

## EFEITO DA QUIMIOTERAPIA SOBRE OS OVOS DO *SCHISTOSOMA MANSONI*

MITERMAYER GALVÃO DOS REIS & ZILTON A. ANDRADE

Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz-FIOCRUZ, Rua Valdemar Falcão 121, 41390, Salvador, BA, Brasil

**Effect of chemotherapy on *Schistosoma mansoni* eggs** – Praziquantel administered to mice with *Schistosoma mansoni* infection (50 cercarias/8 weeks) was observed to cause death of adult worms and disintegration of the eggs trapped within granulomas, sometimes with calcification, after the 4th day of treatment.

Combined administration of oxamniquine/hycanthone to animals similarly infected, although quite effective in killing adult worms, did not interfere with the eggs in the tissue. The miracidium eclosion test was positive up to the 15th day after the curative treatment of these animals.

Since praziquantel treatment causes a rapid destruction of eggs, possible serological and pathogenic effects are expected that may enable a faster reabsorption of granulomas by the host tissues than that produced by other equally effective drugs.

Key words: chemotherapy – miracidium – *Schistosoma mansoni* – praziquantel – oxamniquine/hycanthone

Tem despertado pouca atenção a verificação se um determinado quimioterápico ativo contra o *Schistosoma mansoni* tem também ação sobre os ovos do parasito depositados nos tecidos. Há informação de que os antimoniais não têm ação sobre os ovos, enquanto o niridazol destrói ovos em todos os estágios (Tanaka et al., 1972).

Há pouco foi observado que a oxaminiquine mata os vermes adultos, mas não afeta os ovos, os quais podem liberar miracídios até o 17º dia após o término do tratamento curativo (dos Reis & Andrade, 1986). Matsuda et al. (1983) observaram que o praziquantel provoca a ecdise dos ovos maduros do *S. japonicum* nos tecidos e *in vitro*, enquanto os ovos imaturos, a princípio, não são afetados, mas logo ao amadurecerem degeneram, calcificam ou são lisados.

O presente trabalho procura investigar se o praziquantel tem sobre os ovos do *S. mansoni* uma ação semelhante àquela demonstrada contra os ovos do *S. japonicum*.

### MATERIAL E METODOS

Camundongos suíços albinos, de ambos os sexos, pesando entre 18 a 25 g foram infectados por via transcutânea com aproximadamente 50 cercárias recentemente eliminadas de *Biophalaria glabrata* criadas e infectadas no laboratório, com miracídios da cepa Feira de Santana (Andrade & Sadigursky, 1985). Após 60 dias da exposição, os animais com exame de fezes positivos foram divididos em três grupos: *Grupo A* – Animais tratados com praziquantel. Utilizou-se a dose de 100mg por quilo de peso, administrada quatro vezes no mesmo dia por intubação gástrica; *Grupo B* – Animais tratados simultaneamente com oxamniquine e hycanthone, de

acordo com Andrade & Brito (1981), num esquema que permite um índice de cura de 100%; *Grupo C* – Animais infectados, mas não tratados.

Foram sacrificados quatro animais de cada grupo nos dias 4, 6, 12 e 15 após o tratamento. Os animais foram anestesiados pelo éter, submetidos à perfusão pelo método de Duvall & DeWitt (1967) para a recuperação de vermes adultos e, em seguida, foram retiradas pequenas porções dos intestinos e fígado para a realização do oograma, de acordo com Prata (1957).

Porções do fígado e dos intestinos foram trituradas e postas em potassa para digestão e posterior contagem de ovos, segundo a técnica de Cheever (1970).

Para o teste de eclosão do miracídio foram homogeneizadas em salina gelada porções do fígado e dos intestinos. O material foi posto a decantar na geladeira e, após várias lavagens com salina gelada, o sedimento foi suspenso em água destilada e colocado num balão com gargalo longo e fino. Esta parte foi exposta à luz brilhante e daí se coletaram amostras para a identificação dos miracídios. A pesquisa da viabilidade dos miracídios também foi feita em fragmentos de fígado e intestino esmagados entre duas lâminas de vidro, nos quais procurou-se verificar o movimento ciliar dos miracídios e evidência de atividade das suas "células em chama".

Fragmentos do fígado e intestinos foram fixados em líquido de Bouin e submetidos a exame histológico após inclusão em parafina e com as secções coradas pela hematoxilina e eosina.

### RESULTADOS

A infecção obtida nos animais foi relativamente uniforme, possibilitando uma recupera-

ção de oito a doze vermes, com boa relação machos/fêmeas. Após o 4º dia de tratamento não mais se observaram vermes vivos nos animais submetidos à quimioterapia, exceto em duas oportunidades para os animais tratados com praziquantel. Em três animais sacrificados no 6º dia havia um verme macho vivo em cada, mas nos tecidos não foram observados ovos imaturos. No outro, sacrificado no 12º dia, observou-se um casal vivo e 22 ovos imaturos.

O teste de eclosão de miracídio tornou-se negativo a partir do 6º dia após o tratamento para os animais que receberam praziquantel, enquan-

to permaneceu positivo durante os 15 dias do período experimental para os outros dois grupos, tratados com oxamniquine/hycanthone e controles infectados não tratados. Os resultados do oograma aparecem nas Tabelas I, II e III. Eles também revelam que o tratamento com praziquantel interferiu com a integridade dos miracídios bem mais cedo que aquele com oxamniquine/hycanthone. Nos animais tratados com praziquantel observou-se, com o passar dos dias, uma diminuição progressiva do número dos ovos maduros, enquanto aumentou, também progressivamente, a quantidade de ovos mortos.

TABELA I

Oograma observado no fígado de camundongos com infecção de 8 semanas/50 cercárias, após tratamento com o praziquantel

Dias após tratamento	Nº de animais	Tipos de Ovos (%)			
		Maduro	Morto	Casca	Imaturo
4	4	62,8	23,4	13,8	0
6	4	51,0	33,5	15,5	0
12	4	47,2	46,9	4,9	5,5
15	4	25,4	48,2	26,4	0
$\bar{X} =$		46,6 ± 15,6	38,0 ± 11,8	15,2 ± 8,82	1,4 ± 2,7

TABELA II

Oograma observado no fígado de camundongos com infecção de 8 semanas/50 cercárias, após tratamento com o oxamniquine/hycanthone

Dias após tratamento	Nº de animais	Tipos de Ovos (%)			
		Maduro	Morto	Casca	Imaturo
4	4	88,7	6,4	2,2	2,7
6	4	95,5	4,5	0	0
12	4	87,5	12,5	0	0
15	4	70,1	22,0	8,0	0
$\bar{X} =$		85,4 ± 10,8	11,3 ± 7,9	2,5 ± 3,8	0,7 ± 1,4

TABELA III

Oograma observado no fígado de camundongos com infecção de 8 semanas/50 cercárias, controles não tratados

Dias após tratamento	Nº de animais	Tipos de Ovos (%)			
		Maduro	Morto	Casca	Imaturo
4	2	85,1	0	6,3	8,5
6	2	83,5	10,9	0	5,6
12	2	80,7	7,0	1,8	10,5
15	2	79,5	7,6	6,3	6,6
$\bar{X} =$		82,2 ± 2,6	6,4 ± 4,6	3,6 ± 3,2	7,8 ± 2,2

Quando uma solução diluída de praziquantel foi posta em contacto com ovos maduros obtidos de animais não tratados, se comprovou uma intensa atividade dos miracídios, muito deles fazendo ecdisse em 3 a 5 minutos, aparecendo depois de um certo tempo muitas cascas vazias nos preparados microscópicos.

Os dados da Tabela II representam os animais tratados com a associação oxamniquine/hycanthone e mostram que o número de ovos maduros predomina sobre os dos ovos imaturos, mortos ou cascas. Dados semelhantes são observados na Tabela III que expressa os resultados do grupo controle. Os índices referentes ao número de ovos maduros em relação ao número de ovos mortos é de 1,42 para o grupo tratado com praziquantel, 8,70 para o grupo tratado com oxamniquine/hycanthone e de 11,80 para o grupo infectado e não tratado.

O exame histopatológico revelou lesões semelhantes nos três grupos, com granulomas perioulares distribuídos em grande número no fígado e, em menor grau nos intestinos. A partir do 6º dia tornaram-se evidentes as alterações nos ovos localizados no centro dos granulomas nos animais tratados com praziquantel. Os ovos apareciam vazios (Fig. 1), com nítidas alterações regressivas dos miracídios, ou mesmo calcificados (Fig. 2), o que não foi observado, pelo menos de maneira tão evidente, nos outros dois grupos experimentais.

#### COMENTÁRIOS

Sabe-se que os ovos maduros permanecem nos tecidos dos bons hospedeiros pelo menos por doze dias, quando aí são retidos após a postura (Prata, 1957). Neste período os miracídios eliminam produtos irritantes (Cheever et al., 1985) ou com propriedades antigénicas (Pelley, 1977) responsáveis pela formação dos granulomas perioulares. Quando o miracídio morre, no comum dos casos, costuma se manter bem preservado por ainda algum tempo ou sofre uma desintegração lenta. Recentemente foi observado, através de técnicas de imunofluorescência, que os antígenos do miracídio permaneciam bem concentrados no interior do ovo, pelo menos até 39 dias após tratamento curativo com oxamniquine/hycanthone (Andrade & Grimaud, 1986a). Este fato pode ser importante na manutenção da imunidade residual após tratamento.

A situação com o praziquantel parece ser bem diferente. O ovo é logo destruído após o tratamento. Não sabemos ainda o destino ou o comportamento dos seus antígenos a partir daí. Estudos sobre o comportamento da curva de anticorpos em pacientes tratados com praziquantel e com outras drogas poderão nos informar mais a respeito.

A ação do medicamento sobre os ovos também pode ser de interesse porque, talvez desde os primeiros dias após o tratamento, a impor-

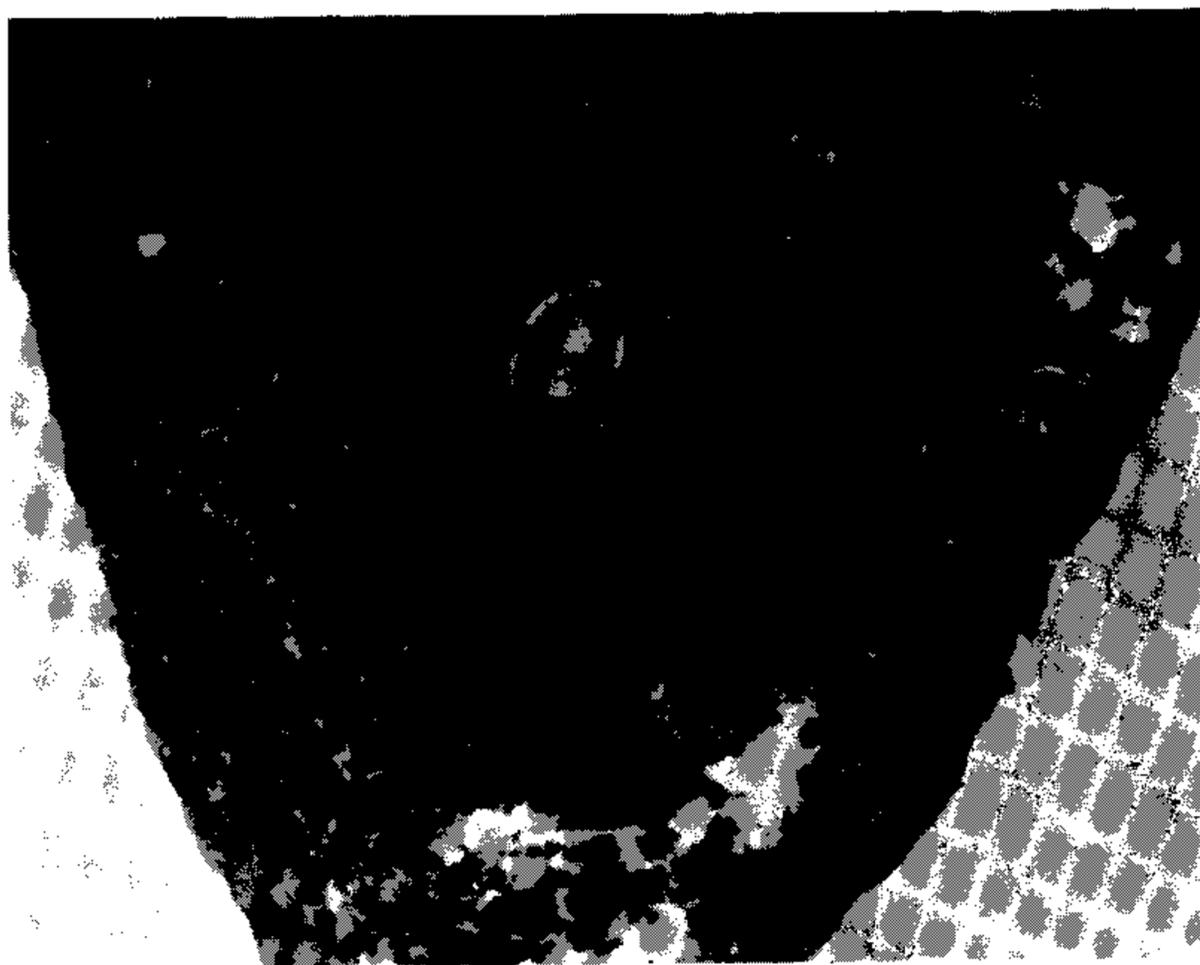


Fig. 1: granuloma hepático contendo muitos eosinófilos e centrado por um ovo do *S. mansoni* cujo miracídio foi quase totalmente lisado. Animal tratado com praziquantel. Hematoxilina e Eosina. x 120.



Fig. 2: aspecto bem representativo das alterações nos miracídios no granuloma esquistossomótico em um animal tratado com praziquantel. Há diferentes graus de alterações degenerativas e calcificação presentes no interior dos ovos. Hematoxilina e Eosina. x 120.

tância epidemiológica do doente já esteja sendo alterada com esta droga.

Também está sendo investigado se a morte prematura dos miracídios nos granulomas após tratamento com praziquantel se reflete numa reabsorção mais rápida ou peculiar da fibrose e das reações inflamatórias, um processo bem dinâmico nestas lesões periovulares (Andrade & Grimaud, 1986b).

#### RESUMO

**Efeito da quimioterapia sobre os ovos de *Schistosoma mansoni*** – A administração de praziquantel a camundongos infectados pelo *Schistosoma mansoni* (50 cercarias/8 semanas) causou necrose de coagulação e/ou lítica, e por vezes calcificação dos miracídios nos tecidos a partir do 4<sup>o</sup> dia do início do tratamento.

A administração conjugada de oxamniquine/hycanthon, embora muito efetiva para eliminar os vermes adultos, não teve ação sobre os miracídios no interior dos granulomas, tendo os testes de eclosão sido positivos até o 15<sup>o</sup> dia após o tratamento curativo.

A ação do praziquantel sobre os ovos do *S. mansoni* pode ter repercussão sorológica ou pa-

togênica, facilitando uma mais rápida reabsorção dos granulomas pelos tecidos do hospedeiro.

Palavras-chave: quimioterapia – miracídio – *Schistosoma mansoni* – praziquantel, oxamniquine/hycanthon

#### REFERÊNCIAS

- ANDRADE, Z.A. & BRITO, P.A., 1981. Evolution of schistosomal hepatic lesions after specific chemotherapy. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 30 :1223-1227.
- ANDRADE, Z.A. & GRIMAUD, J.A., 1986a. Evolution of the schistosomal hepatic lesions in mice after curative chemotherapy. *Am. J. Path.*, 124 :59-65.
- ANDRADE, Z.A. & GRIMAUD, J.A., 1986b. Fibrous resorption in schistosomal granuloma. "Les Marques de l'inflammation". A. Rouillet, Ed., Lyon, France.
- ANDRADE, Z.A. & SADIGURSKY, M., 1985. Um estudo comparativo das cepas Feira de Santana (Bahia) e Porto Rico do *Schistosoma mansoni* na infecção experimental do camundongo. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80 :37-40.
- CHEEVER, A.W., 1970. Relative resistance of the eggs of human schistosomes to digestion in potassium hydroxide. *Bull. Wld. Hth. Organ.*, 43 :601-603.

- CHEEVER, A.W.; BYRAM, J.E. & LICHTENBERG, F., 1985. Immunopathology of *Schistosoma japonicum* infection in athymic mice. *Parasite Immunol.*, 7 :387-398.
- DOS REIS, M.G. & ANDRADE, Z.A., 1987. Functional significance of periovular granuloma in schistosomiasis *Bras. J. Med. Biol. Res.*, 20 :55-62.
- DUVALL, R.H. & DeWITT, W.B., 1967. An improved perfusion technique for recovering adult schistosomes from laboratory animals. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 16 :483-486.
- MATSUDA, H.; TANAKA, H.; NOGAMI, S. & MUTO, M., 1983. Mechanism of action of praziquantel on the eggs of *Schistosoma japonicum*. *Japan. J. Exp. Med.*, 53 :271-274.
- PELLEY, R.P., 1977. Purification of *Schistosoma mansoni* egg antigens: theory and practice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 26 :104-112.
- PRATA, A., 1957. Biópsia retal na esquistossomose mansoni: Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento. Tese, UFBA, Salvador, BA.
- TANAKA, H.; MATSUDA, H. & SASA, M., 1972. Screening of drugs in *Schistosoma japonicum* infections in mice. *Research in Filariasis and Schistosomiasis*, 2 :261. University of Tokyo Press, Tokyo.