imunodeficiência viral felina
mm	milímetros
VEGF	fator de crescimento endotelial
µm	micrômetro



## LISTA DE FIGURAS

	Página
<b>Figura 1</b> gráficos representativos dos valores obtidos da quantificação (%) dos timócitos (A), tecido adiposo (B) e vasos sanguíneos (C) entre os animais negativos (Gc) e positivos (Gd) para FeLV.	11
<b>Figura 2</b> fotomicrografia corada com HE mostrando o tecido adiposo (seta preta) e timócitos (seta cinza), nas imagens A e B; corpúsculo tímico (seta branca), na imagem C e vasos sanguíneos (setas cinza) na imagem D. Fotomicrografia corada com picrossírius e evidenciação do tecido conjuntivo (setas preta) na imagem E; Fotomicrografia com luz polarizada mostrando o colágeno tipo I (seta branca) e colágeno tipo III (seta vermelha) na imagem F.	12
<b>Figura 3</b> gráficos representativos dos valores obtidos da quantificação (%) do tecido conjuntivo (A), colágeno tipo I (B) e colágeno tipo III (C) entre os animais negativos (Gc) e positivos (Gd) para FeLV. A marcação por * representa diferença estatística entre os grupos, de acordo com a aplicação do teste de Wilcoxon.	14
<b>Figura 4</b> Fotomicrografia corada com HE (A e B) e com Picrossírius red (C e D) demonstrando a polpa vermelha (PV), polpa branca (PB) disposta ao redor de vasos sanguíneos (seta branca), cápsula fibrosa (seta vermelha) e trabéculas (seta preta)	21
<b>Figura 5</b> Gráficos representativos dos valores obtidos da quantificação (%) polpa vermelha (A), polpa branca (B) e tecido conjuntivo (C) entre os animais negativos (Gc) e positivos (Gd) para FeLV.	22

## RESUMO

Sendo a leucemia viral felina (FeLV) uma doença complexa que afeta, principalmente o sistema imunológico e hematológico do gato, o objetivo desse estudo foi quantificar as alterações morfológicas no timo e baço de animais naturalmente infectados e negativos. Para avaliação do timo, foram quantificados os timócitos, tecido adiposo, corpúsculos tímicos, tecido conjuntivo, colágeno tipo I e colágeno tipo III. Nesse caso, foram utilizados cinco animais no grupo de animais negativos (Gc) e dois animais positivos (Gd). Os timócitos nos animais FeLV negativos (Gc) e positivos (Gd) variou em média de  $55,16\% \pm 6,15$  e  $44,81\% \pm 6,15$  ( $p=0,39$ ); os adipócitos variaram em média de  $42,14\% \pm 5,97$  (Gc) e  $53,42\% \pm 11,3$  (Gd) ( $p=0,34$ ); os vasos sanguíneos variaram de  $0,85\% \pm 0,24$  (Gc) e  $1,75\% \pm 0,52$  (Gd) ( $p=0,15$ ); os corpúsculos tímicos estiveram apenas presentes em  $0,68\% \pm 0,19$  dos animais negativos (Gc). O tecido conjuntivo variou de  $12,05\% \pm 0,68$  (Gc) e de  $10,34\% \pm 0,62$  (Gd) ( $p=0,009$ ). A presença do colágeno tipo I ( $p=0,30$ ) e do tipo III ( $p=0,59$ ) foi de, respectivamente,  $1,73\% \pm 0,3$  e  $0,44\% \pm 0,09$  no Gc e,  $1,44\% \pm 0,36$  e  $0,44\% \pm 0,13$  no Gd. Para o estudo do baço, foram quantificados a polpa vermelha, a polpa branca e o tecido conjuntivo; foram utilizados cinco animais no grupo negativo (Gc) e quatro animais do grupo positivo (Gd). O peso e o volume dos baços dos animais variou em média, respectivamente, de  $9,44g \pm 1,96$  e  $10ml^3 \pm 2,58$  no Gc e de  $17,83g \pm 10,66$  e  $17,25ml^3 \pm 10,92$  no Gd, ambos os dados foram estatisticamente significativos. A polpa vermelha nos animais FeLV negativos (Gc) e positivos (Gd) variou em média de  $73,08\% \pm 3,13$  e  $73,85\% \pm 4,53$  ( $p=0,39$ ); a polpa branca variou em média de  $6,02\% \pm 2,02$  no Gc e  $8,38\% \pm 2,92$  no Gd ( $p=0,34$ ); o tecido conjuntivo variou em média de  $13,28\% \pm 1,69$  no Gc e de  $12,11\% \pm 2,51$  no Gd. Em ambos os casos, apenas a quantificação de corpúsculos tímicos e o peso dos baços tiveram diferença estatística entre os grupos; nos demais dados não houve diferença, demonstrando que a infecção pela FeLV não foi capaz de alterar a arquitetura normal dos órgãos estudados.

Palavras-chave: gatos domésticos, análise morfoquantitativa, timo, baço, leucemia viral felina

## ABSTRACT

Being the viral feline leukemia virus (FeLV) a complex disease that affects mostly the immune and hematologic system of the cat, the aim of this study was to quantify morphological changes in the thymus and spleen of cats positives and negatives. For evaluation of the thymus were quantified thymocytes, adipose tissue, thymic corpuscles, connective tissue, collagen type I and type III. In this case, were used five animals at group control (Gc) and two animals at diseased group (Gd). The thymocytes at negative FeLV animals (Gc) and positives (Gd) differ on the average of 55,16%  $\pm$ 6.15 to 44.81%  $\pm$ 6.15 ( $p=0.39$ ); the adipocytes differ from 42.14% $\pm$ 5.97 (Gc) to 53.42% $\pm$ 11.3 (Gd) ( $p=0.34$ ); the blood vessels changed from 0.85% $\pm$ 0.24 (Gc) to 1.75% $\pm$ 0.52 (Gd) ( $p=0.15$ ); the thymic corpuscles were detected only 0.68% $\pm$ 0.19 at negatives animals (Gc). The connective tissue changed from 12.05% $\pm$ 0.68 (Gc) to 10.34% $\pm$ 0.62 (Gd) ( $p=0.009$ ). Collagen presence type I ( $p=0.30$ ) and type III ( $p=0.59$ ) were, respectively from 1.73% $\pm$ 0.3 to 0.44% $\pm$ 0.09 at Gc and from 1.44% $\pm$ 0.36 to 0.44% $\pm$ 0.13 at Gd. To spleen study, were quantified red pulp, white pulp and connective tissue; were used five animals in negative group (Gc) and four animals in positive group (Gd). The weight and volume of the spleens of the animals differ on the average of, respectively, 9.44g $\pm$ 1.96 and 10ml<sup>3</sup> $\pm$ 2.58 and the Gc and 17.83g $\pm$ 10.66 17.25 ml<sup>3</sup> $\pm$ 10.92 in Gd, both were statistically significant. The red pulp in FeLV negatives animals (Gc) and positives (Gd) differ on the average of 73.08% $\pm$ 3.13 and 73.85% $\pm$ 4.53 ( $p=0.39$ ); the white pulp varied average of 6.02% $\pm$ 2.02 and in Gc 8.38% $\pm$ 2.92 in Gd ( $p=0.34$ ), connective tissue changed from 13.28% $\pm$ 1.69 in Gc and 12.11% $\pm$ 2.51 in Gd. In both cases, only the quantification of thymic corpuscles and the weight of spleens had a statistical difference between groups; the other data were no difference, demonstrating that infection by FeLV was unable to modify the normal architecture of the organs studied.

Key-words: domestic cats, morphoquantitative analysis, thymus, spleen, feline leukemia virus

## CAPÍTULO I

### REFERENCIAL TEÓRICO

A leucemia viral felina (FeLV) é uma retrovirose comum na clínica veterinária e com grande impacto na saúde dos felinos domésticos. O vírus da FeLV é bastante patogênico e foi considerado durante muito tempo como causador da maioria das síndromes clínicas do que qualquer outro agente (Hartmann, 2011).

O vírus da leucemia viral felina (FeLV) é um retrovírus do gênero gama que representam um grupo oncogênico tipicamente associado à longa latência e com a indução de leucemia e linfoma no hospedeiro (Levy, 2008). Retrovírus são vírus de RNA envelopado que dependem de um DNA para intermediar a replicação (Lutz et al., 2009).

O vírus da leucemia é conhecido como “doença do gato amigável” porque o vírus é transmitido quando gatos infectados e não-infectados estão em contato próximo prolongado, especialmente durante lambeduras mútuas ou quando compartilham tigelas de água e comida (Tejerizo et al., 2012). A infecção geralmente ocorre na orofaringe, onde o vírus infecta os linfócitos, e assim, atinge a medula óssea (Lutz et al., 2009). A partir daí, as células infectadas carregam o agente viral para outros tecidos alvos como o timo, baço, e linfonodos (Levy, 2004). Em gatos virêmicos múltiplos tecidos, incluindo a medula óssea, são infectados e podem reter o vírus latente indefinidamente (Carmichael et al., 2002).

A doença típica relatada em associação com a infecção produtiva da FeLV são, p. ex. supressão da medula óssea como anemia, neutropenia ou trombocitopenia, diferentes formas de linfossarcomas e infecções oportunistas, como consequência da imunossupressão induzida pela FeLV (Suntz et al., 2010). Sinais menos comuns são: doenças imuno-mediadas, enterite crônica, desordens reprodutivas e neuropatias periféricas (Lutz et al., 2009). Gatos jovens são mais susceptíveis a infecção e são mais predispostos a desenvolver

doenças FeLV-relacionadas como linfoma, doenças mieloproliferativas ou mielossupressivas e imunodepressão (Hagiwara et al, 1997).

### **Timo**

O timo é um órgão linfático primário que desenvolve sua atividade em organismos jovens (König; Liebich, 2002). Ainda na vida fetal e no período neonatal o timo é o órgão com maior importância imunológica e, anatomicamente é o maior órgão linfático e com maior atividade linfopoética, constando como precursor da linfopoese, demonstrando ainda relações com o sistema endócrino, principalmente com a função gonadal (Drummond, 1996).

A função tímica está relacionada a mecanismos fundamentais na aquisição das defesas e conseqüentes respostas orgânicas. Atualmente, sabe-se que o timo é um órgão linfóide central e desempenha papel importante na imunidade celular através da geração de linfócitos T circulantes (Nishino et al., 2006). A formação de células T inicia-se na medula óssea e, após migração para o timo, sofrem maturação e tornam-se funcionais. No que tange à resposta antigênica, esta se processa a partir do timo, o qual responde pela diferenciação, proliferação e migração de linfócitos para órgãos linfóides secundários, onde adquirem características novas e transformam-se em células imunocompetentes (Carneiro e Silva et al., 2001).

Durante a vida do animal o timo sofre uma involução, dita fisiológica, que pode ser acelerada por uma série de fatores, visto que os timócitos são extremamente sensíveis à variações microambientais, ocorrendo rápida depleção dessa população mediante uma série de estímulos (Nezelof, 1992). Após a puberdade ocorre atrofia do parênquima tímico e o córtex é substituído por tecido adiposo, mas resquícios do timo torácico podem persistir até a idade avançada (Agreste, 2010).

A involução gradual e contínua do timo é caracterizada pela diminuição do peso do órgão, perda dos linfócitos corticais, infiltração pelas células adiposas e aumento do número de corpúsculos tímicos (Barroso, 2007). No gato, a involução começa entre 6 a 8 meses de idade (Woo et al., 1997).

## **Baço**

O baço é o maior órgão linfático do organismo e está ligado, entre outros aspectos, na resposta imune frente a antígenos transportados pelo sangue e no armazenamento de eritrócitos e plaquetas (Furrianca et al., 2008). Além disso, o baço de espécies animais tem a habilidade de acrescentar a populações de eritrócitos e granulócitos e pode ser reservatório para células vermelhas durante períodos de demandas incomuns (Samuelson, 2007).

O baço é circundado por uma cápsula composta de tecido fibroso denso, fibras elásticas e musculatura lisa (Cesta, 2006), sendo que esta, emite prolongamentos dividindo o parênquima em compartimentos incompletos.

O baço é um órgão linfático altamente estruturado consistindo em três compartimentos principais: a polpa vermelha, a zona marginal e a polpa branca. A estrutura especializada do sistema venoso da polpa vermelha dá a essa área a capacidade de filtrar o sangue e remover os eritrócitos velhos (Mebius; Kraal, 2005). Os vasos sanguíneos terminam em um sistema sinusóide entorno de células B e T, formando assim, uma fronteira anatômica entre a polpa vermelha e a polpa branca, a zona marginal (Vondenhoff et al., 2008). As regiões linfóides do baço, a polpa branca, são organizados em zonas de células T mais internas e folículos de células B mais externos (Lo et al., 2003).

## **OBJETIVOS**

Sendo a FeLV uma doença complexa, que pode causar diversas sintomatologias, interferindo principalmente sobre sistema imune e hematológico, este estudo teve como objetivo:

- quantificar as alterações morfológicas no timo, órgão alvo do vírus e importante órgão linfóide, de gatos naturalmente infectados e negativos, através da quantificação dos timócitos, tecido adiposo, corpúsculos tímicos, tecido conjuntivo, colágeno tipo I e colágeno tipo III.
- quantificar as alterações no baço de animais positivos para FeLV e negativos, através da quantificação das proporções da polpa vermelha, polpa branca e tecido conjuntivo.

## REFERÊNCIAS

- AGRESTE, F. R. Expressão espaço-temporal do sistema VEGF e do EG-VEGF no timo de cães. 2010. 165f. Dissertação de Doutorado – Universidade de São Paulo/Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.
- BARROSO, C. E. Estudo quantitativo da vascularização do timo em gatos. 2007. 81f. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo/Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
- CARMICHAEL, K. P.; BIENZLE, D.; MCDONNELL, J. J. Feline leukemia virus-associated myelopathy in cats. *Veterinary Pathology*, vol. 39, p. 536-545, 2002.
- CARNEIRO e SILVA, F. O.; SEVERINO, R. S.; SANTOS, A. L. Q.; DRUMMOND, S. S.; SILVA, M.; BOMBONATO, P. P.; REZENDE, R. J.; LIMA, E. M. M. Suprimento arterial do timo em gatos sem raça definida. *Bioscience Journal*, vol. 17, n. 1, p. 61-66, 2001.
- CESTA, M. F. Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicologic Pathology*, vol. 34, p. 455-465, 2006.
- DRUMMOND, S. S. Aspectos morfométricos e vascularização arterial do timo em suínos da raça Hampshire. 1996, 57p. Tese de doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- FURRIANCA, M. C.; VÁSQUEZ, B.; DEL SOL, M. Estereología comparativa entre el bazo del cuye (*Cavia porcellus*) y la rata (*rattus norvegicus*, Sprague Dawley). *International Journal of Morphology*, vol. 26, n. 3, p. 529-532, 2008.
- HAGIWARA, M. K.; JÚNIOR, A. R.; LUCAS, S. R. R. Estudo clínico da infecção de felinos pelo vírus da leucemia felina em São Paulo. *Revista Brasileira de Ciências Veterinárias*, v. 4, p. 35-38, 1997.
- HARTMANN, K. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 143, p. 190-201, 2011.
- KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. Anatomia dos animais domésticos – texto e atlas, Porto Alegre: Editora Artmed, 2002, 292p.



- LEVY, J. K. VLF e doença não-neoplásica relacionada. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Tratado de Medicina Interna Veterinária, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 5ª ed, 2004, cap. 89, p. 446-455.
- LEVY, L. S. Advances in understanding molecular determinants in FeLV pathology. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 123, p. 14-22, 2008.
- LO, C. G.; LU, T. T.; CYSTER, J. G. Integrin-dependence of lymphocyte entry into the splenic white pulp. *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 197, n. 3, p. 353-361, 2003.
- LUTZ, H. et al. Feline Leukemia: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, vol. 11, n. 7, p. 565-574, 2009.
- MEBIUS, R. E.; KRAAL, G. Structure and function of the spleen. *Nature Reviews Immunology*, vol. 5, n. 8, p. 606-616, 2005.
- NEZELOF, C. Thymic pathology in primary and secondary immunodeficiencies. *Histopathology*. v. 21, p. 499-511, 1992.
- NISHINO, M.; ASHIKU, S. K.; KOSHER, O. N.; THURER, R. L.; BOISELLE, P.M.; HATABU, H. The thymus: a comprehensive review. *RadioGraphics*, vol.36, n. 2, p. 335-348, 2006.
- SAMUELSON, D. A. Immune System. In:\_\_\_\_\_. *Textbook of Veterinary Histology*, Missouri: Saunders-Elsevier, 2007. cap.12, p.250-270
- SUNTZ, M. et al. High prevalence on non-productive FeLV infection in necropsied cats and significant association with pathological findings. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 136, p. 71-80, 2010.
- TEJERIZO, G.; DOMÉNECH, A.; ILLERA, J. C.; SILVÁN, G.; GÓMEZ-LUCÍA, E. Altered plasma concentrations of sex hormones in cats infected by feline immunodeficiency virus or feline leukemia virus. *Domestic Animal Endocrinology*, vol. 42, p. 113-120, 2012.
- VONDENHOFF, M. F. R.; DESANTI, G. E.; CUPEDO, T.; BERTRAND, J. Y.; CUMANO, A.; KRAAL, G.; MEBIUS, R. E.; GOLUB, R. Separation of splenic red and white pulp occurs before birth in a  $LT\alpha\beta$ -independent manner. *Journal of Leukocyte Biology*, vol. 84, p. 152-161, 2008.

WOO, J. C. et al. Immunopathologic changes in the thymus during the acute stage of experimentally induced feline immunodeficiency virus infection in juvenile cats. *Journal of Virology*, vol. 71, n. 11, p. 8632-8641, 1997.

## CAPÍTULO II

### AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES MORFOQUANTITATIVAS DO TIMO DE GATOS INFECTADOS PELO VÍRUS DA LEUCEMIA VIRAL FELINA

#### INTRODUÇÃO

O timo é um órgão linfóide primário aonde precursores de célula-T derivados da medula óssea sofrem diferenciação, direcionando a migração de tímócitos positivamente selecionados para áreas célula-T dependente em órgãos linfóides secundários (Savino; Dardenne, 2000). Sua atividade ocorre principalmente em animais jovens, sendo que na vida fetal e no período neonatal o timo é o órgão com maior importância imunológica e, anatomicamente é o maior órgão linfático e com maior atividade linfopoética, constando como precursor da linfopoese, demonstrando ainda relações com o sistema endócrino relacionados com a função gonadal (Drummond, 1996).

A Leucemia Viral Felina (FeLV) é uma doença comumente encontrada na rotina da clínica de felinos. A FeLV permanece como uma importante doença dos gatos domésticos (Dunham; Graham, 2008). Essa infecção geralmente ocorre na orofaringe, onde o vírus infecta os linfócitos, e assim, atinge a medula óssea (Lutz et al., 2009). As células infectadas carregam o agente viral para outros tecidos alvos como o timo, baço e linfonodos (Levy, 2004). O curso que tomará a infecção de FeLV dependerá de alguns fatores, tais como a resposta imune do hospedeiro e a evolução da doença. A doença típica relatada em associação com a infecção produtiva da FeLV, gera a supressão da medula óssea, caracterizando anemia, neutropenia ou trombocitopenia, diferentes formas de linfossarcomas e infecções oportunistas, como consequência da imunossupressão induzida pela FeLV (Suntz et al., 2010).

Sendo a FeLV uma doença complexa, que pode causar diversas sintomatologias dependendo da resposta imune do hospedeiro, o objetivo desse estudo foi o de quantificar as alterações morfológicas no timo, órgão alvo do vírus e importante órgão linfóide, de gatos naturalmente infectados e saudáveis,

através da quantificação dos timócitos, tecido adiposo, corpúsculos tímicos, tecido conjuntivo, colágeno tipo I e colágeno tipo III.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram avaliados sete gatos domésticos (*Felis catus domesticus*) provenientes do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília, estes foram divididos em dois grupos, sendo um macho e uma fêmea compondo o grupo FeLV positivos (Gd) e dois machos e três fêmeas compondo o grupo FeLV negativos (Gc).

Todos os animais positivos (Gd) apresentavam sintomatologia comumente encontrada na FeLV, isto é, hiporexia e prostração, além de anemia severa – Volume Globular de 9%; a positividade foi confirmada a partir do emprego do teste SNAP FeLV/FIV Combo Test (INDEXX Laboratories), o mesmo utilizado para comprovar a negatividade dos animais do grupo Gc. Os animais tinham idade variando entre seis meses e três anos.

A coleta dos lobos torácicos do timo de ambos os antímeros foi realizada imediatamente após a morte dos animais, para tanto, promoveu-se secções longitudinais ao longo do nono espaço intercostal, em ambos os antímeros, para visualização dos correspondentes lobos torácicos do timo. Não foi nosso interesse a diferenciação entre os lobos, para tanto, considerou-se a massa tímica como uma estrutura única, justificada pela idade dos animais. De maneira geral alguns lobos torácicos do antímero direito já encontravam-se em avançada involução, ou até mesmo ausentes.

Os timos foram seccionados transversalmente através do estabelecimento de planos macroscópicos paralelos e seriados, com distância média de 3mm (Mayhew, 1992; Wulfsohn et al., 2004). As fatias escolhidas aleatoriamente obedeceram ao método orientador modificado (Mattfeldt et al., 1990), com isso foram obtidos cortes AUI (Aleatórios e Uniformemente Isotrópicos). Após imersão no fixador, solução aquosa de formaldeído a 10%, por um período mínimo de 24 horas os fragmentos foram submetidos à técnica histológica convencional, sendo emblocados em parafina. As lâminas foram confeccionadas com a espessura de 4µm utilizando micrótomo manual (Leica RM 2125RT). As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina e a área

ocupada pelos timócitos, agregados linfoides, vasos sanguíneos e ainda os adipócitos foi quantificada utilizando o software STEPanaizer© (Gundersen et al., 1988) com sistema teste de 36 pontos, o cálculo da área total foi realizado após a contagem dos pontos através do Princípio de Delesse sendo  $A_{[est]}$  a área ocupada pela estrutura,  $P_{[est]}$  o número de pontos contados sobre a estrutura e  $P_t$  o número total de pontos do sistema teste. Já as lâminas coradas com Pricrosirius red foram empregadas para a determinação da proporção de tecido conjuntivo entre os grupos, assim como a diferenciação entre colágeno tipo I e III, utilizando filtro polarizador e programa de análise de imagens Image Pro-Plus 6.0®.

Foram obtidas fotomicrografias de cinco campos aleatórios de cada fragmento (6 fragmentos por animal) com microscópio óptico BX51 Olympus® acoplado ao programa de captura e análise de imagens ProgRes® Capture Pro 2.5.

Para análise estatística foi empregado o software GraphPad Prisma 5. Os dados foram submetidos a análise descritiva, visando a obtenção da média e erro padrão da média dos diversos dados, em seguida foi aplicado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, verificando se os dados apresentavam uma distribuição normal. Foi aplicado o teste de Mann Whitney, com nível de significância de 5% comparando-se os diferentes tecidos entre os animais positivos (Gd) e negativos (Gc) para FeLV.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A área ocupada pelos timócitos para os animais FeLV negativos (Gc) e positivos (Gd) variou em média de  $55,16\% \pm 6,15$  e  $44,81\% \pm 6,15$ , respectivamente, conforme a figura 1 e 2 (A). Apesar dos valores obtidos para cada grupo, não expressarem diferença estatística ( $p=0,39$ ). Sugerindo que a presença do vírus da FeLV, em gatos, não influenciou na inibição do timo, em relação a produção dos timócitos. Em contraste, o tecido adiposo se comportou de maneira inversa aos timócitos, conforme a figura 2 (B), mas ainda sem diferença estatística ( $p=0,34$ ). Nos animais negativos (Gc) este tecido variou em média de  $42,14\% \pm 5,97$  e nos positivos (Gd) de  $53,42\% \pm 11,3$  (figura 1). O tecido adiposo, em ambos os grupos, esteve disposto ao longo de todo o

órgão, formando assim “ilhas”, delimitadas pela presença de prolongamentos de tecido conjuntivo. Fato que pode ser entendido pela involução natural do órgão pois, além da diminuição do tamanho do órgão houve a alteração de sua estrutura, justificando o arranjo encontrado. Para Agreste (2010), no grupo cães com um ano de idade, o tecido adiposo tornou-se mais evidente com pequenas ilhas de tecido tímico remanescente. Portanto, mesmo que de maneira inespecífica, foi possível entender que os dados quantitativos encontrados para o tecido adiposo ilustraram que a positividade não interferiu plenamente na modificação do arranjo do timo.

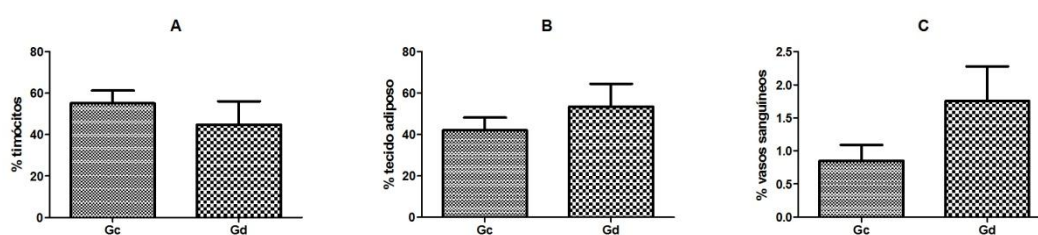


Figura 1 Gráficos representativos dos valores obtidos da quantificação (%) dos timócitos (A), tecido adiposo (B) e vasos sanguíneos (C) entre os animais negativos (Gc) e positivos (Gd) para FeLV.

A proporção de vasos sanguíneos variou de  $0,85\% \pm 0,24$  nos animais negativos (Gc) e  $1,76\% \pm 0,52$  nos positivos (Gd), sem diferença estatística ( $p=0,15$ ), conforme a figura 1 e 2 (D). Por se tratarem de animais adultos, os achados coincidem em parte com o relato de Agreste (2010), quando em cães com seis meses de idade, os vasos do timo começaram a apresentar menor calibre e não foram mais evidentes no interior do parênquima, em comparação com os grupos de animais mais jovens. Os valores indicaram que não houve uma real influência da afecção sobre os animais avaliados.

Em relação aos corpúsculos tímicos, nos animais negativos (Gc) foi de  $0,68\% \pm 0,19$  (figura 2 - C). De outra forma nos animais do grupo positivos (Gd), não foi observada a presença das mesmas. Em relação à presença da estrutura, foram encontradas no gato, apenas após 50 dias de gestação (Barroso et al., 2012) e em cães, com 30 dias de gestação a um ano de idade (Agreste et al., 2007).

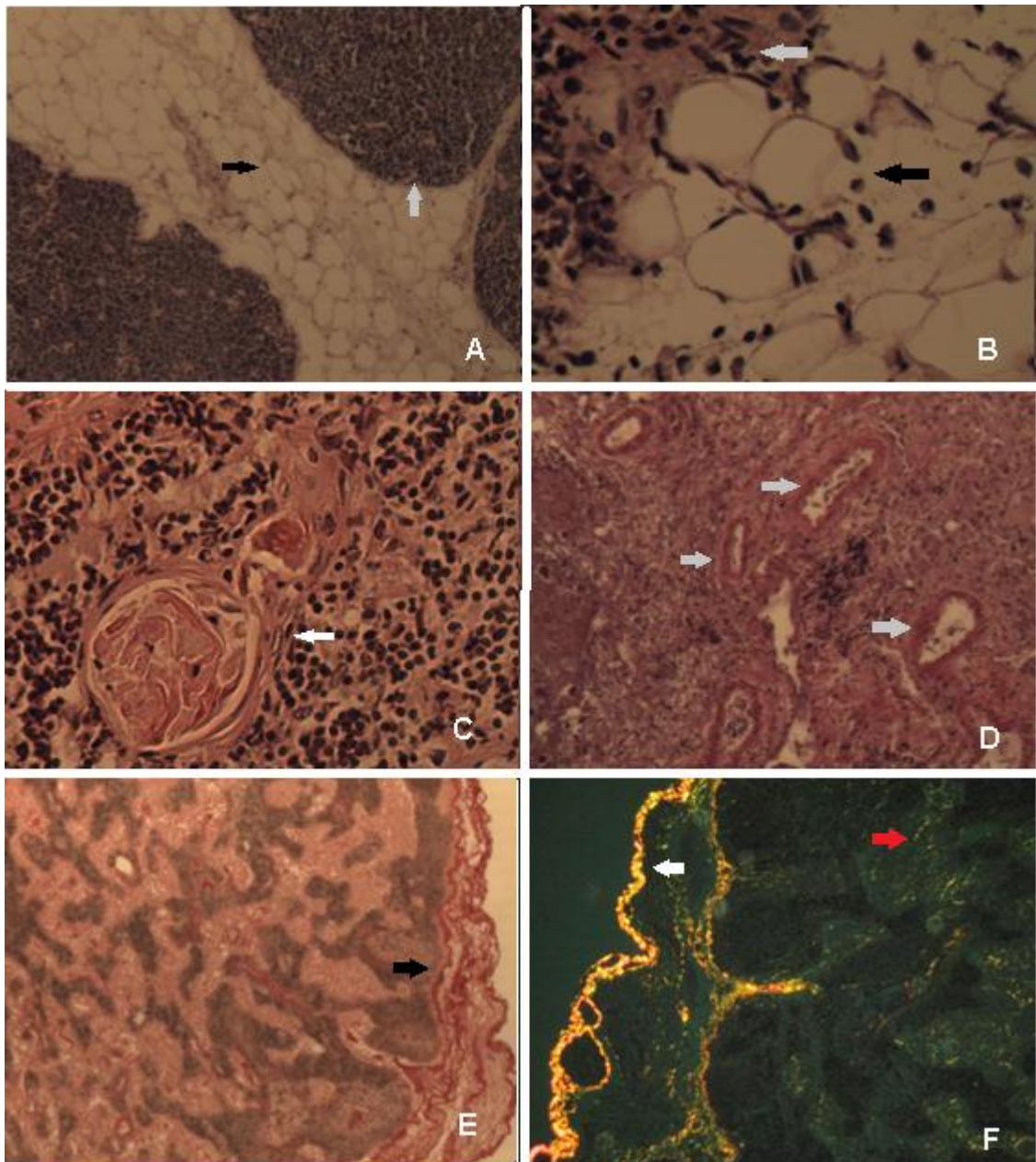


Figura 2 Fotomicrografia corada com HE mostrando o tecido adiposo (seta preta) e timócitos (seta cinza), nas imagens A e B; corpúsculo tímico (seta branca), na imagem C e vasos sanguíneos (setas cinza) na imagem D. Fotomicrografia corada com picrossírius e evidência do tecido conjuntivo (setas preta) na imagem E; Fotomicrografia com luz polarizada mostrando o colágeno tipo I (seta branca) e colágeno tipo III (seta vermelha) na imagem F.

Apesar da associação tempo dependente em conformidade com a literatura, a função dessa estrutura ainda não foi esclarecida, e os achados tanto na espécie felina quanto em outras espécies foram variáveis. No entanto, estudos avaliando a presença do VEGF (fator de crescimento endotelial) em

timos humanos e caninos corrobora com a hipótese da participação ativa desses corpúsculos na timopoiiose (Cimpean et al., 2008; Agreste, 2010). Explicando assim, de certa forma, a sua ausência nos animais imunodeficientes.

A ausência dos corpúsculos tímicos nos animais positivos pode ser norteadada por um estudo com felinos infectados com FIV que, quando comparados com animais saudáveis, verificou-se depleção na quantidade desses corpúsculos (Obert; Hoover, 2000). Além disso, a atrofia tímica foi a primeira lesão observada em gatos inoculados com FeLV (Hoover et al., 1973). Nesses animais os corpúsculos variaram de pouco desenvolvidos ou atroficos a normais, sendo em alguns casos, proeminentes devido à intensa queratinização e mineralização (Hoover et al., 1973)

A quantidade de tecido conjuntivo nos timos, variou de  $12,05\% \pm 0,68$  no grupo controle (Gc) a  $10,34\% \pm 0,67$  no grupo doente (Gd), apresentando diferença estatística ( $p=0,009$ ), conforme a figura 3. A rede de tecido conjuntivo é constituída principalmente por colágeno tipo I, colágeno tipo III e fibras elásticas (Burlew; Weber, 2000). Sugerindo que não houve uma remodelação e deposição deste tecido devido a presença da doença, mesmo que em menor quantidade do valor observado para animais negativos (Gc).

A quantificação do colágeno tipo I e do tipo III foi de, respectivamente,  $1,73\% \pm 0,3$  e  $0,44\% \pm 0,09$  no grupo controle ( $p=0,30$ ) e,  $1,44\% \pm 0,36$  e  $0,44\% \pm 0,13$  no grupo doente ( $p=0,59$ ), conforme a figura 3. De acordo com Pereira (2009), em resposta a injúrias sofridas no miocárdio, a reparação tecidual ocorre a fibrose por acumulação dos constituintes do tecido conjuntivo, especialmente, o colágeno tipo I. Na involução tímica ocorre reorganização completa da matriz extracelular e outros tecidos conjuntivos, além de outros eventos, afetando, principalmente os timócitos (Li et al., 2002). O colágeno tipo I foi o predominante no timo de ambos os grupos estudados, sugerindo que não houve uma deposição deste tecido. Devido ao fato deste tipo de tecido estar relacionado com o arranjo estrutural do órgão (figura 2 - F).



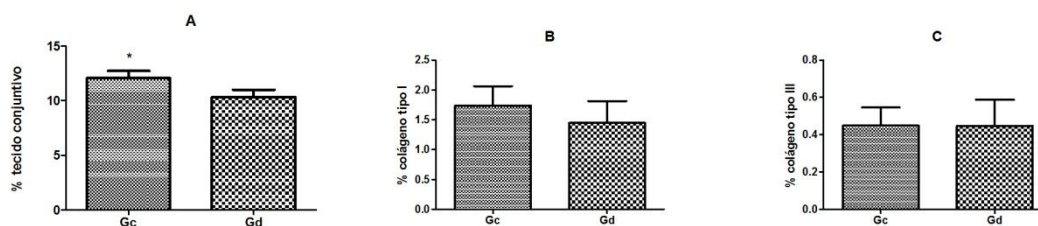


Figura 3. Gráficos representativos dos valores obtidos da quantificação (%) do tecido conjuntivo (A), colágeno tipo I (B) e colágeno tipo III (C) entre os animais negativos (Gc) e positivos (Gd) para FeLV. A marcação por \* representa diferença estatística entre os grupos, de acordo com a aplicação do teste de Wilcoxon.

## CONCLUSÃO

Foi possível observar que a presença do vírus da FeLV não promoveu efetivamente uma modificação no timo de animais infectados naturalmente, isto levando em conta os timócitos, tecido adiposo, vasos sanguíneos e ainda os colágenos dos tipos I e III. De outra forma, a ocorrência de diferença estatística, quando da quantificação do tecido conjuntivo, entre os grupos auxiliou o entendimento que não houve uma remodelação e deposição deste tecido devido à presença da doença. Revelando uma menor frequência deste tecido nos animais infectados pela FeLV. A ausência de corpúsculos tímicos nos animais imunossuprimidos sugere que essas estruturas estão ligadas a timopiose, estando ausentes quando a mesma está diminuída. Como a FeLV é uma doença sistêmica que atua principalmente no sistema imune do animal, sugere-se a avaliação de órgãos linfóides secundários, visando assim, uma interpretação mais exata da influência desta afecção em felinos.

## REFERÊNCIAS

AGRESTE, F. R. Expressão espaço-temporal do sistema VEGF e do EG-VEGF no timo de cães. 2010. 165f. Dissertação de Doutorado – Universidade de São Paulo/Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.

- AGRESTE, F. R.; BOMBONATO, P. P.; HERNANDEZ-BLAZQUEZ, F. J. Características morfométricas do desenvolvimento do timo em cães. Pesquisa Brasileira Veterinária, v. 27, n. 6, p. 236-240, junho 2007.
- BARROSO, C. E.; SILVA, L. S. C.; MARTINHO, M.; et al. Desenvolvimento embrionário tímico em fetos de gatos domésticos (*felis domesticus*). Biotemas, vol. 25, n. 3, p. 239-247, setembro 2012.
- BURLEW, B. S.; WEBER, K. T. Connective tissue and the heart functional significance and regulatory mechanisms. Cardiology Clinics, v. 18, n. 3, p. 435-432, 2000.
- CIMPEAN, A. M.; RAICA, M.; ENCICA, S.; et al. Immunohistochemical expression of vascular endothelial growth factor A (VEGF), and its receptors (VEGFR1,2) in normal and pathologic conditions of the human thymus. Annals of Anatomy, v. 190, p. 238-245, 2008.
- DRUMMOND, S. S. Aspectos morfométricos e vascularização arterial do timo em suínos da raça Hampshire. 1996, 57p. Tese de doutorado – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- DUNHAM, S. T; GRAHAM, E. Retroviral infections of small animal. Veterinary Clinics Small Animal Practice, vol. 38, n. 4, p. 879-901, 2008.
- GUNDERSEN, H. J. G.; BENDTSEN, T. F.; KORBO, L.; et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica, v. 96, p. 379-394, 1988.
- HOOVER, E. A.; PERRYMAN, L. E.; KOCIBA, G. J. Early lesions in cats inoculated with feline leukemia virus. Cancer Research, v. 33, p. 145-152, 1973.
- LEVY, J. K. VLF e doença não-neoplásica relacionada. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. Tratado de Medicina Interna Veterinária, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 5ª ed, 2004, cap. 89, p. 446-455.
- LI, L; HSU, H. C.; WILLIAM, G. E.; et al. Cellular mechanism of thymic involution. Scandinavian Journal of Immunology, v. 57, p. 410-422, 2002.
- LUTZ, H.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; et al. Feline Leukemia: ABCD guidelines on prevention and management. Journal of Feline Medicine and Surgery, vol. 11, n. 7, p. 565-574, 2009.

- MATTFELDT, T. MALÍ, G.; GHAREHBAGHI, H.; MOLLER, P. Estimation of surface area and length with the orientador. *Journal of Microscopy*, v. 159, p. 301-317, 1990.
- MAYHEW, T. M. A review of recent advances in sterology of quantifying neural structure. *Journal of Neurocytology*, v. 21, p. 313-328, 1992.
- OBERT, L. A.; HOOVER, E. A. Relationship of lymphoid lesions to disease course in mucosal feline immunodeficiency virus type C infection. *Veterinary Pathology*, vol. 37, n.5, p. 386-401, 2000.
- PEREIRA, M. R. Avaliação estrutural e quantificação de colágeno na porção atrial do coração de cães saudáveis e diabéticos. 2009. 69f. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo/ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia.
- SAVINO, W.; DARDENNE, M. Neuroendocrine control of thymus physiology. *Endocrine Reviews*, vol. 11, n. 4, p. 412-443, 2000.
- SUNTZ, M.; FAILING, K. HECHT, W.; et al. High prevalence on non-productive FeLV infection in necropsied cats and significant association with pathological findings. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 136, p. 71-80, 2010.
- WULFSOHN, D.; GUNDERSEN, H. J. G.; VEDEL JENSEN, E. B.; et al. Volume estimation from projections. *Journal of Microscopy*, v. 215, p.110-120, 2004.

## **CAPÍTULO III**

### **ANÁLISE MORFOQUANTITATIVA DO BAÇO DE GATOS FeLV POSITIVOS E NEGATIVOS**

#### **INTRODUÇÃO**

Durante muitos séculos, desde as primeiras descrições do baço e as tentativas precoces de explicar a sua função, muito se aprendeu sobre esse complexo órgão (Wilkins, 2002). As duas atividades mais importantes do baço são as funções imunológica e fagocitária, podendo citar, como parte destas, a filtração e armazenamento de sangue, destruição de eritrócitos velhos, formação de células sanguíneas durante a vida fetal e importante atuação na defesa imunológica do organismo, a partir da formação de anticorpos e pela proliferação de células T e B.

O órgão é circundado por uma cápsula fibrosa de tecido conjuntivo que emite trabéculas, projeções de tecido conjuntivo oriundas da cápsula em direção ao parênquima, que suportam a vasculatura (Mebius; Kraal, 2005). Entremeadado ao tecido conjuntivo da cápsula e das trabéculas, existe a presença de fibras musculares lisas, sua contração provoca a expulsão do sangue armazenado no baço (Junqueira; Carneiro, 1995).

O parênquima esplênico é dividido em três compartimentos (Benter et al., 2011). A polpa vermelha é composta por uma malha tridimensional de cordões esplênicos e seios venosos (Cesta, 2006). Além de células reticulares, os cordões esplênicos contêm macrófagos, monócitos, linfócitos, plasmócitos, eritrócitos, plaquetas e granulócitos (Junqueira; Carneiro, 1995). A polpa vermelha ocupa a maior parte do parênquima do órgão e é o local onde se concentram os elementos sanguíneos, sendo o baço por este motivo considerado um reservatório de eritrócitos que são liberados na contração esplênica (Dyce et al., 2004). A polpa branca é organizada como um revestimento linfóide, com compartimentos de células-B e células-T, envolta de um ramo vascular arterial, se assemelhando a estrutura de um linfonodo (Mebius; Kraal, 2005). A chamada zona marginal representa o terceiro

compartimento, sua função é separar a polpa vermelha da polpa branca (Benter et al., 2011).

A leucemia viral felina (FeLV) é uma importante retrovírose de distribuição mundial que afeta principalmente felinos domésticos. Essa infecção geralmente ocorre na orofaringe, onde o vírus infecta os linfócitos, e assim, atinge a medula óssea (Lutz et al., 2009). As células infectadas carregam o agente viral para outros tecidos alvos como o timo, baço e linfonodos (Levy, 2004). Sinais clínicos associados com a infecção da FeLV podem ser classificados como tumores, imunossupressão, desordens hematológicas, doença imunomediadas e outras síndromes (incluindo neuropatias, desordens reprodutivas e síndrome do gatinho enfraquecido) (Hartmann, 2011).

Com o objetivo de observar as alterações provocadas pela infecção pelo vírus da FeLV e conseqüentemente da anemia, esse estudo avaliou o baço de animais FeLV positivos (Gd) e FeLV negativos (Gc), através da quantificação das proporções da polpa vermelha, polpa branca e tecido conjuntivo.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Foram avaliados nove gatos domésticos (*Felis catus domesticus*), quatro machos e cinco fêmeas; estes foram divididos em dois grupos: o grupo de animais FeLV positivos (Gd) composto por quatro animais, três machos e uma fêmea e o grupo de FeLV negativos (Gc), composto por cinco animais, quatro fêmeas e um macho. Todos os animais foram provenientes do Hospital Veterinário da Universidade de Brasília.

O grupo de animais positivos tinham sintomatologia comumente encontrada na FeLV, isto é, hiporexia e prostração. Estes animais apresentavam anemia severa – volume globular variou de 6 a 9%. Eram animais que tinham idade variando entre seis meses a três anos e todos foram eutanasiados por decisão exclusiva do proprietário frente ao prognóstico ruim e a condição física do animal. Os animais do grupo controle (Gc) tinham cerca de seis meses a dois anos de idade e vieram a óbito por outros motivos que não inviabilizaram a sua inclusão no grupo de animais negativos para FeLV, dentre estes, complicações cirúrgicas, pós-operatórias ou outras afecções.

Os animais, foram submetidos ao teste SNAP FeLV/FIV Combo Test (INDEXX Laboratories), para atestar sua positividade ou negatividade referente a FeLV.

A coleta dos animais ocorreu entre os anos de 2009 e 2012, e estes foram imediatamente submetidos à coleta do órgão em questão. Para tanto, promoveu-se secção na linha alba para exposição dos órgãos abdominais e posterior retirada do órgão. Estes tiveram o seu peso estimado empregando-se para tanto balança de precisão. Fazendo uso do modelo de determinação volumétrica (Scherle, 1970) foram ainda estabelecidos os volumes e as densidades dos órgãos de cada um dos grupos. Para análise microscópica, o baço foi totalmente segmentado, obtendo assim fragmentos que, aleatoriamente, foram fixados em solução aquosa de formaldeído (10%) e submetidos à técnica histológica convencional, sendo incluídos em blocos de parafina para posterior clivagem dos tecidos através de micrótomo manual (Spencer-Lens Co.) com os tecidos com 4µm de espessura. As lâminas foram coradas com Hematoxilina-Eosina visando a quantificação da área ocupada pela polpa branca e pela polpa vermelha (figura 4 - A e B). Para a quantificação do tecido conjuntivo, as lâminas foram coradas com Pricrosirius red (figura 4 – C e D).

Foram obtidas fotomicrografias de cinco campos aleatórios de cada fragmento (6 fragmentos por animal) com microscópio óptico BX51 Olympus<sup>®</sup> acoplado ao programa de captura e análise de imagens ProgRes<sup>®</sup> Capture Pro 2.5. A área ocupada pela polpa branca e polpa vermelha foi quantificada através de sistema de pontos, 108 pontos, no programa STEPanaizer<sup>©</sup> (Gundersen et al., 1988). O cálculo da área total foi realizado após a contagem dos pontos através do Princípio de Delesse sendo  $A_{[est]}$  a área ocupada pela estrutura,  $P_{[est]}$  o número de pontos contados sobre a estrutura e  $P_t$  o número total de pontos do sistema teste. Para a determinação da proporção de tecido conjuntivo presente no órgão, as imagens foram captadas e analisadas com o software Image-Pro Plus 6.0<sup>®</sup>, quantificando o tecido conjuntivo em dez campos distintos.

Os parâmetros obtidos foram submetidos ao teste de normalidade Kolmogorov-Sminorv e comparados através da aplicação teste de Mann-

Whitney, considerando estatisticamente significativo  $p < 0,05$ , buscando assim determinar qual a interferência da afecção entre os grupos avaliados.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O peso e o volume dos baços dos animais variou em média, respectivamente, de  $9,44g \pm 1,96$  e  $10ml^3 \pm 2,58$  no Gc e de  $17,83g \pm 10,66$  e  $17,25ml^3 \pm 10,92$  no Gd. O volume e o peso do baço do Gd foi maior do que o Gc, embora não tenha sido estatisticamente diferente ( $p = 0,41$  para o peso e  $p = 0,49$  para o volume). De acordo com Hanson et al. (2001) a esplenomegalia pode ser uma resposta a outra doença, como por exemplo hematopoiese extramedular na presença de anemia. Em um estudo realizado por Zanutto et al. (2011) a esplenomegalia ocorreu a partir de 6 semanas após inoculação com o vírus da imunodeficiência felina (FIV), refletindo o comprometimento do tecido monocítico-macrofágico (Brown et al., 1991).

A quantificação da polpa vermelha apresentou média de  $73,08\% \pm 3,13$  no Gc e de  $73,85\% \pm 4,53$  no Gd (figura 5-A). A polpa vermelha, em um estudo morfoquantitativo, também foi predominante em ratos e porquinhos-da-índia, ocupando 65% e 54%, respectivamente (Furrianca et al., 2008). Apesar das células tronco-hematopoiéticas terem sido localizadas no baço murino em contato com os vasos sinusóides na polpa vermelha (Kiel et al., 2005), não foi conhecido como esses nichos contribuíram com a hematopoiese ou a natureza dos tipos de células envolvidas (O'Neill, 2012). Apesar da anemia intensa decorrente da infecção pela FeLV observada nesse estudo, esse quadro não alterou a conformação normal da polpa vermelha no baços dos gatos; não observando assim, diferenças entre os grupos.

A polpa branca do baço dos animais do Gc, variou em média de  $6,02\% \pm 2,02$  e no Gd, de  $8,38\% \pm 2,92$  (figura 5-B). De maneira similar, a polpa branca também ocupou uma menor área no baços de ratos (26%) e porquinhos-da-índia (22%), porém e uma quantidade superior ao observado nesse estudo (Furrianca et al., 2008). Uma resposta imune aguda a antígenos pode gerar um aumento de celularidade nas áreas da células-B na polpa branca (Elmore, 2006). De outra forma, as bainhas linfóides periarteriolar podem ter sua celularidade aumentada por linfomas e leucemias ou diminuídas

por exposição a radiação, vírus e drogas (Elmore, 2006). Sobretudo nesse estudo, que a infecção da FeLV não produziu a uma resposta imune que gerasse uma resposta esplênica a ponto de alterar a quantidade de polpa branca.

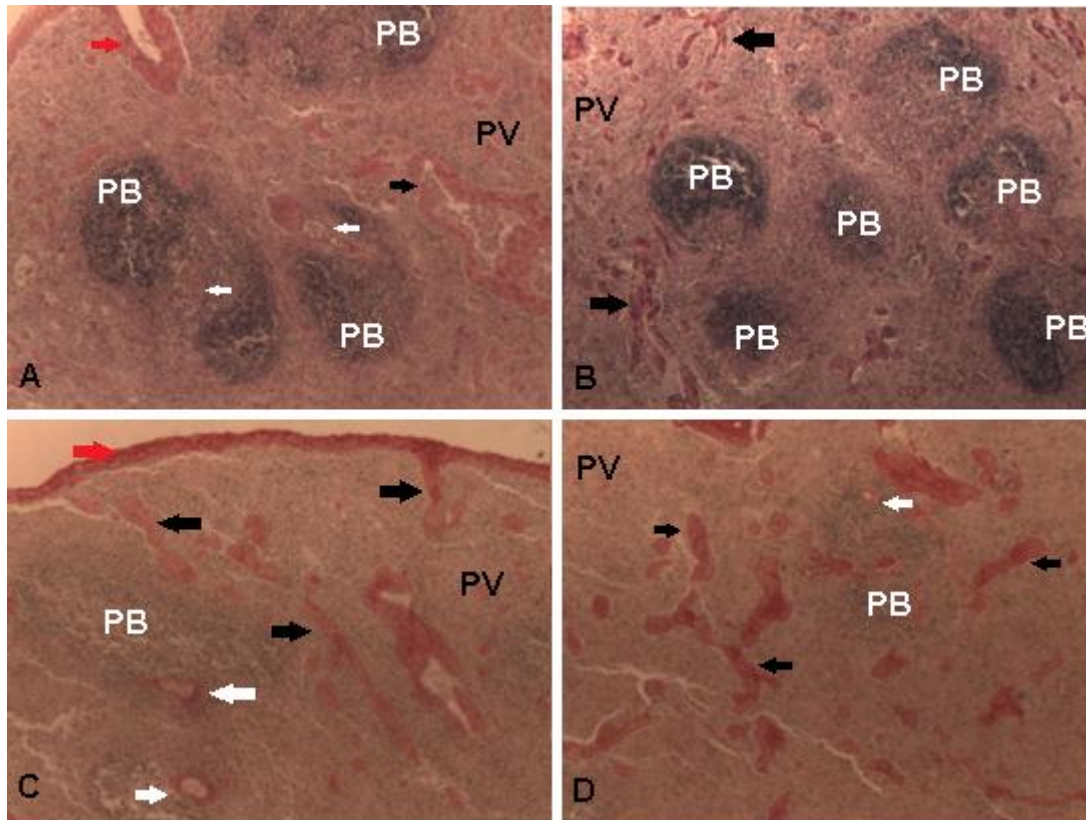


Figura 4: Fotomicrografia corada com HE (A e B) e com Picrossírius red (C e D) demonstrando a polpa vermelha (PV), polpa branca (PB) disposta ao redor de vasos sanguíneos (seta branca), cápsula fibrosa (seta vermelha) e trabéculas (seta preta)

A presença de tecido conjuntivo variou em média de  $13,28\% \pm 1,69$  no Gc e de  $12,11\% \pm 2,51$  no Gd (Figura 5-C). Como não houve variação na quantidade de tecido conjuntivo entre os grupos, os resultados sugerem que não houve remodelamento do órgão em decorrência da doença.



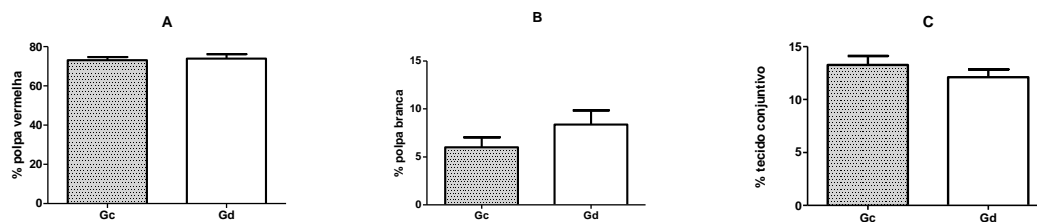


Figura 5: Gráficos representativos dos valores obtidos da quantificação (%) polpa vermelha (A), polpa branca (B) e tecido conjuntivo (C) entre os animais negativos (Gc) e positivos (Gd) para FeLV.

## CONCLUSÃO

Apesar da infecção pela FeLV gerar alterações sistêmicas significativas, como imunodepressão e anemia, essas alterações não foram capazes de provocar respostas que alterassem a arquitetura esplênica nos animais estudados. A resposta do baço pode ter existido frente à afecção, como eritropoiese extramedular e diminuição da celularidade da polpa branca pela imunodepressão; sobretudo essa resposta não foi capaz de promover alterações estruturais observáveis por meio da análise histomorfométrica. A esplenomegalia encontrada nos animais positivos pode ser um reflexo da resposta esplênica frente as condições patológicas geradas pela infecção viral.

## REFERÊNCIAS

- BENTER, T.; KLÜHS, L.; TEICHGRÄBER, U. Sonography of the Spleen. *Journal Ultrasound Medicine*, vol. 30, p.1281-1293, 2011.
- BROWN, P. J.; HOPPER, C. D.; HARBOUR, D. A. Pathological features of lymphoid tissues in cats with natural feline immunodeficiency virus infection. *Journal of Comparative Pathology*, vol. 104, p. 345-355, 1991.
- CESTA, M. F. Normal structure, function, and histology of the spleen. *Toxicologic Pathology*, vol. 34, p. 455-465, 2006.
- DYCE, K. M.; SACK, M. O.; WENSING, C. J G. *Tratado de Anatomia Veterinária*, Rio de Janeiro: Elsevier. 3ed. 2004, 821p.

- ELMORE, S. A. Enhanced histopathology of the spleen. *Toxicologic Pathology*, vol. 34, p. 648-655, 2006.
- FURRIANCA, M. C.; VÁSQUEZ, B.; DEL SOL, M. Estereología comparativa entre el bazo del cuye (*Cavia porcellus*) y la rata (*Rattus norvegicus*, Sprague Dawley). *International Journal of Morphology*, vol. 26, n. 3, p. 529-532, 2008.
- GUNDERSEN, H. J. G.; BENDTSEN, T. F.; KORBO, L.; et al. Some new, simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pathologica Microbiologica et Immunologica Scandinavica*, vol. 96, p. 379-394, 1988.
- HANSON, J. A.; PAPAGEORGES, M.; GIRARD, E.; MENARD, M.; HEBERT, P. Ultrasonographic appearance of splenic disease in 101 cats. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, vol. 42, n. 5, p. 441-445, 2001.
- HARTMANN, K. Clinical aspects of feline immunodeficiency and feline leukemia virus infection. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, vol. 143, p. 190-201, 2011.
- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Histologia básica*. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433p.
- KIEL, M. J.; YILMAZ, O. H.; IWASHITA, T.; TERHORST, C.; MORRISON, S. J. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell*, vol. 121, p. 1109-1121, 2005.
- LEVY, J. K. VLF e doença não-neoplásica relacionada. In: ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. *Tratado de Medicina Interna Veterinária*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 5ª ed, 2004, cap. 89, p. 446-455.
- LUTZ, H.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; et al. Feline Leukemia: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, vol. 11, n. 7, p. 565-574, 2009.
- MEBIUS, R. E.; KRAAL, G. Structure and function of the spleen. *Nature Reviews Immunology*, vol. 5, n. 8, p. 606-616, 2005.
- O'NEILL, H. C. Niches for extramedullary hematopoiesis in the spleen. *Niche*, vol.1, p. 12-16, 2012.
- SCHERLE, E. A simple method for volumetry of organs in quantitative stereology. *Mikroskopie*, vol. 26, p. 57-60, 1970.

WILKINS, B. S. Historical review: the spleen. *British Journal of Haematology*, vol. 117, p. 265-274, 2002.

ZANUTTO, M. S.; FROES, T. R.; TEIXEIRA, A. L.; HAGIWARA, M. K. Características clínicas da fase aguda da infecção experimental de felinos pelo vírus da imunodeficiência felina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 32, n. 3, p. 255-260, 2011.

## **CAPÍTULO IV**

### **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A leucemia viral felina é uma doença sistêmica que afeta múltiplos órgãos que quando provoca sintomatologia, é associada ao prognóstico ruim e normalmente termina em óbito do animal.

Apesar da doença provocar alterações patológicas graves, como a anemia severa observada e a imunodepressão, essas condições não provocaram diferenças quantitativas no timo e no baço do animais positivos. A não observação de alterações não implica necessariamente em falta de resposta ou interferência do vírus da FeLV nesses órgãos. É possível que o vírus tenha ocasionado a depleção de timócitos ou sua menor funcionalidade, gerando resposta hematopoiética esplênica ou tenha diminuído a atividade da polpa branca do baço; essas alterações porém, não puderam ser observadas por meio da análise histomorfométrica, ou seja, as respostas não foram capazes de alterar a arquitetura normal dos órgãos. A esplenomegalia encontrada nos animais positivos, pode indicar uma resposta esplênica frente as alterações sistêmicas provocadas pela doença. A ausência de corpúsculos tímicos no grupo positivo, corrobora com a hipótese dessas estruturas estarem ligadas a timopoiese.

Pela escassez de bibliografia em relação às análises quantitativas em timo e baço de felinos, observa-se que esse campo ainda precisa de estudos adicionais, principalmente em relação aos órgãos linfóides secundários.



**Universidade de Brasília**

Instituto de Ciências Biológicas  
Comitê de Ética no Uso Animal

Brasília, 30 de janeiro de 2012.



### DECLARAÇÃO

Declaramos que o projeto intitulado “ANÁLISE QUANTITATIVA E MORFOLÓGICA DO TIMO E BAÇO DE GATOS NATURALMENTE INFECTADOS COM O VÍRUS DE FEL V”, UnBDOC n.º 109508/2011, sob responsabilidade do Prof. Eduardo Maurício Mendes de Lima, foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética no Uso Animal (CEUA) do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília.



  
Prof. Aline Pic-Taylor  
Coordenadora da CEUA