

hepatócitos, com provável localização em canalículos biliares (Fig. 06-C). Visualmente, houve um aumento no número de infiltrados inflamatórios associados a nanopartículas magnéticas no tecido hepático (Fig. 06-D); entretanto, os focos não foram proeminentes e, em nenhuma lâmina analisada, houve alteração morfológica evidente no parênquima hepático.

O grupo experimental de trinta dias (GE30) de exposição ao FM-DMSA foi, visualmente, o que mais apresentou quantidade de nanopartículas presentes no tecido hepático (Fig. 07-A). As NPMs foram observadas nos capilares sinusóides e no interior de células de Kupffer (Fig. 07-B e C). A análise morfológica geral do tecido revelou, aparentemente, a presença de uma maior quantidade de focos de inflamação no parênquima hepático, embora estes fossem de tamanho moderado (Fig. 07-D). Apesar do aparente aumento dos focos de inflamação nos animais GE30, o tecido hepático não apresentou alterações morfológicas visíveis, os hepatócitos estavam com morfologia normal e o parênquima não apresentou formação de processos fibróticos.

Em sessenta e noventa dias de tratamento (GE60 e GE90), observou-se a presença de NPMs no tecido conjuntivo intersticial dos espaços-porta, sempre próximos aos ductos biliares (Fig. 08-B).

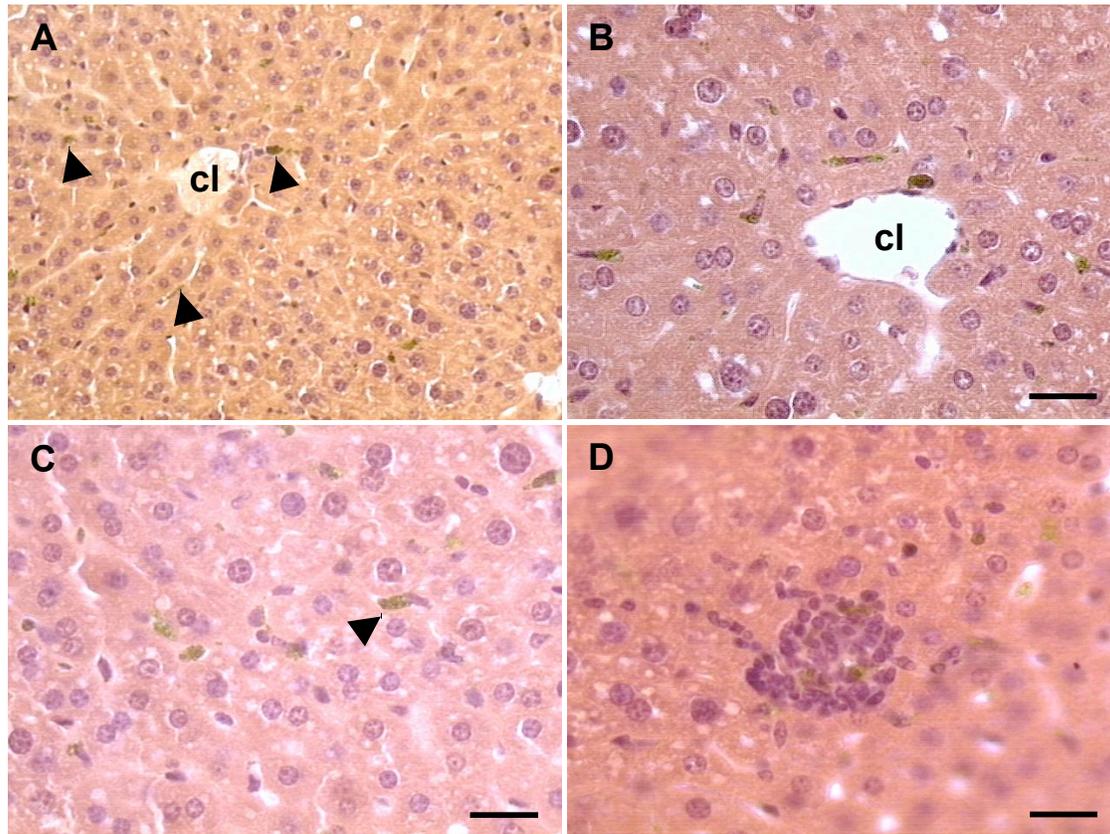


Figura 07. Fotomicrografia de fígado de camundongos após 30 dias de tratamento com FM-DMSA. Em **A**, visão geral do parênquima hepático mostrando uma grande presença de NPMs (setas). Em **B** e **C** observa-se a presença, em grande quantidade, de partículas em capilares sinusóides e em células de Kupffer (seta). Em **D**, presença de infiltrado inflamatório associado a fluido magnético. (**A**, **B**, **C** e **E** corados com HE, cl= veia centro-lobular). Barras: A, C e D= 20 μ m e B = 40 μ m.

A Figura 08-A mostra a presença das nanopartículas magnéticas no interior de um ducto biliar. Os animais GE60 e GE90 apresentaram, visualmente, presença de poucos infiltrados de inflamação no parênquima do tecido (Fig. 08-C).

O grupo de 120 dias de tratamento com FM-DMSA apresentou-se morfológicamente sem alterações em decorrência a exposição as

NPMs. O tecido ainda possuía NPMs presentes no tecido conjuntivo intersticial dos espaços-porta (Fig. 08-D) e ainda apresentou pequenos processos inflamatórios associados à presença do fluido.

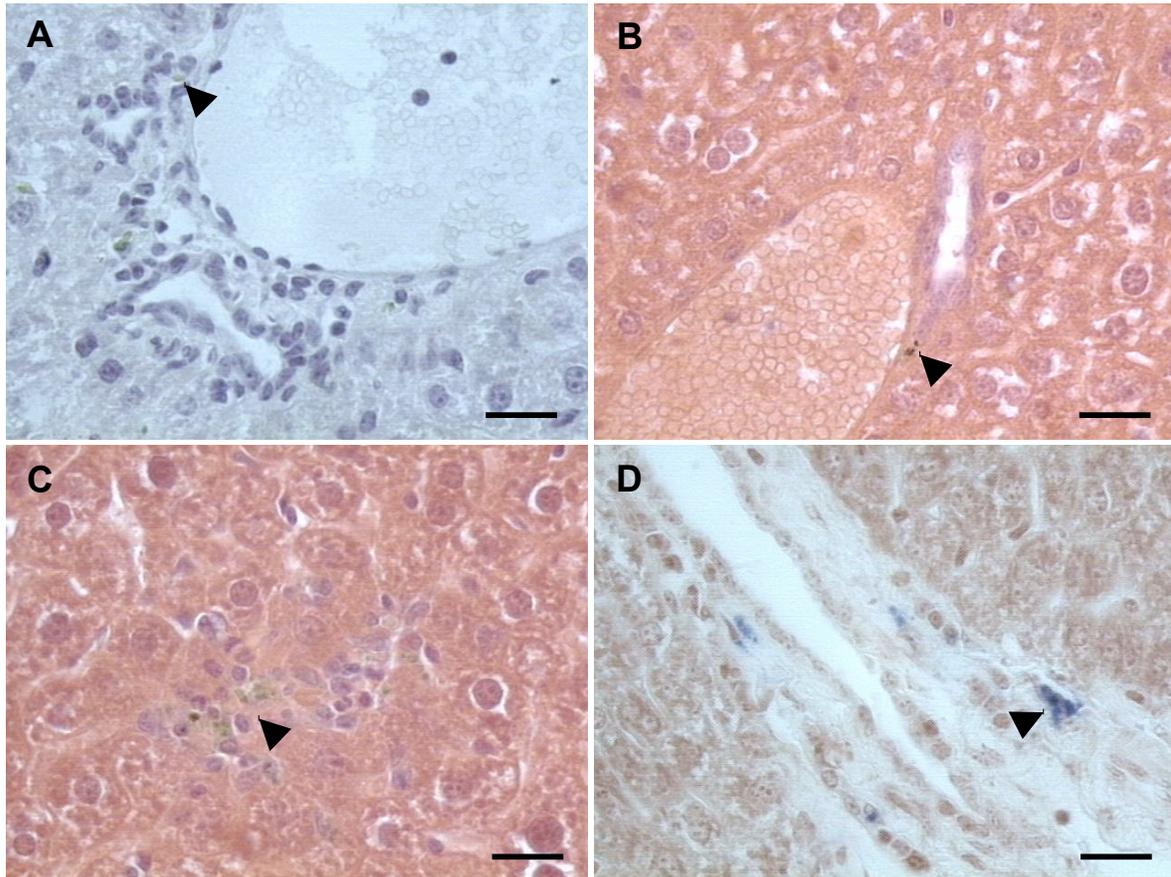


Figura 08: Fotomicrografia de fígado de camundongos após 60, 90 e 120 dias de tratamento com FM-DMSA. Em **A**, GE 60 com NPMs no interior de ductos biliares (seta). Em **B**, GE 90 com presença de NPMs no tecido conjuntivo intersticial do espaços-porta. Notar em **C** (GE90), presença de pequeno infiltrado inflamatório associado à presença de fluido magnético. Em **D**, GE120 com fluido magnético no conjuntivo intersticial do espaços-porta (detalhe na seta). (**A**, **B**, **C** coradas com HE, **D** corada com Perls). Barras: A, B, C e D= 20 μ m.

4.3) Estudo da biocompatibilidade da amostra de FM-DMSA analisada por meio de microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A análise de fígado de animais que receberam injeção de FM-DMSA por microscopia de luz mostrou que a partir do primeiro dia de tratamento, as partículas são sequestradas dos capilares sinusóides do tecido hepático e são fagocitadas pelas células de Kupffer. As análises também revelaram a presença de NPMs dentro de células endoteliais e hepatócitos, bem como no interior de canalículos biliares e ductos biliares.

As análises por meio da microscopia eletrônica de transmissão do fígado de animais tratados corroboram os resultados obtidos por meio da microscopia de luz. A Figura 09-A mostra uma eletronicografia de fígado de camundongo controle. As células apresentaram-se com aspecto normal, mostrando a presença de cordões hepáticos pouco definidos. Os hepatócitos foram visualizados como células grandes, com núcleo bem circular e citoplasma repleto de mitocôndrias. As células de Kupffer, aderidas à parede dos capilares sinusóides, caracterizaram-se como células pequenas, quando comparadas aos hepatócitos, com núcleo alongado e irregular além da presença de inúmeras vesículas de fagocitose em seu citoplasma

(dados não mostrados). A Figura 09-A mostra em detalhe um canalículo biliar, caracterizado como estritos canais intercelulares dispostos entre as membranas celulares de hepatócitos contíguos.

As Figuras 09-B e 09-C mostram a presença de grande quantidade de nanopartículas no interior de células de Kupffer, o que corrobora os resultados das análises em microscopia de luz. A presença de NPMs em canalículos biliares ou no interior de hepatócitos não foi detectada nas análises realizadas.

A imagem da Figura 09-D mostra a presença de grande quantidade de NPMs no citoplasma de uma célula endotelial, assim como foi possível observar a presença de nanopartículas no espaço de Disse, localizado no tecido conjuntivo entre o capilar sinusóide e a membrana de um hepatócito.

As análises de MET não revelaram quaisquer alterações ultraestruturais na morfologia do tecido hepático; as células estavam com sua característica estrutural preservada.

4.4) Estudo da biocompatibilidade da amostra de FM-DMSA por meio da quantificação de focos de inflamação no parênquima hepático.

Como descrito anteriormente, a análise visual dos focos de inflamação variou dentro dos grupos experimentais submetidos ao tratamento com FM-DMSA. Desta forma, a quantificação dos focos de

inflamação para cada tempo do grupo experimental fez-se necessária e está apresentada na Figura 10.

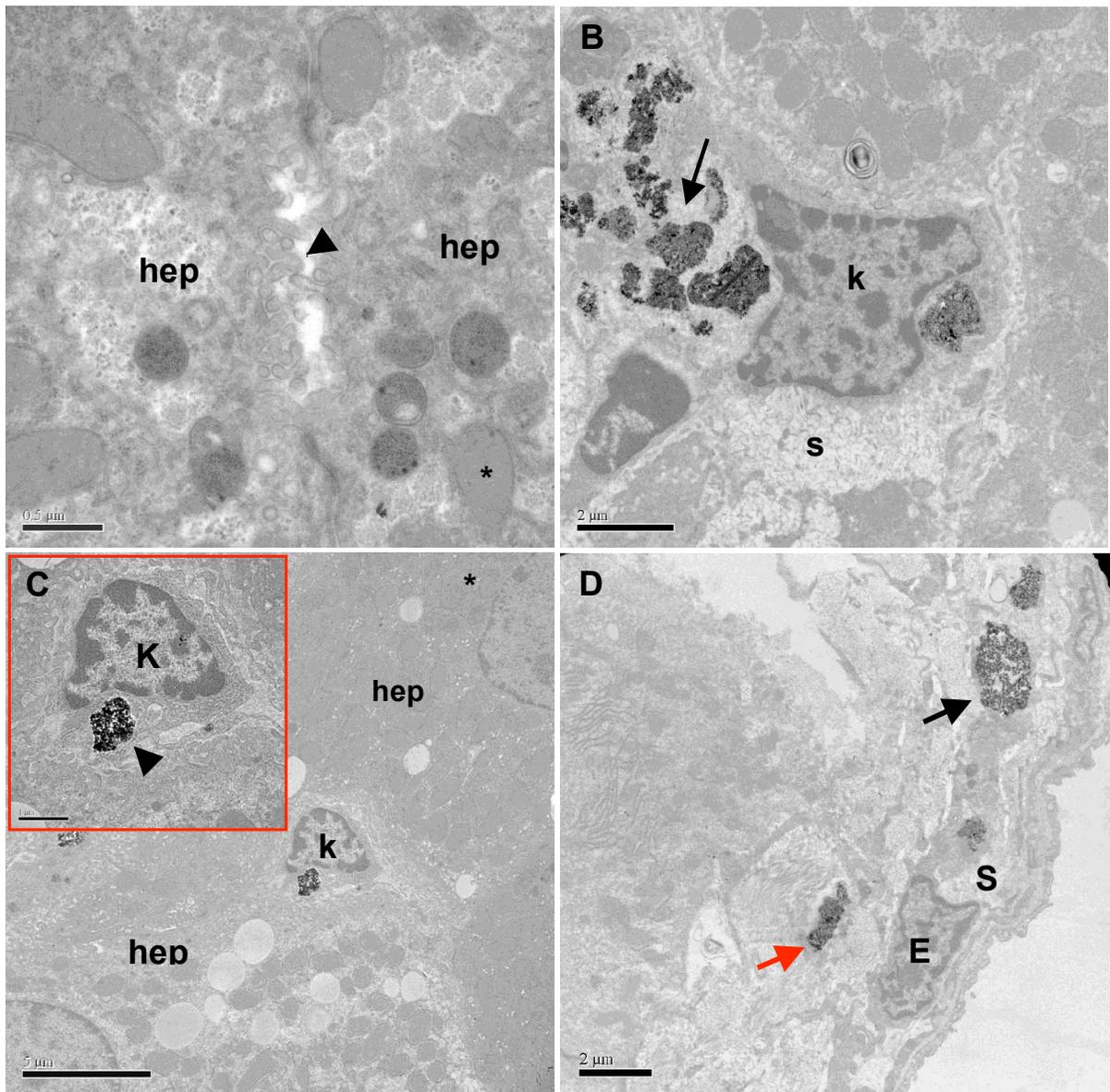


Figura 09. Eletronmicrografias de fígado de camundongos tratados com FM-DMSA. Em **A**, observar hepatócitos de animal controle com presença de grande quantidade de mitocôndrias no citoplasma (asterisco). Em destaque na seta, um canalículo biliar. Em **B**, detalhe de um capilar sinusóide com partículas em sua luz (seta) e no interior de uma célula de kupffer, repleta de NPMs em seu interior. Em **C**, mostra em detalhe uma célula de Kupffer com NPMs no interior de uma vesícula lisossomal (seta). Em **D**, observa-se uma célula endotelial com NPMs em seu interior (seta preta). Notar também a presença de partículas no espaço de Disse (seta vermelha), entre o endotélio do

sinusóide e a membrana celular de um hepatócito. [E = célula endotelial, hep = hepatócito, K = célula de Kupffer e S = sinusóide].

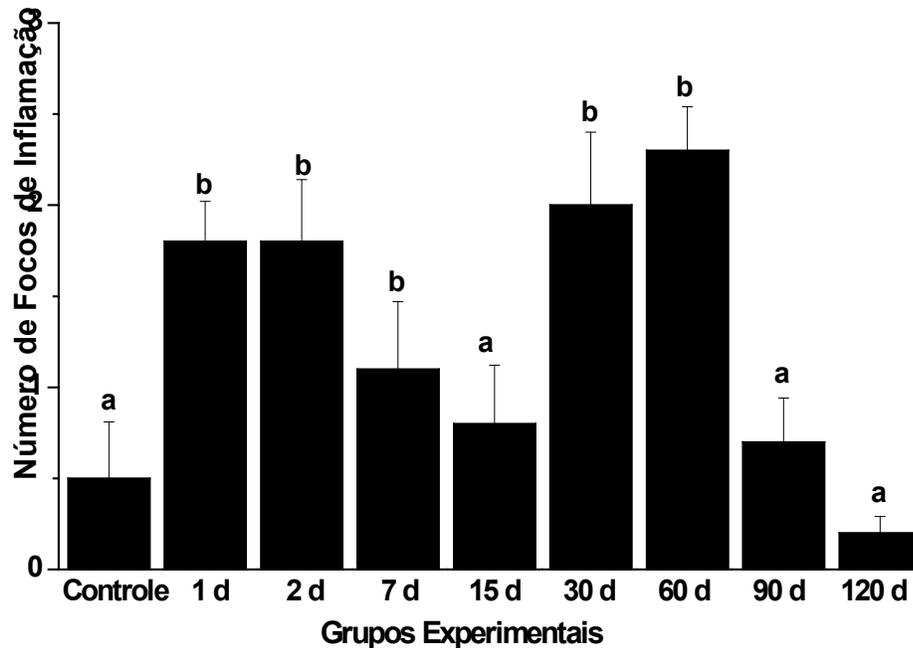


Figura 10. Quantidade média do número de focos de inflamação em fígado de camundongos controle e submetidos ao tratamento com FM-DMSA. (No eixo x, d= dias). a = estatisticamente igual ao Grupo Controle; b= estatisticamente diferente do grupo controle.

Com um, dois e sete dias de tratamento houve um aumento significativo do número médio de focos inflamatórios quando comparado ao grupo controle. No entanto, este número reduz aos 15 dias, tornando-se estatisticamente similar ao controle. Em contrapartida, após 30 e 60 dias de tratamento, ocorreu um novo aumento do número médio de focos de inflamação no tecido hepático, porém sem diferença significativa entre estes dois grupos. Nos animais dos grupos experimentais de 90 e 120 dias, o número médio de focos

volta a valores estatisticamente similares aos encontrados no grupo controle e 15 dias.