

## TERAPÊUTICA EXPERIMENTAL DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI. APLICAÇÃO DO MÉTODO DE ISOLAMENTO DE GRANULOMAS DO FÍGADO DE CAMUNDONGOS

Z. BRENER, J. PELLEGRINO e FIDALMA C. OLIVEIRA

(Instituto Nacional de Endemias Rurais, Centro de Pesquisas de Belo Horizonte)

A ausência de drogas esquistossomicidas que preencham os requisitos de uma terapêutica eficiente, tais como a facilidade de administração, pequena toxicidade e alta eficiência, tornam necessários estudos visando a descoberta de novos agentes medicamentosos. Em trabalhos de terapêutica experimental da esquistossomose, o camundongo representa o animal de escolha pelas características da evolução da infecção, pelo seu simples manejo e pelas facilidades que apresenta a sua manutenção no laboratório. Nas infecções experimentais do camundongo pelo *S. mansoni*, os seguintes critérios têm sido utilizados na avaliação da atividade terapêutica:

- a) ausência constante de ovos nas fezes (Kikuth & Gönner, 1948);
- b) distribuição relativa dos vermes nos vasos mesentéricos, veia porta e suas ramificações intra-hepáticas (Schubert, 1948; Standen, 1953; Hill, 1956);
- c) aumento da sobrevida dos camundongos tratados em relação aos controles (Luttermoser, 1954);
- d) contagem de granulomas na superfície do fígado (Luttermoser, 1954);
- e) contagem de ovos localizados no intestino, após digestão do órgão (Schwink, 1955).

Recentemente foi descrito um método simples para isolamento de granulomas do fígado de camundongos experimentalmente infectados com *S. mansoni* (Pellegrino & Brener, 1956). No presente trabalho são relatados os primeiros resultados da aplicação desta técnica como elemento de avaliação da atividade terapêutica.

### MATERIAL E MÉTODOS

Os camundongos empregados foram inoculados, por via transcutânea, com 300 cercárias. Decorridos 31 dias da infecção, os animais foram divididos em

---

Trabalho apresentado ao XIII Congresso Brasileiro de Higiene, Fortaleza, agosto de 1956.

dois grupos: um deles foi tratado com "Fuadina" na dose de 125 mg/kg, 2 vezes ao dia, durante 5 dias, usando-se a via peritoneal; o outro grupo foi conservado como controle. Tanto os camundongos tratados como os do grupo controle foram sacrificados aos 54 dias da infecção. Feita a exposição das vísceras, o fígado era examinado, anotando-se a presença ou não de granulomas na sua

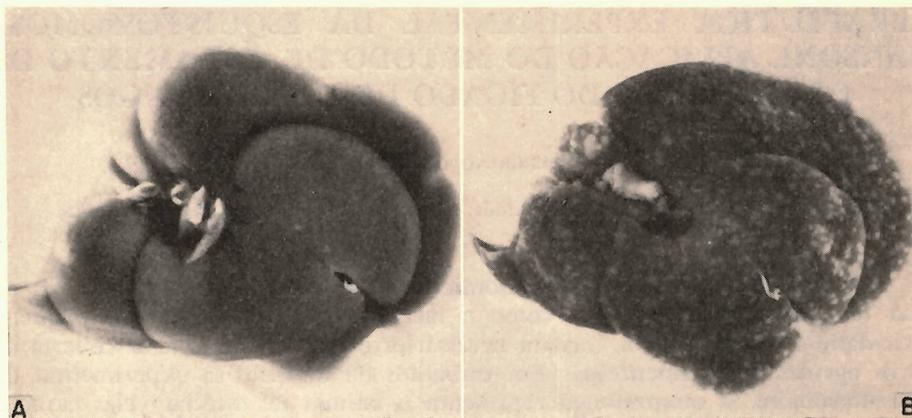


Fig. 1 — Fígado de um camundongo tratado (A) e de um camundongo controle (B), 55 dias após a infecção pelo *S. mansoni*. Observar a presença de numerosos granulomas no animal controle.

superfície (Fig. 1). Feitas as ligaduras das veias porta e cava inferior (porção supradiafragmática), o fígado era retirado e pesado. O fígado inteiro ou, mais frequentemente, um fragmento correspondente a cerca de 1/5 a 1/3 do peso total do órgão era submetido ao processo de isolamento de granulomas descrito por PELLEGRINO & BRENER (1956):

1 — Retirar o fígado e lavá-lo em água corrente. Cortá-lo em pequenos fragmentos, tendo-se previamente o cuidado de remover os restos do diafragma, ligamentos e componentes do hilo hepático. Suspender o material em cerca de 150 ml de soro fisiológico.

2 — Submeter à ação do liquidificador por 3 minutos.

3 — Colocar a suspensão em frascos de Borrel, deixando que os granulomas, vistos como pequenos grânulos esbranquiçados, se sedimentem espontaneamente.

4 — Lavar os granulomas por sedimentações repetidas.

Os granulomas isolados são contados diretamente, em placa de Petri, logo após o seu isolamento (Fig. 2) ou, então, são conservados em formol a 10% para posterior contagem. Como já foi dito na descrição do método, este só se aplica ao isolamento de granulomas já bem constituídos que surgem a partir da oitava semana da infecção.

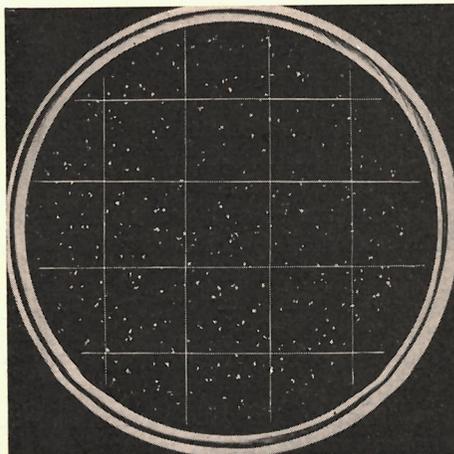


Fig. 2 — Granulomas isolados de um fragmento do fígado de um camundongo não tratado. Contagem em placa de Petri.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados referentes ao isolamento e contagem dos granulomas nos camundongos tratados e nos contrôles estão expostos na Tabela I. Nos 10 camundongos do grupo controle foi isolado um total de 15.941 granulomas, ao passo que nos animais tratados em apenas um foram encontrados 36 granulomas. Em todos os camundongos tratados foram encontrados raros vermes vivos.

TABELA I

*Granulomas isolados de fígados de camundongos tratados ("Fuadina", 125 mg/kg) e contrôles, 54 dias após a inoculação com Schistosoma mansoni.*

TRATADOS		CONTRÔLES	
Camundongo número	Total de granulomas isolados	Camundongo número	Total de granulomas isolados
1.....	0	1	2 853
2.....	0	2	1 487
3.....	0	3	3 096
4.....	36	4	763
5.....	0	5	2 170
6.....	0	6	122
7.....	0	7	346
		8	2 520
		9	738
		10	1 846
<b>TOTAL.....</b>	<b>36</b>	<b>TOTAL.....</b>	<b>15 941</b>

A interrupção da postura por drogas esquistossomicidas, quer pela morte dos vermes, quer por lesão dos órgãos reprodutores dos mesmos, é fenômeno bem conhecido, tendo sido estudado por inúmeros autores. Com o isolamento dos granulomas do fígado, a presença ou não dessa inibição da postura pode ser facilmente evidenciada já que a grande maioria dos ovos do fígado, nessa época, está envolvida pelos pseudo-tubérculos (Gönnert, 1955; Brener, 1956). A contagem desses elementos é simples, pois podem ser vistos facilmente a olho nu, o que não acontece com os ovos, cuja contagem se cerca de maiores dificuldades. O início do tratamento, aos 31 dias, se prende à necessidade de fazer que o medicamento atue no início da postura impedindo a chegada de ovos ao parênquima hepático com a conseqüente formação dos granulomas. A presença de vermes vivos em todos os animais tratados e de granulomas em pequeno número em um deles, apesar da administração de doses altas do antimonial, pode ser explicada pelo fato de que os vermes atingem a maturidade de modo assincrônico, permanecendo muitos vermes imaturos na ocasião do tratamento; como já demonstraram vários autores em provas de terapêutica experimental, vermes imaturos são menos sensíveis à quimioterapia com antimoniais ou outros agentes medicamentosos (Kikuth & Gönnert, 1948; Luttermoser, 1952; Standen, 1955).

#### SUMÁRIO

O método de isolamento de granulomas esquistossomóticos de fígado de camundongos foi aplicado como elemento de avaliação da atividade da "Fuadina" em provas de terapêutica experimental. Em 7 camundongos foi usada a "Fuadina", 31 dias após a infestação, na dose de 125 mg/kg, duas vezes ao dia, durante 5 dias; 10 animais foram tomados como controle. Todos os camundongos foram sacrificados 8 semanas após a inoculação. No grupo tratado, somente 36 granulomas foram encontrados e em apenas um camundongo. No grupo controle foram isolados, ao todo, 15.941 granulomas.

#### SUMMARY

The method for isolating schistosoma granulomas from mouse liver was applied for the evaluation of Fuadin therapy on experimental schistosomiasis. The treatment was started after 31 days of the infection, in 7 mice, and each animal received 125 mg/Kg twice daily, for 5 successive days. Ten animals were taken as controls. All the animals were sacrificed after 8 weeks of the infection. In the treated group only 36 granulomas were found in one animal. A total of 15,941 granulomas was isolated from the untreated animals.

#### BIBLIOGRAFIA

- BRENER, Z. (1956). Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. Apres. ao XIII Congr. Brasil. Hig., Fortaleza, agosto, 1956.
- GÖNNERT, R. (1955). Schistosomiasis-Studien. II. Über die Eibildung bei *Schistosoma mansoni* und das schicksal der Eier im Wirtsorganismus. Zeitsch. Tropenmed. Paras., 6 (1): 33.

- HILL, J. (1956). Chemotherapeutic studies with laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. Ann. Trop. Med. Paras., 50 (1): 39.
- KIKUTH, W., GÖNNERT, R. (1948). Experimental studies on the therapy of schistosomiasis. Ann. Trop. Med. Paras., 42: 256.
- LUTTERMOSER, G. W. (1954). Studies on the Chemotherapy of Experimental Schistosomiasis. I. A Method for detecting Schistosomacidal Activity based on Response of *Schistosoma mansoni* Infections in Mice to Fuadin Therapy. J. Paras., 40 (2): 130.
- PELLEGRINO, J. & BRENER, Z. (1956). Method for isolating schistosoma granulomas from mice liver. J. Paras. Em publicação.
- SCHUBERT, M. (1948). Conditions for drug testing in experimental schistosomiasis mansoni in mice. Amer. J. Trop. Med., 28 (1): 121.
- SCHWINK, T. M. (1955). Use of Organ Egg Counts in Assaying Chemotherapeutic Activity against *Schistosoma mansoni*. J. Paras., 41 (6): 26 (section 2).
- STANDEN, D. D. (1953). Experimental Schistosomiasis. III — Chemotherapy and mode of drug action. Ann. Trop. Med. Paras., 47 (1): 26.
- STANDEN, O. D. (1955). The treatment of experimental schistosomiasis in mice: sexual maturity and drug response. Ann. Trop. Med. Paras., 49 (2): 183.

