

# Esquistossomose mansoni experimental: efeito do tratamento com praziquantel sobre a hipertensão porta e varizes do esôfago

Experimental mansoni schistosomiasis: effect of praziquantel on portal hypertension and esophageal varices

Pedro Paulo Chieffi<sup>1,2</sup>, Carmen Lúcia Penteado Lancellotti<sup>1</sup>, Maria Aparecida Paschoalotti<sup>1</sup>, Manoel Carlos Sampaio Almeida Ribeiro<sup>1</sup>, Andréia Bonizzia Zanqui<sup>1</sup>

## Resumo

Estudou-se a ocorrência de varizes esofágicas em hamsters experimentalmente infectados por *Schistosoma mansoni* e o efeito de tratamento com praziquantel. Cinquenta hamsters foram infectados com 200 cercárias de *S. mansoni* e divididos em dois grupos de 25 animais. Apenas um dos grupos recebeu tratamento com praziquantel (50mg/kg) em duas ocasiões, no 50º e 60º dias após infecção. Outro lote de 10 hamsters foi mantido sem infecção, constituindo grupo controle normal. Noventa dias após a infecção determinou-se a pressão na veia porta, além dos pesos corporal, hepático e esplênico, em todos os animais sobreviventes que foram então sacrificados e fragmentos de esôfago foram submetidos a estudo histológico. Não ocorreram diferenças significativas na taxa de letalidade, peso do fígado e pressão no sistema porta entre os hamsters tratados ou não com praziquantel; todavia, os animais tratados revelaram aumento menor do peso esplênico e varizes esofágicas menos desenvolvidas.

**Descritores:** *Schistosoma mansoni*, Esquistossomose mansoni, Modelos animais de doenças, *Mesocricetus*, Varizes esofágicas e gástricas, Praziquantel

## Abstract

The occurrence of esophageal varices and the effect of treatment with praziquantel in *Schistosoma mansoni* infected hamsters had been studied. Fifty hamsters infected with 200 *S. mansoni* cercariae were divided in two groups of 25 animals each. Only one was submitted to treatment

with praziquantel (50 mg/kg) in two occasions, in the 50<sup>th</sup> and the 60<sup>th</sup> days after infection. Another set of 10 hamsters without infection was the normal control group. Ninety days after the infection the pressure on the portal system and the body, liver and spleen weights had been measured in all surviving animals and esophagus fragments had been collected for histological analysis. In both groups of infected hamsters the lethality rate, corporal and hepatic weights and the level of portal hypertension did not show any significant differences. However, in hamsters treated with praziquantel the splenomegaly and the occurrence of esophageal varices were significantly less expressive.

**Key words:** *Schistosoma mansoni*; Schistosomiasis mansoni; Disease Models, Animal; *Mesocricetus*; Esophageal and gastric varices; Praziquantel

## Introdução

A esquistossomose mansoni é uma doença crônica que pode evoluir para complicações graves, eventualmente levando a óbito em função de extensa fibrose decorrente da presença de ovos do *Schistosoma mansoni* no parênquima hepático e ocorrência de hipertensão no sistema porta e desenvolvimento de varizes esofágicas<sup>(1,2)</sup>.

A doença, ainda hoje, é considerada um problema de saúde pública. Recentemente avaliou-se a existência 779 milhões de indivíduos, em todo mundo, residindo em áreas sob risco de transmissão, dos quais 106 milhões vivem nas proximidades de coleções de água doce, represas ou esquemas de irrigação artificial<sup>(3)</sup>. Passos e Amaral<sup>(4)</sup> estimam que existam atualmente no Brasil no mínimo 2,5 milhões de indivíduos infectados, além de 25 milhões de indivíduos expostos ao risco de contrair a infecção.

Várias espécies de mamíferos têm sido utilizadas experimentalmente como modelo em estudos acerca da história natural da esquistossomose. Pela facilidade operacional, baixo custo e bons resultados obtidos *Mus*

1. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

2. Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (LIM06)

Trabalho realizado: Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Endereço para correspondência: Pedro Paulo Chieffi, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo. Departamento de Ciências Patológicas. R. Dr. Cesário Mota Jr, 112 – Vila Buarque – 01221-020 - São Paulo – SP - Brasil

*musculus*, é uma das espécies mais empregadas<sup>(1,4,5,6)</sup>. Camundongos imunologicamente competentes, quando infectados por *S. mansoni*, rapidamente desenvolvem hepatoesplenomegalia<sup>(7,8)</sup>, com desenvolvimento de hipertensão no sistema porta<sup>(9)</sup>.

O hamster (*Mesocricetus auratus*) é outro roedor experimentalmente utilizado no estudo das relações hospedeiro-parasito com diversas espécies do gênero *Schistosoma*<sup>(10,11,12)</sup>. Moustafa et al<sup>(13)</sup> notaram melhora de alterações hepáticas em hamsters após tratamento específico, sem comentarem, entretanto, se ocorreu diminuição ou normalização da pressão no sistema porta.

Em trabalho anterior, empregando o modelo hamster- *S. mansoni*, verificou-se que a ocorrência de varizes esofágicas em hamsters depende da carga parasitária, não se observando essa complicação ao se utilizar inóculo de 30 ou 60 cercárias, porém obtendo-se seu desenvolvimento ao infectar-se hamsters com 250 cercárias de *S. mansoni*<sup>(9)</sup>. Nesse trabalho não foi possível concluir se o tratamento específico anti-esquistossomótico reduziria a hipertensão porta e o desenvolvimento de varizes esofágicas. Utilizou-se, todavia, no desenho experimental carga parasitária de média intensidade (100 cercárias de *S. mansoni*), fato que, provavelmente, impediu conclusões mais seguras. No presente trabalho, dando continuidade a esse estudo, empregou-se carga infectante de maior intensidade.

## Objetivos

- Determinar os níveis de pressão portal e padrão de varizes esofágicas em grupos de hamsters infectados com 200 cercárias de *S. mansoni*.
- Observar o efeito do tratamento com praziquantel sobre o nível de pressão no sistema porta e o desenvolvimento de varizes esofágicas em hamsters experimentalmente infectados com cargas elevadas de cercárias de *S. mansoni*.

## Material e Métodos

Utilizaram-se 60 hamsters fêmeas, com idade aproximada de 8 semanas, divididos em dois grupos, conforme o esquema abaixo:

G1: 50 hamsters infectados com 200 cercárias de *S. mansoni*, subdivididos em:

- G1a: 25 hamsters tratados com praziquantel nas 7<sup>a</sup>. e 8<sup>a</sup>. semanas após a infecção.
- G1b: 25 hamsters sem tratamento.

G2: 10 hamsters não infectados.

A infecção dos hamsters do grupo G1 foi efetuada por via subcutânea, empregando-se cercárias da cepa BH de *S. mansoni*, obtidas de exemplares de *Biomphalaria*

*glabrata* experimentalmente infectados. Os animais foram mantidos em gaiolas apropriadas, com capacidade para abrigar cinco animais, com alimentação e água "ad libitum". Duas vezes por semana efetuou-se a limpeza das gaiolas e a pesagem dos animais.

O tratamento dos animais do subgrupo G1a foi feito por meio de sonda gástrica, empregando-se solução aquosa de praziquantel na dose de 50 mg/kg de peso, em duas ocasiões, no 50<sup>o</sup>. e 60<sup>o</sup>. dias após infecção. Aos animais do subgrupo G1b, na mesma ocasião, administrou-se quantidade semelhante de água destilada, com o emprego de sonda gástrica.

Decorridos 90 dias após a infecção os animais sobreviventes do grupo G1, juntamente com os do grupo controle (G2) foram anestesiados, por via intraperitoneal, com Rohypinol e submetidos a laparotomia e cateterização da veia porta, para determinação da pressão. Utilizou-se aparelho de monitoração Hewlett Packard (HP), modelo 1960 A, conectado a transdutor HP, modelo 1209 C, acoplado a membrana estéril HP, modelo 1295 C conectada, por sua vez, a extensor Santronic, modelo ST 20, preenchido por solução de heparina (25U/ml).

Após obtenção da pressão portal os animais foram submetidos a perfusão do sistema porta com solução fisiológica heparinizada, para recuperação dos exemplares de *S. mansoni* e determinação da carga parasitária. Os hamsters foram, então, sacrificados e retiraram-se fragmentos do esôfago para verificação da presença de varizes.

Os fragmentos de esôfago, após fixação em formol a 10% tamponado, foram incluídos em parafina, efetuando-se cortes com espessura de 4µm, corados com hematoxilina/eosina ou com tricrômico de Masson. Determinaram-se, ainda, os pesos corporal, hepático e esplênico de cada animal.

Os fragmentos de esôfago foram classificados em quatro grupos, conforme o desenvolvimento das varizes:

- Grupo 0 – sem varizes
- Grupo I – varizes pouco desenvolvidas
- Grupo II – varizes desenvolvidas
- Grupo III – varizes intensas

Os resultados foram analisados com o emprego de testes estatísticos não paramétricos (Qui quadrado, Kruskal-Wallis e Mann-Whitney), utilizando-se nível de significância de 95% (p=0,05). O projeto foi avaliado e aprovado, no que diz respeito aos aspectos éticos, pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo (CEP-IMT).

## Resultados

No 90<sup>o</sup>. dia após infecção observou-se taxa de

sobrevivência semelhante entre os animais tratados ou não com praziquantel (Tabela 1), indicando que o tratamento não teve influência sobre a letalidade.

Tabela 1

**Letalidade em hamsters infectados com 200 cercárias de *S. mansoni*, tratados ou não com praziquantel na 7ª e 8ª semanas após infecção.**

Grupos	Letalidade (%)
Sem tratamento	9/25 * (64,0)
Tratados	9/25 * (64,0)
Controle	10/10 (0,0)

\* numerador: animais sobreviventes; denominador: animais infectados

A determinação dos níveis de pressão no sistema porta revelou aumento decorrente da infecção por *S. mansoni*, contudo não mostrou diferença significativa entre os animais tratados ou não por praziquantel (Tabela 2).

Tabela 2

**Pressão média no sistema porta em hamsters infectados com 200 cercárias de *S. mansoni*, tratados ou não com praziquantel na 7ª e 8ª semanas após infecção.**

Grupos	nº de animais	Pressão
Sem tratamento	9	4,28*
Tratados	9	4,00*
Controle	10	2,86

\*p > 0,05

Não se verificou diferença significativa entre os pesos corporal e hepático entre ambos os grupos de hamsters infectados por *S. mansoni*. Todavia, os animais tratados com praziquantel, embora apresentassem peso esplênico maior do que os controles não infectados, revelaram diferença significativa no peso esplênico, quando comparados ao grupo não tratado (Tabela 3).

Tabela 3

**Pesos corporal, hepático e esplênico médios em hamsters infectados com 200 cercárias de *S. mansoni*, tratados ou não com praziquantel na 7ª e 8ª semanas após infecção.**

Grupos	Corporal	Hepático	Esplênico
Sem tratamento	142,2	4,72	0,45*
Tratados	130,2	4,24	0,27*
Controle	165,6	3,05	0,21

\*p < 0,05

A verificação do padrão de desenvolvimento de varizes esofágicas nos hamsters infectados por

*S. mansoni* revelou a presença de aspecto mais benigno no grupo submetido a tratamento com praziquantel (Tabela 4).

Tabela 4

**Padrão de varizes esofágicas em hamsters infectados com 200 cercárias de *S. mansoni*, tratados ou não tratados com praziquantel na 7ª e 8ª semanas após infecção.**

Grupos	0	I	II	III
Sem tratamento	0	0	7	1
Tratados	0	6	3	0
Controle	10	0	0	0

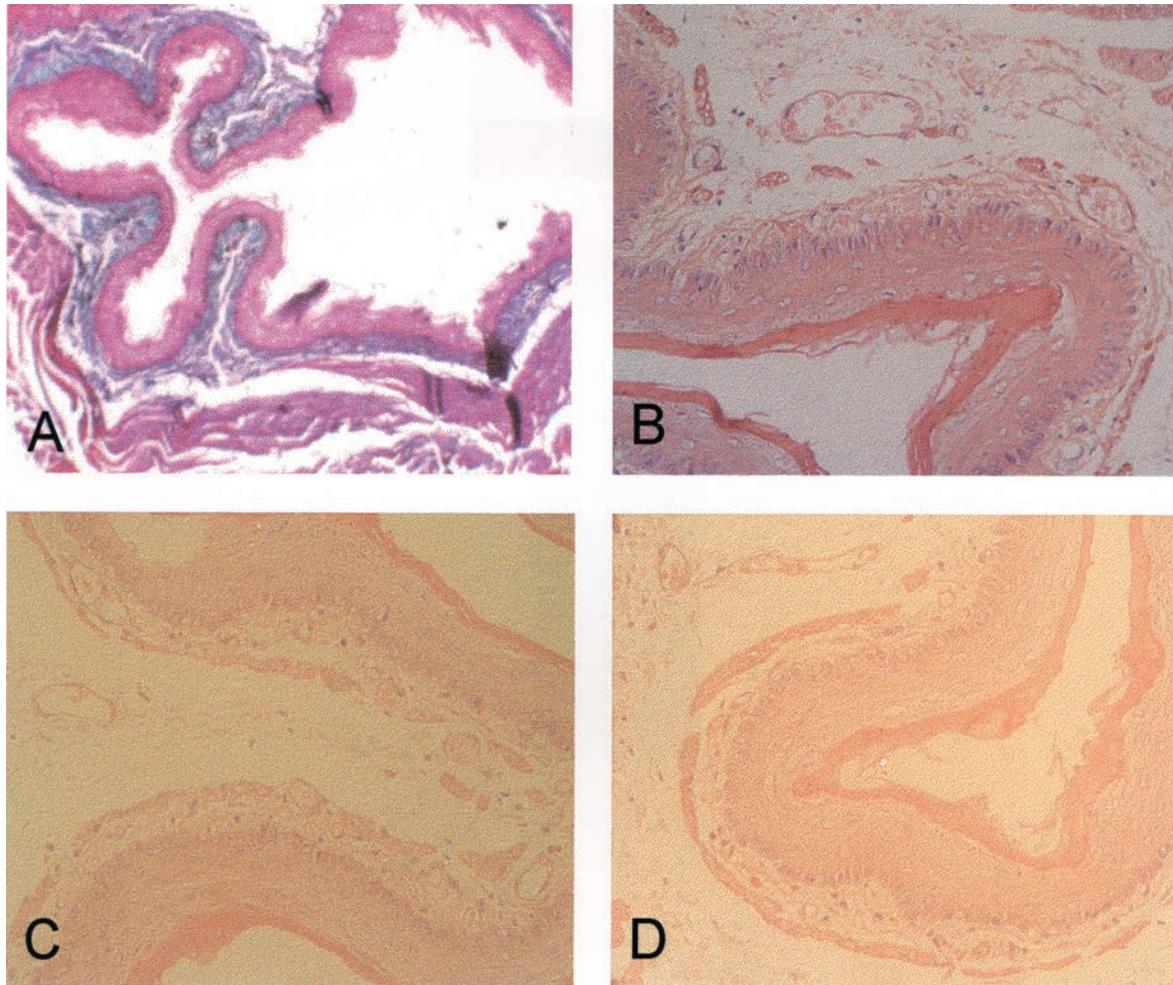
0 – sem varizes; I – varizes pouco desenvolvidas; II – varizes desenvolvidas; III – varizes intensas

A Figura 1 mostra o aspecto histológico dos esôfagos de animais tratados ou não com praziquantel.

## Discussão

Muito do que se sabe acerca da imunopatologia da esquistossomose mansoni adveio do uso de modelo murino para estudo das relações hospedeiro-parasito. Trabalhos realizados pelo grupo liderado por Kenneth Warren mostraram que camundongos experimentalmente infectados por *S. mansoni* desenvolvem alterações comparáveis às observadas em seres humanos, com o surgimento de hipertensão portal<sup>(14,15,16)</sup>. A partir desses estudos foi possível, ainda, caracterizar a esquistossomose como resultado de resposta imune celular contra ovos do parasito alojados, principalmente, na microvasculatura pré-sinusoidal do fígado<sup>(16)</sup>. Mostrou-se, também, que cerca de duas semanas após o início da oviposição, que ocorre entre a sexta e sétima semanas após a penetração das cercárias, principia a formação de granulomas em torno dos ovos retidos nos tecidos<sup>(17)</sup>.

Hamsters, embora menos utilizados do que camundongos, também se mostraram modelo adequado para o estudo das relações hospedeiro-parasito na esquistossomose, tendo sido descritas alterações hepáticas e renais no curso de infecções por *S. mansoni*<sup>(10)</sup>. Recentemente Chieffi et al<sup>(9)</sup> investigaram o desenvolvimento de hipertensão porta e varizes esofágicas em hamsters experimentalmente infectados com diversos inóculos de cercárias de *S. mansoni*, bem como o efeito do tratamento com oxamniquine sobre essas variáveis. Encontraram altas taxas de letalidade, além de aumento da pressão no sistema porta e desenvolvimento de varizes esofágicas. Embora notassem tendência a ocorrência de níveis de pressão menos acentuados entre os animais tratados, os valores obtidos não revelaram diferença significativa do ponto de vista estatístico, não sendo possível atribuir qualquer efeito benéfico



**Figura 1** - A – Corte de esôfago normal de hamster; B – corte de esôfago de hamster infectado com 200 cercárias, sem tratamento; C e D – corte de esôfago de hamster com 200 cercárias, tratado com praziquantel. Coloração por H.E.

do tratamento sobre a ocorrência e desenvolvimento de varizes esofágicas.

No presente trabalho retomou-se o estudo da influência do tratamento específico sobre os níveis de pressão no sistema porta e desenvolvimento de varizes esofágicas em hamsters infectados com carga mais elevada de cercárias, administrando-se praziquantel aos animais infectados, em duas ocasiões, no 50º. e 60º. dias após infecção.

Os resultados obtidos mostram que, nas condições do experimento, o tratamento não teve influência sobre a letalidade (Tabela 1), o nível de pressão no sistema porta (Tabela 2) ou no desenvolvimento de hepatomegalia (Tabela 3). Entretanto, os animais tratados com praziquantel apresentaram, de forma significativa, menor desenvolvimento de esplenomegalia (Tabela 3). Por outro lado, embora tanto os animais tratados como os não tratados tenham revelado a formação de varizes esofágicas, no grupo que recebeu praziquantel observou-se padrão de desenvolvimento de varizes mais benigno, como indicam os dados expressos na

Tabela 4 e na Figura 1.

Tais resultados sugerem efeito benéfico de tratamento específico efetuado cerca de dois meses após infecção, que tenderia a diminuir a morbidade decorrente do depósito de ovos do trematódeo nos tecidos do hospedeiro, embora não seja capaz de impedir a elevação da pressão no sistema porta e a formação incipiente de varizes esofágicas.

### Referências Bibliográficas

1. Silva LC, Chieffi PP, Carrilho FJ. Schistosomiasis mansoni. Clinical features. *Gastroenterol Hepatol* 2005; 28:30-9.
2. Wilson MS, Mentink-Kane MM, Pesce JT, Ramalingham TR, Thompson R, Winn TA. Immunopathology of schistosomiasis. *Immunol Cell Biol*. 2007; 85: 148-54.
3. Steinmann P, Keiser J, Bos R, Tanner M, Utzinger J. Schistoso-miasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk. *Lancet Infect Dis*. 2006; 6: 411-25.
4. Passos ADC, Amaral RS. Esquistossomose mansônica: aspectos epidemiológicos e de controle. *Rev Soc Bras Med Trop*. 1998; 31(Supl.II): 61-74.

5. Baki CA, Guerret S, Grimaud JA, Chevalier M. Liver fibrosis in unisexual murine Schistosomiasis: quantitative study and morphological changes in mice with chronic infection. *Cell Mol Biol*. 1998; 44: 627-33.
6. Cheever AW, Lenzi JL, Lenzi HL, Andrade ZA. Experimental models of *Schistosoma mansoni* infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2002; 97: 917-40.
7. Dunne DW, Pearce EJ. Immunology of hepatosplenic schistosomiasis mansoni: a human perspective. *Micr Infect*. 1999; 1: 553-60.
8. Williams DL, Asahi H, Oke TT, Rosa JL, Stadecker MJ. Murine immune responses to a novel schistosome egg antigen, SmEP25. *Int J Parasitol*. 2005; 35: 875-82.
9. Chieffi PP, Lancellotti CLP, Paschoalotti MA, Zanqui AB, Motira M. Esquistossomose mansoni experimental: desenvolvimento de hipertensão portal e varizes esofágicas em hamster e efeito do tratamento com oxamniquine. *Arq Méd Hosp Fac Ciênc Méd Santa Casa*. 2005; 50: 2-6.
10. Brito T, Carneiro CR, Nakhle MC, Lima DM, Abrantes-Lemos CP, Sandoval M, Silva AM. Localization by immunoelectron microscopy of *Schistosoma mansoni* antigens in the glomerulus of the hamster (*Mesocricetus auratus*) kidney. *Exp Nephrol*. 1998; 6: 368-76.
11. Dingemans KP, Elias EA. Changes in the hamster liver after experimental infection with *Schistosoma intercalatum*. An ultra-structural study. *Ann Trop Med Parasitol*. 1978; 231-42.
12. Elias EA, Van Wijk HB, Elias RA. *Schistosoma intercalatum* infection in Syrian hamsters. An experimental and histopathological study. *Trop Geog Med*. 1980; 32: 286-97.
13. Moustafa FE, Hamouda MM, El-Shazly AM, Sheha G, Hamid S, El-Naggar HM, et al. Effect of anti-schistosomal treatment on schistosomal hepatic pathology: an experimental study in Syrian golden hamsters. *J Egypt Soc Parasitol*. 1996; 26: 517-24.
14. Boros DL, Pelley RP, Warren KS. Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in schistosomiasis mansoni. *J Immunol*. 1975; 114: 1437-41.
15. Warren KS. The pathogenesis of "clay-pipe stem cirrhosis" in mice with chronic schistosomiasis, with a note on the longevity of the schistosomes. *Am J Pathol*. 1966; 49: 477-89.
16. Warren KS. Hepatosplenic schistosomiasis: an immunological disease. *Bull NY Acad Sci*. 1975; 51: 591-633.
17. Phillips SM, Lammie PJ. Immunopathology of granuloma formation in schistosomiasis. *Parasitol Today*. 1986; 2:296-302.

Trabalho recebido: 09/03/2010

Trabalho aprovado: 11/06/2010