

# Esquistossomose mansoni experimental: desenvolvimento de hipertensão portal e varizes esofágicas em hamster e efeito de tratamento com oxamniquine

Experimental mansonic schistosomiasis: development of portal hypertension in hamsters and effect of treatment with oxamniquine

Pedro Paulo Chieffi <sup>\*/\*\*</sup>, Carmen Lucia Penteado Lancellotti <sup>\*</sup>, Maria Aparecida Paschoalotti <sup>\*</sup>,  
Andréia B. Zanqui <sup>\*\*\*</sup>, Mitsuyoshi Morita <sup>\*\*\*\*</sup>

## Resumo

Estudou-se o desenvolvimento de hipertensão portal e de varizes esofágicas em hamsters experimentalmente infectados por *Schistosoma mansoni*. Ao mesmo tempo, investigou-se o efeito de tratamento com oxamniquine sobre a hipertensão portal, utilizando-se o mesmo modelo. Observou-se significativa elevação da taxa de letalidade e da pressão no sistema porta com o aumento da carga parasitária. Notou-se, ainda, associação significativa entre o desenvolvimento de varizes esofágicas e a intensidade de infecção por *S. mansoni*.

**Descritores:** *Schistosoma mansoni*, Esquistossomose; Hamsters, Hipertensão portal, Oxamniquine

## Abstract

The development of portal hypertension and esophageal varices in hamsters experimentally infected with *Schistosoma mansoni* was studied. The effect of treatment with oxamniquine upon the pressure in the portal system of infected hamsters had also been investigated. Significant increases in the lethality rate and in the pressure of portal system, depending on the intensity of *S. mansoni* infection, were observed as well as on esophageal varices in the same model.

**Key words:** *Schistosoma mansoni*; Schistosomiasis; Hamsters; Hypertension, portal; Oxamniquine

## Introdução

A esquistossomose mansônica ainda constitui importante problema de saúde pública no Brasil, onde se estima que 25 milhões de pessoas habitem áreas sob risco de transmissão e calcula-se que existam, atualmente, cerca de 2,5 milhões de indivíduos infectados<sup>(15)</sup>, uma parcela dos quais apresenta agravos consideráveis à saúde, destacando-se a ocorrência de hipertensão portal, que pode resultar em acentuada perda da capacidade de trabalho e, eventualmente, em óbito<sup>(18,19)</sup>, sem envolvimento hepatocelular importante<sup>(10)</sup>. Em seres humanos a patogenia da esquistossomose está associada, além de variáveis inerentes ao parasita, à ocorrência de outros agravos concomitantes<sup>(5)</sup>, a fatores de ordem genética<sup>(20)</sup> e, talvez, a variáveis de natureza ambiental<sup>(10)</sup>.

Várias espécies de mamíferos foram utilizadas experimentalmente como modelo em estudos acerca da história natural da esquistossomose. Pela facilidade operacional, baixo custo e bons resultados obtidos com camundongos (*Mus musculus*) têm sido uma das espécies mais empregadas<sup>(1,16,17,22)</sup>. Camundongos imunologicamente competentes quando infectados por *Schistosoma mansoni* rapidamente desenvolvem hepatoesplenomegalia<sup>(10)</sup>. Recentemente, conseguiu-se determinar o desenvolvimento de hipertensão portal experimentalmente em camundongos infectados com cargas únicas ou múltiplas de cercárias de *S. mansoni*<sup>(7)</sup>, sugerindo que, independentemente da carga parasitária, infecções esquistossomóticas experimentais são capazes de acarretar hipertensão portal nesse modelo.

O hamster (*Mesocricetus auratus*) é outro roedor que tem sido utilizado no estudo experimental das relações hospedeiro-parasita com diversas espécies

\* Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Departamento de Ciências Patológicas

\*\* Instituto de Medicina Tropical de São Paulo

\*\*\* Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, Departamento de Cirurgia

\*\*\*\* Bolsista de Iniciação Científica do CNPq (PIBIC)

do gênero *Schistosoma*<sup>(4,9,11,12,21)</sup>. Morgan et al<sup>(12)</sup> observaram acentuado aumento do peso hepático em hamsters experimentalmente infectados com *S. mansoni* a partir da 5ª. semana de infecção, acompanhado de elevação da pressão portal. Moustafa et al<sup>(13,14)</sup> notaram melhora das alterações hepáticas em hamsters após tratamento específico, sem revelar, entretanto, se houve diminuição da pressão portal.

### Objetivos

- O presente trabalho tem por objetivos investigar:
1. possível desenvolvimento de varizes esofágicas em hamsters submetidos a regime de hipertensão portal decorrente de infecção experimental por diferentes inóculos de *S. mansoni*;
  2. avaliação necroscópica e correlação anatomo-clínica dos animais com interesse especial no esôfago, fígado e baço;
  3. efeito de tratamento com oxamniquine sobre a hipertensão portal em hamsters previamente infectados por *S. mansoni*.

### Material e Métodos

Foram realizados dois experimentos. No primeiro utilizaram-se 55 hamsters fêmeas, com aproximadamente 8 semanas de idade, divididos em cinco grupos, conforme esquema abaixo:

G1: 15 hamsters infectados com 250 cercárias de *S. mansoni*.

G2: 15 hamsters infectados com 100 cercárias de *S. mansoni*.

G3: 10 hamsters infectados com 60 cercárias de *S. mansoni*.

G4: 10 hamsters infectados com 30 cercárias de *S. mansoni*.

G5: 5 hamsters mantidos sem infecção.

No segundo experimento empregaram-se 35 hamsters divididos em três grupos:

G6: 15 hamsters infectados com 100 cercárias de *S. mansoni* e tratados com oxamniquine (100 mg/kg) na 7ª. e 8ª. semanas após a infecção;

G7: 15 hamsters infectados com 100 cercárias de *S. mansoni*, sem tratamento;

G8: 5 hamsters mantidos sem infecção ou tratamento.

A infecção dos hamsters foi efetuada por via transcutânea, utilizando-se cercárias da cepa BH de *S. mansoni*, obtidas de exemplares de *Biomphalaria glabrata* experimentalmente infectados. Os diversos grupos de animais foram mantidos em gaiolas separadas, com alimentação e água *ad libitum*.

No primeiro experimento 90 dias após a infecção os animais de cada grupo foram sacrificados. Os hamsters, previamente anestesiados com administração intra-peritoneal de Rohypinol, foram submetidos a laparotomia e cateterização da veia porta para determinação de pressão venosa. Utilizou-se aparelho de monitorização Hewlett Packard, modelo 1960 A, conectado a transductor Hewlett Packard 1290 C, acoplado a membrana estéril Hewlett Packard 1295 C que, por sua vez, estava conectada a extensor Santronic, modelo ST 20, preenchido com solução de heparina (25 U/mL).

Após a obtenção da pressão portal determinaram-se os pesos corporal, hepático e esplênico dos animais em estudo. Colheram-se amostras do esôfago, fígado, baço e intestinos para estudo histopatológico em microscopia óptica convencional. O material amostrado foi fixado em formol tamponado e efetuaram-se cortes parafinados que foram corados com hematoxilina eosina ou com tricrômico de Masson verde.

No segundo experimento na 12ª. semana após a infecção os animais sobreviventes foram sacrificados e submetidos ao mesmo procedimento descrito para o primeiro experimento.

Os resultados obtidos foram submetidos a análise estatística com o emprego de testes não paramétricos (Qui quadrado, Kruskal-Wallis e Mann-Whitney), utilizando-se nível de significância de 95% ( $p=0,05$ ).

### Resultados

No primeiro experimento observou-se taxa de letalidade apreciável apenas no grupo de hamsters infectados com 250 cercárias (tabela 1). Nesse experi-

Tabela 1

Taxa de letalidade em hamsters infectados com diferentes inóculos de cercárias de *Schistosoma mansoni*, após 12 semanas

No. cercárias	No. animais	No. sobreviventes	Letalidade (%)
30	10	10	0,0
60	10	9	10,0
100	15	14	6,7
250	15	7	53,3 *
Sem infecção	5	5	0,0

\* $p<0,05$

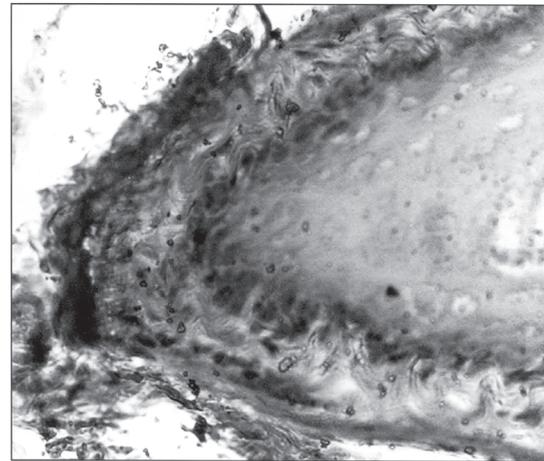
mento somente os animais submetidos a infecção com cargas elevadas de cercárias revelaram alterações mais expressivas, como mostra a tabela 2.

Nos grupos de hamsters infectados com 30 ou 60 cercárias não ocorreu desenvolvimento de varizes esofágicas; entre os animais que receberam 100 cercárias 18,2% apresentaram formação de varizes esofágicas. Entretanto, todos os hamsters infectados com 250 cercárias desenvolveram nítidas varizes no esôfago (figura).

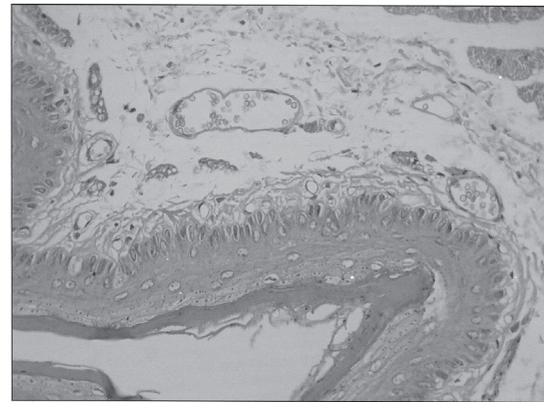
No segundo experimento não se observou diferença significativa no nível de pressão no sistema porta entre os animais tratados ou não com oxamniquine, embora ambos os grupos diferissem significativamente do controle não infectado. Quando se considerou o peso do fígado e do baço verificou-se aumento significativo no grupo de hamsters não tratados, enquanto aqueles que receberam tratamento com oxamniquine comportaram-se de forma semelhante à observada no grupo controle não infectado (tabela 3).

## Discussão

Muito do que se conhece acerca da imunopatologia da esquistossomose mansônica adveio do uso de modelo murino para o estudo das relações hospedeiro-parasita. Trabalhos realizados pelo grupo de pesquisadores liderados por Kenneth Warren mostraram que o camundongo experimentalmente infectado por *S. mansoni* desenvolve patologia comparável à que ocor-



1A



1B

**Figura 1** - Varizes na submucosa esofágica. 1A - Tricrômico de Masson. AO X 40. 1B - Hematoxilina-eosina. AO X 100.

Tabela 2

**Pesos corporal, hepático e esplênico médios e pressão portal média em hamsters infectados com diferentes inóculos de cercárias de *Schistosoma mansoni*, após 12 semanas**

No. cercárias	Peso (gramas)			Pressão portal
	Corporal	Hepático	Esplênico	
30	179,5	7,24	0,78 *	6,10 *
60	176,4	7,30	0,65	5,75 *
100	174,9	8,19	0,86 *	6,35 *
250	160,0	9,14 *	0,57	7,71 *
Sem infecção	205,8 *	7,05 *	0,43 *	2,86 *

p<0,05

Tabela 3

**Pesos corporal, hepático e esplênico médios e pressão portal média em hamsters infectados com 100 cercárias de *Schistosoma mansoni*, tratados ou não com oxamniquine**

Hamsters	Peso (gramas)			Pressão portal
	Corporal	Hepático	Esplênico	
Sem tratamento	172,2 *	9,50 *	0,80 *	6,16*
Tratados	189,8	8,20	0,55	5,33 *
Sem infecção	205,6 *	7,05 *	0,43*	2,86 *

p<0,05

re em seres humanos, com o surgimento de hipertensão portal<sup>(2,22,23)</sup>.

A partir desses estudos foi possível, ainda, caracterizar a esquistossomose como resultado de resposta imune celular contra os ovos do parasita alojados, principalmente, na microvasculatura pré-sinusoidal do fígado<sup>(23)</sup>. Mostrou-se, também, que cerca de duas semanas após o início da oviposição, que ocorre entre a sexta e sétima semanas depois da penetração das cercárias, principia a formação de granulomas em torno dos ovos retidos nos tecidos. Tais granulomas têm, em uma primeira etapa, aspecto conspícuo, com importante reação celular. Com o passar do tempo ocorre, entretanto, diminuição significativa do diâmetro desses granulomas, em razão de fenômeno de modulação espontânea, resultante de inúmeros mecanismos regulatórios<sup>(2,3,8,24)</sup>. A intensidade da resposta do hospedeiro na esquistossomose murina pode variar com a cepa dos camundongos; todavia, sempre ocorre o acometimento hepatoesplênico, independentemente da carga parasitária, excepto no caso de infecções unissexuais<sup>(6)</sup>.

Hamsters, embora menos utilizados do que camundongos, também se mostraram modelo adequado para o estudo das relações hospedeiro-parasita na esquistossomose, tendo sido descritas alterações hepáticas e renais no curso de infecções por *S. mansoni*<sup>(4,12)</sup>.

Os resultados da presente pesquisa confirmam o hamster como modelo experimental adequado para o estudo das relações hospedeiro-parasita e da morbidade na esquistossomose mansônica. Conforme mostram as tabelas 1 e 2 observou-se associação significativa entre carga parasitária e ocorrência de agravos nos animais infectados. Assim, foi significativamente maior a taxa de letalidade no grupo infectado com 250 cercárias, o mesmo ocorrendo com o aumento da pressão no sistema porta e os pesos de fígado e baço. Resultados semelhantes, embora mais discretos no que diz respeito à elevação da pressão portal já haviam sido encontrados por Morfan et al<sup>(12)</sup> e Moustafa et al<sup>(13)</sup> com relação às alterações hepatoesplênicas.

Convém destacar o nítido desenvolvimento de varizes esofágicas em todos os animais do grupo de hamsters submetidos a infecção por 250 cercárias e em parte dos infectados com 100 cercárias, além da ausência desse tipo de complicação vascular nos animais submetidos a carga parasitária menor, considerando-se o período relativamente curto de acompanhamento dos animais (figura). Tais resultados, ainda não explorados suficientemente na literatura existente, salientam a importância desse modelo para o estudo de morbidade na esquistossomose e abrem possibilidade de seu emprego para o estudo experimental de drogas e procedimentos que atuem sobre a hipertensão do sistema porta.

Não foi possível observar, de forma conclusiva, o efeito de tratamento com oxamniquine sobre a evolução da pressão portal e o desenvolvimento de varizes esofágicas no modelo hamster-*S. mansoni*. Como no experimento em que essas variáveis foram testadas utilizou-se inóculo de 100 cercárias para obtenção de infecção por *S. mansoni*, a elevação no nível da pressão portal não foi tão marcante, nem ocorreu, durante o período de estudo, formação de varizes esofágicas na totalidade dos animais infectados, dificultando a comparação entre os animais tratados e não tratados. Seria importante repetir o experimento em novo grupo de hamsters, empregando-se maior quantidade de cercárias. Os resultados obtidos no primeiro experimento (tabela 2) sugerem utilizar-se inóculo de 200 a 250 cercárias, empregando-se número apreciável de animais face à elevada letalidade observada (tabela 1), quando se usou tal quantidade de cercárias.

### Conclusões

- Observou-se aumento significativo da taxa de letalidade com a elevação da carga parasitária no modelo experimental hamster-*S. mansoni*.
- Verificou-se elevação do nível de pressão no sistema porta em hamsters infectados por *S. mansoni*, com significativa associação entre elevação da pressão e carga parasitária.
- O desenvolvimento de varizes esofágicas também mostrou associação significativa com a carga parasitária no modelo utilizado.

### Referências Bibliográficas

1. Baki CA, Guerret S, Grimaud JÁ, Chevalier M. Liver fibrosis in unisexual murine Schistosomiasis: quantitative study and morphological changes in mice with chronic infection. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand). 1998; 44:627-33.
2. Blum AM, Metwali A, Mathew RC, Cook G, Elliott D, Weinstock JV. Granuloma T lymphocytes in murine schistosomiasis mansoni have somastatin receptors and respond to somastatin with decreased IFN-gamma secretion. J Immunol 1992; 149:3621-6.
3. Boros DL, Pelley RP, Warren KS. Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in schistosomiasis mansoni. J Immunol 1975; 114:1437-41.
4. Brito T, Carneiro CR, Nakhle MC, Lima DM, Abrantes-Lemos CP, Sandoval M, et al. Localization by immunoelectron microscopy of *Schistosoma mansoni* antigens in the glomerulus of the hamster (*Mesocricetus auratus*) kidney. Exp Nephrol 1998; 6:368-76.
5. Chieffi PP. Interrelationship between schistosomiasis and concomitant diseases. [Review] Mem Inst Oswaldo Cruz 1992; 87(Suppl. 4):291-6.
6. Chieffi PP, Moretti IG. Infecção experimental por *Schistosoma mansoni* em camundongos. Efeito de infecções uni e bissexuais. Arq Méd Hosp Fac Ciênc Méd Santa Casa São Paulo 1982-83; 2/3: 10-2.

7. Chieffi PP, Crespo ACA, Costa ALA, Paschoalotti MA, Souza FC, Ribeiro MCSA. Esquistossomose experimental do camundongo: letalidade e morbidade na infecção única ou múltipla com igual número de cercárias. Rev Soc Bras Med Trop 2000; 33(Supl 1): 123. [Apresentado no 36º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 2000, São Luís.]
8. Cook GA, Metwali A, Blum A, Mathew RC, Weinstock JV. Lymphokine expression in granulomas of *Schistosoma mansoni*-infected mice. Cell Immunol 1993; 152:49-58.
9. Dingemans KP, Elias EA. Changes in the hamster liver after experimental infection with *Schistosoma intercalatum*. An ultrastructural study. Ann Trop Med Parasitol 1978; 72:231-42.
10. Dunne DW, Pierce EJ. Immunology of hepatosplenic schistosomiasis mansoni: a human perspective. [Review] Microbes Infect 1999; 1:553-60.
11. 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.
12. Morgan JS, Groszmann RJ, Rojkind M, Enriquez R. Hemodynamic mechanisms of emerging portal hypertension caused by schistosomiasis in the hamster. Hepatology 1990; 11: 98-104.
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 1996a; 26:517-24.
14. Moustafa FE, Hamouda MM, El-Shazly AM, Sheha G, Hamid S, El-Naggar HM et al. *Schistosoma mansoni* hepatic fibrosis in Syrian golden hamster: effect of dose and duration of infection as shown by immunohistopathological studies. J Egypt Soc Parasitol 1996b; 26: 585-99.
15. Passos ADC, Amaral RS. Esquistossomose mansônica: aspectos epidemiológicos e de controle. Rev Soc Bras Med Trop 1998; 31(Supl 2):61-74.
16. Pellegrino J, Katz N. Terapêutica experimental. In: Cunha AS, organizador. Esquistossomose mansoni. São Paulo: EDUSP; 1970. p.313-26.
17. Phillips SM, Lammie PJ. Immunopathology of granuloma formation and fibrosis in schistosomiasis. Parasitol Today 1986; 2:296-302.
18. Prata A. Infection with *S. mansoni*. In: Jordan P, Webbe G. Schistosomiasis. Epidemiology, treatment and control. London: Heinemann Medical Books; 1982. p.105-27.
19. Silva LC, Chieffi PP, Carrilho FJ. Schistosomiasis mansoni. Clinical features. Gastroenterol Hepatol 2005; 28:30-9.
20. Stadecker MJ. The development of granulomas in schistosomiasis: genetic backgrounds, regulatory pathways, and specific egg antigens responses that influence the magnitude of disease. [Review] Microbes Infect 1999; 1:505-10.
21. Vercruyse J, Fransen J, Southgate VR, Rollinson D. The pathology of experimental *Schistosoma curassoni* infection in mice and hamsters. Vet Pathol 1986; 23:668-72.
22. Warren KS The pathogenesis of "clay-pipe stem cirrhosis" in mice with chronic schistosomiasis mansoni, with a note on the longevity of the schistosomes. Am J Pathol 1966; 49:477-89.
23. Warren KS. Hepatosplenic schistosomiasis: an immunological disease. [Review] Bull N Y Acad Sci 1975; 51:545-50.
24. Weinstock JV, Elliott D, Metwali A, Blum A, Li J, Qadir K et al. Immunoregulation within granulomas of murine schistosomiasis mansoni. [Review] Microbes Infect 1999; 1:491-8.

Data de recebimento: 06/12/2004

Data de aprovação: 03/02/2005