

## Influência da hidrocortisona no desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* em *Biomphalaria glabrata*

Influence of hydrocortisone on *Schistosoma mansoni*  
development in *Biomphalaria glabrata*

Deborah Regina Serrano, Eliana Maria Zanotti-Magalhães,  
Luiz Augusto Magalhães e José Ferreira de Carvalho

**Resumo** Foi avaliado o efeito da hidrocortisona no desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* da linhagem BH em *Biomphalaria glabrata*. Moluscos escolhidos ao acaso foram tratados com hidrocortisona durante quatro dias. No segundo dia de tratamento, os moluscos foram expostos a 10 miracídios de *S. mansoni*. Um outro grupo, não tratado com hidrocortisona, foi exposto aos miracídios e observados da mesma forma. Os seguintes dados foram observados: taxa de infecção, tempo de sobrevivência, período pré-patente e número de cercárias liberadas. Os resultados mostraram que os moluscos no grupo tratado com hidrocortisona apresentaram maior taxa de infecção, menor período pré-patente, maior produção de cercárias e maior tempo de sobrevivência. Estas observações sugerem que a hidrocortisona atuou nos moluscos diminuindo a resistência à infecção esquistossomótica, facilitando o desenvolvimento do trematódeo, atenuando os efeitos lesivos da infecção e proporcionando maior sobrevivência.

**Palavras-chaves:** *Schistosoma mansoni*. *Biomphalaria glabrata*. Hidrocortisona. Esquistossomose.

**Abstract** The effect of hydrocortisone on the development of BH strain of *S. mansoni* in *B. glabrata* snails is evaluated. Snails in a randomly chosen group were submitted to hydrocortisone during four days. In the second day of hydrocortisone exposure, the snails were exposed, each, to ten *S. mansoni* miracidia. Another group, not treated with hydrocortisone, was exposed to miracidia and observed in the same manner. Various items of data were observed: the infection rate, survival time, prepatent period and total number of cercariae released. It was found that the snails in the group treated with hydrocortisone had a higher infection rate, shorter prepatent periods, produced more cercariae and also had longer survival times. This suggests that the hydrocortisone in snails induces a decrease in resistance to schistosome infection and facilitates the development of the trematode, while also reducing adverse infection effects, thereby leading to longer snail survival.

**Key-words:** *Schistosoma mansoni*. *Biomphalaria glabrata*. Hydrocortisone. Schistosomiasis.

No presente trabalho estudamos alguns aspectos da ação da hidrocortisona sobre o desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* da linhagem BH em *B. glabrata*. Os glicocorticóides, dentre eles a hidrocortisona, exercem nos mamíferos, efeitos sobre o metabolismo das proteínas, gorduras e dos hidratos de carbono, sobre o balanço hídrico e de eletrólitos. Entre os efeitos, observa-se o aumento da síntese de glicogênio, com acentuado acúmulo deste carboidrato no fígado. Sobre as proteínas, promove a sua quebra e inibe seu anabolismo e síntese, interferindo na cicatrização de feridas e inibindo a produção

de anticorpos<sup>3 4</sup>. A ação anti-inflamatória e imunossupressora nos mamíferos torna a hidrocortisona frequentemente utilizada desta forma, em medicina, quando se deseja atenuar os efeitos indesejáveis dos processos inflamatórios e alérgicos<sup>9</sup>. Os efeitos da hidrocortisona observados nos mecanismos de defesa dos mamíferos, principalmente sobre as células fagocitárias e no metabolismo de hidratos de carbono nos induziram a verificar a possível influência da hidrocortisona no desenvolvimento da infecção do *S. mansoni* em moluscos vetores tratados por esse glicocorticóide.

Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP; Statistika Consultoria, Campinas, SP. Financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Endereço para correspondência: Dr. Luiz Augusto Magalhães. Dept. de Parasitologia/IB UNICAMP, Caixa Postal 6109, Cidade Universitária, Barão Geraldo, 13083-970 Campinas, SP, Brasil.

Telefax: 55 19 3788-6282

e-mail: lam@obelix.unicamp.br

Recebido em 19/5/2000.

Neste estudo pesquisamos a influência da hidrocortisona sobre a taxa de infecção de *B. glabrata*,

a sobrevivência dos moluscos expostos à infecção e sobre a produção de cercárias.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados exemplares de *Biomphalaria glabrata* albinos com diâmetro variando de 7 a 8mm, originados de populações de Belo Horizonte (MG, Brasil), mantidos em nossos laboratórios. A infecção dos moluscos foi realizada com *Schistosoma mansoni* da linhagem BH<sup>6</sup> obtida de camundongos infectados experimentalmente. Foram constituídos quatro grupos experimentais, em uma estrutura fatorial com dois fatores em dois níveis: Grupo I: moluscos não submetidos à infecção e não tratados com hidrocortisona; Grupo II: moluscos não submetidos à infecção e tratados com hidrocortisona; Grupo III: moluscos submetidos à infecção e não tratados com hidrocortisona; Grupo IV: moluscos submetidos à infecção e tratados com hidrocortisona. Usou-se um esquema completamente aleatorizado para alocação dos moluscos aos quatro grupos experimentais.

O tratamento com hidrocortisona, que durou quatro dias, foi realizado colocando-se cada subgrupo de 4 moluscos em um recipiente com 100ml de água deionada e 0,3ml de solução de succinato sódico de hidrocortisona (Solu-Cortef a 500mg/4ml). A cada 24 horas a água foi trocada, adicionando-se nova dose de hidrocortisona. No quinto dia, os moluscos foram colocados, por grupo, em um recipiente único com água deionada. A exposição ao *S. mansoni* foi feita no segundo dia de tratamento, expondo-se isoladamente cada molusco, de grupos a serem expostos, a 10 miracídeos de *S. mansoni* provenientes de ovos colhidos nas fezes de camundongos infectados com a linhagem BH do trematódeo.

Os 20 exemplares de moluscos que formavam cada um dos quatro grupos iniciais foram examinados durante 23 semanas, sendo anotado o índice de sobrevivência.

Posteriormente ao início do experimento, adicionamos mais 2 grupos de 20 moluscos (um grupo constituído de moluscos submetidos à infecção e não tratados com hidrocortisona: IIIa, e outro grupo submetido à infecção e tratado com hidrocortisona: IVa). Esses dois grupos foram adicionados ao experimento com a finalidade de apenas podermos nos certificar da baixa taxa de infecção obtida nos grupos similares anteriormente constituídos. Após quatro semanas da exposição aos miracídeos, os caramujos dos grupos III, IV, IIIa e IVa foram examinados semanalmente para verificação da liberação das cercárias<sup>8</sup>. Uma vez confirmadas as baixas taxas de infecção em todos os grupos, e devido ao fato do número de cercárias contadas nos grupos III e IV ser suficiente para a análise estatística, não julgamos necessária a contagem das larvas nos grupos IIIa e IVa.

As cercárias liberadas pelos moluscos dos grupos III e IV foram contadas, utilizando solução de ninhidrina<sup>7</sup>. Os dados foram analisados estatisticamente, considerando os grupos submetidos à infecção e tratados ou não com hidrocortisona. Na análise da sobrevivência dos moluscos foi também considerada a exposição ou não à infecção dos moluscos. Os dados foram analisados utilizando-se o *software* SAS® (SAS Institute, Cary, NC, USA). A metodologia empregada está descrita nos resultados para cada resposta analisada.

## RESULTADOS

Na Figura 1 e Tabela 1 estão apresentados os resultados referentes à sobrevivência dos moluscos tratados ou não com hidrocortisona e submetidos ou

Tabela 1 - Medianas de tempos de sobrevivência.

Infecção	Tratamento	Tempo de sobrevivência
		mediana (semanas)
não	não	13,0
não	sim	14,0
sim	não	9,0
sim	sim	16,5

não à infecção por *S. mansoni* (Grupos I, II, III e IV). A análise estatística considerando os moluscos expostos ou não à infecção e tratados ou não pela hidrocortisona (em um esquema fatorial 2x2) comparou as medianas das curvas de sobrevivência (estatística Log Rank) e concluiu pela existência de diferença significativa entre estas curvas de sobrevivência ( $p=0,03$ ). Um teste adicional, retirando o grupo tratado e infectado da comparação, resulta em  $p=0,85$ ; logo, podemos concluir

que há evidência de diferença apenas para o grupo tratado e infectado, com aumento da mediana do tempo de sobrevida. Uma outra comparação, para avaliar o efeito da hidrocortisona apenas entre os infectados, resultou em  $p=0,04$  no teste do Log Rank. Note-se que essas seqüências de testes não estão corrigidas para múltiplas comparações, de sorte que os níveis de significância obtidos para as comparações adicionais devem ser vistos apenas como indicativos. Estes resultados todos revelam alguma evidência do efeito da hidrocortisona na sobrevida dos moluscos infectados.

Os dados referentes à taxa de infecção estão apresentados nas Tabelas 2 e 3. Moluscos não submetidos aos tratamento com hidrocortisona (Grupo III) apresentaram eliminação de cercárias a partir da 6<sup>a</sup>. semana após a exposição aos miracídeos, observando-se eliminação destas larvas até a 13<sup>a</sup>. semana, enquanto moluscos tratados com hidrocortisona (Grupo IV) apresentaram eliminação de cercárias a partir da 5<sup>a</sup>. semana após a infecção, notando-se neste caso, liberação das cercárias até a 19<sup>a</sup>. semana (Tabela 2).

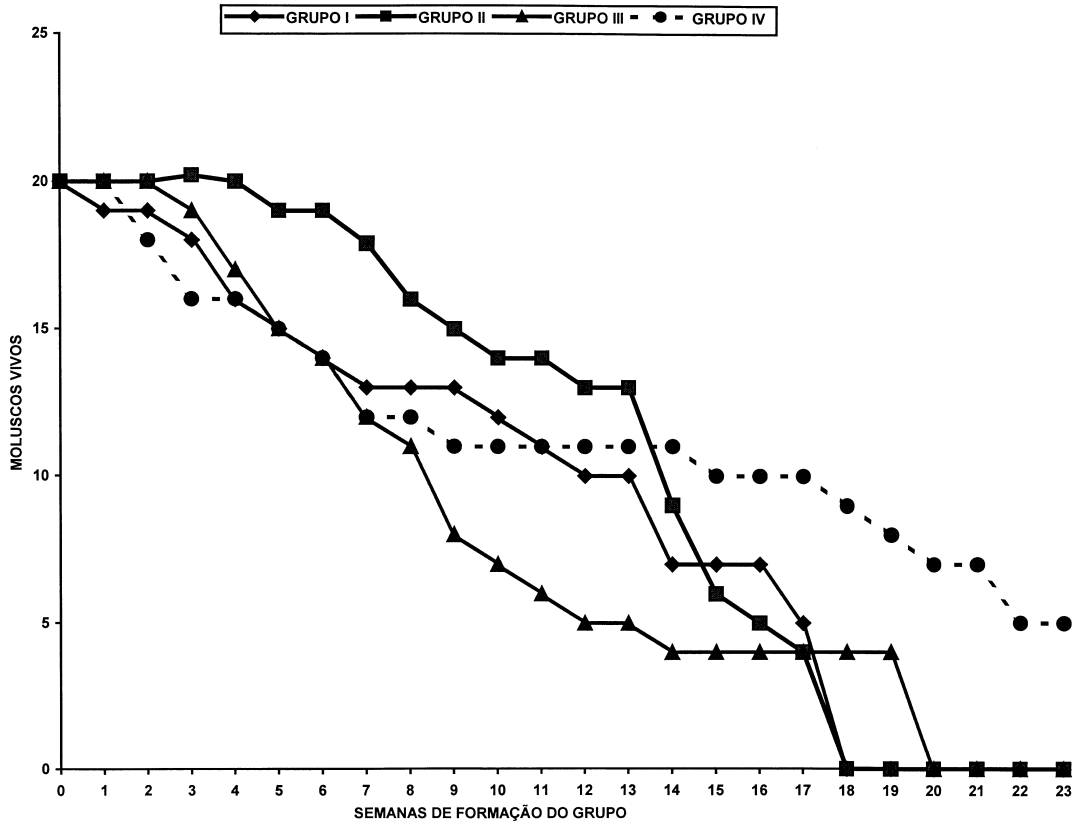


Figura 1 - Curvas de sobrevivências nos grupos I (não submetidos à infecção, não tratados com hidrocortisona), II (não submetidos à infecção, tratados com hidrocortisona), III (expostos à infecção, não tratados com hidrocortisona) e IV (expostos à infecção, tratados com hidrocortisona) observadas ao longo de 23 semanas de experimento.

Tabela 2 - Número de moluscos positivos nos grupos III ( não tratados com hidrocortisona) e IV (tratados com hidrocortisona) verificados semanalmente.

Semanas	Grupo III		Grupo IV	
	moluscos vivos	moluscos positivos	moluscos vivos	moluscos positivos
4	35	0	35	0
5	34	0	33	4
6	33	2	32	6
7	31	3	29	3
8	29	2	27	4
9	26	1	26	6
10	25	1	26	5
11	24	1	26	6
12	23	1	26	6
13	21	1	26	6
14	19	0	23	3
15	19	0	21	2
16	18	0	21	2
17	16	0	21	2
18	14	0	20	1
19	13	0	17	1
20	9	0	14	0

Tabela 3 - Taxa de infecção dos moluscos tratados (Grupos IV e IVa) ou não (Grupos III e IIIa) com hidrocortisona e expostos ao *S. mansoni* da linhagem BH.

Grupos	Número de moluscos expostos à infecção	Número de moluscos positivos	Taxa de infecção (%)
III e IIIa	40	3	7,5
IV e IVa	40	9	22,5

Dos moluscos tratados com a hidrocortisona (Grupos IV e IVa), 22,5% resultaram positivos e 7,5% dos moluscos não tratados (Grupos III e IIIa) se infectaram com o *S. mansoni*. O teste de Fisher que compara as pequenas proporções (as de respostas positivas) revelou um nível de significância de 0,057, ou seja, cerca de 6%. Este valor indica certa significância, mostrando

que é razoável admitir que o tratamento com hidrocortisona favoreceu a infecção por *S. mansoni*.

Na Tabela 4, estão apresentados os resultados referentes ao número de cercárias eliminadas pelos moluscos tratados (Grupo IV) ou não com hidrocortisona (Grupo III). Os moluscos do grupo IV produziram número significativamente maior de cercárias que os moluscos do grupo III ( $p=0,0001$ ).

Tabela 4 - Histórico da eliminação de cercárias pelos moluscos dos grupos III (não tratados com hidrocortisona) e IV (tratados com hidrocortisona).

Semana	Moluscos do grupo III			Moluscos do grupo IV						
	1BgIII	2BgIII	Total	1BgIV	2BgIV	3BgIV	4BgIV	5BgIV	6BgIV	Total
5	-	-	-	692	729	-	-	-	-	1.421
6	523	-	523	1.754	1.709	692	-	-	-	4.155
7	738	927	1.655	-	2.641	4.135	-	-	-	6.776
8	326	-	326	-	365	4.008	711	-	-	5.084
9	-	-	-	-	-	2.624	326	-	-	2.950
10	-	-	-	-	-	2.967	1.238	-	-	4.205
11	-	-	-	-	-	3.741	2.700	163	-	6.604
12	-	-	-	-	-	3.705	2.326	398	-	6.429
13	-	-	-	-	-	3.727	2.077	2.596	-	8.400
14	-	-	-	-	-	1.129	646	422	-	2.197
15	-	-	-	-	-	4.692	-	3.209	-	7.901
16	-	-	-	-	-	3.102	-	1.715	-	4.817
17	-	-	-	-	-	1.902	-	2.608	-	4.510
18	-	-	-	-	-	-	-	1.456	-	1.456
19	-	-	-	-	-	-	-	-	2.614	2.614
Total	1.587	927	2.514	2.446	5.444	36.424	10.024	12.567	2.614	69.519

## DISCUSSÃO

A infecção por *S. mansoni* produz nos planorbídeos alterações teciduais importantes que podem provocar a morte<sup>5</sup>. Verificamos na Figura 1, um gráfico demonstrativo da mortalidade dos moluscos dos diferentes grupos formados para o experimento, que o comportamento referente ao item analisado (sobrevivência) apresentou comportamento diferente após a 13ª semana de observação. Na 13ª semana de observação verificou-se uma maior sobrevivência nos grupos de moluscos não expostos à infecção e tratados, expostos à infecção e tratados e não expostos à infecção e não tratados, sendo que o grupo de moluscos expostos à infecção e não tratados apresentou menor sobrevivência. Essas observações parecem mostrar ter havido uma inibição do processo infeccioso pela ação da hidrocortisona, o que poderia explicar a maior sobrevivência dos moluscos submetidos ao tratamento. Na prática médica a utilização dos glicocorticóides no tratamento das infecções tem que ser feita com cautela, pois a intenção é somente a redução do processo

infeccioso em tecidos nobres, reduzindo-se assim. as seqüelas graves. Ainda que doses elevadas dessas substâncias produzam diminuição da ação dos mecanismos de defesa sua administração pode ser justificada em certos processos infecciosos graves, como por exemplo, na tuberculose miliar, na meningite tuberculose e em outros processos<sup>10</sup>. Após a 13ª semana a mortalidade do grupo exposto à infecção e não tratado estabilizou-se, talvez em decorrência da diminuição do processo infeccioso ou a própria cura dos moluscos, o que ocorre freqüentemente durante esse período<sup>1</sup>. Não encontramos uma explicação para a alta mortalidade observada a partir da 13ª semana no grupo de moluscos não submetidos à infecção e tratados com hidrocortisona.

A taxa de infecção por *S. mansoni* apresentada por moluscos tratados com hidrocortisona (Grupos IV e IVa) foi superior àquela apresentada por *B. glabrata* não tratada (Grupo III e IIIa). Durante os 35 anos que temos mantido em nosso laboratório a linhagem BH de *S.*

*mansoni*, periodicamente reforçada com amostras cedidas pelo Professor Wladimir Lobato Paraense, temos obtido taxas de infecção de *B. glabrata*, costumeiramente mais elevadas. Contudo observamos que atravessamos períodos em que as taxas de infecção caem aos níveis encontrados no presente trabalho. Até hoje não conseguimos uma explicação para este fenômeno. As primeiras 72 horas de infecção são fundamentais para a determinação da viabilidade das larvas de *S. mansoni*<sup>2</sup>. Moluscos tratados com hidrocortisona (Grupo IV) iniciaram a eliminação de cercárias mais precocemente do que moluscos não submetidos ao tratamento (Grupo III) e continuaram a eliminação por um período de tempo maior (até a 19ª semana).

Foi altamente significativo o aumento do número de cercárias liberadas pelos moluscos que receberam tratamento com glucocorticóide. Como pode ser

observado na Tabela 4, a quantidade máxima de cercárias liberadas semanalmente por moluscos não tratados (Grupo III) não chegou a um quinto do número máximo semanal apresentado pelo grupo de moluscos tratados (Grupo IV). Na mesma tabela, podemos observar ainda que, tais resultados não se devem unicamente ao aumento do número de moluscos susceptíveis, mas também, à presença de alguns moluscos que liberaram número muito elevado de cercárias. É interessante ressaltar que o molusco 3BgIV, aquele que na maioria das vezes apresentou a maior liberação de cercárias por semana no Grupo IV, foi também o que conseguiu manter-se vivo, liberando cercárias, por maior tempo (12 semanas), como pode ser observado na Tabela 4. Tal dado, confirma o favorecimento à sobrevivência dos moluscos submetidos à infecção e tratados com hidrocortisona.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Barbosa FS, Coelho MV, Dobbin JE. Qualidades de vetor dos hospedeiros de *S. mansoni* no Nordeste do Brasil. II. Duração da infestação e eliminação de cercárias em *A. glabratus*. Publicações Avulsas do Instituto Aggeu Magalhães III:79-92, 1954.
2. Guaraldo AMA, Magalhães LA, Rangel HA, Pareja G. Evolução dos esporocistos de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). Revista de Saúde Pública 15:436-448, 1981.
3. Haynes RC. Studies of an *in vitro* effect of glucocorticoids on gluconeogenesis. Endocrinology 71:399-406, 1962.
4. Landau BR, Mahler R, Ashmore J, Elwyn D, Hasting AB, Zottus S. Cortisone and the regulation of hepatic gluconeogenesis. Endocrinology 70:47-53, 1962.
5. Pan CT. Studies on the host-parasite relationship between *Schistosoma mansoni* and the snail *Australorbis glabratus*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 14:931-976, 1965.
6. Paraense WL, Corrêa LR. Sobre a ocorrência de duas raças biológicas de *Schistosoma mansoni* no Brasil. Ciência e Cultura 15:245-246, 1963.
7. Paraense WL, Corrêa LR. A potential vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 84:281-288, 1989.
8. Pellegrino J, Macedo DG. A simplified method for the concentration of cercariae. Journal of Parasitology 41:329-330, 1955.
9. Stites DP, Terr AI, Parlow TG (eds) Medical Immunology, 9<sup>th</sup> edition, Appleton & Lange, Stamford, Connecticut, USA, 1997.
10. Velázquez BL. Terapêutica com sus fundamentos de farmacología experimental. Volume II 11ª edición. Editorial Científico-Médica, Barcelona, 1970.