

ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

I. EVOLUÇÃO DO QUADRO PATOLÓGICO: ANÁLISE PARASITOLÓGICA, HEMATOLÓGICA E HISTOPATOLÓGICA

Ajax Mercês Atta *
Luiz Augusto Magalhães **
Francisco Gomes de Alcântara ***
Gilda Pareja ****

ATTA, A. M. et al. Esquistossomose mansônica. I — Evolução do quadro patológico: análise parasitológica, hematológica e histopatológica. *Rev. Saúde públ., S. Paulo*, 15:72-92, 1981.

RESUMO: Com o objetivo de acompanhar a evolução da infecção bissexual primária de camundongos por *S. mansoni*, foram infectados camundongos *Swiss* com 100 cercárias da linhagem mineira (BH) de *Schistosoma mansoni*. A evolução da infecção foi acompanhada por um período de 8 semanas. Foi verificada uma relação entre o número de granulomas hepáticos e o número de vermes totais. O ganho de peso corporal, o peso do baço e a percentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal foram diferentes quando comparados os animais infectados e controles. O quadro leucocitário dos camundongos infectados apresentou alterações no número de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos. Os exames histológicos do baço e do fígado revelaram alterações nestes órgãos de acordo com a fase da infecção.

UNITERMOS: Esquistossomose mansônica. Patologia.

1. INTRODUÇÃO

A patogenia da esquistossomose mansônica tem sido estudada experimentalmente utilizando-se como hospedeiro definitivo, principalmente, o camundongo.

Moore e col.²⁹ (1949) e Stirewalt e col.³⁵ (1951) estudaram a susceptibilidade de

vários mamíferos, utilizados em pesquisa laboratorial, ao *Schistosoma mansoni* e concluíram que os camundongos se constituíam nos hospedeiros definitivos mais satisfatórios, pois desenvolviam vermes adultos sexualmente maduros, além de eliminarem

* Do Departamento de Microbiologia e Imunologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas — Caixa Postal 1409 — 13100 — Campinas, SP — Brasil.

** Do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

*** Do Departamento de Histologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas.

**** Do Departamento de Estatística do Instituto de Matemática, Estatística e Ciências da Computação da Universidade Estadual de Campinas.

ovos viáveis do parasito nas fezes a partir da 6ª semana, após a infecção por cercárias do trematódeo. O quadro patológico resultante da infecção por *S. mansoni*, nestes pequenos mamíferos se assemelha bastante ao observado no homem portador de esquistossomose mansônica, evoluindo para hepatoesplenomegalia (Stirewalt e col.³⁸, 1951).

De Witt e Warren¹² (1959, estudaram a patogênese da síndrome hepatoesplênica em camundongos infectados experimentalmente por *S. mansoni* e levantaram a hipótese de que esta patogenia seria provocada pela penetração dos ramos portais intra-hepáticos pelos ovos do parasito com subsequente formação de granulomas.

Andrade e col.⁴ (1961), Magalhães Filho e Coutinho — Abath²⁵ (1961) e Andrade Barka³ (1962), propuseram que as reações do tecido linforreticular do baço aos antígenos de *S. mansoni* se somariam à congestão dos seios venosos esplênicos consequente à hipertensão porta.

Meleney e col.²⁸ (1952), pesquisaram histopatologicamente os fígados de camundongos infectados por *S. mansoni* e observaram que tanto em infecções unissexuais como na fase pré-postural da infecção bissexual pelo trematódeo existia a presença de infiltrados celulares e de áreas de necrose no parênquima hepático.

Goennert¹⁵ (1955) realizou observações em camundongos esquistossomóticos tendo concluído que as alterações histopatológicas nos fígados destes animais surgiam após a 6ª semana de infecção, como também verificou que em infecções intensas existiam nestes órgãos pigmentação e pequenas áreas de fibrose decorrentes da presença de parasitos mortos.

Posteriormente Brener⁹ (1956), confirmou os resultados obtidos por Meleney e col.²⁸ (1952), reportando o achado de infiltrados celulares periportais já aos vinte e um dias de infecção, sendo os mesmos constituídos por linfócitos, polimorfonucleares e eosinófilos.

Apesar da existência de vários trabalhos relacionados às alterações histopatológicas do fígado após a oviposição pelo *S. mansoni*, só a partir do estudo de Warren e col.⁴⁵ (1967) foi estabelecido o caráter imunológico das reações granulomatosas através de experimentos de imunização com ovos do parasito e de transferência de células linfoides.

As observações de que medidas que suprimem as reações de imunidade celular tais como timectomia neonatal e administração de soro antilinfocitário também suprimiam a formação de granulomas (Domingo e Warren^{13,14}, 1967, 1968) indicaram que as reações granulomatosas circunjacentes aos ovos de *S. mansoni* eram de hipersensibilidade retardada.

Posteriormente foi demonstrado que o antígeno solúvel do ovo de *S. mansoni* (SEA) induzia manifestações de hipersensibilidade celular quando injetado em patas de cobaios previamente sensibilizados pelo SEA ou adsorvido à superfície de partículas antigenicamente inertes (Boros e Warren⁷, 1970), além de induzir transformação linfoblástica e liberação da linfocina inibidora da migração de macrófagos (Colley¹¹, 1972; Boros e col.⁸, 1973).

O quadro leucocitário periférico tem sido amplamente estudado na esquistossomose mansônica humana, sendo freqüente a eosinofilia em pacientes esquistossomóticos. Executando-se os trabalhos realizados por Colley^{10,11} (1972, 1973) e Mahmoud e col.²⁷ (1975) sobre eosinofilia em camundongos infectados experimentalmente por *S. mansoni*, existe ausência de relatos sobre o comportamento dos leucócitos nestes animais durante a infecção pelo parasito, em que se procure a integração com a patologia resultante da aquisição da doença.

Os estudos sobre a patologia resultante da infecção primária pelo *S. mansoni* no hospedeiro definitivo têm na maioria das vezes se restringido à campos isolados de observações, com escassas investigações

sobre a fase pré-patente da infecção. Por outro lado, as diferenças de patogenicidade observadas em diferentes cepas de *S. mansoni* (Warren³⁹, 1967; Magalhães e col.²⁴, 1975) impõem que estes fatos sejam considerados nas manifestações patológicas da esquistossomose mansônica.

O presente trabalho tem por objetivo acompanhar a evolução da infecção bissexual primária de camundongos por *S. mansoni* da linhagem mineira (BH), no período de 8 semanas, realizando, de forma integrada, observações parasitológicas, hematológicas e histopatológicas.

MATERIAL E METODOS

Animal experimental. Cento e sessenta camundongos Swiss de 30 dias de idade foram utilizados no presente trabalho. Formaram-se 8 lotes de animais infectados constituídos de 5 machos e 5 fêmeas, lotes estes designados pela sigla *In*, correspondendo *n* à semana de infecção em que foi realizado o sacrifício.

Paralelamente foram utilizados como grupo controle, 8 lotes constituídos, cada um, de 10 animais não infectados (5 machos e 5 fêmeas). Estes grupos foram identificados pela sigla *Cn*.

Cercárias de Schistosoma mansoni. Na infecção experimental dos camundongos foram utilizadas cercárias da linhagem mineira (BH) de *S. mansoni* procedentes de *Biomphalaria glabrata*.

Infecção experimental. Na infecção experimental dos animais foi utilizada a técnica de imersão da cauda em suspensão cercariana de *S. mansoni*, usando-se 100 cercárias por animal. O número de cercárias que penetraram foi calculado através do método preconizado por Magalhães²³ (1969).

Obtenção e contagem de vermes. A carga parasitária dos animais infectados por *S. mansoni* foi determinada pela contagem dos vermes obtidos através da perfusão do

sistema porta de acordo com Yolles e col.⁴⁶ (1947) seguida pelo esmagamento do fígado entre lâminas de vidro, segundo técnica de Standen³⁷ (1953) e Hill¹⁸ (1956). Os vermes obtidos foram separados e contados de acordo com o sexo, sendo aplicada a denominação de esquistossomulos para os vermes obtidos nas semanas iniciais de infecção e nas quais não foi possível a identificação do sexo em virtude do pouco desenvolvimento do aparelho reprodutor.

Contagem de granulomas hepáticos. Com a finalidade de determinar o número de granulomas hepáticos dos animais infectados foi utilizada a técnica de Pellegrino e Brener³⁰ (1956).

Determinação do peso corporal, peso do baço e peso do fígado. O peso corporal dos animais infectados e controles na data da infecção e do sacrifício foi avaliado utilizando-se balança semi-analítica. As medidas correspondentes ao baço e ao fígado dos mesmos animais foram realizadas com o uso de balança analítica, após a desumidificação destes órgãos em papel de filtro. A pesagem do fígado foi realizada após a perfusão, sendo este procedimento também realizado com os fígados dos animais controles.

Leucograma. Foram realizados leucogramas nos animais controles e infectados, grupos sacrificados semanalmente. Foi utilizado o sangue obtido destes animais, previamente anestesiados, através do plexo retroorbital. Como anticoagulante foi utilizado EDTA-dipotássico na proporção de 1 mg para 1 ml de sangue, sendo os esfregaços sanguíneos realizados a fresco.

A contagem absoluta de leucócitos realizou-se a partir de uma diluição de 1:20 do sangue em líquido de Turk, efetuada com auxílio de pipeta automática, expressando o número de leucócitos por mm³ de sangue o produto da contagem de glóbulos brancos em oito quadrados de 0,1 mm² da câmara de Neubauer por 25 (1,25 × 20).

Os leucócitos contados diferencialmente em esfregaço sanguíneo corado pelo método

de May-Grünwald-Giemsa foram classificados em quatro grupos: eosinófilos, neutrófilos, linfócitos e monócitos. O número absoluto de cada um destes tipos celulares foi obtido a partir da relação entre a percentagem encontrada na classificação de 200 células do esfregaço examinado e o número de leucócitos por mm^3 de sangue da mesma amostra.

Exame histopatológico. O fígado e o baço dos animais controles e infectados foram examinados histologicamente. Para a realização dos exames foram utilizados cortes de 5 micra destes órgãos incluídos em parafina, após a fixação em formol-cálcio, que no caso do baço alcançaram todo o órgão na sua extensão longitudinal. Os cortes do fígado foram efetuados após a perfusão e em fragmento retirado do órgão após pesagem. As preparações utilizadas foram coradas pela hematoxilina-eosina e tricrômico de Masson para fibras colágenas.

Análise estatística. A análise estatística consistiu de: ajuste por mínimos quadrados; análise de resíduos após o ajuste para julgar a adequação no modelo e teste *t* de Student.

RESULTADOS

Avaliação da carga parasitária. O número de cercárias penetradas assim como as médias dos números de vermes recuperados por perfusão nas diversas semanas de infecção são apresentados na Tabela.

Observando-se a referida Tabela verifica-se que as médias numéricas das cercárias penetradas não diferiram significativamente quando comparados os lotes dos animais sacrificados nas diferentes semanas. A carga parasitária, representada pelo número de vermes totais recuperados por perfusão, apresentou-se variável, tendo sido observado que só a partir da 4ª semana de infecção foi possível a comprovação do sexo destes vermes, apesar da presença concomitante em alguns casos, de esquistossomos e esquistossomulos, revelando um assincronismo na maturação do *S. mansoni*.

Determinação da relação granulomas/vermes totais (NG/NV). Granulomas hepáticos foram detectados inicialmente na 6ª semana de infecção. O número de granulomas na 8ª semana de infecção foi significativamente maior do que nas 6ª e 7ª

T A B E L A

Média numérica de cercárias penetradas, esquistossomulos e esquistossomos por lote de animais.

Semanas Pós-infecção	Média numérica de cercárias penetradas	Média numérica de esquistossomulos	Média numérica de esquistossomos fêmeos	Média numérica de esquistossomos machos	Média numérica de <i>S. mansoni</i> por animal
1ª	92,60	—	—	—	—
2ª	87,40	—	—	—	—
3ª	91,20	1,20	—	—	1,20
4ª	90,60	0,60	4,00	5,60	10,20
5ª	96,40	—	6,88	12,75	19,63
6ª	92,40	—	19,00	19,60	38,60
7ª	89,50	—	12,20	16,00	28,20
8ª	90,50	—	9,22	16,67	25,89

semanas; entretanto, não houve diferença significativa comparando-se estas duas últimas entre si.

A Fig. 1 expressa as análises estatísticas realizadas sobre a relação NG/NV em função das semanas de infecção. As representações gráficas referentes aos ajustes realizados com o número de granulomas produzidos nas 6ª, 7ª e 8ª semanas de infecção revelam que existe tendência de que um maior número de vermes produza um aumento maior do número de granulomas à medida que avançam as semanas. O número de granulomas hepáticos produzido por um mesmo número de vermes nas 6ª, 7ª e 8ª semanas foi aproximadamente o mesmo, tendo esta verificação explicado o maior número de granulomas apresentado pela 8ª semana como o resultado de um processo de acumulação destas lesões.

Determinação do ganho de peso corporal. Os dois grupos de animais aumentaram em

peso corporal nas semanas que se seguiram à infecção existindo porém diferença no comportamento evolutivo apresentado pelos camundongos infectados quando comparado ao observado nos animais controles (Figura 2).

Aparentemente a diminuição do peso corporal dos animais portadores da infecção pelo *S. mansoni* ocorre após a oviposição do parasito, coincidindo com a observação de granulomas hepáticos. Este resultado sugere que o comprometimento do fígado nesta fase da infecção afetaria as funções relacionadas com o processamento e distribuição de nutrientes realizadas neste órgão, originando uma alteração no metabolismo dos camundongos infectados.

Peso do baço em função do tempo de infecção. A evolução do peso do baço (PB) nos camundongos infectados por *S. mansoni* foi significativamente diferente quando comparada com a dos animais controles.

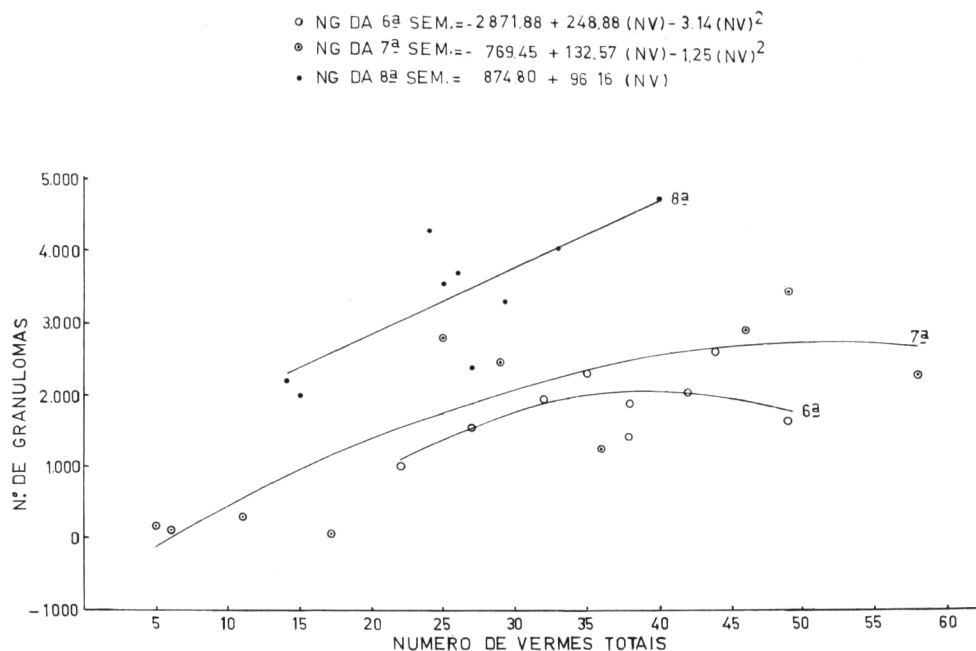


Fig. 1 — Relação entre o número de granulomas hepáticos (NG) e o número de vermes totais (NV) nas 6ª, 7ª e 8ª semanas de infecção.

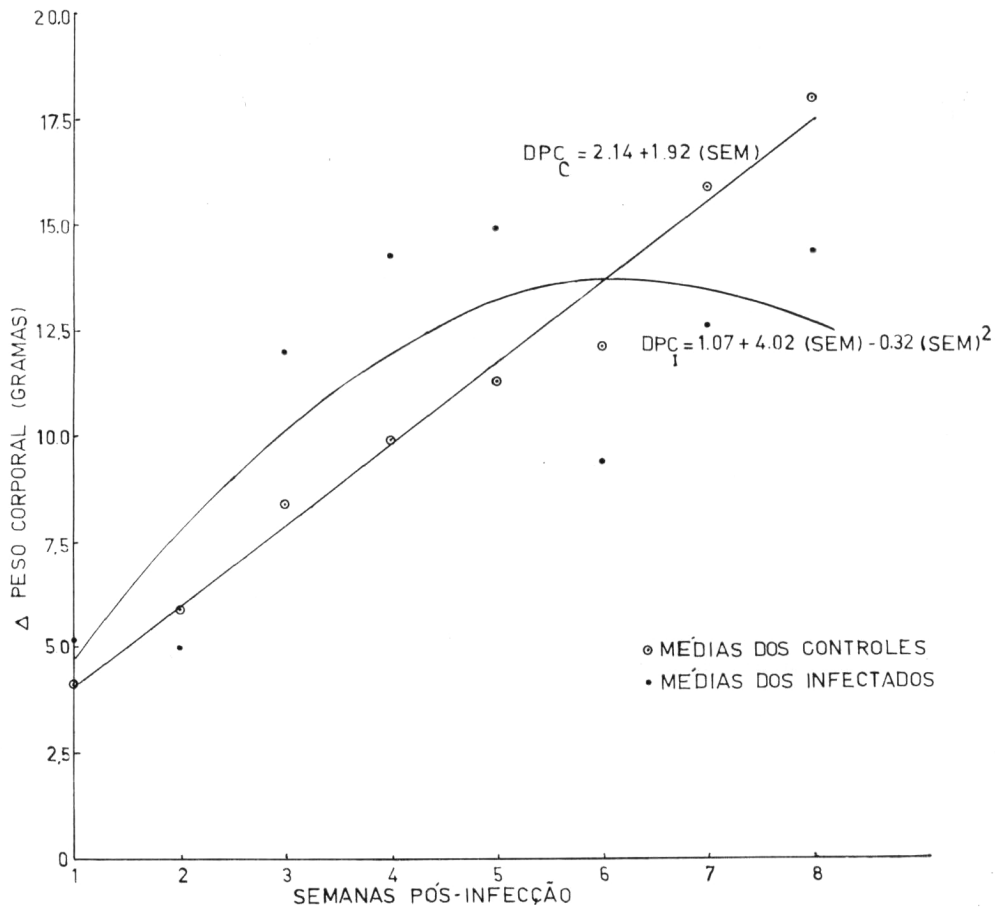


Fig. 2 — Análise do aumento de peso corporal (DPC) nos camundongos infectados (DPC_I) e controles (DPC_C) nas semanas pós-infecção.

Foi verificado que o peso deste órgão nos animais portadores da infecção apresentava tendência a aumentar com a evolução da doença (Fig. 3). Apesar dos animais utilizados no presente trabalho encontrarem-se em pleno desenvolvimento durante o experimento, conforme demonstrado nas análises de ganho de peso corporal, a evolução do peso do baço nos camundongos controles se fez representar graficamente por uma reta neste período, não significativamente diferente da horizontal.

Porcentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal (RF). A porcentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal (RF) nas semanas pós-infecção, foi analisada mediante o ajuste de um modelo estatístico consistindo de duas retas quebradas para os animais controles e infectados respectivamente, cujos resultados são apresentados na Fig. 4. Concluiu-se após estas análises que os camundongos infectados por *S. mansoni* apresentavam uma evolução significativamente diferente desta relação após a 5ª semana de infecção

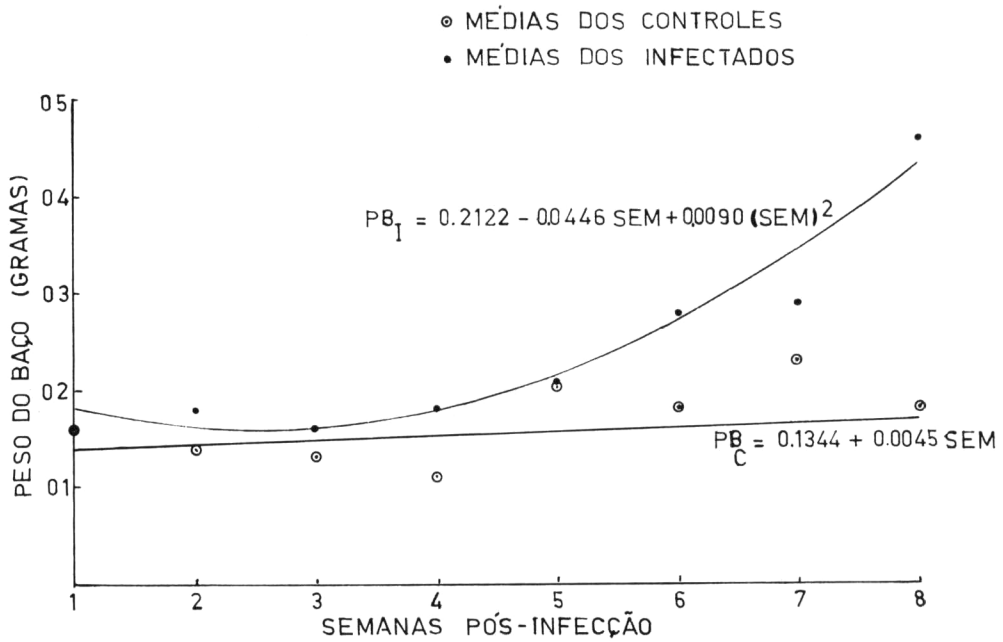


Fig. 3 — Análise do peso do baço (PB) dos camundongos infectados (PB_I) e controles (PB_C) nas semanas pós-infecção.

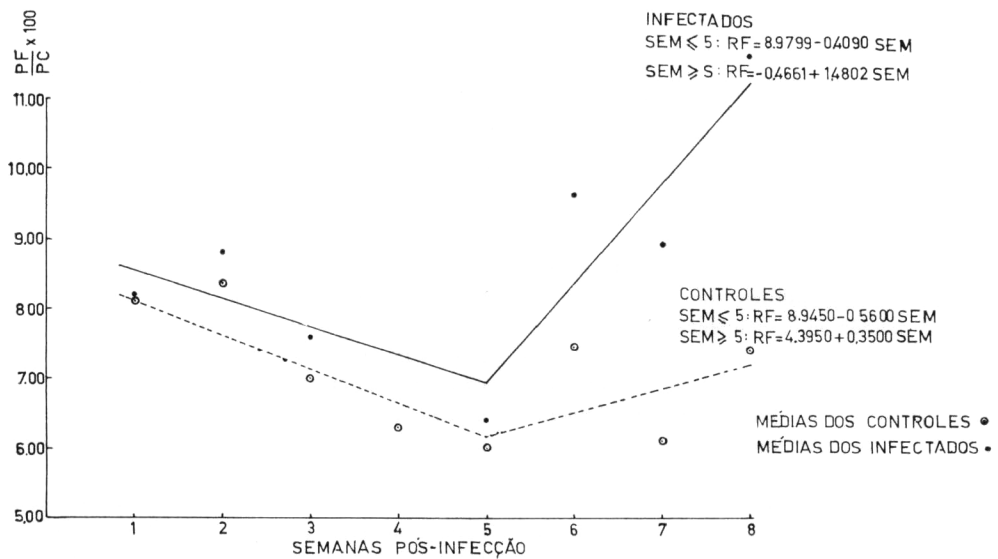


Fig. 4 — Análise do peso do fígado em relação ao peso corporal (RF) nos camundongos infectados e controles nas semanas pós-infecção.

quando comparados aos animais controles. Paralelamente à estas observações, foi verificado que o fígado destes animais infectados apresentavam reações granulomatosas circunjacentes aos ovos do trematódeo alojados nos seus tecidos, contribuindo desta forma para o aumento deste órgão.

Leucograma. O quadro leucocitário periférico dos camundongos infectados apresentou alterações no comportamento dos leucócitos totais (LEU), neutrófilos (N) e linfócitos (L), enquanto que os eosinófilos (E) e monócitos (M) se apresentaram de forma semelhante durante o período de oito semanas de infecção.

Graficamente o comportamento evolutivo dos leucócitos totais e dos neutrófilos dos animais infectados ajustou-se satisfatoriamente à uma parábola, com tendência a aumentarem nas últimas semanas de infecção (Figs. 5 e 6). A não representação gráfica destas duas variáveis dos camundongos controles deveu-se à excessiva va-

riação das suas médias, sem apresentarem tendência definida.

Os eosinófilos e monócitos apresentaram o mesmo comportamento evolutivo nos dois grupos de animais, tendo sido mantidas separadas as representações gráficas apenas com a finalidade de se demonstrar as tendências (Figs. 7 e 8).

Apesar de não ter sido possível ajustar estatisticamente o comportamento evolutivo dos linfócitos de ambos os grupos de camundongos, foi verificado que estas células tendem a aumentar com a evolução da infecção (Fig. 9).

Histopatologia do baço. Ao exame histológico o baço dos camundongos infectados por *S. mansoni* na fase pré-postural mostrou, na 1ª semana de infecção, hiperplasia da polpa branca de intensidade variável. Observaram-se, também, casos esporádicos de congestão leve a moderada da polpa vermelha.

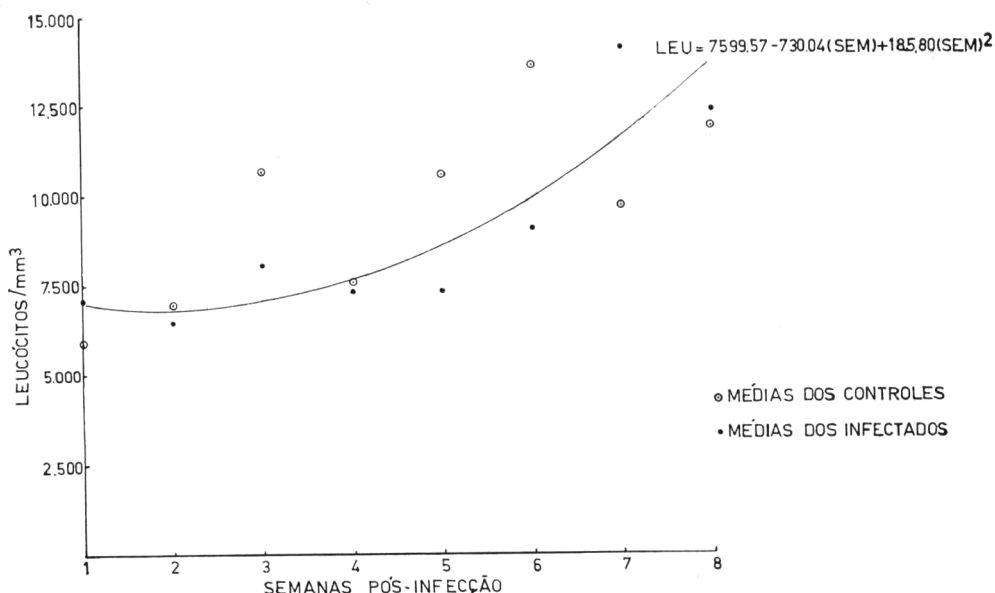


Fig. 5 — Análise do número absoluto de leucócitos por mm³ de sangue (LEU) nos camundongos infectados (LEU_I) e controles nas semanas pós-infecção.

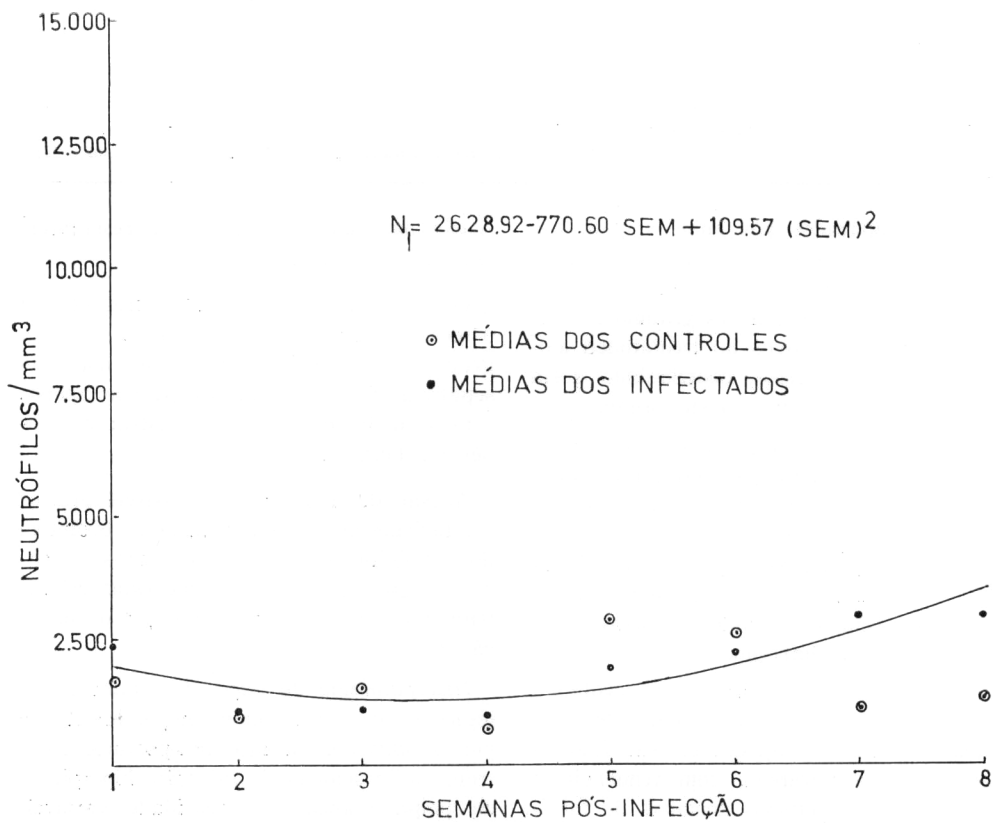


Fig. 6 — Análise do número absoluto de neutrófilos por mm^3 de sangue (N) nos camundongos infectados (N_I) e controles nas semanas pós-infecção.

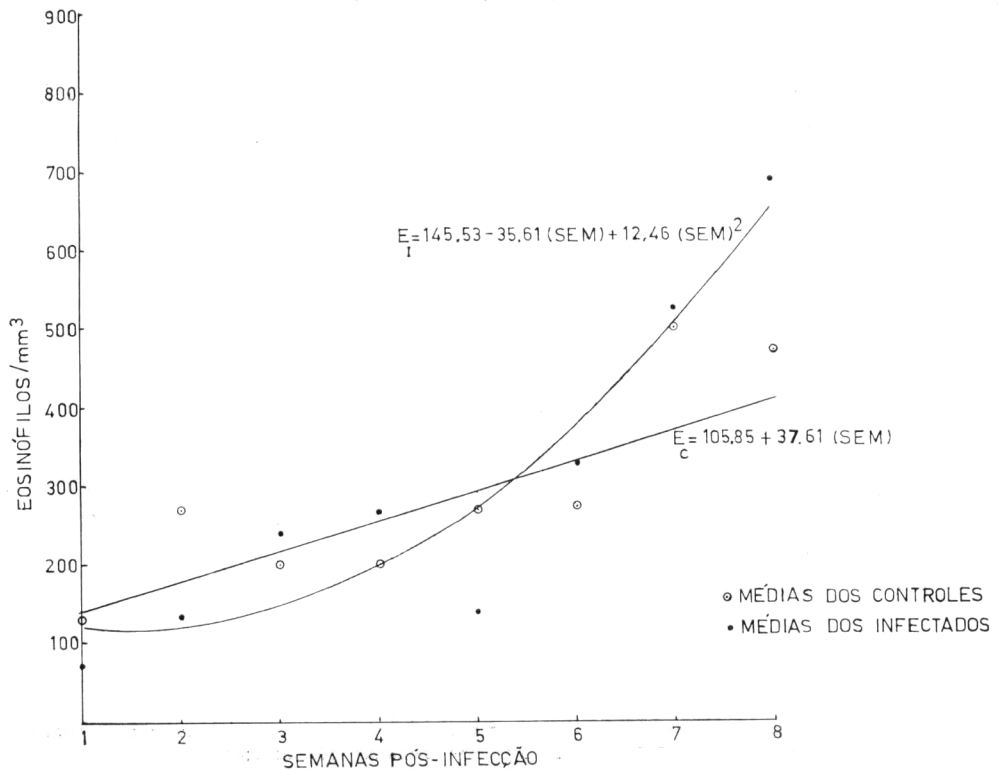


Fig. 7 — Análise do número absoluto de eosinófilos por mm^3 de sangue (E) nos camundongos infectados (E_I) e controles (E_C) nas semanas pós-infecção.

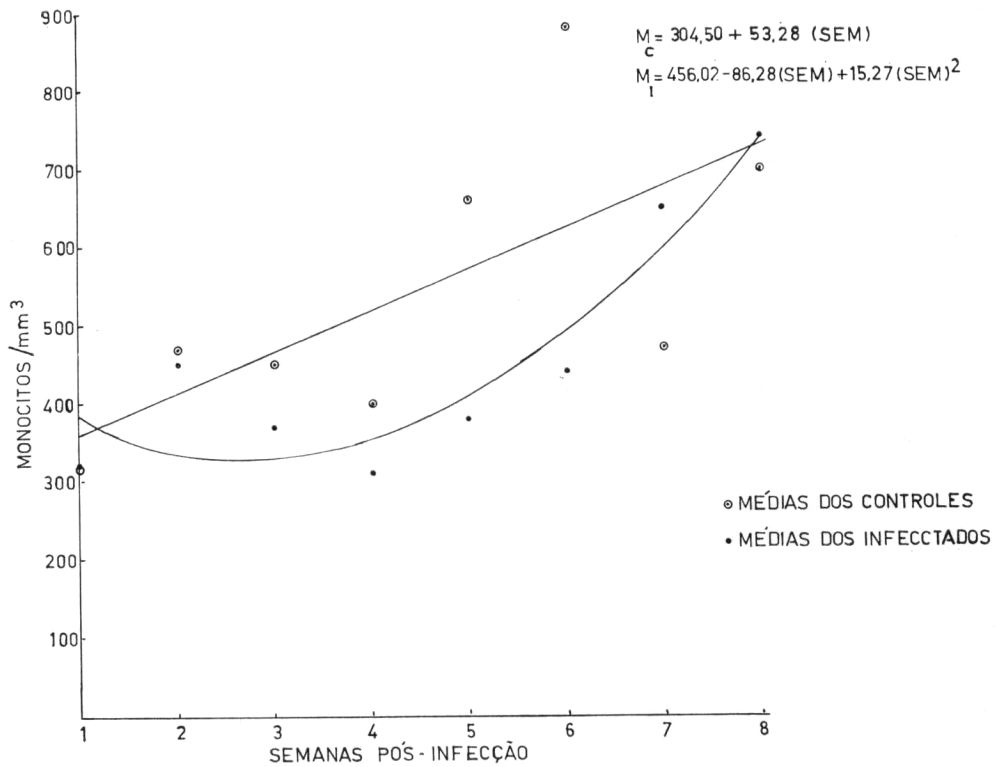


Fig. 8 — Análise do número absoluto de monócitos por mm³ de sangue (M) nos camundongos infectados (M_I) e controles (M_C) nas semanas pós-infecção.

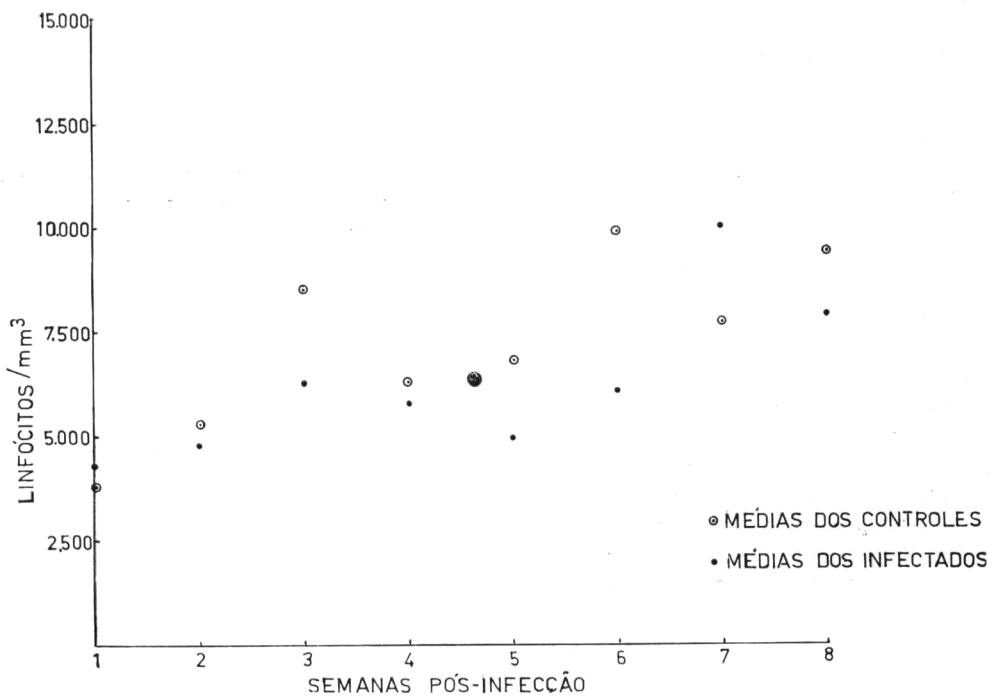


Fig. 9 — Número absoluto de linfócitos por mm³ de sangue nos camundongos infectados e controles nas semanas pós-infecção.

No período compreendido entre as 2ª e 5ª semanas as alterações histológicas foram pouco significativas, ocorrendo, porém, esporadicamente, casos de hiperplasia da polpa branca e hiperemia da polpa vermelha, que variaram de intensidade.

A partir da 6ª semana, época em que a oviposição se mostra plenamente estabelecida, até a 8ª semana de infecção, as alterações histológicas consistiram de hiperplasia intensa da polpa branca, congestão moderada a intensa da polpa vermelha, sendo rara a presença de hipertrofia da polpa branca.

Na 8ª semana da infecção foram observados granulomas em diferentes fases, apresentando gigantocelulares, necrose isquêmica e fibrose periférica. Os infiltrados celulares presentes nestas reações granulomatosas foram predominantemente eosinofílicos em algumas áreas enquanto que em outras predominou o tipo linfocitoplasmocitário.

As Figs. 10a-10f mostram as alterações espêncicas encontradas à microscopia, nas diferentes fases evolutivas da infecção.

Histopatologia do fígado. A análise histológica do fígado dos camundongos infectados na fase pré-postural da infecção por *S. mansoni* revelou hiperemia e ectasia dos ramos portais, veias centrolobulares e capilares sinusoides, em graus variáveis, apresentando, com maior frequência, hiperemia na 1ª semana de infecção enquanto a ectasia foi mais freqüente nas 3ª e 4ª semanas.

A hiperplasia do SRE foi observada desde a 1ª semana de infecção, sendo porém mais freqüente nas 3ª e 4ª semanas, quando predominaram as formas moderada e intensa. Visualizaram-se infiltrados multifocais, não raro alguns de localização perivascular, apresentando freqüência e composição celular variáveis predominando o tipo linfocitoplasmocitário em cerca de 50% dos órgãos examinados nas 3ª e 4ª semanas.

Paralelamente a estes achados foram observadas alterações morfológicas dos hepatócitos, principalmente na 1ª semana de infecção, exteriorizadas por picnose nu-

clear, vacuolização citoplasmática e necrose hepatocitária, em alguns casos focal e em outros difusa, apresentando maior freqüência na 1ª semana de infecção.

Na 5ª semana verificou-se a presença de infiltrados linfocitoplasmocitários em cerca da metade dos fígados examinados, hiperplasia intensa do SRE e casos esporádicos de necrose hepatocitária. Em apenas um fígado examinado foi observada a presença de ovo de *S. mansoni* com infiltrado linfocitoplasmocitário adjacente.

A partir da 6ª semana da infecção ocorreu hiperplasia intensa do SRE, presença de numerosos granulomas e, menos freqüentemente, ectasia moderada ou intensa dos vasos portais, veias centrolobulares e capilares sinusoides.

As reações granulomatosas consistiram de infiltrados linfocitoplasmocitários, linfocitoplasmocitários ou linfocitocitários, observando-se o comparecimento simultâneo destes três tipos nos órgãos examinados, predominando às vezes um deles. Além das células descritas nos infiltrados, foram vistas células epitelióides, células gigantes tipo corpo estranho, com maior freqüência na 8ª semana de infecção, ocorrendo hiperplasia moderada a intensa de fibroblastos na quase totalidade dos casos.

A maioria dos cortes dos fígados apresentou áreas de necrose focal de intensidade variável enquanto que a quase totalidade apresentou fibrose, predominando os graus moderado e intenso.

As figuras 11a-11p mostram as alterações hepáticas detectadas à microscopia nas diferentes fases evolutivas da infecção.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A instalação da infecção parasitária está na dependência de fatores intrínsecos do hospedeiro, representados em parte pela resistência natural assim como de fatores inerentes ao próprio parasito, constituídos, entre outros, por mecanismos protetores específicos às reações do hospedeiro desenvolvidos por este parasito.

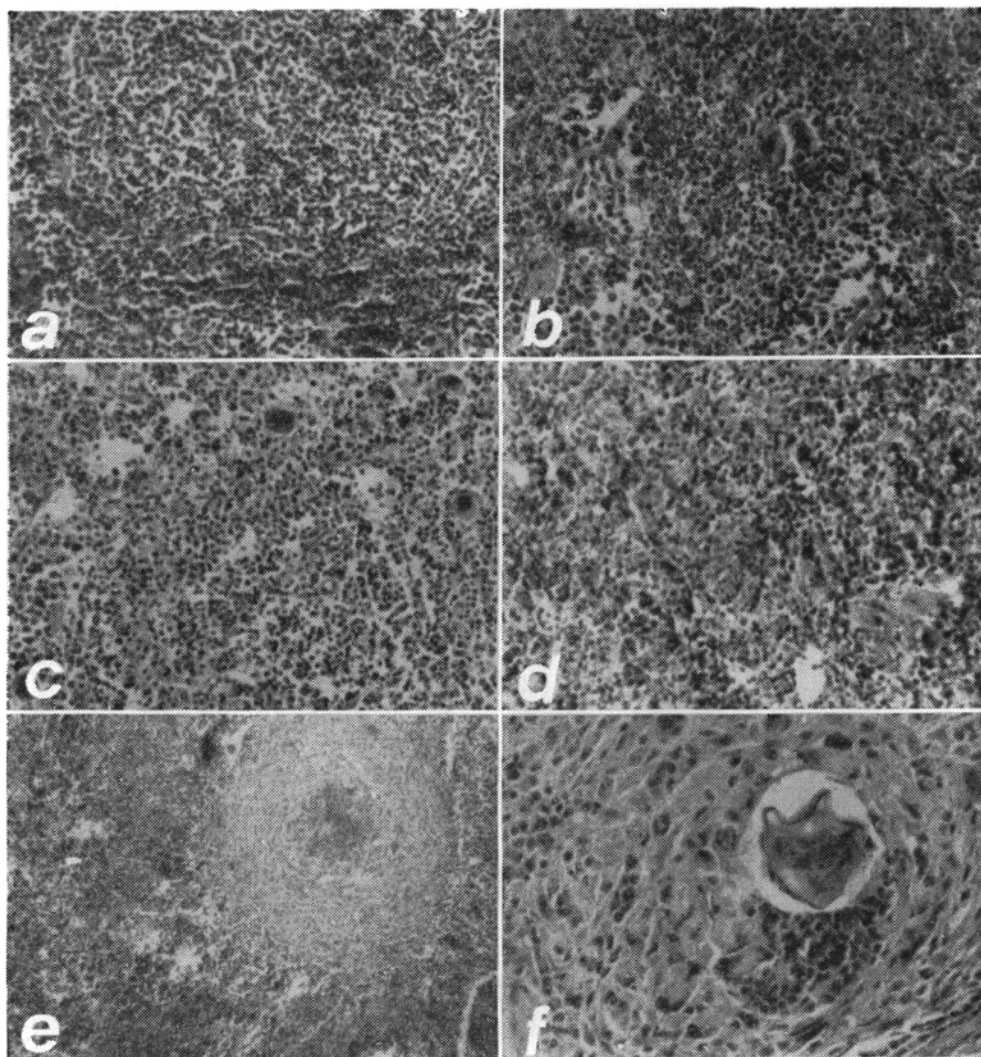


Fig. 10 — Alterações histológicas em baços de camundongos infectados por *S. mansoni*.
a — 1ª semana pós-infecção: hiperplasia e hipertrofia da polpa branca (H.E., 512 ×).
b — 2ª semana pós-infecção: estase sangüínea dos seios esplênicos: pigmento de hemosiderina e megacariócitos (H.E., 512 ×).
c — 3ª semana pós-infecção: folículo de Malpighi atrófico e aparente hiperplasia de megacariócitos (H.E., 512 ×).
d — 6ª semana pós-infecção: congestão intensa da polpa vermelha (H.E., 512 ×).
e — 8ª semana pós-infecção: granuloma com fibrose que se acentua do centro para a periferia, com relativa hipocelularidade e necrose de localização central (Tricrômico de Masson, 208 ×).
f — 8ª semana pós-infecção: granuloma com ovo de *S. mansoni* embrionado, notando-se numa das áreas adjacentes infiltrado focal predominantemente eosinofílico; gigantocelulares tipo corpo estranho e células epitelióides (H.E., 1540 ×).

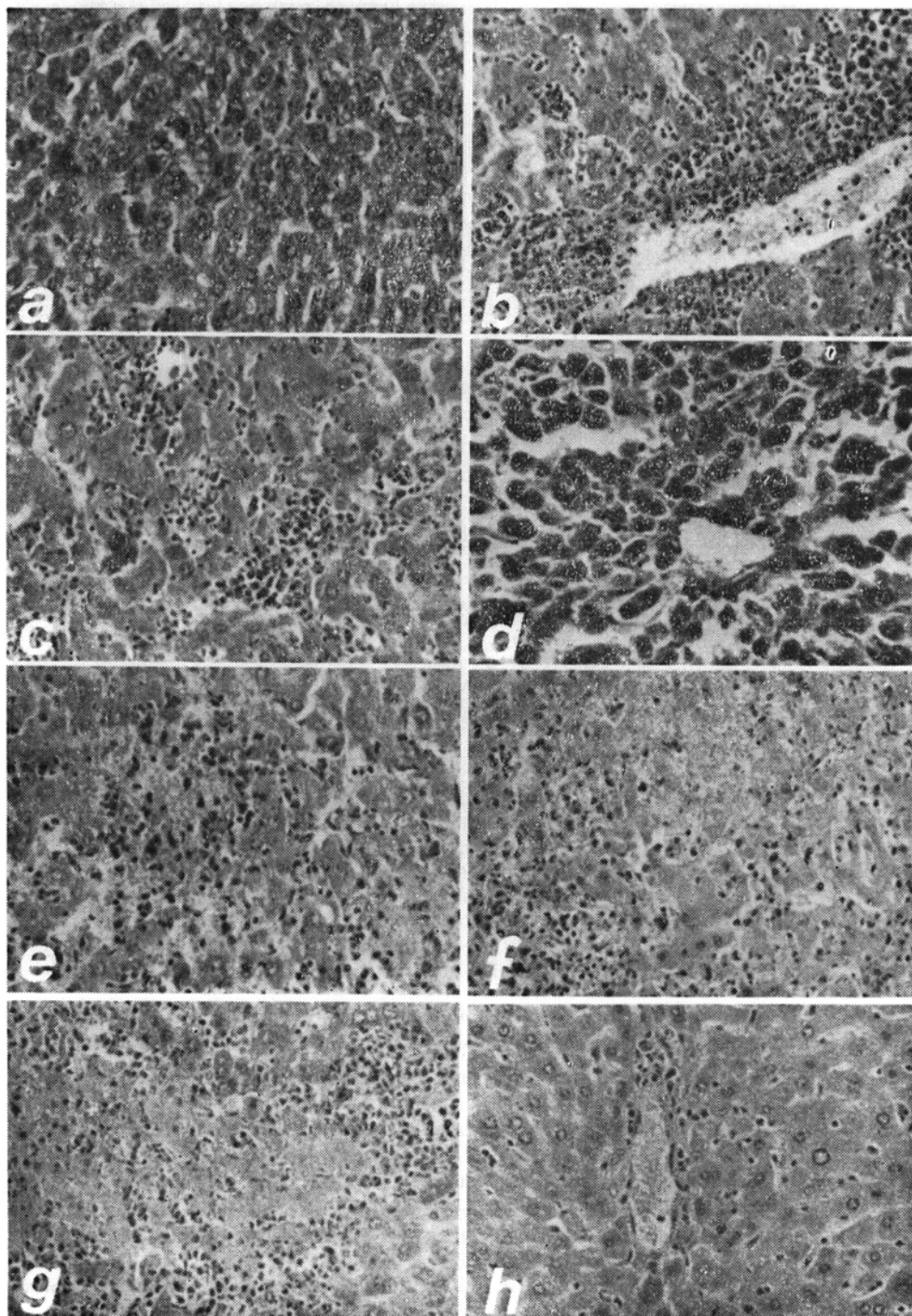


Fig. 11 — Alterações histológicas em fígados de camundongos infectados por *S. mansoni*: (Legenda completa, pág. 86).

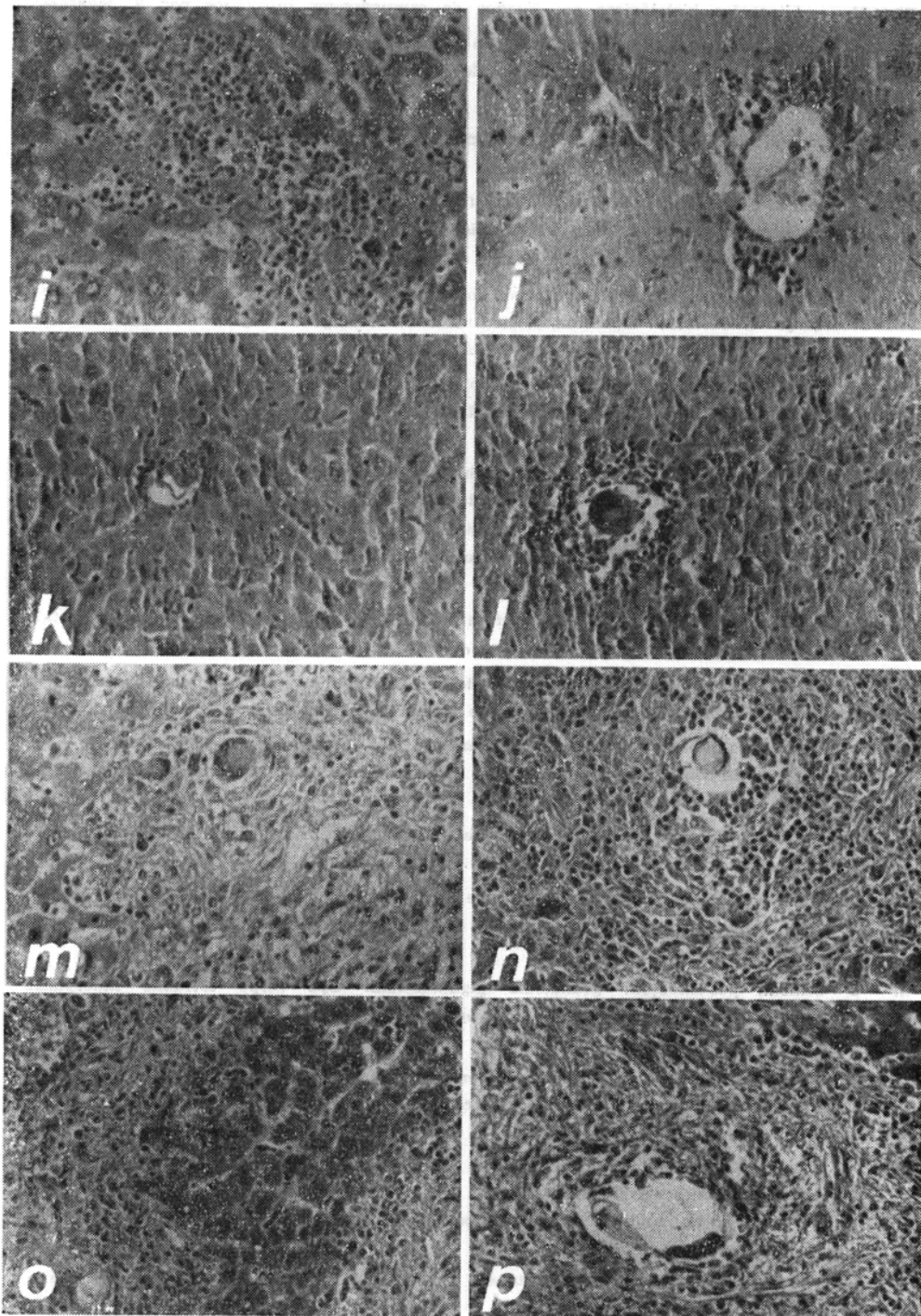


Fig. 11 — Alterações histológicas em fígados de camundongos infectados por *S. mansoni*.
(Legenda completa, pág. 86).

Fig. 11 — Alterações histológicas em fígados de camundongos infectados por *S. mansoni*:

- a — 1ª semana pós-infecção: hiperplasia do SRE; mitoses hepatocitárias; vacuolização citoplasmática intensa dos hepatócitos e leve desarranjo trabecular (H.E., 512 ×).
- b — 1ª semana pós-infecção: infiltrado periportal predominantemente linfohistiocitário; hiperplasia moderada do SRE; picnose nuclear em alguns hepatócitos; ectasia e congestão de alguns capilares sinusóides e ramos portas (H.E., 512 ×).
- c — 1ª semana pós-infecção: infiltrados multifocais variando de intensidade de área para área, predominantemente linfohistioneutrofilico; ectasia dos capilares sinusóides; hiperchromatismo do núcleo de alguns hepatócitos e hiperplasia do SRE (H.E., 512 ×).
- d — 1ª semana pós-infecção: ectasia intensa dos capilares sinusóides e veias centrolobulares; desarranjo trabecular; hiperchromatismo nuclear de alguns hepatócitos com redução citoplasmática e alterações regressivas (H.E., 512 ×).
- e — 2ª semana pós-infecção: hiperemia dos capilares sinusóides; hiperplasia do SRE; necrose hemorrágica; infiltrado focal linfohistiocitário; foco de necrose incipiente no ângulo inferior direito (H.E., 512 ×).
- f — 2ª semana pós-infecção: área de necrose hialina; alterações regressivas dos hepatócitos; hiperplasia intensa do SRE e hiperemia discreta de capilares sinusóides (H.E., 512 ×).
- g — 3ª semana pós-infecção: área extensa de necrose hialina, notando-se nas adjacências infiltrados predominantemente linfohistioeosinofílicos; hepatócitos com multivacuolização citoplasmática em algumas regiões (H.E., 512 ×).
- h — 4ª semana pós-infecção: hiperplasia discreta do SRE; hiperemia e ectasia dos vasos portais e capilares sinusóides; alguns hepatócitos com discretas alterações regressivas (H.E., 512 ×).
- i — 4ª semana pós-infecção: focos incipientes de necrose hialina; ectasia intensa dos capilares sinusóides e infiltrado predominantemente linfohistiocitário (H.E., 512 ×).
- j — 5ª semana pós-infecção: necrose hialina maciça dos hepatócitos; ausência de capilares sinusóides; veia centrolobular ectásica com infiltrado linfocitário e necrose mais recente de localização perivascular (H.E., 512 ×).
- k — 5ª semana pós-infecção: presença de ovo de *S. mansoni* embrionado com discreto infiltrado linfohistiocitário adjacente (H.E., 512 ×).
- l — 6ª semana pós-infecção: presença de ovo de *S. mansoni* com moderada reação linfohistioeosinofílica; hiperplasia moderada do SRE e áreas de necrose incipiente comprometendo hepatócitos (H.E., 512 ×).
- m — 6ª semana pós-infecção: granuloma giganteocelular tipo corpo estranho hiperplasia fibroblástica; presença de algumas células epitelióides e pequenas áreas de fibrose incipiente (Tricrômico de Masson, 512 ×).
- n — 6ª semana pós-infecção: granuloma com fibrose periférica moderada; reação giganteocelular; presença de células epitelióides e infiltrado linfohistiocitário nas adjacências do ovo (Tricrômico de Masson, 512 ×).
- o — 7ª semana pós-infecção: hepatócitos com citoplasma multivacuolado; ectasia leve dos capilares sinusóides; fibrose reacional de intensidade variável; pequena área de necrose recente no ângulo superior esquerdo e alterações regressivas dos hepatócitos (Tricrômico de Masson, 512 ×).
- p — 8ª semana pós-infecção: fibrose intensa, variando de intensidade de área para área, presença de reação granulomatosa difusa com esboço central de granuloma e leve infiltrado linfohistiocitário (Tricrômico de Masson, 512 ×).

Segundo Hegner (citado por Pessoa e Martins³²), as infecções parasitárias podem ser subdivididas na sua evolução em períodos parasitológicos e clínicos, que correspondem ao parasito e ao hospedeiro respectivamente.

Nas helmintoses são observados dois períodos parasitológicos distintos: o período pré-patente, que se inicia com a penetração do parasito no hospedeiro e termina com a demonstração de ovos ou outros estágios do ciclo biológico do helminto, e o período patente, no qual a presença do parasito é facilmente evidenciada.

Paralelamente à estes períodos parasitológicos, o hospedeiro apresenta alterações fisiológicas de tipo e intensidade variadas, que estão associadas à migração e aos estágios evolutivos do parasito no seu interior.

No presente trabalho procurou-se obter informações sobre a evolução da infecção bissexual primária de camundongos pela linhagem mineira (BH) de *S. mansoni*, realizando observações semanais em diferentes níveis durante o período de oito semanas de infecção.

Utilizando-se camundongos adultos jovens e cercárias recém-emergidas foi possível verificar altos índices de cercárias penetradas e uma positividade absoluta de infecção, coincidindo estas observações com as anteriormente realizadas por Warren³⁰ (1967) e Lemos Neto²² (1975).

A variabilidade observada na carga parasitária pode provavelmente estar relacionada a diferenças na constituição genética dos hospedeiros, animais "outbred", como também pode representar populações de *S. mansoni* com diferentes capacidades defensivas às reações do hospedeiro.

Os índices de esquistossomos recuperados não diferiram dos obtidos por outros autores (Moore e col.²⁹, 1949; Stirewalt e

col.³⁸, 1951; Warren e Peters⁴⁴, 1967). A predominância de esquistossomos machos verificada pode provavelmente refletir uma maior concentração de cercárias deste sexo no "pool" infectante utilizado.

A ocorrência de esquistossomulos e vermes sexualmente diferenciados na 4ª semana de infecção refletiu um assincronismo na maturação do *S. mansoni*, evidenciando uma modificação na fisiologia de alguns parasitos durante o seu desenvolvimento. Observações semelhantes foram realizadas por Brener⁹ (1956) e mais recentemente por Barbosa e col.⁵ (1978).

Granulomas hepáticos só foram detectados na 6ª semana de infecção. Verificou-se que no decurso das 6ª, 7ª e 8ª semanas houve tendência de que um maior número de vermes produzisse um maior número de granulomas. Entretanto, o grande aumento observado do número de granulomas na 8ª semana parece dever-se ao efeito somatório dos granulomas produzidos nas 6ª e 7ª semanas, pois o mesmo número de vermes produziu, aproximadamente, o mesmo número de granulomas, independentemente da semana observada. Aparentemente existe um controle sobre o número de granulomas hepáticos produzidos neste período, porém até o momento não existem dados se o mesmo é feito ao nível da resposta imune do hospedeiro aos ovos de *S. mansoni* ou se é controle do parasito sobre a sua oviposição.

As análises de peso corporal, peso do baço e da percentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal, indicaram comportamento comum aos dois grupos de animais até a 5ª semana de infecção. Só com o advento da oviposição e subsequente formação de granulomas hepáticos ficou evidenciada a esplenomegalia, hepatomegalia, como também a diminuição no ganho de peso corporal.

Grove e Warren¹⁶ (1976), trabalhando com "hamsters" infectados por *S. mansoni*,

verificaram que a diminuição no ganho de peso corporal nestes animais se fazia após a 6ª semana de infecção, sendo mais rápida em infecções mais intensas.

Histopatologicamente o baço e o fígado dos animais infectados apresentaram alterações que estiveram associadas com o estágio evolutivo do *S. mansoni*.

No baço as alterações histopatológicas apareceram em duas fases distintas da infecção. Na fase pré-postural da infecção, a reatividade do tecido linforreticular esteve presente apenas na 1ª semana de infecção, refletindo o estímulo antigênico inicial proporcionado pelo primeiro contato do hospedeiro com o *S. mansoni*. Subseqüente à oviposição do parasito e paralelamente à observação de granulomas hepáticos, foram verificadas profundas alterações na histopatologia deste órgão, que consistiram de hiperplasia intensa do tecido linforreticular e congestão moderada ou intensa dos seios venosos esplênicos. Estes resultados concordam com a idéia de que tanto a hiper celularidade do tecido linforreticular provocada pelos antígenos do ovo do trematódeo como a congestão passiva do baço participam na instalação da esplenomegalia (Smithers e Terry³⁴, 1969; WHO¹⁹, 1974 e Andrade², 1977).

A infecção pelo *S. mansoni* provocou alterações histopatológicas no fígado, tanto na fase pré-postural como também após a oviposição do parasito. Inicialmente estas alterações consistiram de hiperplasia do SRE, infiltrações celulares e áreas de necrose, coincidindo com observações prévias de outros autores tais como Meleney e col.²⁸ (1952), Brener⁹ (1956) e Jaimes e Von Lichtenberg²⁰ (1965). Tais alterações sugerem a participação de um mecanismo imunológico cuja etiologia possivelmente pode estar associada à presença de antígeno(s) da fase de esquistossomulo do trematódeo, não se refletindo o reconhecimento

pelo hospedeiro em produção de anticorpos específicos.

Magalhães Filho e col.²⁶ (1965) verificaram por técnicas de imunofluorescência que antígenos de *S. mansoni* encontravam-se no endotélio dos vasos portais e nos neutrófilos das infiltrações celulares do espaço porta de camundongos infectados na fase pré-patente da infecção. Por outro lado, anticorpos para esquistossomulos, detectados por imunofluorescência, só são detectados em torno de 4 semanas de infecção (Ambrose-Thomas e Andrews¹, 1976).

Recentemente Bastos⁶ (1979), investigando a especificidade das imunoglobulinas que se apresentavam aumentadas durante a infecção experimental de camundongos por *S. mansoni*, verificou que anticorpos para antígenos do parasito só apareciam inicialmente de forma discreta na 4ª semana de infecção, independente do estágio evolutivo do trematódeo testado.

Aparentemente estas reações celulares no fígado não se devem à antígenos de superfície do esquistossomulo, pois além de não serem evidenciados neste período anticorpos para a superfície deste estágio do parasito, o mesmo só é imunogênico na sua fase inicial de desenvolvimento, deixando de ser reconhecido como estranho à medida que adquire antígenos do hospedeiro (Smithers e col.³⁵, 1977).

A possibilidade de que produtos excretados ou secretados pelo esquistossomulo, ou então de que produtos resultantes da destruição dos mesmos sejam capazes de promover uma reação de imunidade celular deve ser considerada.

Após a oviposição o exame do fígado revelou a presença de numerosos granulomas assim como fibrose de diferentes graus de intensidade. O papel do antígeno solúvel dos ovos maduros de *S. mansoni* na etio-

logia do granuloma já está atualmente estabelecido, assim como o caráter hipersensibilidade retardada da reação granulomatosa (Von Lichtenberg ⁴⁹, 1962; Warren e col.⁴⁵, 1967; Domingo e Warren ¹⁴, 1967; Boros e Warren ⁷, 1970; Warren ⁴¹, 1972; Boros e col.⁵, 1973; Hamburger e col.¹⁷, 1976; Warren ⁴², 1976; Warren ⁴³, 1978).

As variações na composição celular das reações granulomatosas descritas no presente trabalho provavelmente estão relacionadas com diferentes estágios destas reações imunes.

Apesar da utilização de animais heterogênicos no presente trabalho, o que poderia influenciar os resultados dos leucogramas realizados durante a infecção (Russel e col.³³, 1951), pode ser verificado que a presença do *S. mansoni* induz alterações no comportamento dos leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos nas oito semanas iniciais de infecção. Eosinófilos e monócitos apresentaram o mesmo comportamento neste período.

Estímulos quimiotáxicos para neutrófilos podem derivar de linfócitos T sensibilizados como também podem resultar de produtos da ativação do sistema complemento. A função dos neutrófilos é essencialmente dependente de um processo imune, tanto celular como humoral, não atuando como uma entidade celular independente.

Existem evidências (Sogandares-Bernal e Brandt ³⁶, 1976) que em camundongos infectados por *S. mansoni*, no período de 8 semanas de infecção, IgM e IgG₁ são sequestradas nos granulomas com conseqüente ativação de C3. Lesões renais associadas com imunocomplexos tem sido verificadas em camundongos infectados com 80 a 100 cercárias de *S. mansoni* no período de 2 a 3 meses de infecção (WHO ¹⁹, 1974), como também a participação de imunocomplexos

nas lesões renais de pacientes esquistossomóticos tem sido fortemente sugerida (Andrade ², 1977). Não é possível afirmar, se a neutrofilia observada nas duas últimas semanas é decorrente de algum destes processos, porém é uma possibilidade a ser considerada.

Tem sido verificado (Colley ^{10,11}, 1972, 1973; Mahmoud e col.²⁷, 1975 e Pelley e col.³¹, 1976) que o linfócito T, quando sensibilizado com o antígeno solúvel do ovo de *S. mansoni*, é capaz de promover a quimiotaxia de eosinófilos através da linfocina ESP (estimulação promotora de eosinófilos). Por outro lado, a participação dos eosinófilos na destruição de ovos de *S. mansoni* tem sido evidenciada por James e Colley ²¹ (1976), tendo sido verificado que o evento era dependente da antigenicidade do ovo e da especificidade da célula efetora.

Segundo Colley ¹² (1972), a eosinofilia periférica em camundongos infectados experimentalmente por *S. mansoni* se dá de forma consistente após a 8ª semana de infecção, o que provavelmente concorreu para a não observação deste resultado no presente trabalho.

A tendência apresentada pelos linfócitos dos animais infectados a aumentarem com a evolução da infecção pode provavelmente refletir um estímulo na linfocitopose do hospedeiro ao nível da medula óssea.

Os resultados expostos relataram em alguns níveis as alterações patológicas que são processadas no hospedeiro definitivo pelo *S. mansoni* através da utilização de um modelo experimental. Apesar do avanço alcançado nos últimos anos no conhecimento da doença, a fase inicial da infecção não tem sido suficientemente estudada. Maiores informações sobre este período da infecção representarão importantes subsídios para a terapêutica como também para as medidas que visem impedir a instalação da doença.

ATTA, A. M. et al. [Schistosomiasis mansoni. I — Evolution of the pathologic picture: parasitologic, hematologic, and histopathologic analyses]. *Rev. Saúde Públ.*, S. Paulo, 15:72-92, 1981.

ABSTRACT: In order to accompany the evolution of primary bisexual infection of mice by *Schistosoma mansoni*, Swiss mice were infected with 100 cercariae of the Belo Horizonte strain of *Schistosoma mansoni*, and the infection's evolution was followed for eight weeks. A relationship between the number of hepatic granulomas and the number of worms was verified. Body weight gain, spleen, and the percentage of the liver weight in relation to body weight were different when compared to infected and control animals. White blood cells in the infected mice presented alterations in the total number of leukocytes, neutrophils, and lymphocytes. The histologic analyses of the spleen and liver revealed alterations in these organs; these alterations varied according to the stage of infection.

UNITERMS: *Schistosoma mansoni*. Pathology.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMBROISE-THOMAS, P. & ANDREWS, P. Development of fluorescent antibodies directed against larval stages, eggs, and adults of *Schistosoma mansoni* in mice harbouring unisexual or bisexual infections. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 27:483-8, 1976.
2. ANDRADE, Z. A. Imunologia da esquistossomose. In: Tosta, C. E., ed. *Progressos da imunologia das parasitoses*. Brasília. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 1977. p. 42-59.
3. ANDRADE, Z. A. & BARKA, T. Histochemical observations on experimental schistosomiasis of mouse. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 11:12-6, 1962.
4. ANDRADE, Z. A. et al. Immunocytochemical studies in schistosomiasis. *Amer. J. Path.*, 39:589-98, 1961.
5. BARBOSA, M. A. et al. Quantitative aspects of the migration and evolutive asynchronism of *Schistosoma mansoni* in mice. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 20:121-32, 1978.
6. BASTOS, O. C. *Utilização de soros pluri-específicos no estudo da evolução das imunoglobulinas envolvidas na resposta imune de camundongos ao Schistosoma mansoni Sambon, 1907*. Campinas, 1979. [Tese de Doutorado — Instituto de Biologia da UNICAMP].
7. BOROS, L. D. & WARREN, K. S. Delayed hypersensitivity-type granuloma formation and dermal reaction induced and elicited by a soluble factor isolated from *Schistosoma mansoni* eggs. *J. exp. Med.*, 132:488-507, 1970.
8. BOROS, L. D. et al. Delayed hypersensitivity, as manifested by granuloma formation, dermal reactivity, macrophage migration inhibition and lymphocyte transformation, induced and elicited in guinea pigs with soluble antigens of *Schistosoma mansoni* eggs. *J. Immunol.*, 110:1118-25, 1973.
9. BRENER, Z. Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. bras. Malar.*, 8:565-75, 1956.
10. COLLEY, D. G. Eosinophils and immune mechanisms. I. Eosinophil Stimulation Promoter (ESP): a lymphokine induced by specific antigen or Phytohemagglutinin. *J. Immunol.*, 110:1419-23, 1973.
11. COLLEY, D. G. *Schistosoma mansoni*: eosinophilia and the development of lymphocyte blastogenesis in response to soluble egg antigen in inbred mice. *Exp. Parasit.*, 32:520-6, 1972.
12. DE WITT, W. B. & WARREN, K. S. Hepatosplenic schistosomiasis in mice. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 8:440-6, 1959.

13. DOMINGO, E. O. & WARREN, K. S. Endogenous desensitization: changing host granulomatous response to schistosome eggs at different stages of infection with *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Path.*, 52:369-77, 1968.
14. DOMINGO, E. O. & WARREN, K. S. The inhibition of granuloma formation around *Schistosoma mansoni* eggs. II — Thimectomy. *Amer. J. Path.*, 51:757-67, 1967.
15. GOENNERT, R. Studies on schistosomiasis. IV. Pathology of schistosomiasis in mice. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 6:279-336, 1955.
16. GROVE, D. I. & WARREN, K. S. Relation of intensity of infection to disease in hamsters with acute schistosomiasis mansoni. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 25:608-12, 1976.
17. HAMBURGER, J. et al. *Schistosoma mansoni* soluble egg antigens: determination of the stage and species specificity of their serologic reactivity by radioimmunoassay. *J. Immunol.*, 117:1561-6, 1976.
18. HILL, J. Chemotherapeutic studies with laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 50:39-48, 1956.
19. IMMUNOLOGY of schistosomiasis. *Bull. Wild Hlth Org.*, 51:553-93, 1974.
20. JAIME, S. & VON LICHTENBERG, F. Host response to eggs of *Schistosoma mansoni*. IV. Fluorescent antibody titers in mice infected with normal cercariae and with purified eggs. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 14:727-35, 1965.
21. JAMES, S. L. & COLLEY, D. G. Eosinophil-mediated destruction of *Schistosoma mansoni* eggs. *J. reticuloendoth. Soc.*, 20:359-74, 1976.
22. LEMOS NETO, R. C. *Estudo comparativo do comportamento parasitológico e imunológico das linhagens mineira e paulista do Schistosoma mansoni Sambon, 1907*. Campinas, 1975. [Dissertação de Mestrado — Instituto de Biologia da UNICAMP].
23. MAGALHÃES, L. A. Técnica para a avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. *Hospital*, 75:137-40, 1969.
24. MAGALHÃES, L. A. et al. Alguns dados referentes ao estudo parasitológico e anatomopatológico de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 9:1-5, 1975.
25. MAGALHÃES FILHO, A. & COUTINHO-ABATH, E. Splenic reactions in Swiss albino mice to single and multiple infections with *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 10:356-64, 1961.
26. MAGALHÃES FILHO, A. et al. Localization of antigen and presence of antibody in tissues of mice infected with *Schistosoma mansoni*, as indicated by fluorescent antibody technics. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 14:84-99, 1965.
27. MAHMOUD, A. A. F. et al. Antieosinophil serum and the kinetics of eosinophilia in Schistosomiasis mansoni. *J. exp. Med.*, 142:560-74, 1975.
28. MELENEY, H. E. et al. The histopathology of experimental schistosomiasis. I — The hepatic lesions in mice infected with *S. mansoni*, *S. japonicum* and *S. haematobium*. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1:263-85, 1952.
29. MOORE, D. V. et al. A comparison of common laboratory animals as experimental hosts for *Schistosoma mansoni*. *J. Parasit.*, 35:156-70, 1949.
30. PELLEGRINO, R. & BRENER, Z. Method for isolating schistosome granulomas from mouse liver. *J. Parasit.*, 42:564, 1956.
31. PELLEY, R. P. et al. Antigen dose response and specificity of production of the lymphokine eosinophil stimulation promoter. *J. infect. Dis.*, 134:230-7, 1976.
32. PESSOA, S. B. & MARTINS, A. V. Ações recíprocas do parasito e do hospedeiro. In: Pessoa, S. B. & Martins, A. V., eds. *Parasitologia médica*. Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan, 1977. p. 17-28.
33. RUSSEL, E. S. et al. Comparison of normal blood picture of young adults from 18 inbred strains of mice. *Proc. Soc. exp. Biol.*, New York, 78:761-6, 1951.
34. SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. The immunology of schistosomiasis. *Advanc. Parasit.*, 7:41-93, 1969.

35. SMITHERS, S. R. et al. Immunity to schistosomes: the target. *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 26:11-9, 1977.
36. SOGANDARES-BERNAL, F. & BRANDT, S. Antibodies sequestered in the liver granulomata of 8-week infections of CF1 mice by *Schistosoma mansoni* Sambon. 1907. *Z Parasitenk.*, 50:331-4, 1976.
37. STANDEN, O. D. Experimental schistosomiasis. III. Chemotherapy and mode of drug action. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 47:26-43, 1953.
38. STIREWALT, M. A. et al. The relative susceptibilities of the commonly used laboratory mammals to infection by *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. trop. Med.*, 31:57-82, 1951.
39. VON LICHTENBERG, F. Host response to eggs of *Schistosoma mansoni*. I. Granuloma formation in the unsensitized laboratory mice *Amer. J. Path.*, 41:711-31, 1962.
40. WARREN, K. S. A comparison of Puerto Rican, Brazilian, Egyptian and Tanzanian strains of *Schistosoma mansoni* in mice: penetration of cercariae, maturation of schistosomes and production of liver disease. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 61:795-802, 1967.
41. WARREN, K. S. The immunopathogenesis of schistosomiasis: a multidisciplinary approach. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, 66:417-32, 1972.
42. WARREN, K. S. Immunopathology due to cell-mediated (type IV) reactions. In: Cohen, S. & Sadun, E., eds. *Immunology of parasitic infections*. London, Blackwell Scientific Publ., 1976. p. 448-67.
43. WARREN, K. S. Worms. In: Talmage, D. W. et al., eds. Waltham, Mass., Little, Brown and Co., 1978. p. 718-37.
44. WARREN, K. S. & PETERS, P. A. Quantitative aspects of exposure time and cercarial dispersion on penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in mice. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 61:294-301, 1967.
45. WARREN, K. S. et al. Granuloma formation around schistosoma eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *Amer. J. Path.*, 51:735-56, 1967.
46. YOLLES, T. K. et al. A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasit.*, 33:419-26, 1947.
- Recebido para publicação em 07/10/1980
Aprovado para publicação em 08/12/1980