

AJAX MERCÊS ATTA

ESTUDO SOBRE A EVOLUÇÃO DA INFECCÃO DE CAMUNDONGOS POR
Schistosoma mansoni Sambon, 1907.

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da Universidade Estadual
de Campinas para obtenção do
grau de Mestre.

Orientador:

Prof.Dr. Luiz Augusto Magalhães

Departamento de Parasitologia
Departamento de Microbiologia e Imunologia

UNICAMP

Campinas - São Paulo

1979

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

À Cida e Junior,
aos meus pais Geraldo e Ruth,
ao meu irmão Alex.

Aos amigos Nazareth,
Wilma, Piton e Humberto.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores

Luiz Augusto Magalhães
Humberto de Araújo Rangel
Francisco Gomes Alcântara,
pelo apoio e orientação.

À Professora

Gilda Pareja, pela realização das análises estatísticas
deste trabalho.

À Professora Daria Repka, pelas sugestões apresentadas.

À Professora Dirce Franco de Araujo, Diretora da Faculdade
de Farmácia da U.F.Ba, pela oportunidade de formação
científica.

À Fundação de Saúde do Estado da Bahia.

À Professora Elza de Andrade Carvalho, pelo apoio e
amizade.

Ao amigo Othon de Carvalho Bastos, pela colaboração presta-
da no desenvolvimento da parte experimental.

Às Sras. Alaide Pedro F. Correa e Cleuza dos Santos, pela
colaboração prestada na realização das preparações
histológicas.

Aos funcionários da Biblioteca do Instituto de Biologia
da UNICAMP.

À Srta. Cleide Aparecida Gomes Barbosa, responsável pela
datilografia do presente trabalho.

Aos colegas e funcionários dos Departamentos de Parasito-
logia e Microbiologia e Imunologia.

Minha sincera gratidão

Agradecemos aos recursos fornecidos ao Curso de Pós-Graduação em Imunologia da UNICAMP pelas seguintes Instituições:

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

CONSELHO NACIONAL DE PESQUISAS

COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DO PESSOAL DE ENSINO SUPERIOR

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (DIVISÃO DE IMUNOLOGIA)

BIBLIOTECA REGIONAL DE MEDICINA.

Durante o desenvolvimento deste trabalho o autor esteve vinculado ao PICD - UFBA, pelo que externa sinceros agradecimentos.

SUMÁRIO

I - INTRODUÇÃO.....	1
II - MATERIAL E MÉTODOS	
1. Animal experimental.....	8
2. Cercárias de <u>Schistosoma mansoni</u>	8
3. Infecção experimental.....	8
4. Obtenção e contagem de vermes.....	9
5. Contagem de granulomas hepáticos.....	9
6. Determinação do peso corporal, peso do baço e peso do fígado.....	9
7. Leucometria.....	10
8. Exame histopatológico.....	10
9. Soro de camundongo.....	11
10. Dosagem de proteínas.....	11
11. Soro imune de coelho anti-soro normal de ca- mundongo.....	12
12. Determinação dos níveis de albumina sérica..	12
13. Imunoeletroforese cruzada.....	13
14. Análise estatística.....	13
III - RESULTADOS	
1. Determinação da carga parasitária.....	15
2. Determinação da relação granuloma/vermes to- tais.....	16
3. Determinação do ganho de peso corporal.....	21
4. Peso do baço em função das semanas de infec- ção.....	23

5. Percentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal.....	26
6. Leucometria.....	28
7. Histopatologia do baço.....	34
8. Histopatologia do fígado.....	40
9. Determinação dos níveis de proteínas séricas totais.....	51
10. Determinação dos níveis de albumina sérica....	52
11. Análise do perfil eletroforético.....	54
IV - DISCUSSÃO.....	60
V - RESUMO E CONCLUSÕES.....	71
VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75

I - INTRODUÇÃO

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

MOORE et alii (1949), STIREWALT et alii (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 ovos viáveis do parasito nas fezes a partir da 6^a 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 et alii, 1951).

MOORE & MELENEY (1952), demonstraram a rápida adaptabilidade de cepas humanas de S. mansoni aos camundongos albinos Swiss, salientando ser desnecessário a adaptação gradual.

DE WITT & WARREN (1959), estudando a patogênese da síndrome hepatoesplênica, em camundongos infectados experimentalmente por S. mansoni, levantaram a hipótese de que esta patogenia seria provocada pela penetração dos ramos portais intrahepáticos pelos ovos do parasito com subsequente formação de granulomas. Os autores afastaram, desta forma, a importância atribuída às toxinas liberadas pelos ver-

mes, na etiologia da síndrome hepatoesplênica da esquistossomose mansônica, como defendido por MELENEY et alii (1952, 1953) e GOENNERT (1955). Em 1961 WARREN, trabalhando com camundongos infectados unissexualmente e bissexualmente, submetidos à dietas alimentares ou tratados com Stibophen, confirmou suas pesquisas de 1959.

ANDRADE et alii (1961), MAGALHÃES FILHO & COUTINHO-ABATH (1961) e ANDRADE & BARKA (1962), propuseram que as reações do tecido linforreticular do baço aos antígenos de S. mansoni se somariam à congestão passiva dos seios venosos esplênicos consequente à hipertensão porta.

MELENEY et alii (1952), estudando a histopatologia dos fígados de camundongos infectados experimentalmente, observaram que tanto em infecções unissexuais como na fase pré-postural das bissexuais por S. mansoni, existia a presença de infiltrados celulares com predominância de polimorfonucleares, de localização perivascular ou parenquimatosa, assim como áreas de necrose no parenquima hepático. A etiologia destes infiltrados, segundo estes autores, é devido à sensibilidade dos órgãos à proteínas estranhas dos vermes; enquanto que as áreas de necrose representariam infartos isquêmicos causados pela oclusão de uma vênula portal ou arteriola hepática.

GOENNERT (1955), realizando observações em camundongos portadores de esquistossomose mansônica experimental, concluiu que as alterações histopatológicas nos fígados destes animais surgiam após a 6^a semana de infecção, salientando porém que em infecções intensas podem existir pigmentação e pequenas áreas de fibrose decorrentes da presença de

parasitos mortos. Posteriormente BRENER (1956), confirmou os resultados de MELENEY et alii (1952), reportando o achado de infiltrados periportais já aos 21 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 et alii (1967) foi estabelecido o caráter imunológico das reações granulomatosas, observadas no fígado de pacientes esquistossomóticos ou de camundongos infectados experimentalmente. Estes autores utilizando a metodologia desenvolvida por VON LICHTENBERG (1962), que consiste na injeção de ovos de S. mansoni pela veia caudal e sua retenção nos pequenos vasos pulmonares de camundongos normais com subsequente formação de granulomas, verificaram que animais previamente sensibilizados intraperitonealmente por ovos do trematódeo desenvolviam reações granulomatosas mais rapidamente e de forma mais extensa. A reação era altamente específica, não reagindo cruzadamente com ovos de Ascaris (WARREN et alii, 1967) nem com de outras espécies de Schistosoma (WARREN & DOMINGO, 1970). Essa sensibilização era também específica ao estágio de desenvolvimento do parasito (WARREN & DOMINGO, 1970).

A demonstração de que a sensibilização de animais normais podia se fazer transferindo apenas células linfóides de animal infectado (WARREN et alii, 1967), além da verificação de que medidas que suprimiam as reações de imunidade celular tais como timectomia neonatal e utilização de soro anti-linfocitário, também suprimem a formação de granulomas (DOMINGO & WARREN, 1967, 1968), levaram a considerar que as

reações granulomatosas circumjacentes aos ovos de S. mansoni eram pelo menos em parte, consequência de processos de hipersensibilidade retardada.

Posteriormente foi demonstrado que o antígeno solúvel do ovo de S. mansoni (SEA) induz manifestações de hipersensibilidade celular quando injetado em patas de cobaias previamente sensibilizados pelo SEA ou adsorvido à superfície de partículas antigenicamente inertes (BOROS & WARREN, 1970), além de induzir transformação linfoblástica (COLLEY, 1971) e liberação de MIF (COLLEY, 1972; BOROS & WARREN, 1973).

O quadro leucocitário periférico tem sido amplamente estudado em esquistossomose mansônica humana, sendo incontestável o encontro de eosinofilia em pacientes esquistossomóticos. Excetuando-se os trabalhos sobre eosinofilia realizados por COLLEY (1972, 1973, 1974) e MAHMOUD et alii (1975), há ausência de relatos sobre o quadro leucocitário periférico no decorrer da doença em camundongos infectados experimentalmente.

O estudo das alterações dos níveis de proteínas séricas totais como também seu perfil eletroforético tem sido largamente realizado por diversos autores, tanto na esquistossomose mansônica humana como na murina experimental.

FIORILLO (1954) foi o pioneiro na aplicação da técnica de eletroforese no estudo da patogenia do S. mansoni em pacientes esquistossomóticos. EVANS & STIREWALT (1957) iniciaram os estudos em camundongos infectados experimentalmente por S. mansoni, tendo concluído que existiam modificações no perfil eletroforético obtido pela técnica de eletroforese em papel, nas regiões de gama e beta globulinas

além de decrescimento relativo em albumina, consequentes à infecção.

DE WITT & WARREN (1959), observaram que o perfil eletroforético dos soros de camundongos infectados experimentalmente por S. mansoni apresentavam as regiões de gama e beta globulinas aumentadas enquanto que pouca ou quase nenhuma modificação na região de alfa globulinas e albumina, devendo-se a inversão da relação A/G ao aumento descompensado das globulinas.

KAGAN & GOODCHILD (1961), confirmaram os achados destes autores acrescentando a observação de que o aumento das regiões de gama e beta globulinas na infecção murina experimental estava correlacionado ao aparecimento de anticorpos CHR.

SADUN & WILLIAMS (1966), observaram que o aumento das proteínas séricas totais se dava em camundongos com infecções intensas por S. mansoni a partir da 8ª semana pós-infecção assim como, existiam modificações nas regiões de gama, beta e alfa-2 globulinas. Segundo estes autores a inversão da relação A/G tornava-se mais pronunciada com o progresso da doença, particularmente nos soros dos animais portadores de carga parasitária alta.

HILLYER et alii (1967) através de imunoeletoforese simples observaram que os soros de camundongos com esquistossomose mansônica apresentavam aumento em IgG1, IgA, IgM e IgG2, sendo que esta última já se encontrava elevada na 6ª semana pós-infecção. Fazem estes autores alusão ao aumento de uma alfa-1 rápida na 8ª semana de infecção.

PAGE & ETGES (1972), verificaram que as altera-

ções nos níveis de proteínas séricas na fase pré-postural de infecções intensas de S. mansoni em camundongos, determinadas por eletroforese em acetato de celulose, se faziam às custas do aumento em alfa-1, alfa-2, beta e gama globulinas, existindo também nos soros destes animais inversão da relação A/G.

As alterações provocadas no hospedeiro definitivo pelo S. mansoni, resultado do contato íntimo dos diversos estágios evolutivos do parasito com os seus tecidos, representam a tentativa de adaptação do trematódeo ao seu novo ambiente. O resultado final deste processo adaptativo é representado pela permanência do S. mansoni no estágio de verme adulto, sexualmente ativo, no hospedeiro definitivo.

Os estudos sobre a cinética das modificações fisiológicas experimentadas pelo hospedeiro, resultantes da infecção primária pelo S. mansoni, tem na maioria das vezes se restringido a campos isolados de observações, assim como o período pré-patente da infecção não tem sido convenientemente explorado.

Apesar de que nem sempre as informações advindas da utilização de um modelo experimental representam na íntegra o que ocorre no homem, o ato de importar para o laboratório uma doença endêmica deve representar não apenas novas contribuições científicas e sim, principalmente, a integração do pesquisador na sua realidade socio-econômica.

Apoiando-se nestas considerações o presente trabalho tem por objetivo acompanhar a evolução da infecção bissexual primária de camundongos por S. mansoni através da realização de observações parasitológicas, hematológicas, histo

patológicas e sorológicas, de forma integrada, desde a primeira até a oitava semana de infecção.

II - MATERIAL E MÉTODOS

1. Animal experimental.

Cento e sessenta camundongos Swiss de 30 dias de idade, previamente pesados, 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 côntrole, 8 lotes constituídos, cada um, de 10 animais não infectados (5 machos e 5 fêmeas). Estes grupos foram identificados pela sigla Cn.

2. Cercárias de Schistosoma mansoni.

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

3. 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 MAGALHÃES (1969).

4. 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 (1947) seguida pelo esmagamento do fígado entre lâminas de vidro, segundo técnica de STANDEN (1953) e HILL (1956). Os vermes obtidos foram separados e contados de acordo com o sexo, sendo aplicado 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.

5. Contagem de granulomas hepáticos.

Com a finalidade de determinar o número de granulomas hepáticos dos animais infectados foi utilizada a técnica de PELLEGRINO & BRENER (1956).

6. Determinação do peso corporal, peso do baço e peso do fígado.

O peso corporal dos animais na data do sacrifício foi avaliado utilizando-se balança semi-analítica enquanto que as medidas correspondentes ao baço e o fígado dos mesmos animais foram realizadas com o uso de balança analítica. A pesagem do fígado foi realizada após perfusão deste órgão, sendo este procedimento também realizado com os fígados dos animais controles.

7. Leucometria.

Nos animais controles e infectados, grupos sacrificados semanalmente, foram realizados leucogramas. Foi utilizado o sangue obtido destes animais, previamente anestesiados com éter, através do plexo retrorbital. 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 mm^3 de sangue o produto da contagem de globulos brancos em oito quadrados de $0,1 \text{ mm}^3$ da camera de Newbauer por 25 ($1,25 \times 20$).

Os leucócitos contados diferencialmente em esfregaço sanguíneo corado pelo método de MAY-GRUNWALD-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.

8. 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 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 a pesagem. As preparações utilizadas foram coradas pela Hematoxilina - Eosina e Tricrômico de MASSON para fibras colágenas.

9. Soro de camundongo.

Após a sangria pelo plexo retroorbital para realização dos leucogramas, os animais sofreram sangria branca pelo plexo vascular braquial. O sangue assim colhido foi deixado coagular à temperatura ambiente e o soro obtido foi reunido em um "pool" de soros dos lotes. Estes soros foram centrifugados durante 15 minutos a 270 g a 0°C, sendo posteriormente congelado a -20°C até a hora de sua utilização.

10. Dosagem de proteínas.

As proteínas totais dos soros representativos das diversas semanas de infecção, oriundos dos animais controles e infectados, foram determinadas pela reação com o biuret, segundo a técnica de WEICHSELBAUN modificada por DITTEMBRANDT (in OLIVEIRA LIMA e DIAS DA SILVA, 1970). Para a realização das dosagens de proteínas utilizou-se uma curva padrão traçada a partir de uma solução de BSA (soroalbumina bovina) previamente dosada pelo processo de microkjeldahl (KABAT & MAYER, 1968).

11. Soro imune de coelho anti-soro normal de camundongo.

Com a finalidade de obtenção de um antisoro anti-proteínas séricas de camundongo, um coelho albino de cerca de 3 Kgs de peso corporal foi imunizado por meio de injeções intramusculares de 10 mg de proteínas obtidas de soro de camundongo, emulsionadas em igual volume de adjuvante completo de Freund. Decorridos 30 dias, este animal foi imunizado novamente por via subcutânea com o antígeno nas mesmas condições da 1^a imunização. Vinte e um dias após a segunda dose imunizante, o soro obtido deste animal apresentou em Ouchterlony título de 1:32 frente a 500 gamas do antígeno. Nesta ocasião o coelho imunizado sofreu sangria branca.

12. Determinação dos níveis de albumina sérica.

Os níveis de albumina dos soros nos camundongos infectados por S. mansoni como dos soros nos animais contro - les, foram determinados em triplicata através de imunoelectroforese quantitativa ("Rocket immunoelectrophoresis") segundo WEEKE (in AXELSEN, KROLL & WEEKE, 1973). Um microlitro de uma diluição a 1:16 em tampão barbital-glicina/Tris (pH 8.6, força iônica 0.02) de um "pool" de soros de animais controles e infectados, foi corrido em agarose a 1% no referido tampão, contendo soro imune de coelho anti-soro de camundongo no título de 1:35.

A corrida eletroforética foi realizada usando-se uma diferença de potencial de 6 volts/cm durante 3 horas. Após revelação da placa onde se processou a corrida eletro-

forética, os picos correspondentes à albumina tiveram suas alturas determinadas em milímetros. Como revelador foi utilizado Coomassie Blue a 0,1% em etanol-ácido acético.

13. Imunoeletroforese cruzada.

Os soros de camundongo correspondentes às semanas pós-infecção, assim como seus respectivos controles, foram analisados, quanto ao perfil eletroforético, através da técnica de imunoeletroforese cruzada.

Em todos os procedimentos foram utilizados 1 microlitro de soro de camundongo e o soro imune de coelho anti-soro de camundongo no título de 1.35 em agarose a 1% em tampão barbital-glicina/Tris (pH 8.6, força iônica 0.02). A utilização dos soros dos animais infectados e controles de uma mesma semana pós-infecção em uma única placa visou eliminar as possíveis variações decorrentes do procedimento técnico usado para a reação de imunoprecipitação.

As corridas eletroforéticas se realizaram em primeira dimensão sob uma diferença de potencial de 8 volts/cm por 1 hora enquanto que em segunda dimensão a diferença de potencial utilizada foi de 6 volts/cm durante 3 horas. Como solução corante reveladora das linhas de precipitação foi utilizado Coomassie Blue na concentração de 0,1% em etanol-ácido acético.

14. Análise estatística.

A análise estatística realizada no presente trabalho consistiu de:

- Ajuste por mínimos quadrados
- Análise de resíduos após o ajuste para julgar a adequação no modelo
- Teste t de Student.

Nos cálculos estatísticos foram considerados os seguintes valores representativos:

NS ou (): não significativo

. : valor significativo ao nível de 5%

.. : valor significativo ao nível de 1%

III - RESULTADOS

1. Determinação da carga parasitária.

O controle da viabilidade de penetração das cercárias de S. mansoni utilizadas na infecção experimental, assim como as médias dos vermes recuperados por perfusão nas diversas semanas pós-infecção, são apresentados na tabela I.

Através da referida tabela observa-se que as médias das cercárias que penetraram não diferiram significativamente quando comparados os lotes dos animais sacrificados nas diferentes semanas. A carga parasitária representada pelo número de vermes totais recuperados apresentou valores médios variáveis, tendo sido observado que só a partir da 4^a semana de infecção foi possível a discriminação sexual, apesar da presença concomitante em alguns casos do estágio de esquistossomulo do trematódeo, o que revelou um assincronismo na maturação do S. mansoni.

TABELA I

Determinação da carga parasitária.

Semanas Pós-Infecção	Nº médio de cercárias penetradas	Nº médio de esquistossomulos	Nº médio de esquistossomos fêmeas	Nº médio de esquistossomos machos	Nº médio de <u>S. mansoni</u> por animal
1 ^a	92,60	-	-	-	-
2 ^a	87,40	-	-	-	-
3 ^a	91,20	1,20	-	-	1,20
4 ^a	90,60	0,60	4,00	5,60	10,20
5 ^a	96,40	-	6,88	12,75	19,63
6 ^a	92,40	-	19,00	19,60	38,60
7 ^a	89,50	-	12,20	16,00	28,20
8 ^a	90,50	-	0,22	16,67	25,89

Nota: Os valores apresentados correspondem à média de cada lote.

2. Determinação da relação granuloma/vermes totais (NG/NV).

Granulomas hepáticos foram detectados inicialmente na 6^a semana de infecção. O número de granulomas na 8^a semana foi significativamente maior do que nas 6^a e 7^a semanas entretanto, não houve diferença significativa comparando-se estas duas últimas entre si (tabela II).

As análises estatísticas efetuadas sobre a relação NG/NV em função das semanas de infecção são apresentadas na figura 1 e tabelas III e IV. Graficamente o número de granulomas produzido nas 6^a e 7^a semanas podem ser representados por duas parábolas, revelando que existe uma relação inversa entre NG e NV neste período. Apesar de ter sido observado que a relação NG/NV na 8^a semana se faz representar por uma reta, sugerindo que a tendência de que um maior número de vermes produza um menor número de granulomas desapareça com o tempo de infecção, provavelmente este fato é apenas o reflexo da somatória dos granulomas produzidos nas 6^a e 7^a semanas de infecção.

Em virtude do dado bastante atípico apresentado na 6^a semana que influenciou a curvatura da parábola correspondente, repetiu-se a análise anterior excluindo-se este dado. Os resultados são apresentados na figura 2 e tabelas V, VI, e VII, sendo que as conclusões obtidas desta nova análise coincidiram com as conclusões da análise anterior.

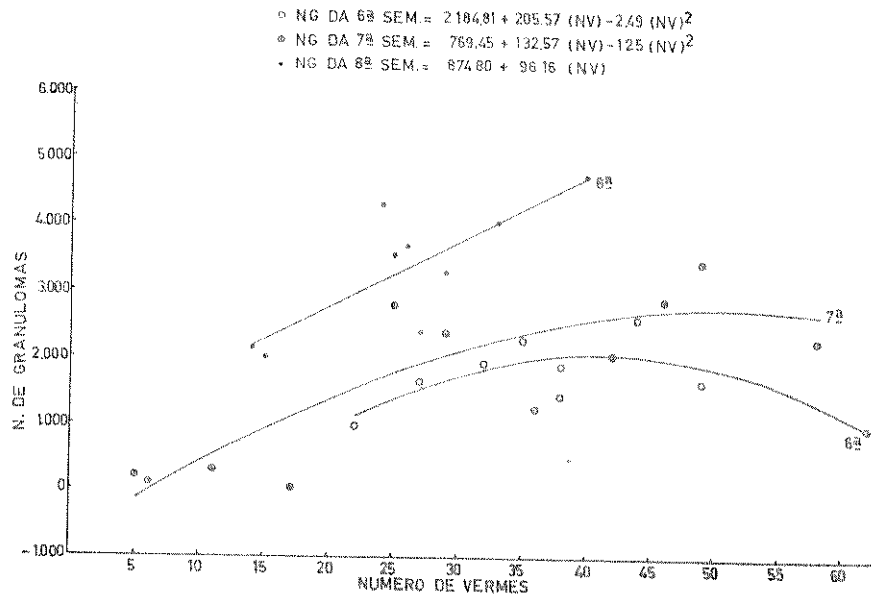


Figura 1: relação NG/NV nas 6^a, 7^a e 8^a semanas de infecção, considerando o dado atípico da 6^a semana.

TABELA II

Análise da variância para o modelo ajustado.

CV	GL	SQ	QM	F
Modelo	7	35.822.678	5.117.525	13,03**
Semana	2	1.517.306	758.653	1,93
NV linear	3	9.302.396	3.100.799	7,90**
NV quadrático (semanas 6 e 7)	2	2.470.957	1.235.479	3,15
Resíduo	21	8.246.612	392.696	
Total	28	44.069.290		

$$R^2 = 0,8129$$

$$CV = 28,55\%$$

TABELA III

Teste para semana ignorando NV.

CV	GL	SQ	QM	F
Semana (ignorando NV)	2	17.986.389	8.993.195	22,90**
6 ^a e 7 ^a vs. 8 ^a	1	17.838.297	17.838.297	17,78**
6 ^a vs. 7 ^a	1	148.092	148.092	0,15
Resíduo	21	8.246.612	392.696	

TABELA IV

Níveis de significância dos testes t de Student para os termos lineares e quadráticos das 6^a, 7^a e 8^a semanas.

Semanas	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Linear	0,078	0,011	0,002
Quadrático	0,071	0,117	-

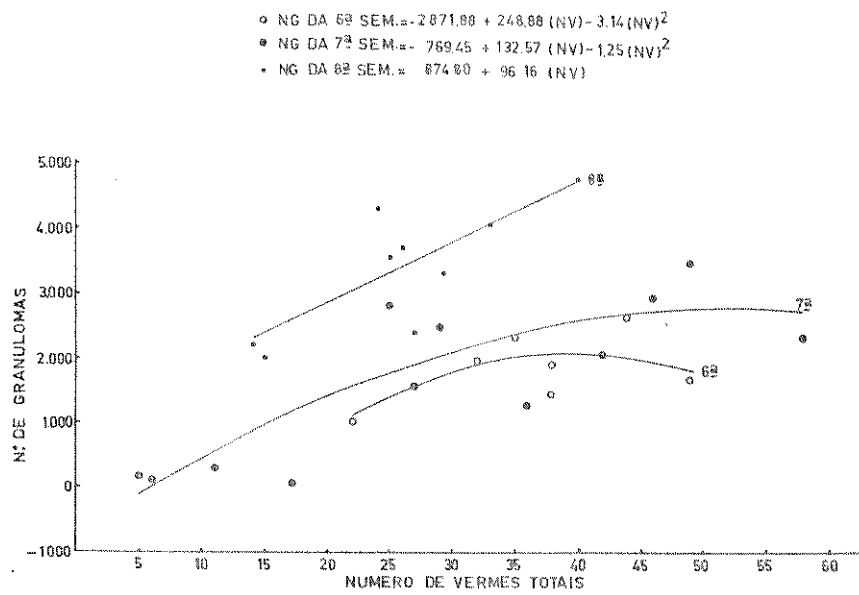


Figura 2: relação NG/NV nas 6^a, 7^a e 8^a semanas de infecção, excluindo-se o dado atípico da 6^a semana.

TABELA V

Análise da variância para o modelo ajustado excluindo um da do atípico.

CV	GL	SQ	QM	F
Modelo	7	34.385.255	4.912.179	11,93**
Semana	2	1.368.532	684.266	1,66
NV linear	3	8.339.414	2.779.805	6,75**
NV quadrático (semanas 6 e 7)	2	1.347.493	673.747	1,64
Resíduo	20	8.231.943	411.597	
Total	27	42.617.918		

$$R^2 = 0,8068$$

$$CV = 28,67\%$$

TABELA VI

Teste para semana ignorando NV.

CV	GL	SQ	QM	F
Semana (ignorando NV)	2	17.149.338	8.574.669	20,83**
Resíduo	20	8.231.943	411.597	

TABELA VII

Níveis de significância dos testes t de Student para os termos lineares e quadráticos das 6^a, 7^a e 8^a semanas

Semanas	6 ^a	7 ^a	8 ^a
Linear	0,342	0,013	0,003
Quadrático	0,403	0,126	-

3. Determinação do ganho de peso corporal (DPC)

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 controles (figura 3, tabelas VIII e IX).

Aparentemente a diminuição do peso corporal dos animais portadores da infecção por *S. mansoni* ocorre após a oviposição do parasito (figura 3), coincidindo com a observação de granulomas hepáticos. Este resultado sugere que o comprometimento do fígado nesta fase da infecção alteraria as funções relacionadas com o processamento e distribuição de nutrientes realizadas neste órgão, originando uma alteração no metabolismo dos camundongos infectados.

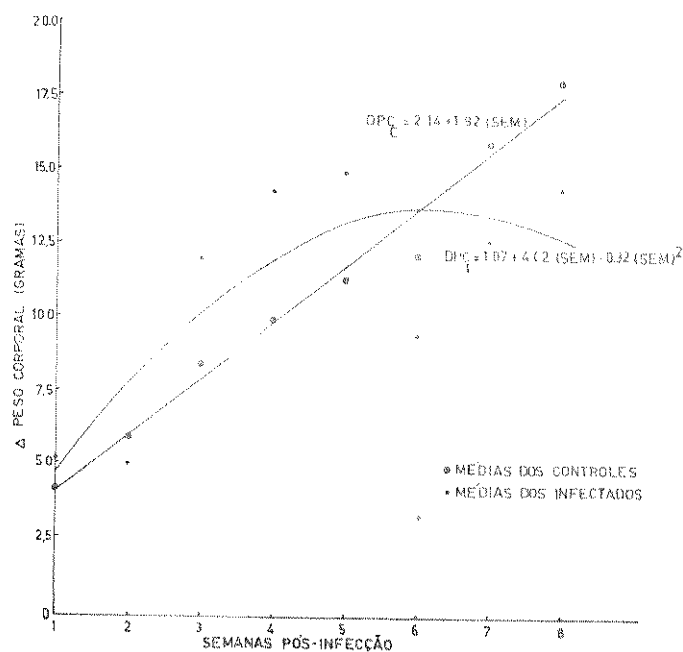


Figura 3: ganho de peso corporal dos camundongos controles e infectados nas semanas que se seguiram à infecção.

TABELA VIII

Análise da variância do ajuste do modelo I.

CV	GL	SQ	QM	F
Modelo I	15	2625,88	175,06	9,99**
Tratamento	1	1,83		0,10
Semana	7	2238,92		18,25**
Tratamento x semana	7	393,00		3,20**
Resíduo	138	2419,12	17,53	
Total	153	5045,00		

$$R^2 = 0,5205$$

$$CV = 38,96\%$$

TABELA IX

Análise da variância do ajuste do modelo II.

CV	GL	SQ	QM	F
Modelo II	4	2176,95	544,24	31,05**
Tratamento	1	4,36	4,36	
Semana "linear"	2	1801,16	900,58	51,37**
Semana "quadrática" (infectados)	1	165,85	165,85	9,46**
Falta de ajuste	11	448,93	40,81	2,33*
Resíduo	138	2419,12	17,53	
Total	153	5045,00		

$$R^2 = 0,4315$$

$$CV = 40,82\%$$

4. Peso do baço em função das semanas de infecção (PB)

A evolução do peso do baço nos camundongos infectados por S. mansoni foi significativamente diferente quando comparada com a dos animais controles.

Através de análises estatísticas verificou-se que a evolução do peso deste órgão nos animais portadores da infecção pelo S. mansoni ajustava-se satisfatoriamente a uma parábola, revelando um aumento de peso com a evolução da doença (figura 4, tabelas X, XI e XII). Apesar dos animais utilizados no presente trabalho encontrarem-se ainda em pleno desenvolvimento, 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.

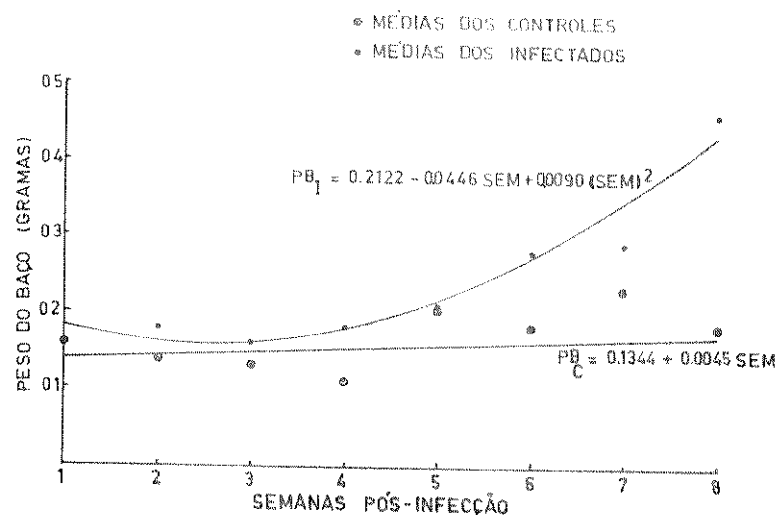


Figura 4: peso do baço dos camundongos controles e infectados nas semanas pós-infecção.

TABELA X

Análise da variância do ajuste do modelo I.

CV	GL	SQ	QM	F
Modelo I	15	1,0190	0,0670	14,19**
Tratamento	1	0,2745	0,2745	57,34**
Semana	7	0,4743	0,0678	14,15**
TratamentoXsemana	7	0,2723	0,0389	8,13**
Resíduo	138	0,6606	0,0048	
Total	153	1,6796		

 $R^2 = 0,6067$

CV = 35,22%

TABELA XI

Análise da variância do ajuste do modelo II.

CV	GL	SQ	QM	F
Modelo II	4	0,9226	0,2307	48,05**
Tratamento	1	0,0232	0,0232	4,83**
Semana "linear"	2	0,0456	0,0228	4,75**
Semana "quadrática" (infectados)	1	0,1268	0,1268	26,42**
Falta de ajuste	11	0,0964	0,0088	1,83
Resíduo	138	0,6606	0,0048	
Total	153	1,6796		

$$R^2 = 0,5493$$

$$CV = 36,28\%$$

TABELA XII

Níveis de significância dos testes t de Student para os termos linear e quadrático dos camundongos infectados e controles.

	Infectados	Controles
Linear	0,008	0,203
Quadrático	0,000	-

5. Percentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal (RF)

A percentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal 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 figura 5 e tabelas XIII e XIV. 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 comparando-se com o comportamento observado nos 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.

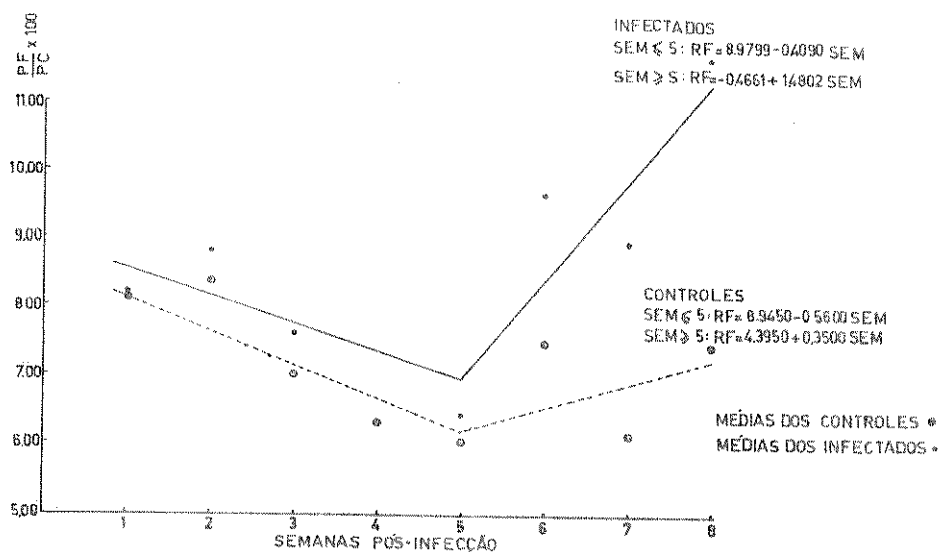


Figura 5: percentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal dos camundongos controles e infectados nas semanas pós-infecção.

TABELA XIII

Análise de variância I.

CV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	1	8,3955	8,3955	82,15*
Semanas	7	16,3498	2,3357	22,85*
TratamentoXsemana	7	7,7624	1,1089	10,85*
TratamentoXprimei- ras 5 semanas	4	0,2439	0,0610	0,60 NS
Resto	3	7,5185	2,5002	24,52*
Resíduo	139		0,1022	

Nota: os testes foram feitos ao nível 1%. Usou-se o método das médias não ponderadas para realizar o ajuste e, comparou-se a F calculada com a F de tabela com 7 graus de liberdade no denominador por ser as variâncias heterogêneas.

TABELA XIV

Análise da variância II.

CV	GL	SQ	QM	F
Semana/tratamento	14	24,1122		
Modelo	4	18,3847	4,5962	44,97*
Regressão comum	2	10,8230	5,4115	52,95*
Diferença entre regressão	2	7,5017	3,7809	7,00
Falta de ajuste	10	5,7275	0,5728	5,60 NS
Resíduo	139		0,1022	

Nota: os testes foram feitos ao nível 1%. Usou-se o método das médias não ponderadas para realizar o ajuste e, comparou-se a F calculada com a F de tabela com 7 graus de liberdade no denominador por ser as variâncias heterogêneas.

6. Leucometria

O quadro leucocitário dos camundongos infectados por S. mansoni apresentou alterações no comportamento evolutivo dos leucócitos totais (NC), neutrófilos (N) e linfócitos (L), enquanto que eosinófilos (E) e monócitos (M) evoluíram de forma semelhante neste período de 8 semanas de infecção (tabela XV).

Graficamente o comportamento evolutivo dos leucócitos totais e neutrófilos dos animais infectados ajustou-se satisfatoriamente a uma parábola (figuras 6 e 8, tabela XVI), o mesmo não acontecendo para os animais controles, nos quais foi verificada uma excessiva variação nas médias destas duas variáveis e que resultou na não representação gráfica (figuras 6 e 8, tabela XI).

Quanto à evolução, os eosinófilos e monócitos apresentaram o mesmo comportamento evolutivo, tendo sido mantidas separadas as representações gráficas apenas com a finalidade de se demonstrar as tendências (figuras 7 e 10, tabela XVI).

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

As médias dos leucogramas realizados nas oito semanas de infecção e que correspondem às representadas graficamente são apresentadas na tabela XVII.

TABELA XV

Análise de variância do ajuste do modelo I para NC e cada tipo de leucócito.

CV	GL	<u>HC</u>		<u>E</u>		<u>N</u>		<u>L</u>		<u>M</u>	
		SQ X 10 ⁶	F	SQ X 10 ⁶	F	SQ X 10 ⁶	F	SQ X 10 ⁶	F	SQ X 10 ⁶	F
Modelo I	15	984,00	5,65**	3,79	5,51**	91,00	4,32**	553,00	6,03**	4,35	3,15**
Tratamento	1	15,30	1,32	0,03	0,60	4,90	3,48	32,80	5,36*	0,32	3,44
Semana	7	714,00	8,78**	3,13	9,99**	51,70	5,26**	415,00	9,71**	2,93	4,55**
Trat. X sem.	7	268,00	3,30**	0,56	1,79	33,40	3,40**	114,00	2,66**	1,20	1,86
Resíduo	137	1590,00		6,13		193,00		838,00		12,60	1,86
Total	152	2574,00		9,83		284,00		1391,00		16,95	

TABELA XVI

Análise de variância do ajuste do modelo II para NC e cada tipo de leucócito.

CV	GL	NC			GL	E			GL	N			GL	L			GL	M		
		SQ	F			SQ	F			SQ	F			SQ	F			SQ	F	
Mod. II	4	673,00	14,49**		4	3,16	17,65**		5	45,30	6,44**		3	349,00	19,01		4	2,81	7,64**	
Tratam.	1	9,66	0,83		1	0,006	0,13		1	7,98	5,68*		1	2,57	0,42		1	0,09	0,95	
Senana "linear"	2	268,00	11,55**		2	0,59	6,58**		2	13,70	4,87**		2	322,00	26,31**		2	1,29	7,01**	
Senana "quadrat."	1	54,50	4,70*		1	0,25	5,48*		2	21,10	7,49**		-	-	-		1	0,37	4,00*	
Falta de ajuste	11	311,00	2,44**		11	0,54	1,10		10	4,58	3,26**		12	204,00	2,78**		11	1,54	1,52	
Resíduo	137	1590,00			137	6,13			137	193,00			137	838,00			137	12,60		

Nota: SQ X 10⁶

TABELA XVII

Médias dos leucogramas nas semanas pós-infecção (células por mm^3 de sangue)

Semanas	Leucócitos		Eosinófilos		Neutrófilos		Linfócitos		Monócitos	
1 ^a	5.925,00	7.100,00	130,95	72,40	1.689,40	2.370,15	3.791,30	4.339,25	313,25	318,20
2 ^a	7.005,00	6.483,30	271,65	134,89	957,75	1.082,67	5.304,90	4.815,61	470,70	450,17
3 ^a	10.690,00	8.060,00	196,20	238,50	1.495,95	1.137,85	8.546,40	6.314,45	451,45	369,20
4 ^a	7.570,00	7.365,00	196,15	272,25	691,35	979,05	6.285,30	5.803,15	397,20	310,60
5 ^a	10.577,70	7.437,50	270,50	136,20	2.874,94	1.888,00	6.773,06	5.031,38	659,22	381,88
6 ^a	13.639,00	9.075,00	273,83	328,25	2.613,94	2.170,40	9.867,22	6.133,75	883,89	442,60
7 ^a	9.735,00	14.135,00	409,15	525,35	1.114,90	2.955,05	7.740,45	10.004,25	470,50	650,35
8 ^a	11.860,00	12.361,00	471,20	690,67	1.290,95	3.045,56	9.395,30	7.886,67	702,55	736,22

Nota: os valores correspondentes aos animais infectados estão situados à direita das colunas.

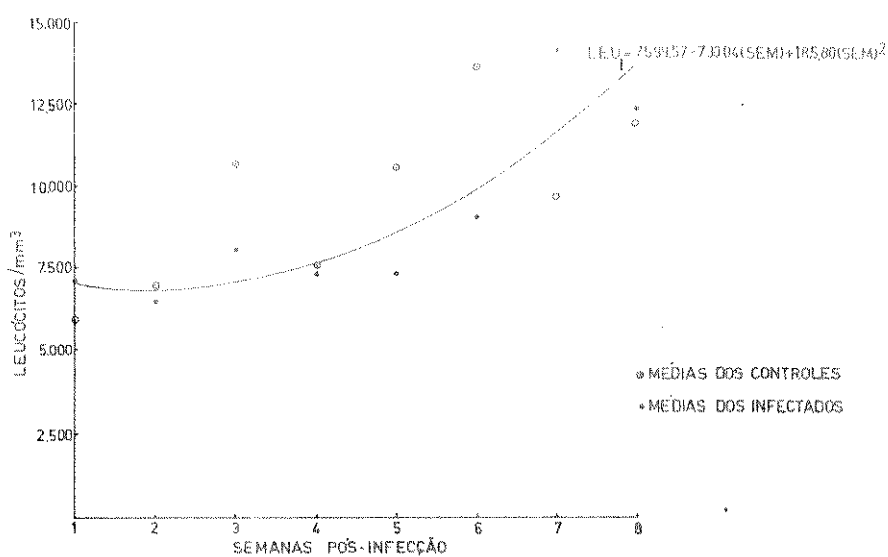


Figura 6: número absoluto de leucócitos totais por mm^3 de sangue nos animais controles e infectados nas semanas pós-infecção.

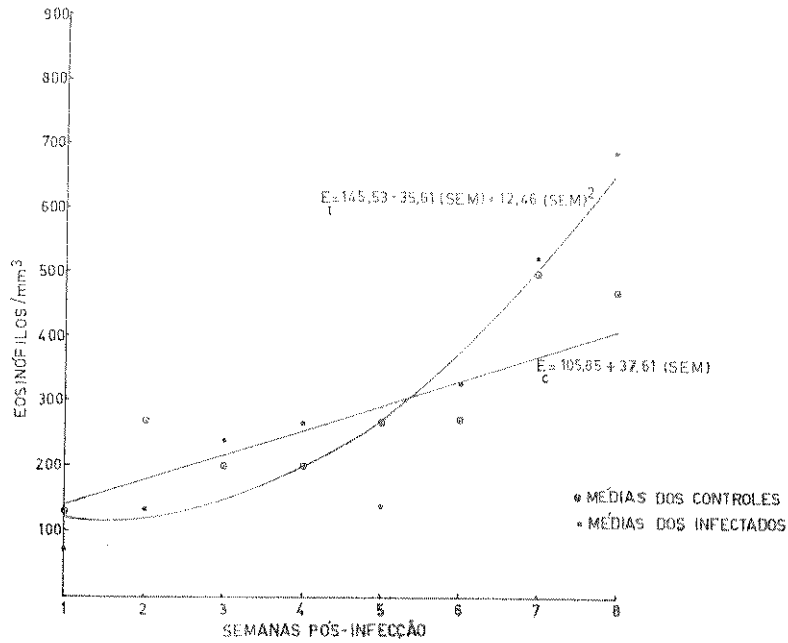


Figura 7: número absoluto de eosinófilos por mm³ de sangue nos animais controles e infectados nas semanas pós-infecção.

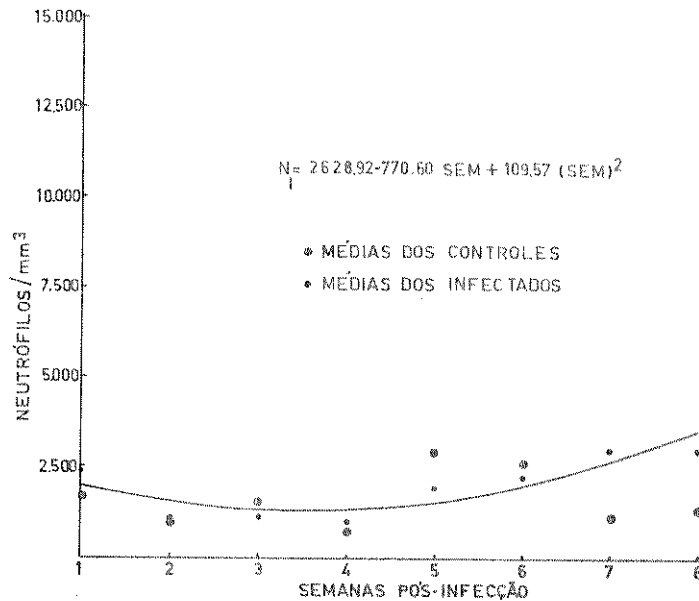


Figura 8: número absoluto de neutrófilos por mm³ de sangue nos animais controles e infectados nas semanas pós-infecção.

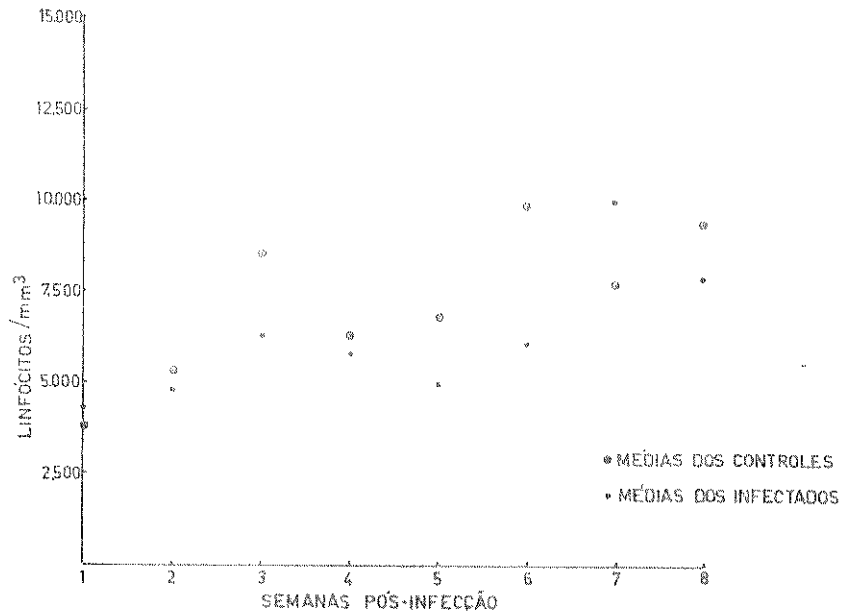


Figura 9: número absoluto de linfócitos por mm³ de sangue nos animais controles e infectados nas semanas pós-infecção.

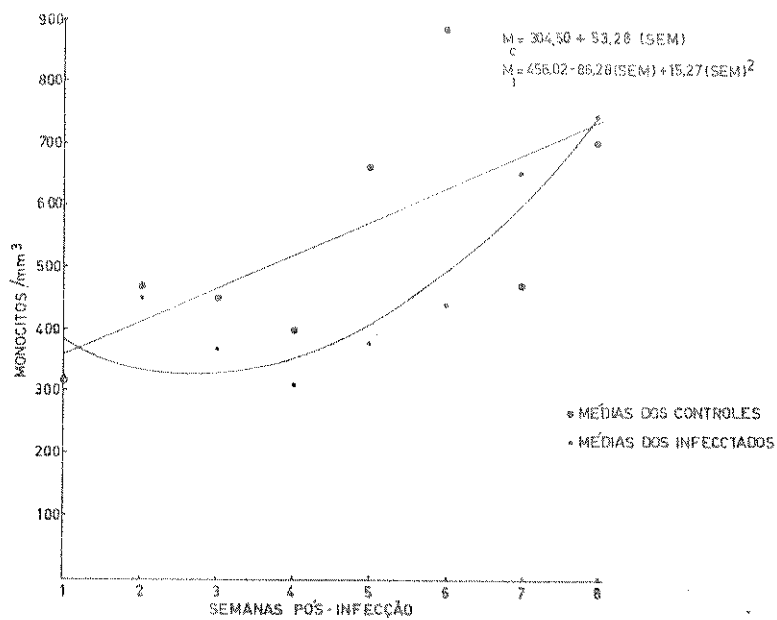


Figura 10: número absoluto de monócitos por mm³ de sangue nos animais controles e infectados nas semanas pós-infecção.

7. Histopatologia do baço.

Os exames histopatológicos com cortes do baço dos animais infectados por S. mansoni na fase pré-postural da infecção, revelaram hiperplasia da polpa branca de intensidade variável na 1^a semana de infecção provavelmente refletindo a reatividade do tecido linforreticular deste órgão ao primeiro contacto com os antígenos do trematódeo. Também nesta semana foram observados casos esporádicos de congestão leve e moderada da polpa vermelha.

O período compreendido entre as 2^a e 5^a semanas caracterizou-se predominantemente pela ausência de alterações histopatológicas, ocorrendo porém casos esporádicos de hiperplasia ou hipoplasia da polpa branca, ou de hiperemia da polpa vermelha, de graus de intensidade variáveis (figuras 11, 12 e 13).

A partir da 6^a semana, época em que a oviposição está plenamente estabelecida, até a 8^a semana de infecção o quadro histopatológico se fez representar por hiperplasia intensa da polpa branca, congestão moderada ou intensa da polpa vermelha e de forma menos frequente, hipertrofia da polpa branca (figura 14). Estes achados provavelmente estão associados ao estímulo antigênico provocado pelos ovos do S. mansoni e ao bloqueio do fluxo sanguíneo portal no fígado, contribuindo para a hiperplasia do tecido linforreticular e congestão do baço respectivamente.

Na 8^a semana pós-infecção foram observados dois baços apresentando reações granulomatosas circundando ovos de S. mansoni, observando-se entre as células presentes nes

tas reações, fibroblastos e células gigantes. O tricrômico de Masson revelou fibrose intensa em um destes baços enquanto que leve no outro (figuras 15, 16 e 17).

Figura 11: baço da 1^a semana pós-infecção - hiperplasia e hipertrofia de polpa branca (H.E., X512).

Figura 12: baço da 2^a semana pós-infecção - estase sanguínea dos seios esplênicos; pigmento de hemosiderina e alguns megacariócitos (H.E., X 512).

Figura 11

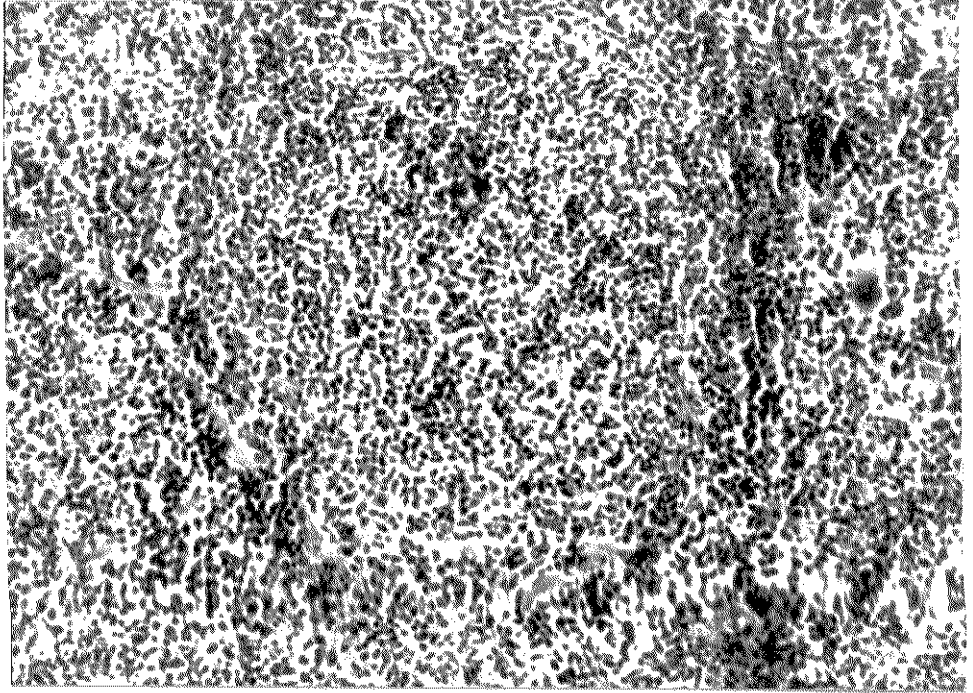


Figura 12

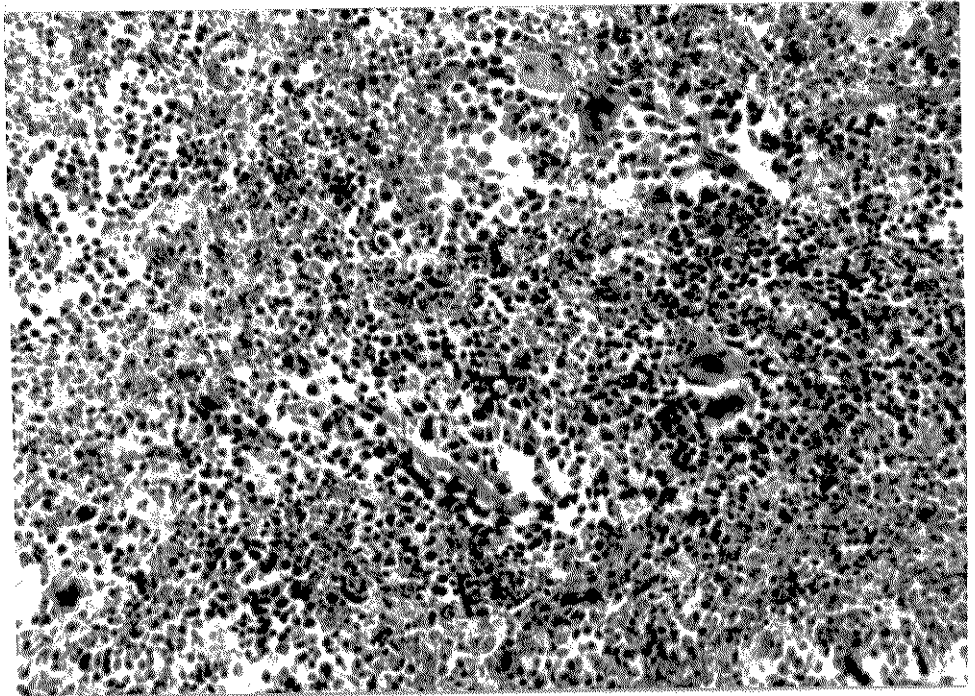


Figura 13: baço da 3^a semana pós-infecção - folículo de Malpighi atrófico com aparente hiperplasia de megacariócitos (H.E., X 512).

Figura 14: baço da 6^a semana pós-infecção - congestão acentuada da polpa vermelha, numerosos megacariócitos e restos de trabecula conjuntiva (H.E., X 512).

Figura 13

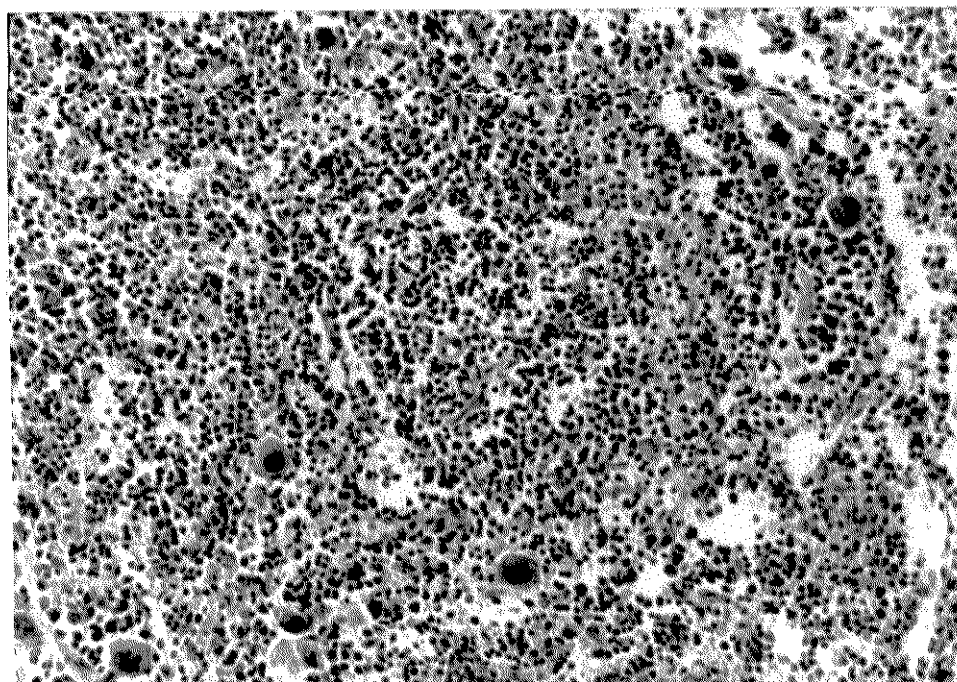


Figura 14

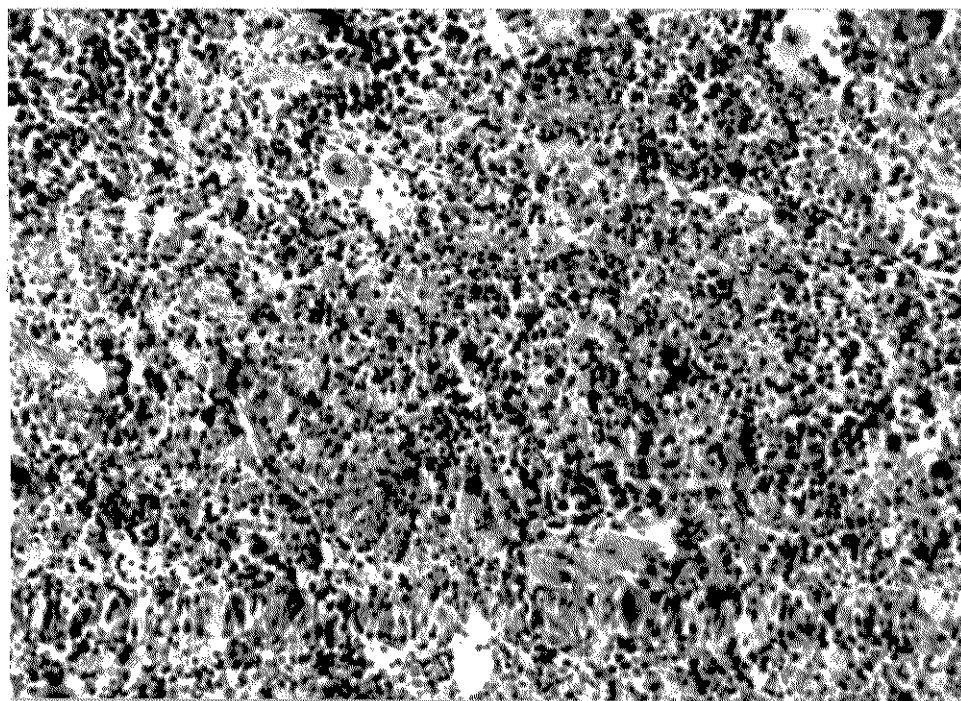


Figura 15: baço da 8^a semana pós-infecção - granuloma com fi
brose que se acentua do centro para a periferia ,
relativa hipocelularidade e necrose recente de
localização central (Tricrômico de Masson, X 208)

Figura 16: baço da 8^a semana pós-infecção - a foto anterior
em maior aumento, mostrando numerosas células e-
pitelioides, um gigante-celular e restos de cas-
ca de ovo de S. masoni (Tricrômico de Masson ,
X 512).

Figura 15

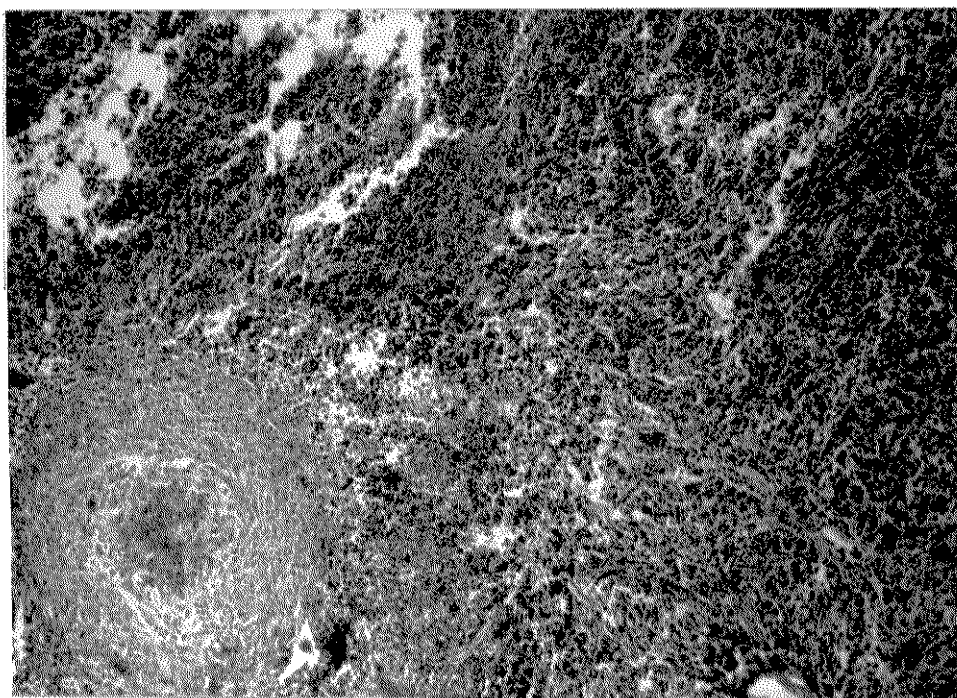


Figura 16

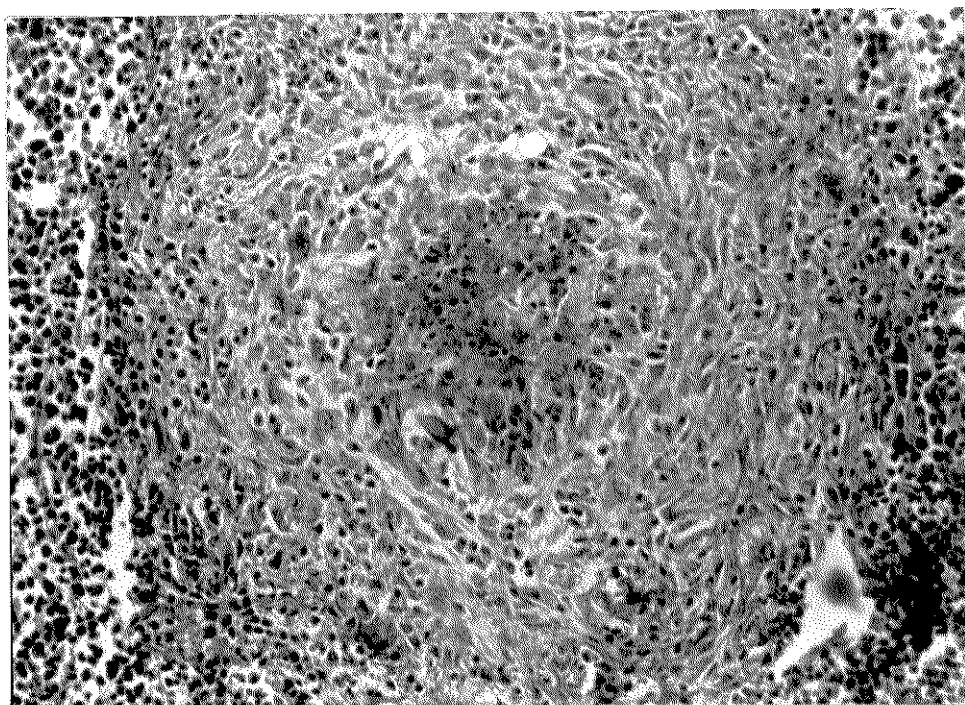
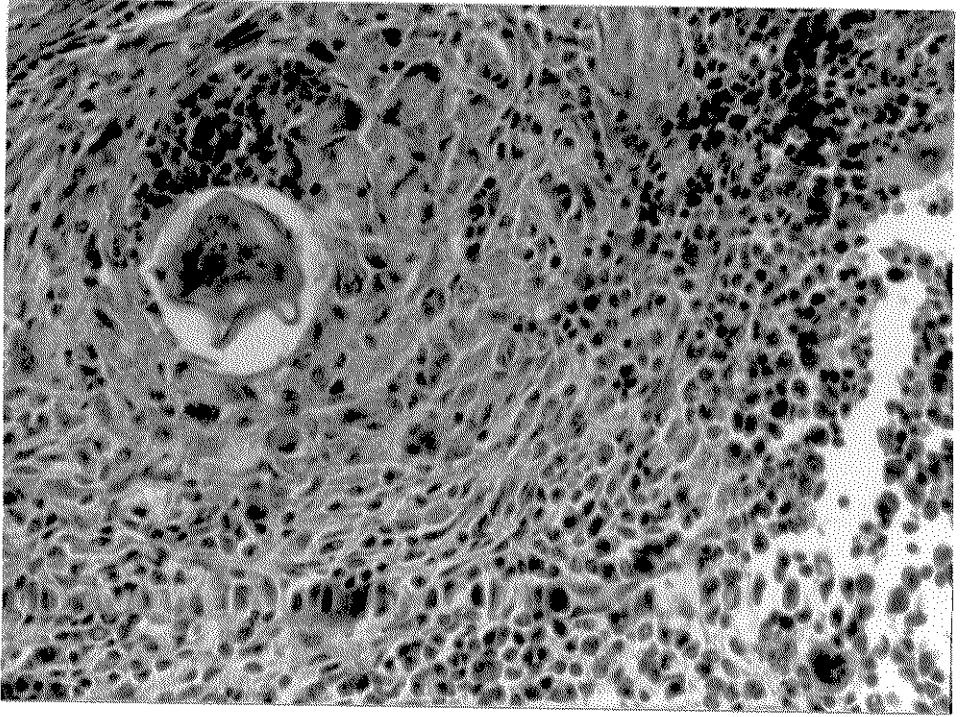


Figura 17: baço da 8ª semana pós-infecção - granuloma com ovo embrionado central, notando-se numa das áreas adjacentes, infiltrado predominantemente eosinófilico, numerosos gigante-celulares ao lado de numerosas células epitelioides. Nota-se no angulo superior e inferior direito a presença de infiltrados linfohistioplasmocitários (H.E., X 512).

Figura 17



8. Histopatologia do fígado

As análises histopatológicas do fígado dos animais infectados na fase pré-postural da infecção por S. mansoni revelaram hiperemia e ectasia dos ramos portais, controlobulares e sinusoides, de graus de intensidade variáveis, apresentando com maior frequência hiperemia na 1^a semana enquanto a ectasia se fez mais frequente nas 3^a e 4^a semanas (figuras 18 a 25).

A hiperplasia do SRE foi observada desde a 1^a semana de infecção, sendo porém mais frequente nas 3^a e 4^a semanas onde predominaram as formas moderada e intensa (figuras 18, 19, 20, 22, 25). Infiltrados multifocais, não raro alguns de localização perivascular, apresentando frequência e composição celular variáveis foram observados neste período, notando-se porém que o tipo linfohistioeosinófilico se fez presente em cerca de 50% dos órgãos examinados nas 3^a e 4^a semanas (figuras 19, 20, 22, 24 e 26).

Paralelamente à estes achados foram observadas alterações morfológicas ao nível de hepatócitos, principalmente na 1^a semana de infecção, tais como diversificação no tamanho do núcleo, picnose nuclear e vacuolização citoplasmática (figuras 18, 19, 20, 21, 23 e 26), além de necrose hepatocitária em alguns fígados, em alguns casos focal e em outros difusa, apresentando maior frequência na 1^a semana de infecção (figuras 22, 23, 24 e 26).

O quadro histopatológico na 5^a semana apresentou a presença de infiltrados linfohistioeosinófilicos em cerca da metade dos órgãos examinados, hiperplasia intensa do SRE e casos esporádicos de necrose hepatocitária (figura 27).

Em apenas um fígado examinado foi observado a presença de ovo de S. mansoni com infiltrado linfocitocitário adjacente (figura 28).

A histopatologia do fígado a partir da 6^a semana de infecção se fez representar por hiperplasia intensa do SRE, presença de numerosos granulomas e menos frequentemente, ectasia moderada ou intensa dos ramos portais, centrolobulares e sinusoides.

As reações granulomatosas consistiram de infiltrados linfocitocitocitários, linfocitoplasmocitários ou linfocitocitários, observando-se o comparecimento simultâneo destes tres tipos nos órgãos examinados, predominando às vezes um deles (figuras 29, 30, 31 e 32). Além das células descritas nos infiltrados acima referidos, foi observado nas reações granulomatosas células epiteliais, com frequência e intensidade variáveis; células gigantes, de forma mais pronunciada na 8^a semana de infecção, assim como hiperplasia moderada a intensa de fibroblastos na quase totalidade dos casos (figuras 30, 31, 32, 33 e 34).

A maioria dos cortes dos fígados apresentou áreas de necrose focal de intensidade variáveis enquanto que a quase totalidade apresentou fibrose, predominando as formas moderada e intensa (figuras 30, 31, 32, 33 e 34).

Figura 18: fígado da 1^a semana pós-infecção - hiperplasia do SRE; mitoses hepatocitárias; hiperemia dos ramos portais; vacuolização citoplasmática de hepatócitos e leve desarranjo trabecular (H.E., X 512).

Figura 19: fígado da 1^a semana pós-infecção - infiltrado pe riportal predominantemente linfohistiocitário, no tando-se porém a presença de alguns eosinófilos e neutrófilos; hiperplasia de intensidade variada do SRE; nicnose nuclear em alguns hepatócitos; ec tasia e congestão de alguns sinusoides (H.E. , X 512)

Figura 18

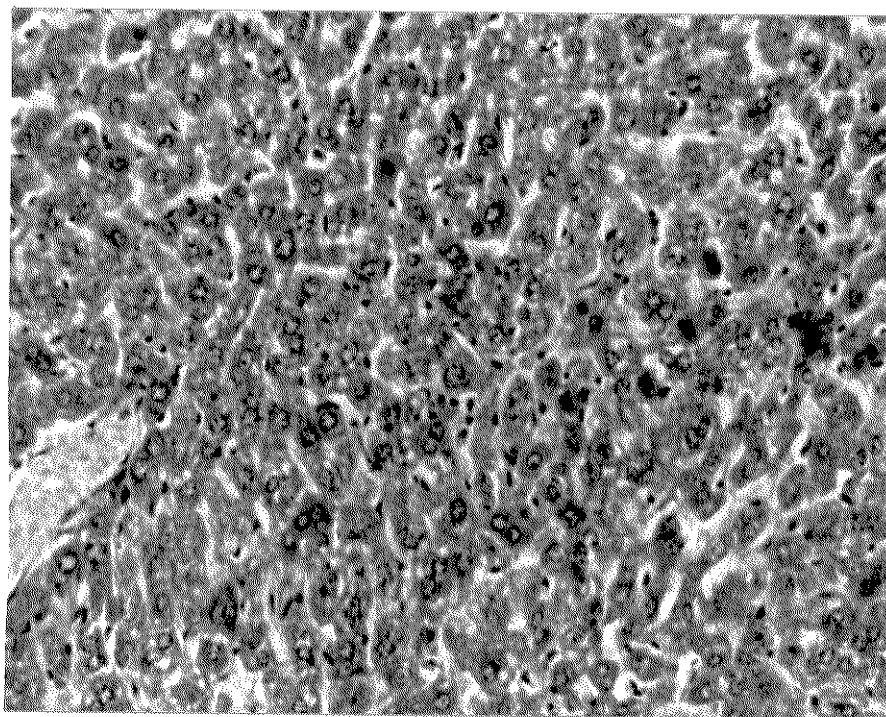


Figura 19

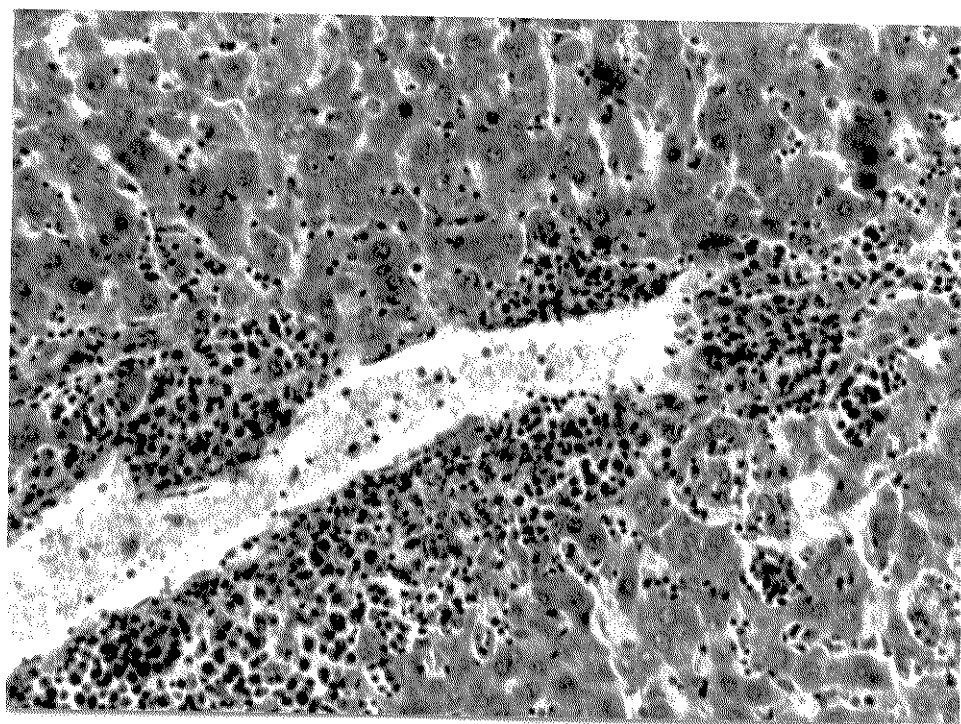


Figura 20: fígado da 1^a semana pós-infecção - infiltrados multifocais variando de intensidade de área para área, predominantemente linfohistioneutrofilico; hiperemia de capilares sinusoides; hiper cromatismo do núcleo de alguns hepatócitos e hiperplasia do SRE (H.E., X 512).

Figura 21: fígado da 1^a semana pós-infecção - ectasia intensa dos capilares sinusoides com desarranjo trabecular, hiper cromatismo nuclear de alguns hepatócitos e redução citoplasmática de algumas destas células (H.E., X 512).

Figura 20

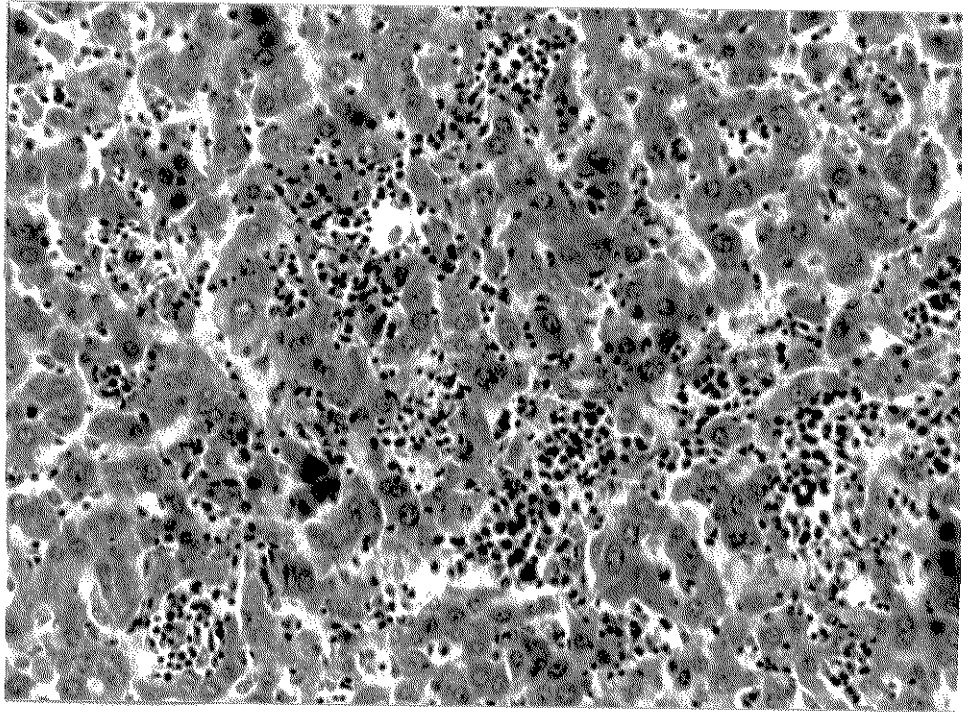


Figura 21

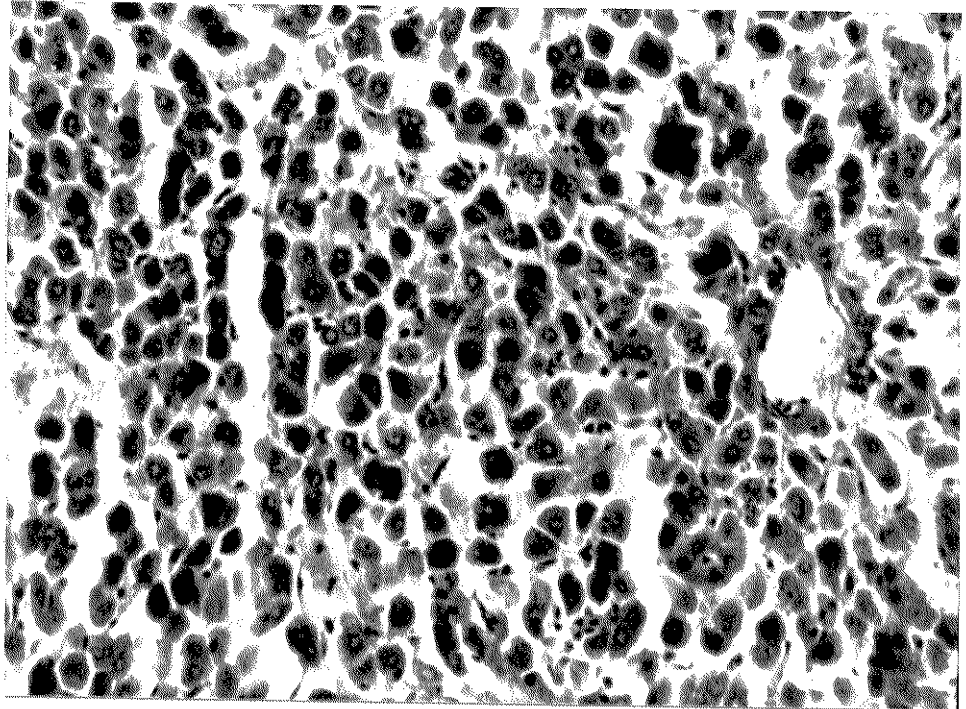


Figura 22: fígado da 2^a semana pós-infecção - hiperemia dos capilares sinusoides; hiperplasia do SRE; necrose hemorrágica no centro da foto; infiltrado focal linfohistiocitário no angulo esquerdo inferior; foco de necrose incipiente hepatocitária no angulo inferior direito (h. E., X 512).

Figura 23: fígado da 2^a semana pós-infecção - áreas massivas de necrose hialina, notando-se alterações regressivas de alguns hepatócitos tais como picnose nuclear, cariorrexis e cariólise; na parte superior da foto observa-se discretas áreas hemorrágicas ao lado de alguns hepatócitos e intensa ectasia e hiperemia de capilares sinusoides (angulo superior esquerdo) (H.E., X 512).

Figura 22

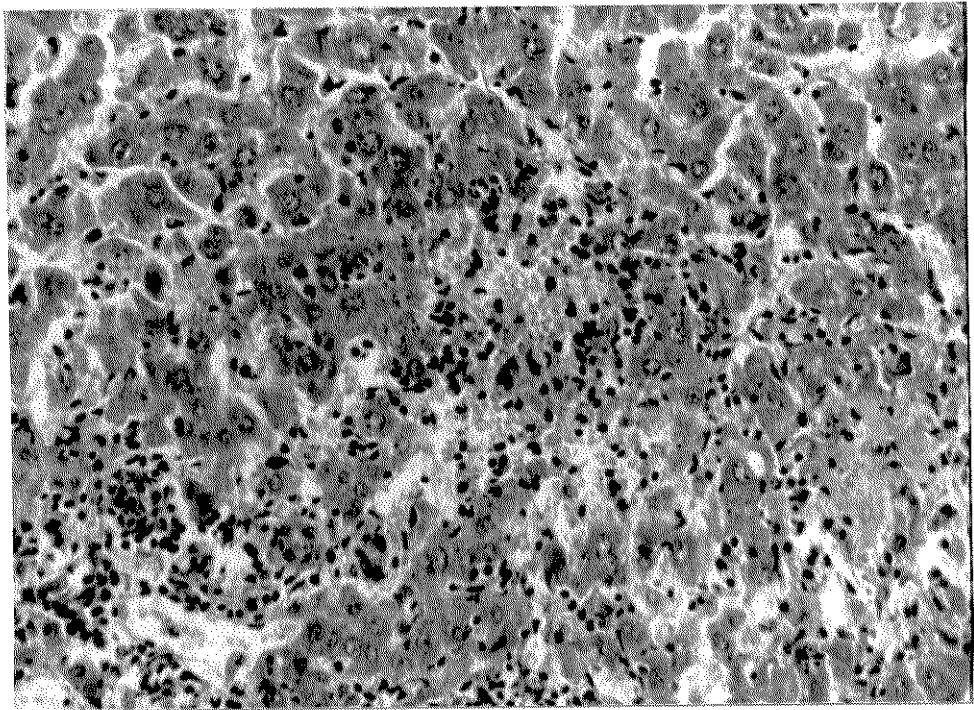


Figura 23

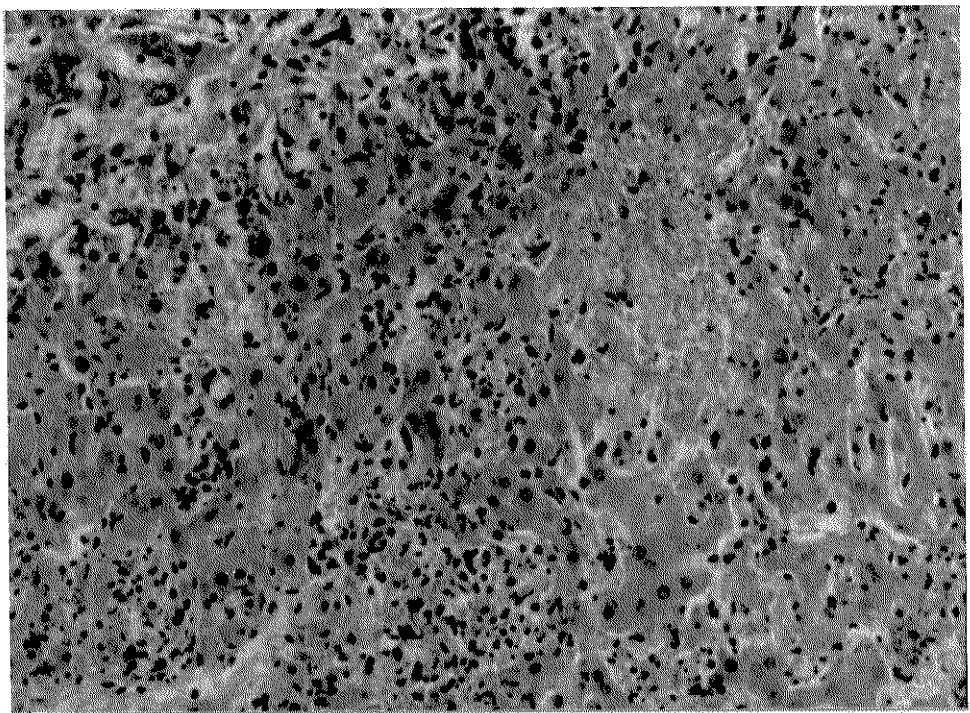


Figura 24: fígado da 3^a semana pós-infecção - área extensa de necrose, notando-se nas adjacências infiltrados predominantemente linfohistioeosinófilicos; hepatócitos com multivacuolização citoplasmática em algumas regiões (H.E., X 512).

Figura 25: fígado da 4^a semana pós-infecção - hiperplasia intensa do SRE; hiperemia e ectasia dos vasos portais (H.E., X 512).

Figura 24

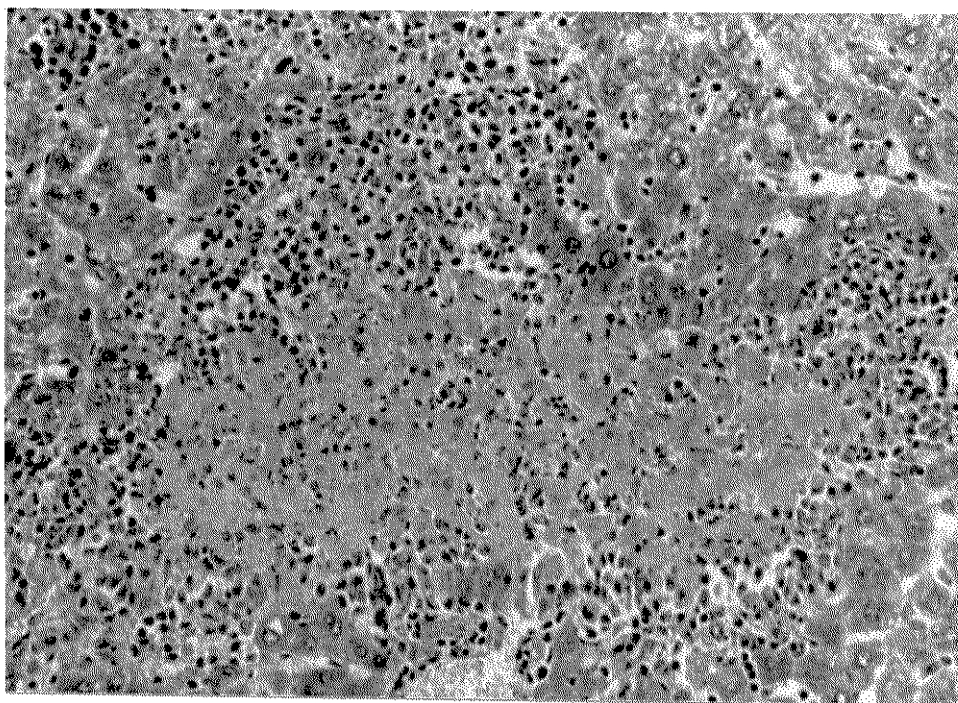


Figura 25

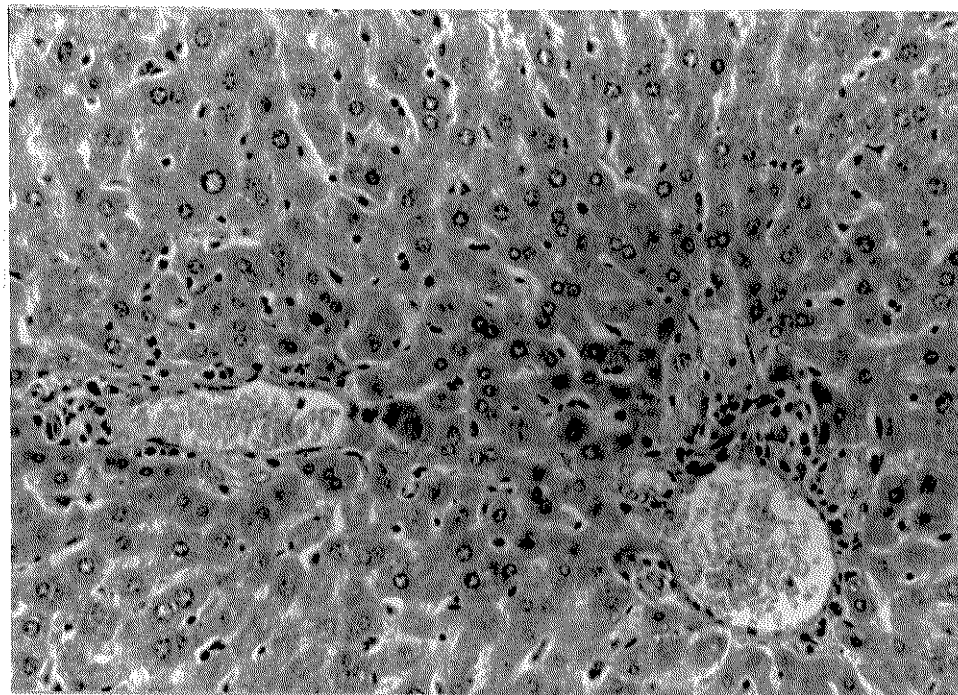


Figura 26: fígado da 4^a semana pós-infecção - focos, incipientes de necrose; ectasia intensa dos capilares sinusoides e ramos portais; infiltrados linfohistioeosinófilicos de localização lobular, perivascular e periductal (H.E., X 512).

Figura 27: fígado da 5^a semana pós-infecção - área extensa de necrose incipiente comprometendo a quase totalidade dos hepatócitos; ausência de sinusoides em grande área; presença de uma veia controlobular ectásica com área de necrose adjacente recente (H.E. , X 512).

Figura 26

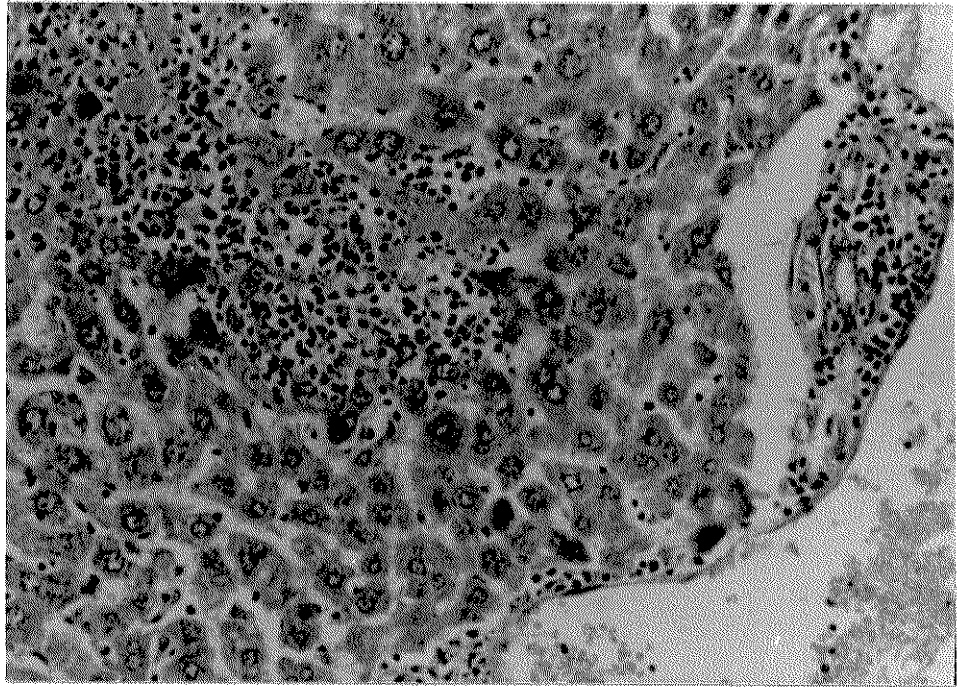


Figura 27

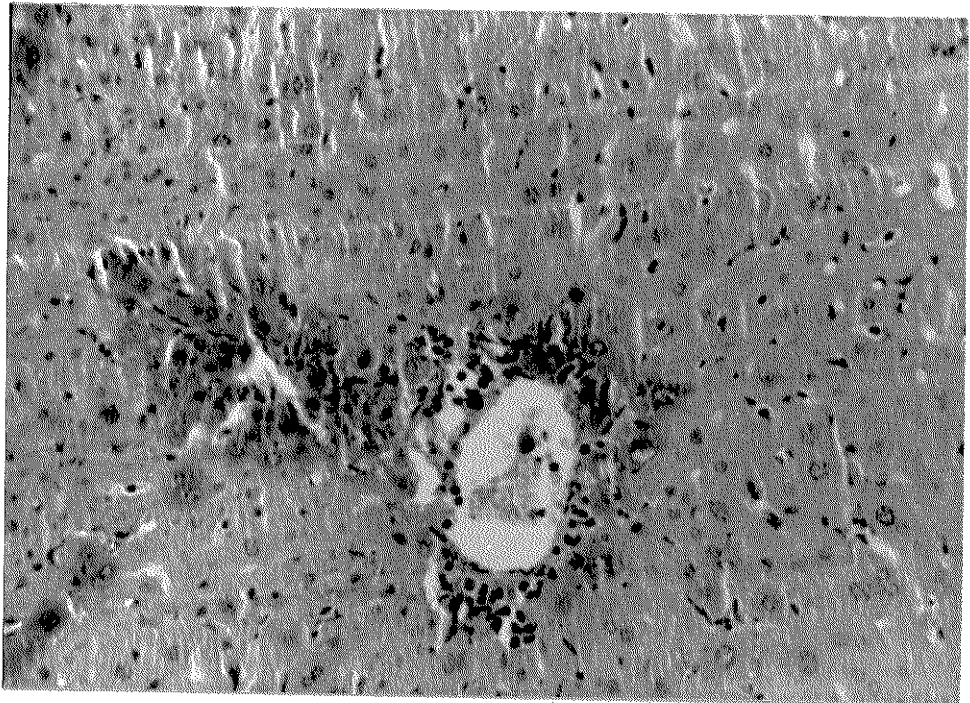


Figura 28: fígado da 5^a semana pós-infecção - presença de ovo embrionado com leve infiltrado linfohistiocitário adjacente (H.E., X 512).

Figura 29: fígado da 6^a semana pós-infecção - presença de ovo embrionado com moderada reação celular linfocitohistioeosinófilica; moderada hiperplasia do SRE (H.E., X 512).

Figura 28

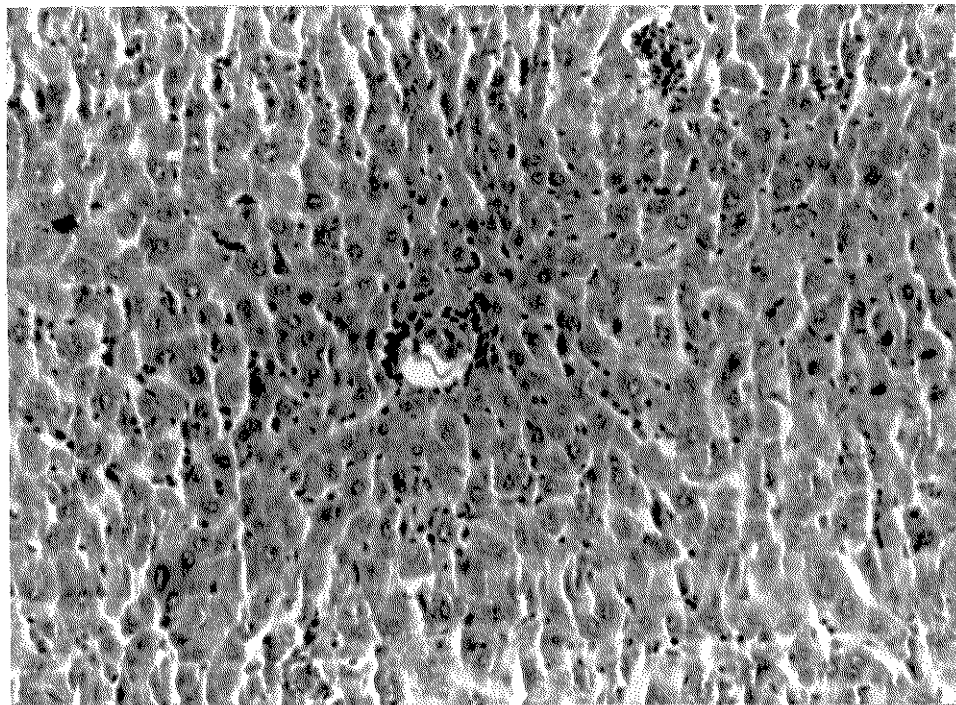


Figura 29

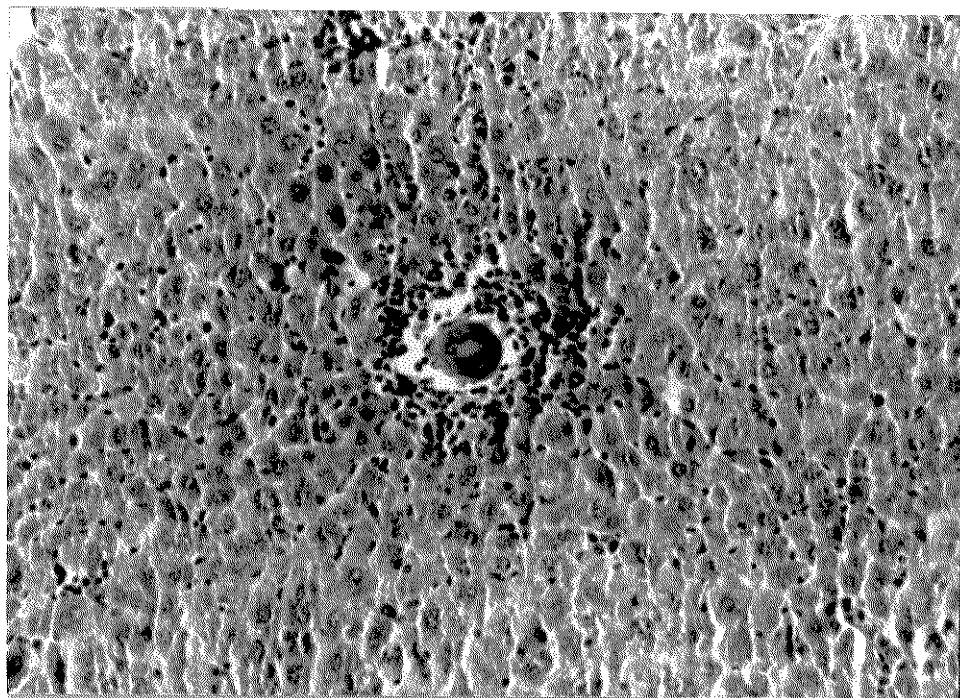
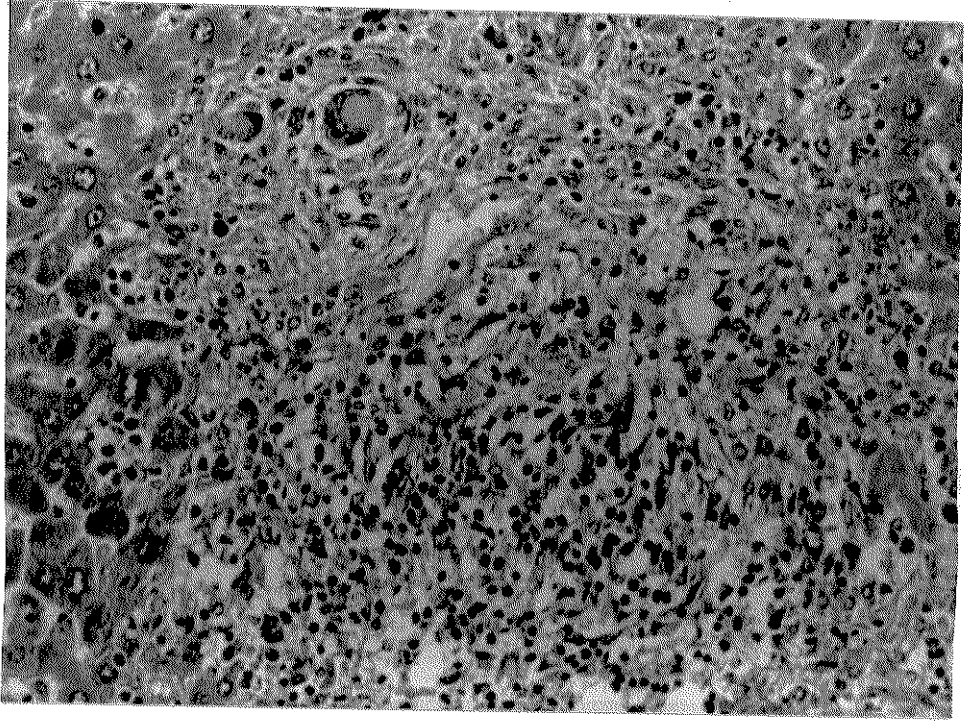


Figura 30: fígado da 6^a semana pós-infecção - granuloma com reação tipo corpo estranho; hiperplasia de fibroblastos; presença de algumas células epitelioides; infiltrado predominantemente linfocitário; ausência de hepatócitos na região descrita e pequenas áreas de fibrose incipiente (Tricrômico de Masson, X 512)

Figura 31: fígado da 6^a semana pós-infecção - reação granulomatosa com fibrose; infiltrado linfocitário; células epitelioides; hiperplasia fibroblástica moderada (Tricrômico de Masson, X 512).

Figura 30



111

Figura 31

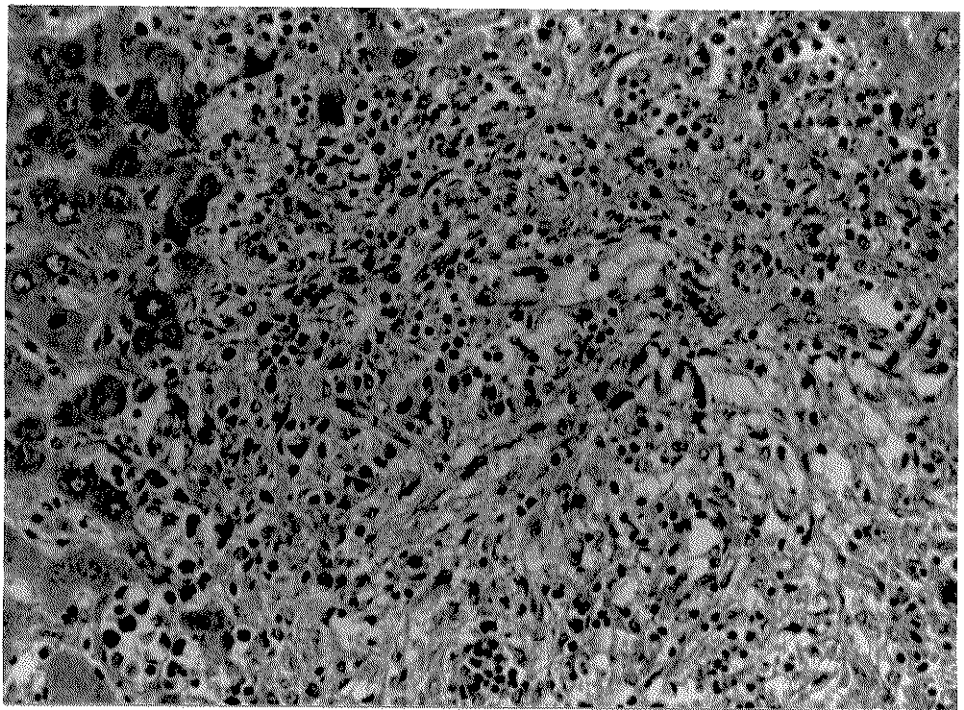


Figura 32: fígado da 6^a semana pós-infecção - granuloma com fibrose periférica moderada, reação gigante-celular, presença de células epitelioides e infiltração linfohistiocitária nas adjacências do ovo; as áreas hepáticas adjacentes mostram ectasia moderada dos capilares sinusoides com acentuada hiperplasia do SRE (Tricrômico de Masson, X 512).

Figura 33: fígado da 7^a semana pós-infecção - área central de hepatócitos com citoplasma multivacuolizado, ectasia leve de sinusoides, fibrose reacional difusa de intensidade variável em torno da área. Nota-se também a presença de área circunscrita de necrose recente e presença de alguns gigante-celular (Tricrômico de Masson, X 512).

Figura 32

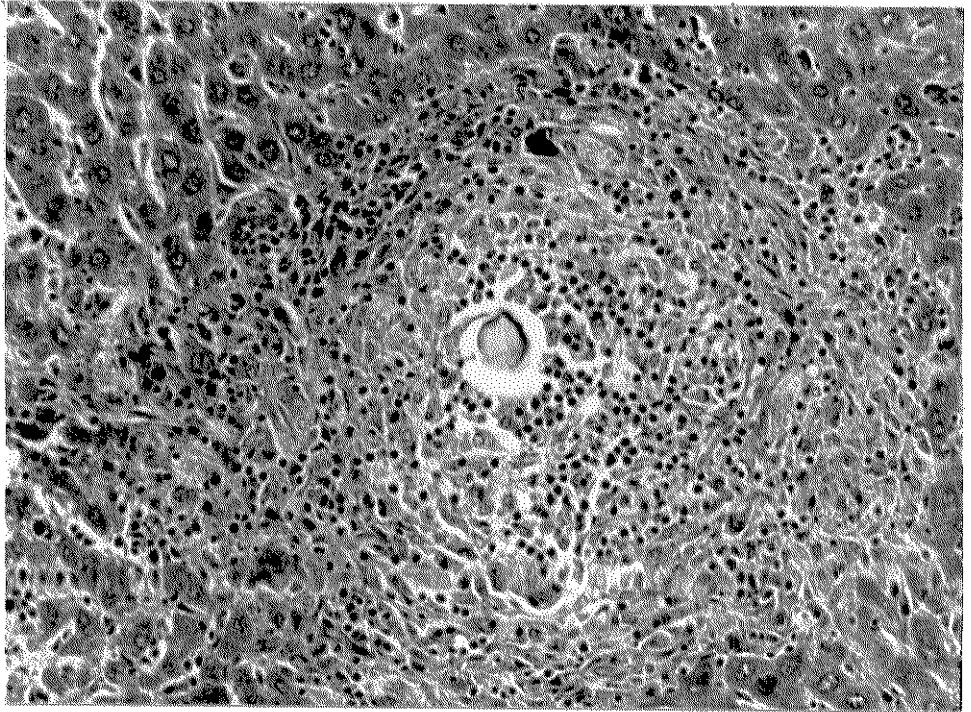


Figura 33

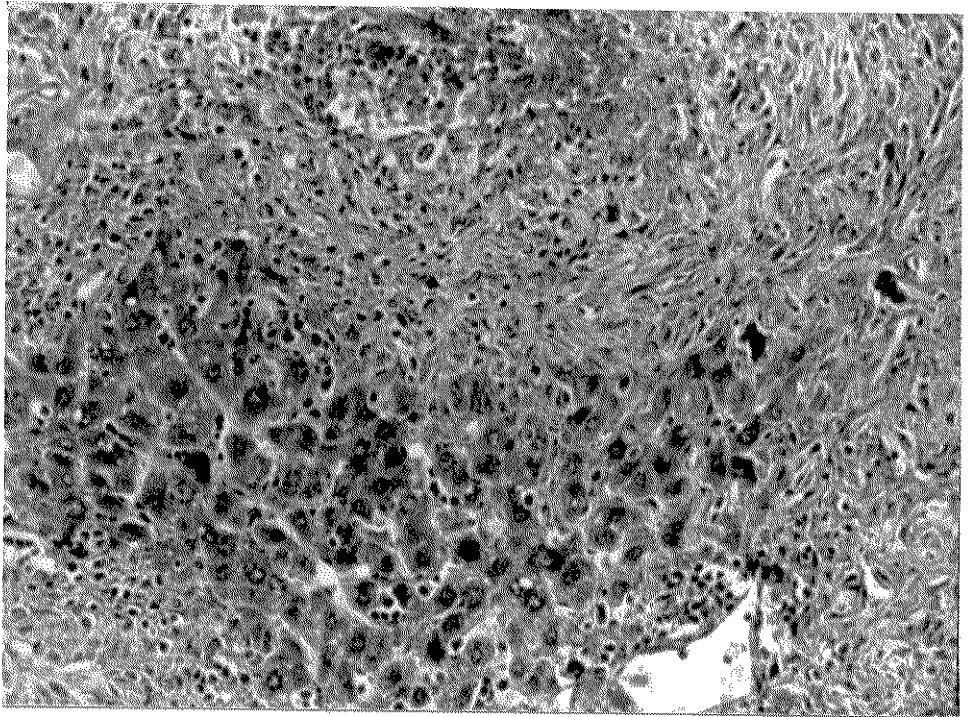
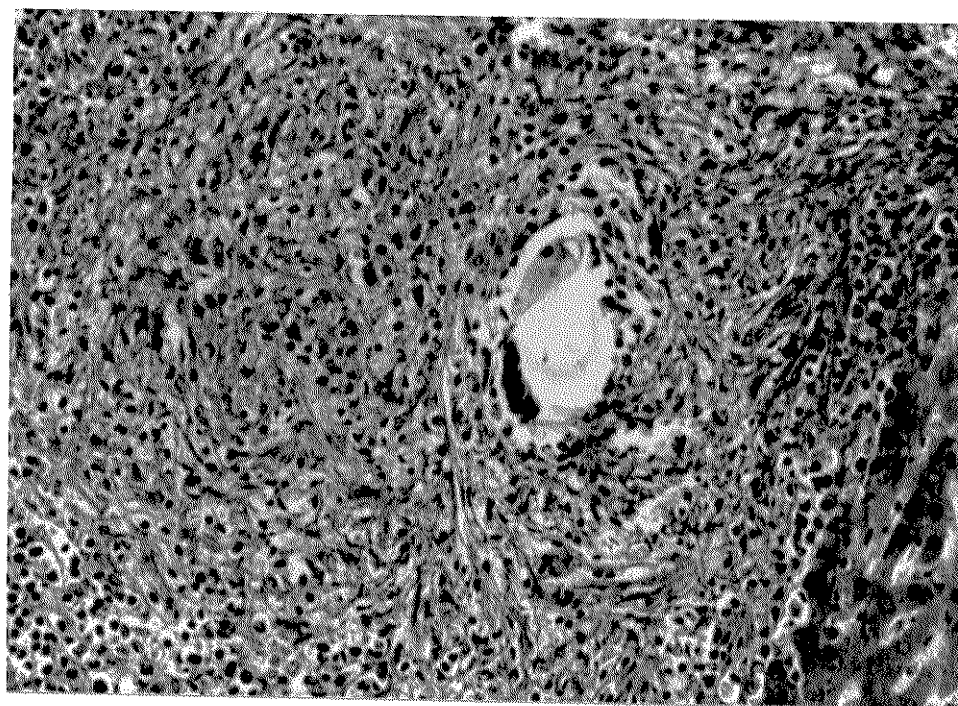


Figura 34: fígado da 8^a semana pós-infecção - fibrose intensa variando de intensidade de área para área, presença de hepatócitos no ângulo inferior direito, reação granulomatosa difusa com esboço central de granuloma, infiltrado linfocitocitário de localização central e periférica, restos ovulares, alguns dos quais calcificados (Tricrômico de Masson, X 512).

2767

Figura 34



9. Determinação dos níveis de proteínas séricas totais

Os níveis de proteínas séricas totais nas semanas pós-infecção não diferiram significativamente quando comparados os resultados das dosagens efetuadas semanalmente com o "pool" dos soros dos animais infectados e controles (tabela XVIII). A análise estatística realizada através do método não-paramétrico de WILCOXON apresentou o valor de T igual a 59 (valor correspondente à somatória dos "ranks" das dosagens semanais dos animais controles), sendo portanto não significativo ao nível de 5%.

A relação entre os níveis de proteínas séricas totais dos animais infectados e controles, nas oito semanas que se seguiram à infecção, apresentou valores compreendidos entre 0,9 e 1,15 (figura 35 e tabela XVIII), sugerindo que o aumento na concentração de alguns componentes séricos, resultante da infecção pelo S. mansoni, é compensado fisiologicamente, não refletindo na concentração proteica sérica total.

TABELA XVIII

Dosagem de proteínas séricas totais (mg/ml).

Semanas pós-infecção	Em animais infectados	Em animais controles	Relação I/C
1 ^a	55	48	1.15
2 ^a	60	58	1.03
3 ^a	56	60	0.93
4 ^a	58	53	1.09
5 ^a	61	55	1.11
6 ^a	62	60	1.03
7 ^a	50	52	0.96
8 ^a	73	66	1.11

10. Determinação dos níveis de albumina sérica.

Os níveis de albumina sérica, determinados por imuno-elektroforese quantitativa no "pool" semanal dos soros dos camundongos controles e infectados não diferiram significativamente quando analisadas as oito semanas pelo método não-paramétrico de WILCOXON, apresentando um valor de T igual a 50,5.

A relação entre o nível de albumina sérica dos animais infectados e o apresentado pelos animais controles, em cada semana isoladamente, apresentou-se diminuída nas 5^a, 6^a e 7^a semanas, revelando um decréscimo na concentração desta proteína nos soros dos animais portadores da infecção por S. mansoni neste período (figura 36 e tabela XIX), retornando à níveis normais na 8^a semana de infecção. Aparentemente a hipoalbuminemia observada nestas semanas de infecção está associada com a oviposição do parasito, sendo porém superada fisiologicamente pelo hospedeiro à medida que a infecção evolui.

TABELA XIX

Níveis de albumina sérica determinados por "Rocket Immuno-electrophoresis" (altura em mm).

Semanas pós-infecção	Em animais infectados	Em animais controles	Relação I/C
1 ^a	18	19	0.95
2 ^a	21	20	1.05
3 ^a	19	20	0.95
4 ^a	22	20	1.10
5 ^a	16	21	0.76
6 ^a	17	24	0.71
7 ^a	15	21	0.71
8 ^a	20	22	0.91

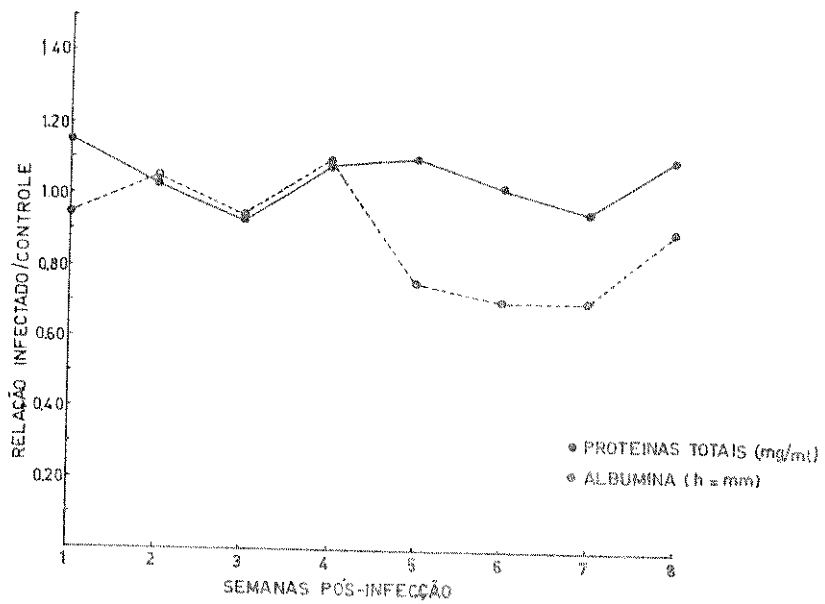


Figura 35: relação entre os níveis de proteínas séricas totais e de albumina apresentados pelos camundongos infectados e controles nas semanas pós-infecção.

11. Análise do perfil eletroforético.

Os perfis eletroforéticos dos soros dos camundongos infectados, determinados por imunoeletroforese cruzada, quando comparados aos dos animais controles apresentaram alterações na concentração de alguns componentes séricos em função do tempo de infecção.

As alterações mais evidentes correram por conta de quatro componentes, sendo que dois destes possuíam mobilidade eletroforética na região de gama-globulinas enquanto que os outros dois migravam na região de beta-globulinas. Com a finalidade de facilitar a visualização das alterações, estes componentes foram arbitrariamente designados com os números 1, 2, 3 e 4, em ordem crescente de migração no sentido anódico do campo elétrico em que se realizou a corrida eletroforética em primeira dimensão.

Na fase pré-postural da infecção por S.mansoni os componentes 1 e 2 apresentaram-se nas mesmas condições que os seus correspondentes nos soros controles nas 1^a, 2^a e 3^a semanas, notando-se porém uma diminuição na concentração dos mesmos na 4^a semana de infecção (figuras 36 a 39). No que se relaciona aos componentes 3 e 4, estiveram aparentemente aumentados nas 1^a e 2^a semanas, retornando a níveis normais após este período, com exceção do componente 4 que registrou um novo aumento na 4^a semana de infecção (figuras 36 a 39).

Além do aparente desdobramento do componente 4, observado tanto nos infectados como nos controles, a 5^a semana registrou uma diminuição no componente 1 da região de gama-globulinas e de forma menos evidente, modificações em

alguns componentes da região de alfa-globulinas (figura 40).

Caracterizada a oviposição e o subsequente aparecimento de granulomas hepáticos, foi verificado um aumento progressivo dos componentes 1 e 2 da região de gama e dos componentes 3 e 4 da região de beta-globulinas (figuras 41, 42 e 43). Com relação à região de alfa-globulinas alguns componentes estiveram aparentemente aumentados nas 6^a e 7^a semanas de infecção (figuras 41 e 42).

Possivelmente os componentes designados arbitrariamente com os números 1, 2, 3 e 4 correspondem à imunoglobulinas não apenas pela mobilidade eletroforética como também pelas modificações apresentadas durante a infecção. Considerando tal suposição como verdadeira existiriam dois estímulos antígenicos ao nível humoral durante a infecção, o primeiro imediatamente após a infecção do hospedeiro pelo S. mansoni e que aparentemente se localiza em imunoglobulinas com mobilidade na região de beta enquanto que o segundo estímulo, aparentemente mais efetivo, seria originado pela presença dos ovos do parasito e envolveria além das imunoglobulinas com mobilidade na região beta, duas outras com mobilidade em gama.

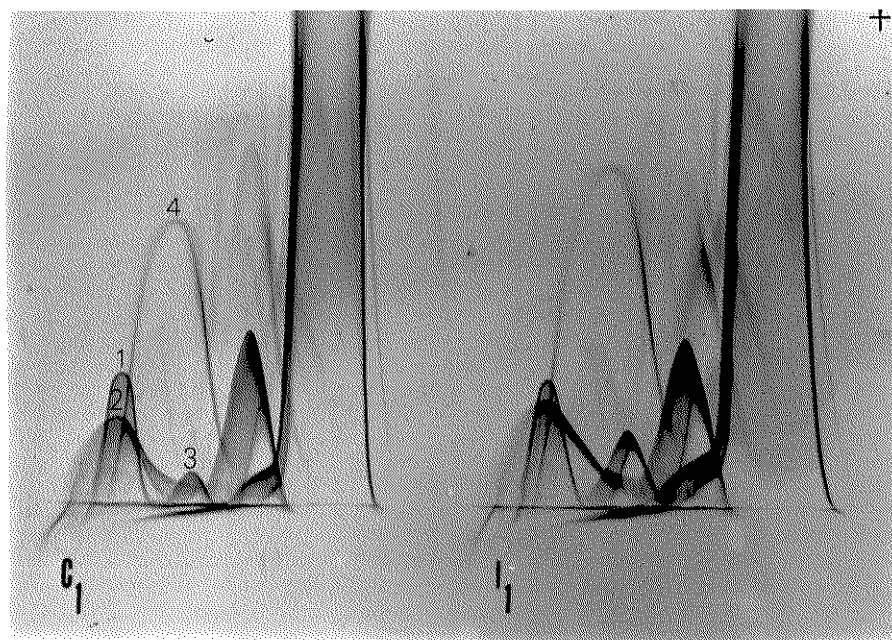


Figura 36: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 1^a semana pós-infecção.

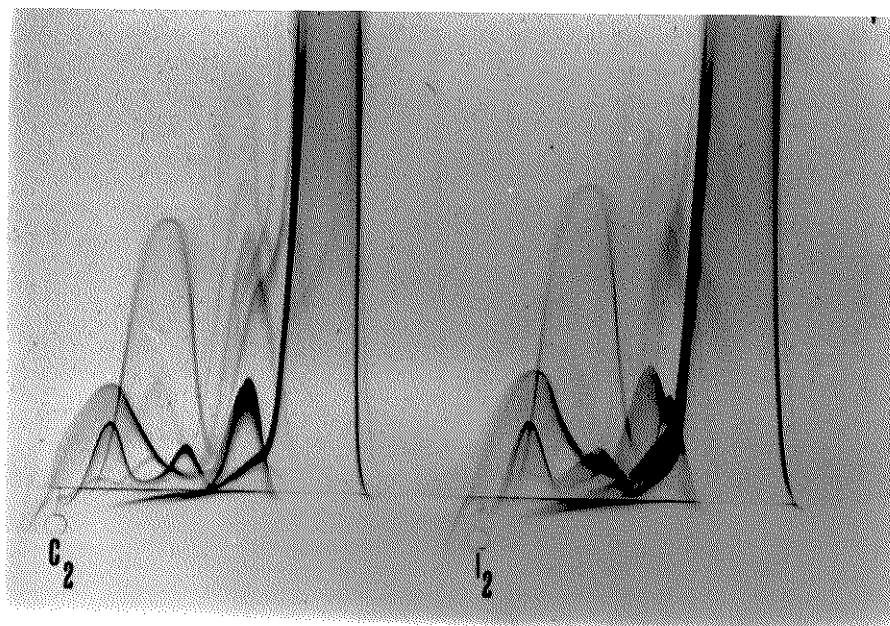


Figura 37: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 2^a semana pós-infecção.

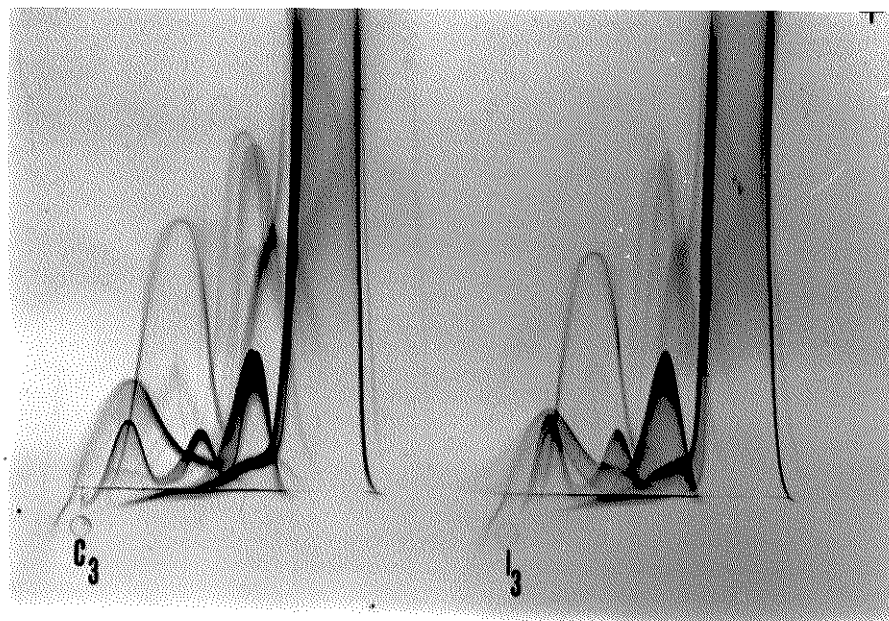


Figura 38: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 3^a semana pós-infecção.

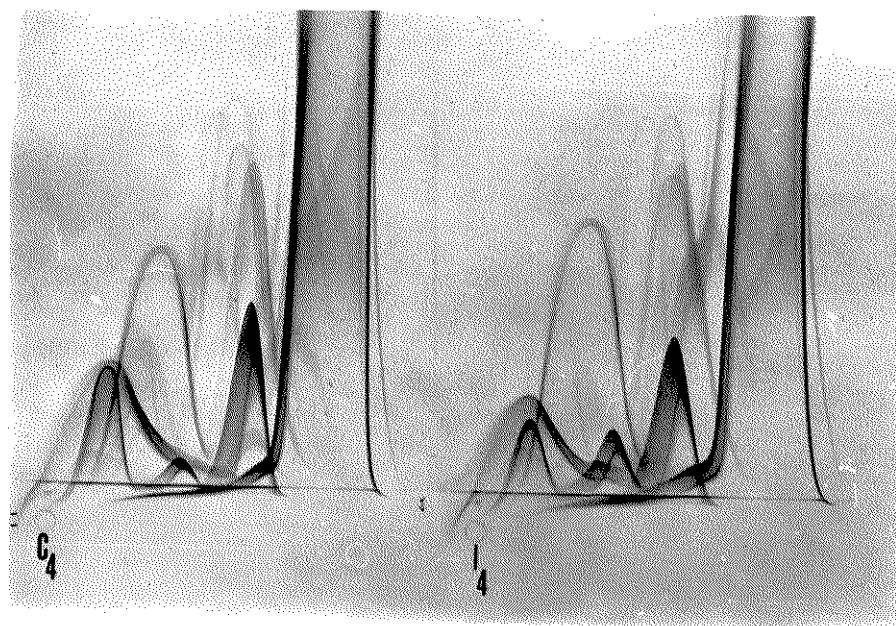


Figura 39: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 4^a semana pós-infecção.

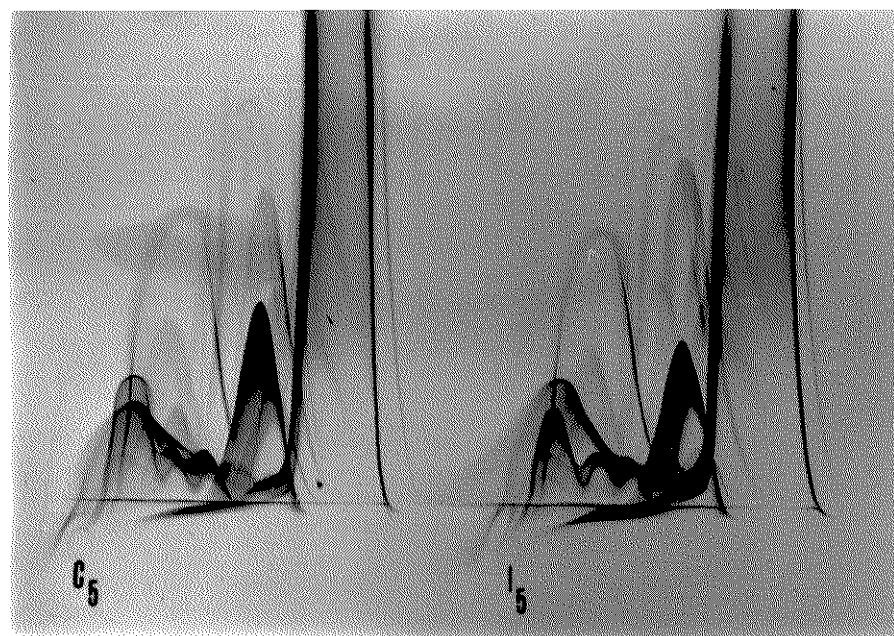


Figura 40: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 5^a semana pós-infecção.

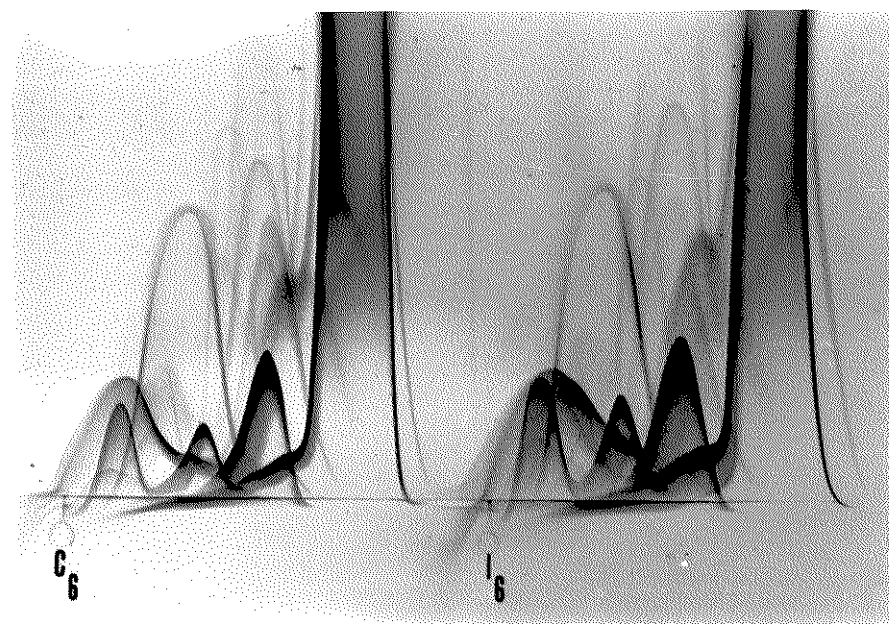


Figura 41: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 6^a semana pós-infecção.

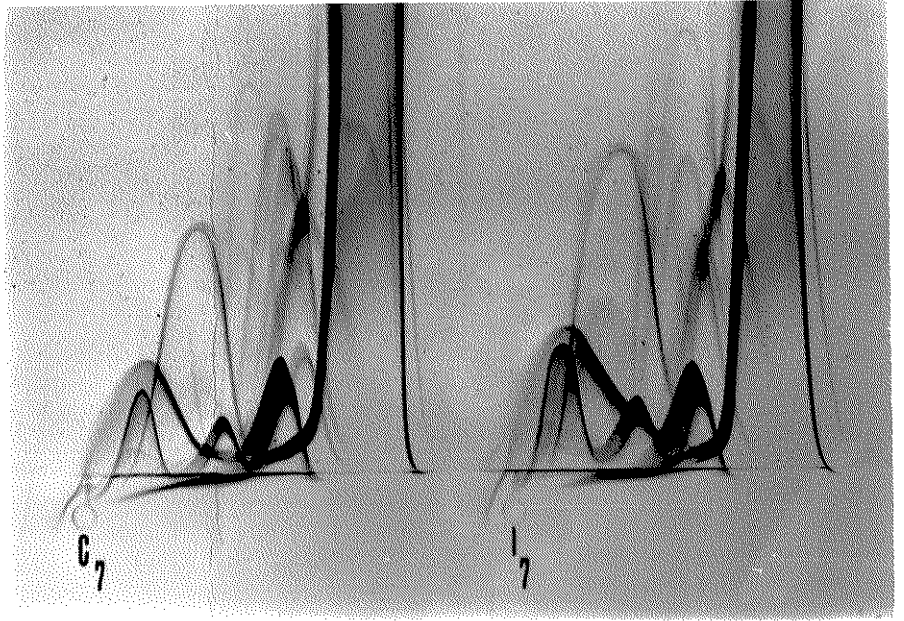


Figura 42: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 7^a semana pós-infecção.

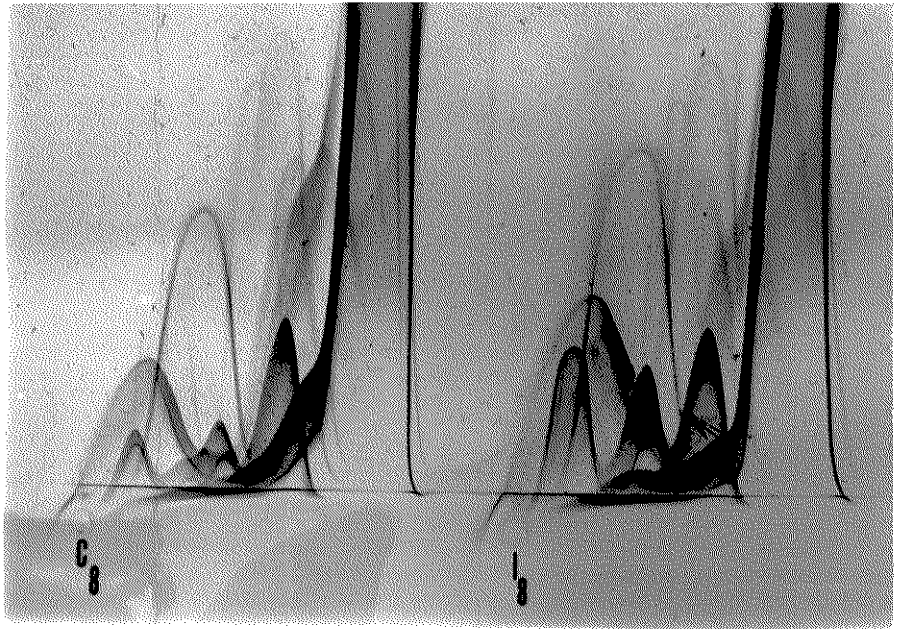


Figura 43: Perfil eletroforético dos soros controle e infectado da 8^a semana pós-infecção.

IV - DISCUSSÃO

A instalação da infecção parasitária está na dependência de fatores intrínsecos do hospedeiro, representados pela resistência natural, assim como de fatores inerentes ao próprio parasito, que constituem seus mecanismos protetores específicos às reações do hospedeiro.

Segundo HEGNER (IN PESSOA & MARTINS, 1977), 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 por S. mansoni, realizando-se observações semanais em diferentes níveis, no período de oito semanas de infecção.

Utilizando-se animais 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 WARREN (1967a); SMITHERS & TERRY (1969); MAGALHÃES & CARVALHO (1969) e LEMOS NETO (1975).

A variabilidade observada na carga parasitária, pode provavelmente estar relacionada às 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 & MELENEY, 1949; STIREWALT et alii, 1951 e WARREN & PETERS, 1967). A predominância de esquistossomos machos verificada, um achado comum em infecções bissexuais de camundongos por S. mansoni, 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 BRENER (1956) e mais recentemente por BARBOSA et alii (1978).

Granulomas hepáticos só foram detectados na 6ª semana de infecção. Coincidindo com as observações de LEMOS NETO (1975), a relação granulomas hepáticos/vermes totais, em função do tempo de infecção, demonstrou que estas variáveis são inversamente proporcionais, ou seja, maior o número de esquistossomos, menor o número de granulomas he-

páticos produzidos. Apesar desta relação na 8ª semana de infecção estar representada por uma reta, isto possivelmente se deve ao efeito somatório dos granulomas hepáticos das 6ª e 7ª semanas. 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 um 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 um 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 & WARREN (1976), trabalhando com "hamsters" submetidos à infecção 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 linforreticulares teve presente apenas na 1ª semana de infecção, refletindo o estímulo antiqênico inicial proporcionado pelo primeiro

contato do hospedeiro com o S. mansoni. Subsequente à oviposição do parasito e paralelamente à observação de granulomas hepáticos, foram verificadas profundas alterações na histopatologia deste órgão, consistindo 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 hiperplasia do tecido linforreticular provocada pelos antígenos do ovo do trematódeo, como a congestão passiva do baço, participam na instalação da esplenomegalia (SMITHERS & TERRY, 1969 ; WHO, 1975 e ANDRADE, 1977).

Diferentemente do que ocorreu com o baço, a infecção pelo S. mansoni originou alterações histopatológicas no fígado, tanto no período pré-postural como também após a oviposição.

Inicialmente estas alterações consistiram de hiperplasia do SRE, infiltrações celulares e áreas de necrose, coincidindo com observações prévias de outros autores tais como MELENBY et alii (1952), BRENER (1956) e JAIMES & VON LICHTENBERG (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 circulantes específicos.

MAGALHÃES-FILHO et alii (1965), verificaram por técnicas de imunofluorescência que antígenos de S. mansoni encontravam-se presentes 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 observados em torno de 4 semanas ou mais de infecção (AMBROISE-THOMAS & ANDREWS, 1976 e SMITHERS et alii, 1977).

BASTOS (1979), estudando a cinética da produção de anticorpos em camundongos infectados por S. mansoni, os mesmos animais utilizados no presente trabalho, verificou que apesar de existir imediatamente após a infecção um aumento em IgM e IgA, este não se esteriorizava por produção de anticorpos, independente do estágio evolutivo do trematódeo testado. Segundo este autor, anticorpos para antígenos de S. mansoni nestes animais apareciam inicialmente de forma discreta, detectados por imunofluorescência, na 4^a semana de infecção.

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 et alii, 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. Favorece esta possibilidade as observações de MURRELL et alii (1974) de que linfócitos do sangue periférico de ratos infectados por S. mansoni produziam MIF (fator inibidor da migração de macrófagos) quando em contacto com anti

genos do parasito, obtidos através de cultura de esquistosomas, mesmo antes que a infecção nestes animais alcançasse a maturidade sexual.

Após a oviposição a histopatologia do fígado revelou a presença de numerosos granulomas assim como fibroses de graus de intensidade variados. O papel do antígeno solúvel liberado dos ovos maduros de S. mansoni na etiologia do granuloma já está atualmente plenamente estabelecido, assim como o caráter de hipersensibilidade retardada da reação granulomatosa (VON LICHTENBERG, 1962; WARREN et alii, 1967; WARREN, 1970, 1972, 1976, 1977; DOMINGO & WARREN, 1967; BOROS & WARREN, 1970, 1973; PELLELY et alii, 1976; HAMBURGER et alii, 1976; OBERLIN & WEISS, 1977).

No presente trabalho foi possível verificar que uma semana após ter se iniciada a oviposição do S. mansoni, o hospedeiro é capaz de montar como resposta à presença de antígenos no ovo do trematódeo, tanto a reação de imunidade celular, representada pelos granulomas, como a imune humoral, evidenciada pelas profundas alterações do perfil eletroforético ao nível das regiões de gama e beta-globulinas, que por sua vez correspondem aos aumentos de IgG1, IgA e IgM conforme verificado por BASTOS (1979).

As variações na composição celular das reações granulomatosas descritas no presente trabalho provavelmente estão relacionadas com diferentes estágios destas reações imunes. Observações semelhantes a estas foram realizadas por SMITH (1977) ao nível de microscopia eletrônica.

Apesar da utilização de animais heterogênicos no presente trabalho, o que poderia influenciar os resulta

dos dos leucogramas realizados durante a infecção (RUSSEL et alii, 1951), pôde ser verificado que o S. mansoni induz alterações no comportamento evolutivo dos leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos nas oito semanas iniciais de infecção. Eosinófilos e monócitos apresentaram o mesmo comportamento neste período.

Tem sido verificado através de trabalhos anteriores (COLLEY, 1972, 1973; MAHMOUD et alii, 1975 e PELLEY et alii, 1976) que o linfócito T, quando sensibilizado com o antígeno solúvel do ovo do S. mansoni, é capaz de promover a quimiotaxia de eosinófilos através da linfocina ESP (eosinophilic stimulation promotor). Por outro lado, a participação dos eosinófilos na destruição de ovos do S. mansoni tem sido evidenciada por JAMES & COLLEY (1976), tendo verificado estes autores que o evento era dependente da antigenicidade do ovo e da especificidade da célula efetora.

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

Fenômenos quimiotáticos para neutrófilos podem derivar de linfócitos T sensibilizados com 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 & BRANDT,

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 do S. mansoni no período de 2 a 3 meses de infecção (WHO, 1975), como também a participação de imunocomplexos nas lesões renais de pacientes esquistossomóticos tem sido fortemente sugerida (ANDRADE, 1977). Se a neutrofilia observada nas duas últimas semanas é decorrente de algum destes processos não é possível afirmar, porém é uma possibilidade a ser considerada.

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

A concentração das proteínas séricas totais nos camundongos infectados não apresentou variações significativas, sugerindo que as alterações observadas em alguns componentes séricos através da imunoeletroforese cruzada assim como o decréscimo do nível de albumina nas 5^a, 6^a e 7^a semanas de infecção, apresentam-se compensadas fisiologicamente. Aparentemente este resultado foi um conseqüência da carga parasitária apresentada pelos camundongos, pois tem sido observado que o aumento na concentração das proteínas séricas totais se dá mais rapidamente nas infecções intensas (SADUN & WILLIAMS, 1966 e PAGE & ETGES, 1972).

A queda transitória no nível de albumina sérica dos camundongos infectados discordam dos resultados obti-

dos por EVANS & STEINWALT (1957) e DE WITT & WARREN (1958). KAGAN & GOODCHILD (1961) e SADUN & WILLIAMS (1966) verificaram que o decrescimo na albumina sérica de camundongos com esquistossomose mansônica ocorria simultaneamente ao aumento das globulinas, tornando-se mais pronunciado com a evolução da infecção.

Os níveis de albumina sérica nos trabalhos acima citados foram obtidos de forma indireta, relacionando-se os resultados obtidos por eletroforese com as dosagens de proteínas séricas totais, não oferecendo portanto a sensibilidade apresentada pela imunoeletroforese quantitativa cujo princípio reside numa reação antígeno-anticorpo.

Os resultados aqui apresentados concordam com a idéia defendida por SMITHERS & WALKER (1961) de que a hipalbuminemia esquistossomótica é transitória, correspondendo ao aumento temporário no catabolismo desta proteína não compensado pelo anabolismo. Por outro lado parece improvável que as lesões teciduais observadas no fígado sejam responsáveis pelo decrescimo desta proteína pois desde a 1^a semana de infecção já são evidenciadas áreas de necrose neste órgão, como também granulomas hepáticos continuam a ocorrer após esta proteína ter retornado a níveis normais.

As análises do perfil eletroforético revelaram que as alterações ao nível das proteínas séricas, decorrentes da infecção de camundongos por 100 cercárias de S. mansoni, localizam-se principalmente nas regiões de gama e beta-globulinas além do já mencionado decrescimo transitório na albumina. Provavelmente os componentes designados pelos números 1, 2, 3 e 4 são imunoglobulinas pois as modificações ex

perimentadas por estes componentes séricos equivalem às observadas por BASTOS (1979) no seu estudo quantitativo das imunoglobulinas envolvidas na resposta imune de camundongos ao S. mansoni.

Aparentemente na fase pré-postural da infecção, com exceção dos aumentos moderados iniciais dos componentes 3 e 4 da região de beta-globulinas, as modificações fisiológicas do hospedeiro não se exteriorizam no perfil eletroforético. As flutuações observadas nos componentes séricos com mobilidade eletroforética em gama e beta-globulinas nos camundongos controles dificultam as possíveis associações que poderiam ser feitas com a evolução da infecção. A diminuição na concentração dos componentes da região de gama-globulinas nas 3^a e 4^a semanas de infecção provavelmente não reflete um estado de imunodepressão e sim de tolerância ao parasito em um nível humoral, que é quebrado de forma efetiva com o advento da oviposição.

Os aumentos progressivos nos componentes de gama e beta-globulinas nas 6^a, 7^a e 8^a semanas, provavelmente são o resultado da formação de anticorpos, não só dirigidos contra os antígenos do ovo do S. mansoni como também para outros estágios do parasito, o que tem sido confirmado por HILLYER & FRICK (1967), SHER et alii (1977) e mais recentemente por BASTOS (1979).

Aparentemente nos soros controles apenas o componente 1 da região de gama-globulinas apresentou moderada variação neste período. Possivelmente a variação observada neste componente representa modificações fisiológicas normais que são operadas nos níveis de imunoglobulinas de ca-

mundongos conforme verificado por KALAPAKTSOGLOU et alii (1973).

As alterações observadas em alguns componentes séricos da região de alfa-globulinas nas 5^a, 6^a e 7^a semanas de infecção coincidiram com as observações de outros autores tais como KAGAN & GOODCHILD (1961), SADUN & WILLIAMS (1966), HILLYER & FRICK (1967) e LEWERT (1970). A metodologia utilizada nas análises do perfil eletroforético no presente trabalho não permite determinar se estas variações se processaram ao nível de alfa-1 ou alfa-2 globulinas. Aparentemente outros fatores, além dos danos teciduais provocados pelos ovos de S. mansoni, devem estar envolvidos na etiologia destas alterações. Fortalece esta suposição as observações de PAGE & ETCES (1972) de que o aumento destas proteínas séricas, em camundongos portadores de carga parasitária alta, antecede a oviposição do S. mansoni.

Os resultados expostos evidenciaram a existência de dois períodos durante a evolução da infecção do S. mansoni em camundongos, que são delimitados pela oviposição. Aparentemente os estágios evolutivos do parasito atuam de forma diferente sobre a fisiologia do sistema imune do hospedeiro, resultando desta relação o estado de tolerância observado na fase pré-postural da infecção e a hiperreatividade da fase pós-postural.

Maiores informações sobre a patogenia do S. mansoni poderão surgir do estudo sobre os mecanismos envolvidos no estabelecimento destas duas fases no sistema imune do hospedeiro.

V - RESUMO E CONCLUSÕES

A evolução da infecção experimental de camundongos Swiss por 100 cercárias de Schistosoma mansoni procedentes de Biomphalaria glabrata foi analisada sob os seguintes parâmetros: determinação do número de vermes, contagem de granulomas hepáticos, determinação do ganho de peso corporal, do peso do baço, percentagem do peso do fígado em relação ao peso corporal, leucograma, histopatologia do baço e do fígado, níveis de proteínas séricas totais e albumina, imunoeletroforese cruzada.

Os animais foram sacrificados em intervalos semanais durante o período de oito semanas a partir da data de infecção, tendo sido obtidos os seguintes resultados: a carga parasitária nas 6^a, 7^a e 8^a semanas, determinada pelo número de vermes recuperados por perfusão do sistema porta, apresentou valores médios em torno de 25% da carga infectante de cercárias. A relação granuloma/vermes totais não foi significativamente diferente nas 6^a, 7^a e 8^a semanas porém, o número de granulomas hepáticos na 8^a semana foi significativamente maior do que os detetados nas 6^a e 7^a semanas pós-infecção. Foi observada uma tendência à queda do ganho de peso corporal nos camundongos infectados quando comparados aos animais controles.

O baço e o fígado dos animais infectados apresentaram-se consistentemente aumentados nas três últimas semanas de infecção quando analisados em peso absoluto e em percentagem do peso corporal respectivamente. Comparados os

animais infectados e controles foi verificado que os leucogramas revelaram diferenças significativas na evolução de leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos. Os monócitos e eosinófilos não diferiram significativamente quanto à evolução no período observado, existindo porém uma tendência ao aumento de eosinófilos em termos absolutos nas semanas finais.

A análise histológica do baço permitiu observar na fase pré-postural, hiperplasia da polpa branca de intensidade variável na 1^a semana de infecção acompanhada de casos esporádicos de congestão leve a moderada da polpa vermelha. Após a oviposição, o quadro histológico esplênico se fez representar por hiperplasia intensa da polpa branca, congestão moderada ou intensa da polpa vermelha e menos frequente hipertrofia da polpa branca.

Os cortes do fígado revelaram na fase pré-postural hiperplasia do SRE, hiperemia e ectasia vascular, necrose hepatocitária, presença de infiltrados multifocais, não raro alguns de localização perivascular. Estabelecida a oviposição, foram encontradas reações granulomatosas circundando ovos de S. mansoni com a presença de eosinófilos, fibroblastos, células epiteliais e outros.

Os níveis de proteínas séricas totais e de albumina não diferiram significativamente quando analisado o "pool" de soros de cada lote. Foi observada diminuição no nível de albumina no grupo infectado nas 5^a, 6^a e 7^a semanas. A imunoeletroforese cruzada revelou modificações nas regiões de gama, beta e em menor grau na região de alfa globulinas, dependendo da semana de infecção.

Os resultados obtidos indicaram que:

- 1 - Camundongos Swiss de 30 dias de idade são altamente suscetíveis à infecção pelo S. mansoni apresentando altos índices de cercárias penetradas e positividade (absoluta) de infecção além de desenvolverem hepatoesplenomegalia.
- 2 - Populações de S. mansoni com menor capacidade defensiva às reações do hospedeiro estão presentes durante a infecção.
- 3 - A tolerância induzida pelo S. mansoni na fase pré-postural da infecção em camundongos é seletiva, se processando apenas ao nível humoral através do não reconhecimento dos antígenos de superfície do parasito.
- 4 - Existe um aparente controle sobre a produção de granulomas hepáticos nas 6^a, 7^a e 8^a semanas de infecção que tanto pode estar relacionado com o sistema imune do hospedeiro como também à própria biologia do parasito.
- 5 - A presença de antígenos do ovo de S. mansoni no hospedeiro origina intensas respostas de imunidade celular e humoral, interrompendo um estado de aparente tolerância aos antígenos de superfície do parasito.
- 6 - As alterações no quadro leucocitário periférico, no período de 8 semanas da infecção pelo S. mansoni, se pro-

cessam ao nível dos leucócitos totais, neutrófilos e linfócitos dos camundongos.

- 7 - Maiores informações se fazem necessárias sobre a indução de tolerância no hospedeiro na fase pré-postural da infecção, como também deve ser melhor esclarecida a cinética da resposta imune humoral, procurando-se relação entre especificidade e capacidade protetora.

VI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) AMBROISE-THOMAS, P. & ANDREWS, P. (1976) Development of fluorescent antibodies directed against larval stages, eggs, and adults of Schistosoma mansoni in mice harbouring unisexual or bisexual infections. Tropenmed. Parasit., 27:483.
- 2) ANDRADE, Z.A., PARONETTO, F. and POPPER, H. (1961) Immunocytochemical studies in schistosomiasis. Am. J. Path., 39:589.
- 3) ANDRADE, Z.A. & BARKA, T. (1962) Histochemical observations on experimental schistosomiasis of mouse. Am. J. Trop. Med. Hyg., 11:12.
- 4) ANDRADE, Z.A. (1977) Imunologia da Esquistossomose. In: Progressos da imunologia das parasitoses. Ed. por C.E. TOSTA. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.
- 5) BARBOSA, M.A., PELLEGRINO, J., COELHO, P.M.Z. and SAMPAIO, I.B.M. (1978) Quantitative aspects of the migration and evolutive asynchronism of Schistosoma mansoni in mice. Revta. Inst. Med. Trop. São Paulo, 20(3):121
- 6) BASTOS, O.C. (1979) Utilização de soros pluri-específicos no estudo da evolução das imunoglobulinas envolvidas na resposta imune de camundongos ao Schistosoma mansoni

Sambom, 1907. Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Biologia da UNICAMP. Campinas. São Paulo.

- 7) BOROS, L.D. & WARREN, K.S. (1970) Delayed hypersensitivity-type granuloma formation and dermal reaction induced and elicited by a soluble factor isolated from Schistosoma mansoni eggs. J. Exp. Med., 132(3):488.
- 8) BOROS, L.D., SCHWARTZ, H.J., POWELL, A.E. and WARREN, K.S. (1973) 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 (4):1118.
- 9) BRENER, Z. (1956) Observações sobre a infecção do camundongo pelo Schistosoma mansoni. Rev. Bras. Malariol. Doenç. Trop., 8(4):565.
- 10) BRUCE, J.I., WARREN, K.S. and SADUN, E.H. (1963) Observations on the pathophysiology of schistosomiasis mansoni in monkeys. Exp. Parasit., 13:194.
- 11) CHERVENICK, P.A., BOGGS, D.R., MARSH, J.C., CARTWRIGHT, G.E. and WINTROBE, M.M. (1968) Quantitative studies of blood and bone marrow neutrophils in normal mice. Am. J. Physiol., 215(2):353.

- 12) COLLEY, D.G. (1972) Schistosoma mansoni: eosinophilia and the development of lymphocyte blastogenesis in response to soluble egg antigen in inbred mice. Exp. Parasit., 32:520.
- 13) COLLEY, D.G. (1973) Eosinophils and immune mechanisms. I. Eosinophil Stimulation Promoter (ESP): a lymphokine induced by specific antigen or Phytohemagglutinin. J. Immunol., 110(5):1419.
- 14) DE WITT, W.B. & WARREN, K.S. (1959) Hepatosplenic schistosomiasis in mice. Am. J. Trop. Med. Hyg., 8:440.
- 15) DOMINGO, E.O. & WARREN, K.S. (1967) The inhibition of granuloma formation around Schistosoma mansoni eggs. II. Thimectomy. Am. J. Path., 51:757.
- 16) DOMINGO, E.O. & WARREN, K.S. (1968) Endogenous desensitization: changing host granulomatous response to schistosome eggs at different stages of infection with Schistosoma mansoni. Am. J. Path., 52(2):369.
- 17) EVANS, A.S. & STIREWALT, M.A. (1957) Serologic reactions in Schistosoma mansoni infections. III. Ionographic fractionation of sera of mice with progressive disease. Exp. Parasit., 6:8.
- 18) FAUST, E.C., JONES, C.A. and HOFFMAN, W.A. (1934) Studies on schistosomiasis mansoni in Puerto Rico. III. Biological

- studies. 2. The mammalian phase of the life cycle. P. R. J. Public. Health. Trop. Med., 10:133.
- 19) FIORILLO, A.M. (1954) Estudo eletroforético do soro de pacientes portadores de esquistossomose mansoni hepato-esplênica. Hospital, 45:647.
- 20) GOENNERT, R. (1955) Studies on schistosomiasis. IV. Pathology of schistosomiasis in mice. Z. Tropenmed. Parasitol., 6:279.
- 21) GROVE, D.I. & WARREN, K.S. (1976) Relation of intensity of infection to disease in hamsters with acute schistosomiasis mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg., 25(4):608.
- 22) HAMBURGER, J., PELLEY, R.P. & WARREN, K.S. (1976) Schistosoma mansoni soluble egg antigens: determination of the stage and species specificity of their serologic reactivity by radioimmunoassay. J. Immunol., 117(5) Part 1:1561.
- 23) HANG, L.M., WARREN, K.S. and BOROS, L.D. (1974) Schistosoma mansoni: antigenic secretions and the etiology of egg granulomas in mice. Exp. Parasit., 35:288.
- 24) HILLYER, G.V. & FRICK, L.P. (1967) Immunoprecipitins in Schistosoma mansoni infections. I. Mouse infections. Exp. Parasit., 20(3):321.

- 25) HILL, J. (1956) Chemotherapeutic studies with laboratory infections of Schistosoma mansoni. Am. Trop. Med. Parasitol., 50:39.
- 26) JAIMES, S. & VON LICHTENBERG, F. (1965) Host response to eggs of Schistosoma mansoni. IV. Fluorescent antibody titers in mice infected with normal cercariae, gamma-radiated cercariae and with purified eggs. Am. J. Trop. Med. Hyg., 14:727.
- 27) JAMES, S.L. & COLLEY, D.G. (1976) Eosinophil-mediated destruction of Schistosoma mansoni eggs. J. Reticuloendothelial Soc., 20(5):359.
- 28) KABAT, E.A. & MAYER, M.M. (1968) Imunoquímica Experimental. 2. ed., México, Prensa Médica Mexicana, Cap. 13, p. 449.
- 29) KAGAN, J.G. & GOODCHILD, C.G. (1961) Paper electrophoresis of sera from man and experimental animals infected with various helminths. J. Parasit., 47:373.
- 30) KALPAKTSOGLU, P.K., HONG, R. & GOOD, R.A. (1973) The five classes of immunoglobulins in normal C3H and BALB/c mice. J. Immunol., 24:303.
- 31) LEMOS NETO, R.C. (1975) Estudo comparativo do comportamento parasitológico e imunológico das linhagens mineira e paulista do Schistosoma mansoni Sambon, 1907. Tese de Mestrado apresentada ao Instituto de Biologia

da UNICAMP, Campinas, São Paulo.

- 32) LEWERT, R.M. (1970) Schistosomes. In: Immunity to Parasitic Animals. Ed. by G.J. JACKSON and R. HERMAN. Appleton-Century-Crofts, New York.
- 33) LI HSU, S.Y., HSU, H.F., ISACSON, P. and CHENG, H.F. (1977) In vitro schistosomulicidal effect of immune serum and eosinophils, neutrophils and lymphocytes. J. Reticuloendothelial Soc., 21(3):153.
- 34) MAGALHÃES, L.A. (1969) Técnica para a avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de Schistosoma mansoni em Mus musculus. Hospital, 75(5):137.
- 35) MAGALHÃES, L.A., CARVALHO, J.F. e ALCÂNTARA, F.G. (1975) Alguns dados referentes ao estudo parasitológico e anatomopatológico de duas linhagens de Schistosoma mansoni Sambon, 1907. Rev. Saúde Publ., 9:1.
- 36) MAGALHÃES-FILHO, A. & COUTINHO-ABATH, E. (1961) Splenic reactions in Swiss albino mice to single and multiple infections with Schistosoma mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg., 10:356.
- 37) MAGALHÃES-FILHO, A. KRUPP, I. and MALEK, E.A. (1965) Localization of antigen and presence of antibody in tissues of mice infected with Schistosoma mansoni, as indicated by fluorescent antibody technics. Am. J. Trop. Med. Hyg., 14:84.

- 38) MAHMOUD, A.A.F., WARREN, K.S. and GRAHAM Jr., R.C. (1975) Antieosinophil serum and the kinetics of eosinophilia in Schistosomiasis mansoni. J. Exp. Med., 142:560.
- 39) MELENEY, H.E., MOORE, D.V., MOST, H. and CARNEY, B.H. (1952) The histopathology of experimental schistosomiasis. I. The hepatic lesions in mice infected with S. mansoni, S. japonicum and S. haematobium. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1:263.
- 40) MELENEY, H.E., SANGROUND, J.H., MOORE, D.V., MOST, H. and CARNEY, B.H. (1953) The histopathology of experimental schistosomiasis. II. Bisexual infections with S. mansoni, S. japonicum and S. haematobium. Am. J. Trop. Med. Hyg., 2:883.
- 41) MOORE, D.V., YOLLIES, T.K. and MELENEY, H.E. (1949) A comparison of common laboratory animals as experimental hosts for Schistosoma mansoni. J. Parasit., 35:156.
- 42) MOORE, D.V. & MELENEY, H.E. (1952) Adaptability of Schistosoma mansoni of human origin to mice and hamsters. Exp. Parasit., 1(2):157.
- 43) MURREL, K.D. (1974) Schistosoma mansoni: Antigenic heterogeneity of excretions and secretions. Exp. Parasit., 36:316.
- 44) OLIVEIRA LIMA, A. & DIAS DA SILVA, W. (1970) *Imunologia*,

- imunopatologia e alergia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- 45) PAGE, C.R. & ETGES, F.J. (1972) Experimental prepatent schistosomiasis *Mansoni*: Quantitative analyses of proteins, enzyme activity and free amino acids in mouse serum. *Exp. Parasit.*, 31:341.
- 46) PELLEGRINO, J. & BRENER, Z. (1956) Method for isolating schistosome granulomas from mouse liver. *J. Parasit.*, 42(6):564.
- 47) PELLELY, R.P., KARP, R., MAHMOUD, A.A.F. and WARREN, K.S. (1976) Antigen dose response and specificity of production of the lymphokine eosinophil stimulation promoter. *J. Infect. Dis.*, 134(3):230.
- 48) PESSOA, S.B. & MARTINS, A.V. (1977) Ações recíprocas do parasito e do hospedeiro. In: *Parasitologia Médica*. 10^a Edição. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- 49) RUSSEL, E.S., NEUFELD, E.F. and HIGGINS, C.T. (1951) Comparison of normal blood picture of young adults from 18 inbred strains of mice. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 78:761.
- 50) SADUN, E.H., SCHOENBECHLER, M.J. and BENTS, M. (1965) Multiple antibody response in Schistosoma mansoni infections: antigenic constituents in eggs, cercariae,

- and adults (excretions and secretions) determined by flocculation reactions, cross absorption and double diffusion studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 14(6):977.
- 51) SADUN, E.H. & WILLIAMS, J.S. (1966) Biochemical aspects of schistosomiasis mansoni in mice in relation to worm burdens and duration of infection. *Exp. Parasit.*, 18:266.
- 52) SHER, A., MC INTYRE, S. and VON LICHTENBERG, F. (1977) Schistosoma mansoni: kinetics and class specificity of hypergamma globulinemia induced during murine infection. *Exp. Parasit.*, 41:415.
- 53) SMITH, M.D. (1977) The ultrastructural development of the schistosome egg granuloma in mice. *Parasitology*, 75:119.
- 54) SMITHERS, S.R. & WALKER, P.D. (1961) Serum protein changes in monkeys infected with Schistosoma mansoni, with special reference to the metabolism of albumin. *Exp. Parasit.*, 11:39.
- 55) SMITHERS, S.R. & TERRY, R.J. (1969) The Immunology of Schistosomiasis. *Adv. Parasit.*, 7:41.
- 56) SMITHERS, S.R. & TERRY, R.J. (1976) The Immunology of Schistosomiasis. *Adv. Parasit.*, 14:399.

- 57) SOG ANDARES-BERNAL, F. & BRANDT, S. (1976) Antibodies sequestered in the liver granulomata of 8-week infections of CF 1 mice by Schistosoma mansoni Sambon, 1907. Z. Parasitenk., 50:331.
- 58) STANDEN, O.D. (1953) Experimental schistosomiasis. III. Chemotherapy and mode of drug action. Am. Trop. Med., 47:26.
- 59) VON LICHTENBERG, F. (1962) Host response to eggs of Schistosoma mansoni. I. Granuloma formation in the unsensitized laboratory mouse. Am. J. Path., 41:711.
- 60) WARREN, K.S. (1961) The etiology of hepato-splenic schistosomiasis in mice. Am. J. Trop. Med. Hyg., 10:870.
- 61) WARREN, K.S. (1967a) 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. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 61(6):795.
- 62) WARREN, K.S. & PETERS, P.A. (1967b) Quantitative aspects of exposure time and cercarial dispersion on penetration and maturation of Schistosoma mansoni in mice. Ann. Trop. Med. Parasit., 61(3):294.
- 63) WARREN, K.S., DOMINGO, E.O. and COWAN, R.B.T. (1967c) Granuloma formation around schistosome eggs as a

- manifestation of delayed hypersensitivity. *Am. J. Path.*, 51(5):735.
- 64) WARREN, K.S. (1972) The immunopathogenesis of schistosomiasis: a multidisciplinary approach. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 66(3):417.
- 65) WARREN, K.S. (1976) Immunopathology due to cell-mediated (type IV) reactions. In: *Immunology of Parasitic Infections*. Ed. by S. Cohen and E. Sadun. Blackwell Scientific Publications.
- 66) WEEKE, B. (1973) Crossed Immuno-electrophoresis. In: *A Manual of Quantitative Immuno-electrophoresis*. Ed. by N.H. Axelsen, J. Kroll and B. Weeke. UNIVERSITETSFORLAGET, Oslo-Bergen-Tromsø.
- 67) WEEKE, B. (1973) Rocket Immuno-electrophoresis. In: *A Manual of Quantitative Immuno-electrophoresis*. Ed. by N.H. Axelsen, J. Kroll and B. Weeke. UNIVERSITETSFORLAGET, Oslo-Bergen-Tromsø.
- 68) WORLD HEALTH ORGANIZATION (1975) Immunology of schistosomiasis. *Bull. Wld. Org.*, 51(6):533.
- 69) YÖLLES, T.K., MOORE, D.V., DE GINSTI, D.L., RIPSON, C.A. and MELENEY, H.E. (1947) A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of schistosomes. *J. Parasit.*, 33:419.