

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

DEBORAH REGINA SERRANO



**“COMPORTAMENTO, EM CAMUNDONGOS, DO *Schistosoma*
mansoni ORIUNDO DE MOLUSCOS TRATADOS COM
HIDROCORTISONA”**

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Debora Regina Serrano
e aprovada pela Comissão Julgadora.

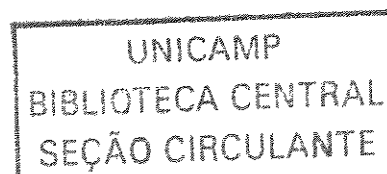
Tese apresentada ao Instituto
de Biologia para obtenção do
título de Doutor em Parasitologia.

ORIENTADORA: Profª Dra. Eliana Maria Zanotti-Magalhães

CAMPINAS/ S.P.

2002.

2003/10/05



CHAMADA Se 68c
 EX 530.26
 COMBO 16-124/03
 PROC 16-124/03
 C X
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 08/04/03
 Nº CPD

CM00181400-1

31B ID 287606

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

Se68c

Serrano, Deborah Regina

Comportamento, em camundongos, do *Schistosoma mansoni*
 oriundo de moluscos tratados com hidrocortisona/Deborah
 Regina Serrano . --
 Campinas, SP: [s.n.], 2002.

Orientadora: Eliana Maria Zanotti-Magalhães
 Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas .
 Instituto de Biologia.

1. *Schistosoma mansoni*. 2. *Biomphalaria glabrata*. 3. Hidrocortisona.
 I. Zanotti-Magalhães, Eliana Maria. II. Universidade Estadual de
 Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

CAMPINAS, 09 DE DEZEMBRO DE 2002.

BANCA EXAMINADORA:

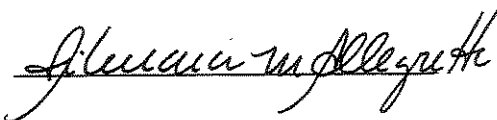
Profª Drª Eliana Maria Zanotti-Magalhães



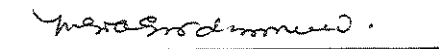
Profª Drª Toshie Kawano



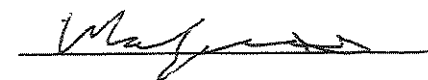
Prof. Dr. Silmara Marquês Allegretti



Profª Drª Maria Esther de Carvalho



Prof. Dr. Vanderlei Rodrigues



Prof. Dr. Luiz Cândido Souza Dias



Profª Drª Ana Amélia Carraro Abrahão



AGRADECIMENTOS

A Deus Nosso Pai pela força que sempre me foi dada para a conquista de meu objetivo.

Aos meus pais, em especial, por toda a força, apoio e incentivo à minha luta tanto nesta como em tantas outras situações.

Ao Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da UNICAMP, pela oportunidade e recursos oferecidos para a realização deste trabalho.

À FAPESP pelo auxílio financeiro em forma de bolsa de estudo e reserva técnica.

À Profª. Drª. Eliana Maria Zanotti-Magalhães pela oportunidade que me deu de levar à frente este projeto e pela orientação oferecida.

Ao Prof. Dr. Luiz Augusto Magalhães pela contribuição fundamental no desenvolvimento do trabalho e na elaboração da tese.

Ao Prof. Dr. José Ferreira de Carvalho pela realização da análise estatística dos dados obtidos durante os experimentos.

Aos Prof. Drs. Participantes do meu exame de qualificação (Nelson, Selma e Marlene) e aos componentes da pré-banca (Toshie, Vanderlei, Rogério e Humberto) pelas sugestões.

A todos os professores do Departamento de Parasitologia, em especial Profª. Drª. Marlene Tiduko Ueta e Prof. Dr. Nelson Silva Cordeiro, pela amizade e apoio durante todo o desenvolvimento do trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Parasitologia, Ivo, João, Rubens, Nilson, Sr. Geraldo, Marina, Cirene, Andréa, Margareth, Rose, Mari, por todo o apoio, incentivo e ajuda nas atividades laboratoriais, nas de ordem informática, etc.

Aos colegas do curso de pós-graduação, pertencentes ou não à minha turma, pela amizade, apoio, incentivo e colaboração em geral sempre que por mim solicitada; agradeço em especial a Aidhe, Alcione, Ângela Justus, Ângela M. Santos, Andréa, Angélica, Bianca, Camilo, Carolina, Chico, Carmem, David, Dora, Djalma, Edson, Eleuza, Fabiana, Fábio, Gílcia, Horácio, Lígia, Lúcio, Luis, Maria Cristina, Marisa, Mônica, Nádia, Nanci, Nivia, Odair, Patrícia, Patrícia Thyssen, Pedro, René, Ruben, Sandra, Simone, Tatiana, Tiago, Trézia, Vagner, Valdelice, etc.

Aos meus irmãos Josely, Simone, Ricardo, Fabiana, Luciano e Paulo, à Izildinha e a tantos outros parentes e amigos pela vibração positiva a meu favor, visando o sucesso deste trabalho.

Ao Dr. Lindomar dos Santos Franco pelo acompanhamento médico a mim dispensado nos últimos 15 anos.

Tenha firmeza em suas atitudes e persistência em seu ideal. Mas seja paciente, não pretendendo que tudo lhe chegue de imediato. Há tempo para tudo. E tudo o que é seu virá às suas mãos, no momento oportuno. Saiba esperar o momento exato em que receberá os benefícios que pleiteia. Aguarde com paciência que os frutos amadureçam para que possa apreciar devidamente sua doçura.

C. TORRES PASTORINO

ÍNDICE

I- RESUMO	
II- ABSTRACT	
III- INTRODUÇÃO	Pág. 1
IV- OBJETIVO	Pág. 10
V- CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS	
a) Infecção e tratamento dos moluscos	Pág. 11
b) Infecção de camundongos por <i>Schistosoma mansoni</i>	Pág. 12
c) Parâmetros analisados	Pág. 13
VI- MATERIAIS E MÉTODOS	
- NÚMERO DE CERCÁRIAS QUE PENETRARAM PELO TEGUMENTO DO CAMUNDONGO	Pág. 13
- NÚMERO DE VERMES RECUPERADOS	Pág. 14
- PESO CORPORAL	Pág. 14
- PESO DO FÍGADO E DO BAÇO	Pág. 14
- NÚMERO DE OVOS ELIMINADOS PELAS FEZES	Pág. 14
- ESTUDO DAS REAÇÕES GRANULOMATOSAS	Pág. 15
- NÚMERO DE GRANULOMAS HEPÁTICOS	Pág. 16
- SOBREVIVÊNCIA	Pág. 16

VII- FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS	Pág. 16
VIII- RESULTADOS	
- NÚMERO DE CERCÁRIAS QUE PENETRARAM PELO TEGUMENTO DO CAMUNDONGO	Pág. 17
- NÚMERO DE VERMES RECUPERADOS	Pág. 17
- PESO CORPORAL E DAS VÍSCERAS	Pág. 19
- NÚMERO DE OVOS ELIMINADOS PELAS FEZES	Pág. 19
- ESTUDO DAS REAÇÕES GRANULOMATOSAS	
. NÚMERO DE ANIMAIS COM GRANULOMAS NOS ÓRGÃOS	Pág. 19
. NÚMERO DE GRANULOMAS HEPÁTICOS	Pág. 23
. NÚMERO DE GRANULOMAS POR ÁREA DE TECIDO	Pág. 23
. MEDIDAS DE GRANULOMAS	Pág. 23
. OUTRAS OBSERVAÇÕES	Pág. 23
- SOBREVIVÊNCIA	Pág. 36
IX- DISCUSSÃO	Pág. 39
X- CONCLUSÕES	Pág. 50
XI- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Pág. 52
XII- APÊNDICE ESTATÍSTICO	Pág. 64

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela I: Valores médios de cercárias penetrantes e de vermes recuperados em camundongos infectados por <i>Schistosoma mansoni</i>	Pág. 18
Tabela II: Peso corporal e das vísceras de camundongos 60 dias após terem sido expostos a 60 cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i>	Pág. 20
Tabela III: Percentagem de camundongos expostos a 60 cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i> que apresentaram granulomas em seus órgãos	Pág. 22
Tabela IV: Valor médio do tamanho dos granulomas em cada órgão de camundongos expostos a 60 cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i>	Pág. 31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Gráfico. Número médio de ovos de <i>Schistosoma mansoni</i> eliminados semanalmente nas fezes dos camundongos submetidos à infecção por 60 cercárias	Pág. 21
Figura 2: Gráfico. Número médio de granulomas hepáticos contados, 60 dias após a infecção, em camundongos expostos a 60 cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i>	Pág. 24
Figura 3: Gráfico. Número médio de granulomas por área de tecido (1,49 mm ²) nos órgãos de camundongos infectados por <i>Schistosoma mansoni</i>	Pág. 25
Figura 4: Foto. Granulomas em corte histológico do fígado de camundongo Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i> da linhagem BH oriundas de moluscos <i>Biomphalaria glabrata</i> tratados (A) e não tratados (B) com hidrocortisona.	Pág. 26
Figura 5: Foto. Granulomas em corte histológico do pâncreas de camundongo Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i> da linhagem BH oriundas de moluscos <i>Biomphalaria glabrata</i> tratados com hidrocortisona	Pág. 27
Figura 6: Foto. Granulomas em cortes histológicos do baço de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de <i>Schistosoma mansoni</i> da linhagem BH oriundas de moluscos <i>Biomphalaria glabrata</i> tratados (A) e não tratados (B) com hidrocortisona	Pág. 28

- Figura 7: Foto. Granulomas em cortes histológicos do intestino de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados (A) e não tratados (B) com hidrocortisona Pág. 29
- Figura 8: Foto. Granulomas em cortes histológicos do pulmão de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados (A) e não tratados (B) com hidrocortisona Pág. 30
- Figura 9: Foto. Granulomas em cortes histológicos do fígado de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados (A) e não tratados (B) com hidrocortisona Pág. 32
- Figura 10: Foto. Granulomas em cortes histológicos do pâncreas de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados (A) e não tratados (B) com hidrocortisona Pág. 33
- Figura 11: Foto. Corte histológico do pulmão de camundongo Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona. Presença de adulto de *S. Mansoni* Pág. 34

Figura 12: Foto. Corte histológico do pulmão de camundongo Swiss SPF 60 dias Pág. 35

após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona. Tecido em estado de atelectasia.

Figura 13: Gráfico. Tempo de sobrevivência (dias) dos camundongos após o Pág. 37

início do experimento (Grupo Controle) ou após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni*

Figura 14: Gráfico: Número de camundongos vivos em cada grupo no decorrer Pág. 38
do experimento

Diversos autores vêm sugerindo que a patogenicidade dos esquistossomos seria influenciada pelo grau de suscetibilidade dos hospedeiros intermediários. Tendo anteriormente observado o aumento na suscetibilidade de moluscos provocado pela hidrocortisona, resolvemos verificar agora o comportamento do *Schistosoma mansoni* no hospedeiro definitivo e a patogenicidade por eles causada quando oriundos de tais moluscos. O tratamento dos moluscos com hidrocortisona não alterou a capacidade de penetração das cercárias em roedores *Mus musculus* nem o número total de vermes recuperados. No entanto, o número de vermes fêmeos, o número total de vermes acasalados, assim como o número de ovos nas fezes, apresentaram-se maiores nos camundongos submetidos à infecção por cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona. Os roedores infectados por cercárias de moluscos tratados com hidrocortisona mostraram maior quantidade de granulomas no fígado, no baço e no intestino que os infectados por cercárias oriundas de moluscos não tratados. No pâncreas essa diferença foi fraca e nos pulmões a quantidade foi semelhante em ambos os grupos. O tamanho dos granulomas encontrados no baço, no pulmão e no intestino foi semelhante nos camundongos de ambos os grupos, enquanto que os granulomas do fígado e do pâncreas dos animais infectados por cercárias vindas de moluscos tratados com hidrocortisona apresentaram menor tamanho. O peso do baço foi menor quando os animais foram infectados por cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona. Não houve diferença na sobrevivência dos roedores nem na variação de peso corporal.

The pathogenicity of schistosomes is suggested to be influenced by the susceptibility of the intermediary host. Since hydrocortisone increases the susceptibility of mollusks to infection, we examined the behavior of *Schistosoma mansoni* in the final host, as well as the pathogenicity of parasites derived from mollusks. The treatment of mollusks with hydrocortisone did not alter the ability of cercariae to penetrate mice (*Mus musculus*) or the total number of worms. The number of eggs in the feces was greater in mice infected with cercariae from hydrocortisone treated mollusks. Mice infected with cercariae from hydrocortisone treated mollusks showed more granulomas in the liver, spleen and intestine than did mice infected with cercariae from non treated mollusks. In the pancreas, this difference was not marked while in the lungs the frequency of granulomas was similar in both groups. The size of the granulomas in the spleen, lung and intestine was similar in both groups, whereas those in the liver and pancreas were smaller in mice infected with cercariae from hydrocortisone treated mollusks. The spleen weight was smallest in mice infected with cercariae from hydrocortisone treated mollusks but there was no difference in the survival or body weights of the two groups of mice.

III - INTRODUÇÃO

Existem em nosso país 3 espécies de planorbídeos hospedeiros naturais de *Schistosoma mansoni*: *Biomphalaria glabrata*, *Biomphalaria tenagophila* e *Biomphalaria straminea*, as quais apresentam diferentes graus de suscetibilidade à infecção por *Schistosoma mansoni* (Ruiz 1957, Paraense & Correa 1963 a, Paraense & Correa 1963 b, Magalhães 1969 a, Paraense & Correa 1978). Em outras espécies como *B. peregrina* e *B. amazonica*, apesar de serem suscetíveis experimentalmente ao trematódeo, a infecção natural jamais foi observada (Paraense & Correa 1973, Paraense & Correa 1985).

Paraense & Correa (1963 b) sugeriram a existência de duas linhagens de *S. mansoni*: linhagem BH (Belo Horizonte, MG) e linhagem SJ (São José dos Campos, SP). Os autores se basearam na verificação de que *B. glabrata* de Belo Horizonte se mostrou refratária a infecção por *S. mansoni* oriundo de São José dos Campos, SP e suscetível à linhagem local (linhagem BH), enquanto que *B. tenagophila* de São José dos Campos apresentou-se suscetível à linhagem local (linhagem SJ) porém resistente à infecção por *S. mansoni* de Belo Horizonte. Os autores sugeriram a existência de uma adaptação fisiológica entre o molusco e a linhagem local do parasita.

A suscetibilidade dos moluscos planorbídeos à infecção por *S. mansoni*, tem caráter genético e hereditário. A constituição genética do molusco condiciona a capacidade fisiológica e metabólica no processo de interação parasita-hospedeiro (Newton 1952, Santana et al. 1978). Schmid-Hempel & Koella (1994) sugeriram que no binômio molusco-*S. mansoni* existe, para cada gene condicionando a suscetibilidade, um gene específico condicionando a patogenicidade do parasita. Numerosos estudos da genética da

resistência de *B. glabrata* ao *S. mansoni* resultaram na obtenção de várias linhagens de caramujos apresentando diversos tipos de resistência a esse parasita (Richards et al. 1992).

Alterações na suscetibilidade podem ser obtidas mediante seleção genética dos moluscos (Newton 1953, Richards 1970, Santana et al. 1978, Zanotti-Magalhães et al. 1991). Através do processo de auto-fecundação dos moluscos suscetíveis, Santana et al. (1978) e Zanotti-Magalhães et al. (1991) obtiveram populações de *B. glabrata* e de *B. tenagophila* altamente suscetíveis à infecção por *S. mansoni* das linhagens BH e SJ, respectivamente, mesmo sendo a *B. tenagophila* de São José dos Campos (SP) considerada normalmente uma espécie má hospedeira do *S. mansoni*, devido aos baixos índices de infecção apresentados no campo e no laboratório.

Mecanismos celulares e humorais estão envolvidos na resistência e na suscetibilidade dos moluscos diante dos esporocistos de trematódeos (Bayne et al. 1980, Granath & Yoshino 1984). A resistência dos moluscos à infecção pelo *S. mansoni* manifesta-se pela intensa reação hemocitária em torno dos esporocistos, levando-os à morte, enquanto que em moluscos suscetíveis a reação é branda e os esporocistos permanecem em sua maioria viáveis (Newton 1952, Coelho 1957, Coelho 1962, Guaraldo et al. 1981).

Os hemócitos são os principais atuantes no sistema de defesa dos caramujos e considera-se que a resistência é devido à habilidade de circulação de hemócitos para reconhecer e atarem-se à superfície do parasita, e então serem submetidos a uma ativação citotóxica resultando em efetiva eliminação do parasita (Van der Knaap & Loker 1990). Entretanto, o reconhecimento hemocitário, a encapsulação e a eliminação de citotoxinas de *S. mansoni* parecem ser, em parte, regulados por fatores humorais (Bayne et al. 1980,

Granath & Yoshino 1984, Bayne et al. 1985).

Guaraldo et al. (1981) estudaram reações hemocitárias em *B. glabrata* de Belo Horizonte e em *B. tenagophila* de São José dos Campos, expostas, respectivamente, ao *S. mansoni* das linhagens BH e SJ. Em tais estudos foi verificado um grande número de esporocistos degenerados na última espécie, enquanto na primeira predominaram esporocistos viáveis. Estes autores puderam notar a falta de reação hemocitária, em torno dos esporocistos, em moluscos selecionados geneticamente para o caráter suscetibilidade.

Não só a relação molusco-parasita apresenta aspectos interessantes para a epidemiologia da esquistossomose; é de interesse também a relação do parasita com seu hospedeiro definitivo, levando-se em conta principalmente os elementos determinantes da patogenicidade do parasita e seu modo de propagação. Penetrando nos vasos cutâneos do hospedeiro definitivo e, através da circulação, os esquistossômulos chegam ao coração direito e aos pulmões, de onde vão para o coração esquerdo e são enviados pela circulação geral a todas as partes do organismo. Somente após a maturação dos vermes e seu acasalamento nos ramos intra-hepáticos do sistema porta, os mesmos migram principalmente para a veia mesentérica inferior (ou mesmo, ectopicamente para outras localizações). Os vermes vivos, permanecendo aí por longos anos, não produzem grandes lesões. Já os vermes mortos podem provocar lesões graves, embora circunscritas. Essas lesões ocorrem principalmente no fígado, para onde os vermes são arrastados através da circulação porta.

O ovo do parasita assume o principal papel patogênico da esquistossomose mansônica, sendo ainda o responsável pela disseminação da espécie. A patologia induzida pela infecção com o *S. mansoni* é produto da resposta imune aos ovos do parasito que, não

tendo sido eliminados com as fezes do hospedeiro vertebrado, encontram-se presos no tecido. Muitos dos ovos que não conseguem deixar o organismo do hospedeiro, mas evoluem até a produção de miracídio, encontram-se na parede do intestino, no fígado ou em vários outros órgãos, tanto dentro dos vasos como fora; serão imobilizados e envolvidos por uma reação inflamatória denominada granuloma esquistossomótico. Os ovos são imaturos quando depositados e amadurecem nos tecidos do hospedeiro. A fase de maturação leva, no camundongo, seis dias e ovos maduros podem permanecer viáveis nos tecidos pelo menos 11 a 12 dias (Prata 1957). Segundo os experimentos de Bogliolo (1959), em camundongos, a reação granulomatosa periovular já é encontrada no 39º dia de infecção (aproximadamente 72 horas após a deposição dos ovos nos tecidos). As lesões granulomatosas resultantes são constituídas por vários tipos de células. Inicialmente aparecem em torno do ovo numerosos macrófagos, seguidos de eosinófilos, linfócitos e alguns plasmócitos. Também mastócitos e fibroblastos fazem parte da constituição dos granulomas. A presença do miracídio induz a acumulação local de polimorfonucleares neutrófilos, dando ao conjunto o aspecto de um micro-abscesso. Assim que morrem os miracídios, a quantidade de polimorfonucleares diminui. Os macrófagos, com citoplasma abundante (macrófagos ativados), ficam em imediato contato com o parasito ou com os restos ovulares e, justapondo-se uns aos outros, lembram células de tipo epitelial (que alguns autores chamam de células epitelióides). Da fusão desses macrófagos podem resultar massas sinciciais multinucleadas, que abarcam total ou parcialmente os ovos mortos e empreendem a digestão lenta dos restos parasitários: são os gigantócitos, elementos característicos da generalidade dos granulomas. A proporção de cada tipo de célula depende do tecido onde o granuloma está localizado e do tempo de infecção (Doenhoff

1997). Essa reação apresenta características especiais, até certo ponto específicas, e sua intensidade varia de acordo com os tecidos em que se localizam. É mais abundante nos órgãos mais ricos em tecido conjuntivo e em vasos sanguíneos sendo, portanto, mais volumosos os granulomas localizados na serosa intestinal e nos espaços porto-biliares e menores, por exemplo, os localizados no tecido nervoso (Answaad 1949, Menezes 1952, El-Mofty & Cahill 1964).

Em decorrência da biologia dos parasitos que vivem e depositam seus ovos nos finos ramos da veia mesentérica, o intestino constitui a sede principal das lesões provocadas pelo *S. mansoni*. Estas podem ser determinadas pelos ovos que ocorrem tanto no intestino delgado quanto no grosso, sendo no homem mais freqüentes neste último especialmente na porção reto-sigmoidiana. Em camundongos (*Mus musculus*) é muito freqüente encontrá-los no sistema porta, inclusive na luz da veia porta.

A formação de granulomas ao redor de ovos de *S. mansoni* no fígado e no intestino é a maior causa de patologia em infecções esquistossomóticas, uma vez que apenas discretas manifestações patológicas são observadas em infecções causadas por um único sexo de trematódeo (Zanotti et al. 1983). Esse processo é dependente da ação de linfócitos T “helper” CD_4^+ sensibilizados, discriminados em linfócitos Th_1 e Th_2 conforme as citocinas secretadas e com atuação distinta durante o desenvolvimento da lesão. No início da infecção (fase aguda) a formação do granuloma ao redor de ovos recém depositados é intensa e está em tamanho máximo. A resposta imunológica granulomatosa, entretanto, diminui significativamente por proliferação celular e este fenômeno tem sido chamado **modulação de granuloma** (Andrade & Warren 1964, Boros et al. 1975). A diminuição no tamanho do granuloma coincide com a redução dos sintomas observados

durante a fase crônica da infecção (Raso & Neves 1965). Essa regressão da patologia tem sido atribuída a efeitos imunorregulatórios afetando a resposta de linfócitos T ao ovo, a qual também diminui durante o mesmo período (Jankovic et al. 1998). Uma variedade de diferentes mecanismos tem sido envolvida na regulação da reação granulomatosa, além dos linfócitos CD_4^+ (Th_1 ou Th_2), linfócitos T supressores CD_8^+ (Colley 1976, Chensue et al. 1993), regulação por citocinas produzidas por ambos os linfócitos T (Pearce et al. 1991, Boros 1994, Chensue et al. 1994, Flores Villanueva et al. 1994, Flores Villanueva et al. 1996, Rezende et al. 1997, Wahl et al. 1997, Kaplan et al. 1998) e o desenvolvimento de anticorpos (Abe & Colley 1984, Montesano et al. 1997). Todos os mecanismos regulatórios envolvem a participação de linfócitos T, atuando diretamente ou indiretamente através da sua função auxiliar na síntese de anticorpos (Jankovic et al. 1997). A secreção de interferon gama ($IFN-\gamma$) desencadeada por larvas ou adultos durante a fase inicial da resposta imune é essencial para iniciar a reação inflamatória, que leva à formação do granuloma no fígado e está associada à resistência à infecção (Corrêa-Oliveira 1989). Em experimentos com camundongos deficientes em linfócitos B ou seus produtos, Jankovic et al. (1998) observaram aumento da intensidade das lesões teciduais, com diminuição da eliminação de ovos e aumento da mortalidade, sugerindo que com a falta de linfócitos B ou de seus produtos deixaria de haver modulação espontânea da reação granulomatosa. Os autores mostraram ainda que a interação resposta humoral-deficiência em receptor Fc pode ter o papel mais importante no controle das reações inflamatórias induzidas por linfócitos T CD_4^+ . Já Hernandez et al. (1997) sugeriram que as respostas granulomatosas típicas podem ocorrer na ausência de linfócitos B.

Em consequência de inúmeras reações granulomatosas no fígado, o funcionamento desse órgão é alterado (Jankovic et al. 1998) podendo, raramente, levar a grave insuficiência hepática. As varizes que podem ocorrer no esôfago, como consequência de uma hipertensão portal e de deposição de colágeno, são consideradas por alguns a mais grave manifestação da infecção esquistossomótica. Com muita frequência associa-se a tais alterações uma síndrome intestinal disenterica (Bennett 1997). Entretanto, embora o mecanismo de depósito de colágeno tenha recentemente sido demonstrado por Cheever et al. (1994) e Wynn et al. (1995) envolver citocinas Th₂ (IL-4, IL-5, IL-10 e TGF β), além de IgE, IgG₄ e eosinófilos (Pearce et al. 1991), a identidade dos antígenos do ovo do parasito e o mecanismo pelo qual fibroblastos são induzidos a secretar colágeno continuam por ser esclarecidos (Wyler 1992).

Conforme observaram Warren (1967) e Warren et al. (1967) nos seus estudos da esquistossomose em camundongos infectados por linhagens de Porto Rico, Brasil, Egito e Tanzânia, no desenvolvimento da hepatosplenomegalia estão envolvidos a característica genética do hospedeiro vertebrado, o estágio de desenvolvimento da doença (fase aguda ou crônica) e a linhagem do parasita.

Estudando o desenvolvimento das linhagens BH e SJ, Magalhães & Carvalho (1969a, 1973, 1976), Magalhães et al. (1975) e Brunet et al. (1998) observaram diferenças de comportamento dessas linhagens no hospedeiro definitivo. Sendo os camundongos completamente suscetíveis ao *S. mansoni* e desenvolvendo uma doença similar, embora não idêntica àquela vista em humanos infectados, verificaram em camundongos infectados por *S. mansoni* da linhagem BH maior número de granulomas hepáticos em relação aos camundongos infectados por *S. mansoni* da linhagem SJ. Foi

observado que, dentro de certos limites, existia um percentual significativamente menor de sobrevivência de camundongos infectados pela linhagem BH. Um número bem menor de parasitas da linhagem BH provocou, nos camundongos, níveis de nocividade equivalentes aos provocados por maior número de vermes da linhagem SJ. Esses experimentos mostraram a maior patogenicidade da linhagem BH.

Nas áreas endêmicas dominadas pela linhagem BH são encontrados indivíduos com esquistossomose hepatossplênica descompensada, o que não ocorre nas áreas abrangidas pela linhagem SJ, onde os casos, quase totalmente, são assintomáticos sendo raros os casos de hepatosplenomegalia compensada (Santos 1967, Dias et al. 1988, Lima 1991).

O maior grau de nocividade apresentado pelo *S. mansoni* da linhagem BH pode ser um reflexo da facilidade com que as larvas do trematódeo se desenvolvem em *B. glabrata*. Do mesmo modo, o menor grau de nocividade do *S. mansoni* da linhagem SJ pode ter como causa a maior resistência oferecida pelo molusco vetor ao desenvolvimento da larva parasita. Saoud (1966) sugeriu que um dos fatores determinantes da patogenicidade dos esquistossomos poderia ser o grau de suscetibilidade dos hospedeiros intermediários. Zanotti-Magalhães et al. (1991, 1993, 1995, 1997), utilizando cercárias oriundas de moluscos selecionados para a suscetibilidade, verificaram maior patogenicidade do trematódeo em camundongos, determinada por maior número de granulomas esquistossomóticos por área de tecido hepático, menor tamanho das lesões granulomatosas presentes no baço, fígado e intestino por ocasião da necropsia dos camundongos, menor número de ovos encontrados nas fezes dos roedores e maior mortalidade dos roedores.

Por outro lado, Conceição & Coura (1983), verificaram maior produção de cercárias em *B. glabrata* quando expostas a miracídeos oriundos de pacientes com formas clínicas mais graves da esquistossomose.

Foi constatado anteriormente (Serrano et al. 2002) que a hidro cortisona provoca em *B. glabrata* um aumento da suscetibilidade ao *S. mansoni*, verificando-se nestes moluscos diminuição do número de hemócitos circulantes na hemolinfa e, conseqüentemente, reações hemocitárias raras ou brandas em torno dos esporocistos intramolusco. O sistema de defesa do molusco, tendo sido afetado, exerceu influência sobre o desenvolvimento da larva do *S. mansoni*, havendo assim aumento na taxa de infecção e maior liberação de cercárias pelos moluscos tratados com hidro cortisona. Desde que a maior suscetibilidade do molusco pode determinar maior capacidade das cercárias em penetrar no hospedeiro definitivo e originar maior número de vermes adultos (Zanotti-Magalhães et al. 1991), resolvemos verificar o comportamento do *S. mansoni* em *Mus musculus* quando oriundo de moluscos *B. glabrata* que, tendo sido submetidos ao tratamento com hidro cortisona, apresentaram maior suscetibilidade que os moluscos não tratados (Serrano et al. 2002).

IV – OBJETIVOS:

Estudar, em camundongos, o comportamento do *S. mansoni* oriundo de *B. glabrata* tratada com hidrocortisona e sua patogenicidade, observando: a capacidade de penetração das cercárias na pele dos camundongos; o desenvolvimento dos vermes no hospedeiro definitivo; a produção de ovos pelos vermes; a quantidade, localização e tamanho dos granulomas; a sobrevivência dos roedores.

V - CONSTITUIÇÃO DOS GRUPOS EXPERIMENTAIS

a) Infecção e tratamento dos moluscos:

Foram utilizadas *B. glabrata* descendentes de exemplares coletados em Belo Horizonte (BH) e criados no laboratório do Departamento de Parasitologia da UNICAMP. Formamos dois grupos, A e B, com 52 moluscos cada. Os moluscos do grupo A passaram apenas por processo de infecção, não sendo submetidos a qualquer espécie de tratamento. No grupo B foi realizado o tratamento dos moluscos com hidrocortisona colocando-os, em grupos de 4, em recipientes contendo 100 ml de água deionizada acrescida de 0,3 ml de solução Solu-Cortef (Succinato sódico de hidrocortisona, contido em frascos de 4ml de 500 mg de substância ativa). Os moluscos foram mantidos em contato com a solução por um período de 24 horas. Após esse período, realizou-se a exposição individual dos moluscos de ambos os grupos a 10 miracídios de *S. mansoni* da linhagem BH e repetiu-se o tratamento no grupo B com nova dose de hidrocortisona. Após o período de 24 h realizou-se um terceiro tratamento e, 48 h após a infecção, finalizamos com o quarto tratamento com hidrocortisona no grupo B, após o qual os moluscos de ambos os grupos foram mantidos em água deionizada. Tal procedimento já foi utilizado com sucesso em experimentos anteriores (Serrano et al. 2002).

b) Infecção de camundongos por *Schistosoma mansoni*

Após 4 semanas da exposição aos miracídios, realizamos a exposição dos moluscos à ação da luz e do calor fornecidos por lâmpada incandescente de 60 W por 2 horas (Pellegrino & Macedo 1955) e assim foram obtidas as cercárias necessárias à infecção dos roedores.

Para o estudo do comportamento do trematódeo em camundongos, foram montados os seguintes grupos experimentais:

Grupo I: Camundongos infectados por cercárias de *S. mansoni* oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.

Grupo II: Camundongos infectados por cercárias de *S. mansoni* oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona.

Cada grupo foi formado por 20 camundongos Swiss SPF, fêmeos, de aproximadamente 18g, com 30 dias de idade, criados no Biotério Central da UNICAMP. Os roedores foram infectados por cercárias de *S. mansoni* da linhagem BH, oriundas de moluscos *B. glabrata* tratados (grupo B) ou não (grupo A) com hidrocortisona.

Os camundongos foram infectados individualmente através da exposição da cauda a 60 cercárias provenientes de moluscos tratados ou não com hidrocortisona, conforme o grupo. O período de exposição foi de 2 horas, sob a ação da luz (lâmpada incandescente de 60 W) e da temperatura de 28 °C (Magalhães 1969b).

c) Parâmetros Analisados:

Os seguintes dados foram observados: número de cercárias que penetraram pelo tegumento do camundongo, número de vermes recuperados após 8 semanas de infecção, relação entre o número de cercárias penetrantes e o número de vermes recuperados, variação de peso corporal dos camundongos, pesos do fígado e do baço dos camundongos, número de ovos eliminados pelas fezes, número de granulomas hepáticos nos camundongos, estudo das reações granulomatosas nos órgãos dos camundongos, sobrevivência dos camundongos.

VI – MATERIAIS E MÉTODOS:

NÚMERO DE CERCÁRIAS QUE PENETRARAM PELO TEGUMENTO DO CAMUNDONGO:

Após o período de exposição da cauda dos roedores às cercárias de *S. mansoni* pudemos determinar o número de cercárias penetrantes pela diferença entre o número de cercárias a que cada camundongo foi exposto e o número de cercárias observados nos tubos de ensaios nos quais estavam depositadas as caudas dos roedores (Magalhães & Carvalho 1969 b).

NÚMERO DE VERMES RECUPERADOS:

Decorridas 8 semanas da infecção, os camundongos sobreviventes foram sacrificados, recuperando-se os vermes presentes no sistema mesentérico através de perfusão dos vasos mesentéricos e hepático (Yolles et al. 1947) e do esmagamento do fígado entre lâminas de vidro (Standen 1953, Hill 1956). Os vermes foram diferenciados quanto ao sexo, anotando-se quando estavam acasalados.

PESO CORPORAL:

Por ocasião da infecção dos camundongos, o peso corporal de cada um deles foi verificado (peso inicial) utilizando-se balança semi-analítica. Após 8 semanas, ao ser realizada a necropsia dos roedores sobreviventes, foi verificado novamente o peso desses animais (peso final).

PESOS DO FÍGADO E DO BAÇO:

Por ocasião da necropsia dos roedores sobreviventes, que ocorreu 8 semanas após a exposição às cercárias, os pesos do fígado e do baço de cada camundongo foram verificados fazendo-se uso de balança semi-analítica.

NÚMERO MÉDIO DE OVOS ELIMINADOS PELAS FEZES:

A contagem de ovos eliminados pelas fezes dos roedores realizou-se semanalmente, a partir da 4ª semana de infecção, de acordo com o método de Kato-Katz, colhendo-se as fezes dos camundongos presentes nas gaiolas.

ESTUDO DAS REAÇÕES GRANULOMATOSAS:

O estudo das reações granulomatosas foi feito em cortes histológicos. O fragmento do fígado destinado a tais cortes foi retirado do lobo direito, enquanto que do intestino utilizou-se a porção referente ao cólon ascendente. O lobo direito pulmonar, a metade longitudinal do baço e todo o pâncreas foram também utilizados para a confecção dos cortes. Tais fragmentos foram fixados em solução de Bouin logo após a perfusão. Com os cortes de cada camundongo, realizados com 5 μm de espessura, foram montadas quatro lâminas de cada órgão, as quais passaram por processo de coloração pela Hematoxilina-Eosina e pelo método de Tricrômico de Masson (Zanotti-Magalhães et al., 1993). Os cortes histológicos utilizados para medição dos granulomas foram corados pelo Tricrômico de Masson, o qual permite uma identificação mais clara dos limites da reação granulomatosa. Inicialmente foi realizada a observação microscópica da existência de granulomas nos cortes dos órgãos de cada roedor, determinando-se assim o número de animais que apresentavam tais reações. A seguir, foi feita a contagem de granulomas por área de tecido ($1,4809 \text{ mm}^2$) em cada um dos órgãos. Foram medidos todos os granulomas presentes em cortes histológicos do órgão estudado que apresentavam um único ovo em seu interior ou restos de ovos. Utilizando o programa “Image Pro Lite – The Proven Solution” version 4,0 para Windows 95/NT/98 pudemos determinar a área de cada granuloma.

NUMERO DE GRANULOMAS HEPÁTICOS:

A contagem do número total de granulomas hepáticos foi feita de acordo com o método de Pellegrino & Brener (1956) e Brener et al. (1956), homogenizando o fígado em liquidificador logo após ter sido pesado. Determinou-se, assim, o número total de granulomas no órgão.

SOBREVIVÊNCIA:

Para a análise desse parâmetro tornou-se necessária a criação de novos grupos de camundongos. Foi necessária ainda a criação de um terceiro grupo, formado por camundongos não infectados por *S. mansoni*, grupo esse que assumiu o papel de grupo controle. Assim como nos grupos anteriores, 20 roedores foram utilizados para cada grupo. A ocorrência ou não de mortalidade entre os roedores foi anotada diariamente.

VII – FORMA DE ANÁLISE DOS RESULTADOS:

Os resultados obtidos referentes aos camundongos infectados por *S. mansoni* oriundos de moluscos tratados com hidrocortisona foram comparados com os resultados do grupo de infectados por *S. mansoni* oriundo de moluscos não tratados com hidrocortisona. No caso do parâmetro “sobrevivência” foi realizada comparação também com os resultados do grupo de não infectados. Os resultados foram analisados estatisticamente para confirmar a existência ou não de diferenças significativas entre os grupos. Foi utilizado o Programa SAS System for Windows versão 8.01, 2000. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA. Mais detalhes sobre a análise estatística encontram-se no Apêndice Estatístico.

VIII - RESULTADOS:

NÚMERO DE CERCÁRIAS QUE PENETRARAM PELO TEGUMENTO DO CAMUNDONGO:

Conforme pode ser observado na Tabela I, o tratamento dos moluscos com hidrocortisona não afetou a capacidade de penetração das cercárias.

NÚMERO DE VERMES RECUPERADOS:

A observação do número de vermes adultos recuperados após 8 semanas de infecção dos camundongos não mostrou diferença entre aqueles que foram infectados por cercárias provenientes de moluscos tratados ou não com hidrocortisona (Tabela I), assim como não houve diferença na relação entre o número de cercárias penetrantes e o número de vermes recuperados (Tabela I). No entanto, a quantidade de vermes acasalados tanto quanto de fêmeas foi maior nos roedores infectados por cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona, enquanto que uma porção menor de vermes machos foi verificada em animais desse grupo (Tabela I).

Tabela I – Valores médios de cercárias penetrantes e de vermes recuperados em camundongos infectados por *Schistosoma mansoni*

	GRUPOS EXPERIMENTAIS	
	GRUPO I	GRUPO II
CERCÁRIAS PENETRANTES p= 7%	54.00 ± 6.42	55.25 ± 3.46
VERMES FÊMEOS p< 0.0001	12.27 ± 5.92	4.10 ± 1.20
VERMES MACHOS p< 0.0001	11.80 ± 9.50	27.16 ± 12.14
VERMES ACASALADOS p< 0.0001	8.47 ± 3.80	5.79 ± 4.31
TOTAL DE VERMES p= 13%	41.00 ± 13.85	42.84 ± 12.27
% DE VERMES RECUPERADOS p= 13%	75.48 ± 24.21	77.32 ± 20.58

GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

PESOS CORPORAL E DAS VÍSCERAS:

Na Tabela II estão apresentados os resultados referentes aos pesos corporal e das vísceras dos camundongos. Não houve diferença na variação de peso corporal dos camundongos infectados, independente da origem das cercárias (moluscos tratados ou não com hidrocortisona). O mesmo foi verificado quanto ao peso do fígado. Já nos roedores infectados por *S. mansoni* oriundo de moluscos não tratados observamos baço com maior peso.

NÚMERO DE OVOS ELIMINADOS PELAS FEZES:

Os camundongos infectados por cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona foram os primeiros a apresentar ovos de *S. mansoni* em suas fezes (4ª semana de infecção). Tais roedores mostraram ainda, semanalmente, uma quantidade maior de ovos/grama de fezes. Mesmo quando, no decorrer do experimento, a quantidade de camundongos vivos desse grupo mostrou-se menor que a do segundo grupo, sua média semanal de ovos eliminados nas fezes continuou apresentando-se maior (Fig 1).

ESTUDO DAS REAÇÕES GRANULOMATOSAS:

- NÚMERO DE ANIMAIS COM GRANULOMAS NOS ÓRGÃOS:

A Tabela III mostra a percentagem de animais de cada grupo que apresentaram granulomas nos vários órgãos estudados. Não foi observada diferença significativa na quantidade de animais que apresentaram granulomas comparando-se os dois grupos experimentais.

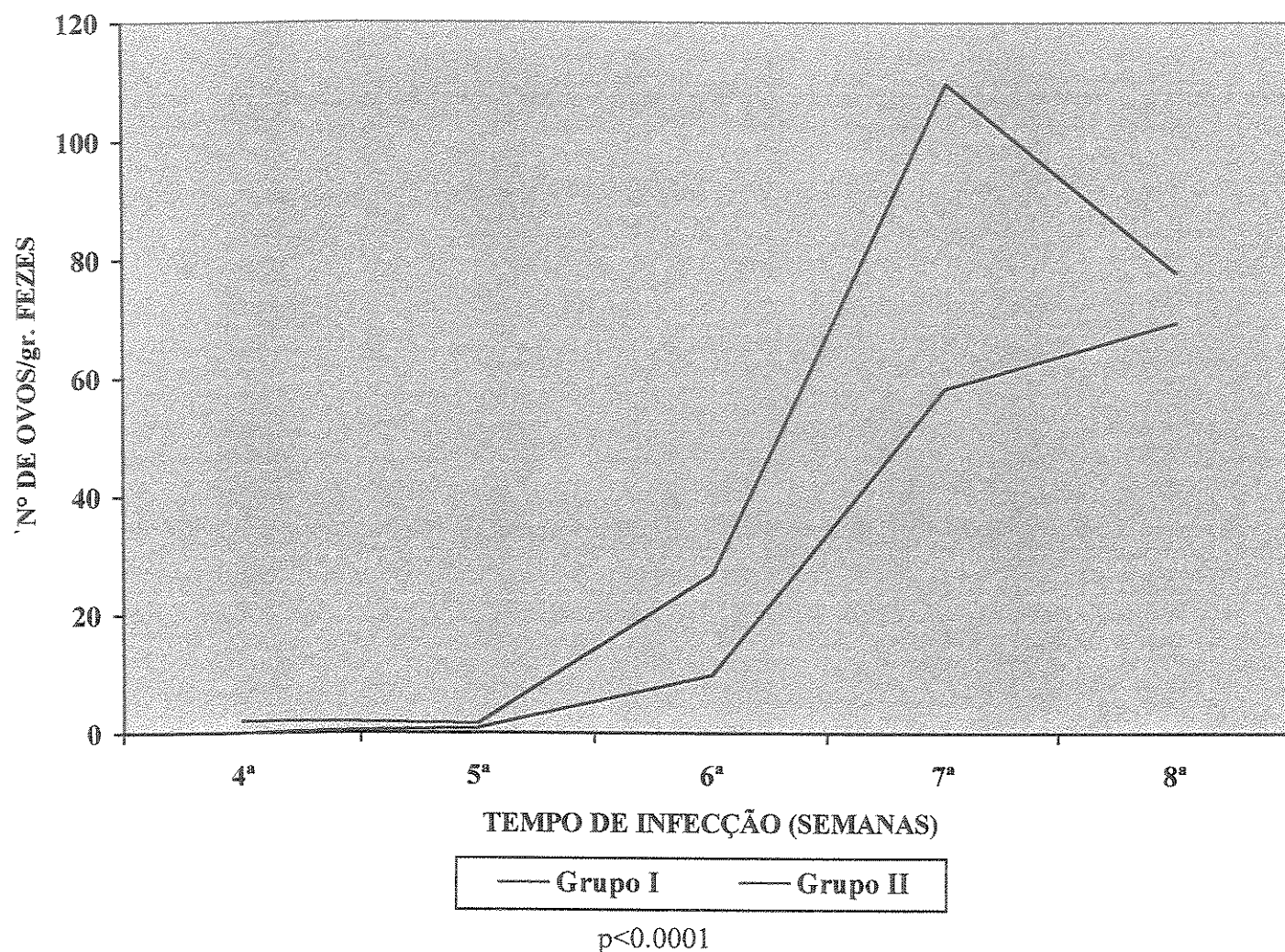
Tabela II – Peso corporal e das vísceras de camundongos 60 dias após serem expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni*.

	GRUPOS EXPERIMENTAIS	
	GRUPO I	GRUPO II
VARIAÇÃO DO PESO CORPORAL (% DE AUMENTO MÉDIO) p= 56%	47.92 ± 16.96	59.61 ± 15.06
<u>BACO</u>		
PESO (gr)	0.60 ± 0.15	0.73 ± 0.21
% DO PESO DO CORPO	1.92 ± 0.45	2.38 ± 0.59
p= 5%		
<u>FÍGADO</u>		
PESO (gr)	3.04 ± 0.49	3.21 ± 0.72
% DO PESO DO CORPO	9.72 ± 1.20	10.51 ± 1.54
p= 43%		

GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

FIG 1: NÚMERO MÉDIO DE OVOS DE *Schistosoma mansoni* ELIMINADOS SEMANALMENTE NAS FEZES DOS CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À INFECÇÃO POR 60 CERCÁRIAS



GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

Tabela III – Percentagem de camundongos expostos a 60 cercárias de *Schistosoma manson*i que apresentaram granulomas em seus órgãos

ÓRGÃO	GRUPO I	GRUPO II
	(%)	(%)
Fígado (p< 0.0001)	100,00	100,00
Intestino (p= 1%)	93,33	100,00
Pulmão (p= 35%)	80,00	84,21
Baço (p= 0.09%)	100,00	100,00
Pâncreas (p= 5%)	100,00	100,00

GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma manson*i da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma manson*i da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

- NÚMERO DE GRANULOMAS HEPÁTICOS:

Como pode ser observado na Fig 2, foi bem maior o número de granulomas hepáticos encontrados em camundongos infectados por *S. mansoni* oriundo de moluscos tratados com hidrocortisona.

- NÚMERO DE GRANULOMAS POR ÁREA DE TECIDO:

Com exceção do pulmão, os órgãos dos animais infectados por *S. mansoni* de moluscos tratados apresentaram maior quantidade de granulomas por área de tecido (Fig 3). Nas figuras de 4 a 10, estão apresentadas microfotografias que ilustram os aspectos das reações granulomatosas nos vários órgãos estudados.

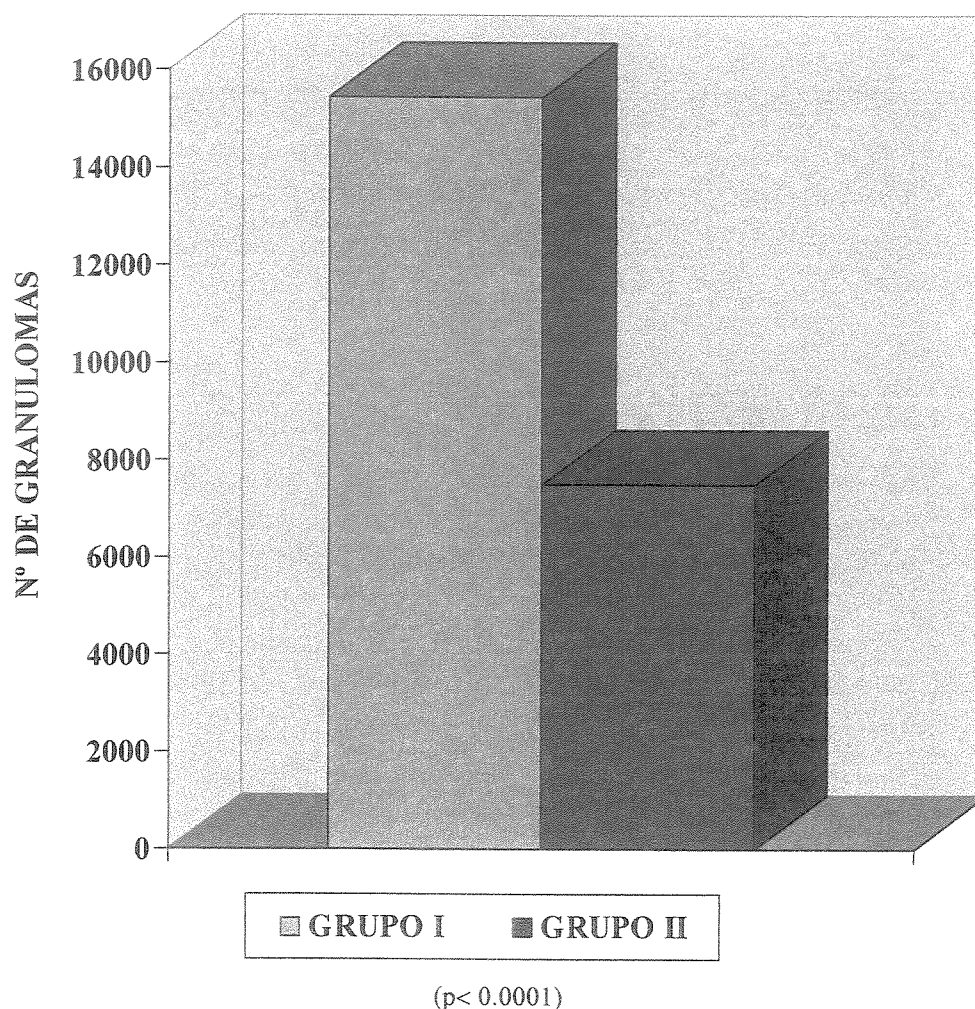
- MEDIDAS DE GRANULOMAS:

Na Tabela IV estão apresentados os valores médios das áreas dos granulomas dos diferentes órgãos estudados. A área dos granulomas presentes no baço, no pulmão e no intestino de roedores de ambos os grupos apresentou medidas semelhantes (Figs 6,7 e 8). Tanto no fígado como no pâncreas dos animais infectados por *S. mansoni* vindo de moluscos não tratados os granulomas foram maiores (Figs. 9 e 10).

- OUTRAS OBSERVAÇÕES:

Paralelamente ao estudo das reações granulomatosas, a observação dos cortes histológicos nos permitiu registrar a presença de vermes adultos em alguns órgãos, como por exemplo no pulmão (Fig. 11). Neste órgão foi possível ainda observar o tecido em estado de atelectasia (Fig. 12). Ambas as ocorrências foram raras, sendo porém registradas em camundongos de ambos os grupos.

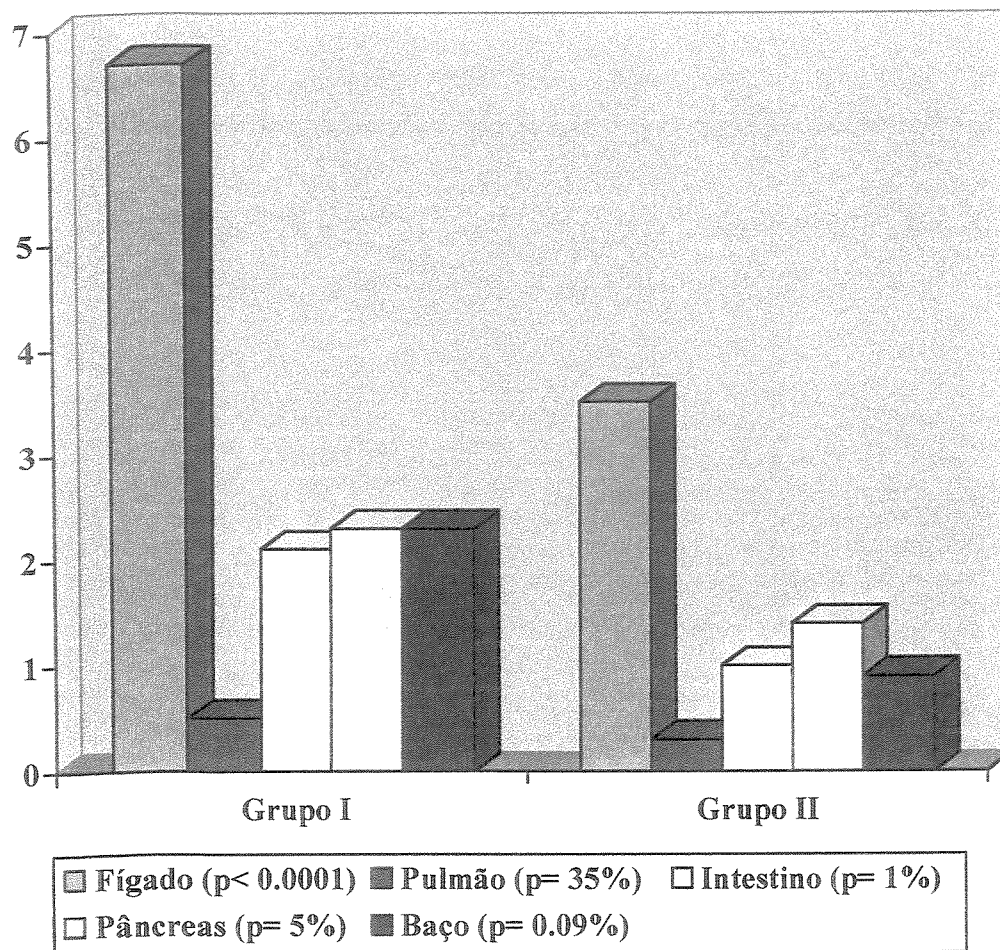
FIG. 2: NÚMERO MÉDIO DE GRANULOMAS HEPÁTICOS CONTADOS, 60 DIAS APÓS A INFECÇÃO, EM CAMUNDONGOS EXPOSTOS A 60 CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*



GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

FIG. 3: NÚMERO MÉDIO DE GRANULOMAS POR ÁREA DE TECIDO (1,49 mm²) NOS ÓRGÃOS DE CAMUNDONGOS INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni*



GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

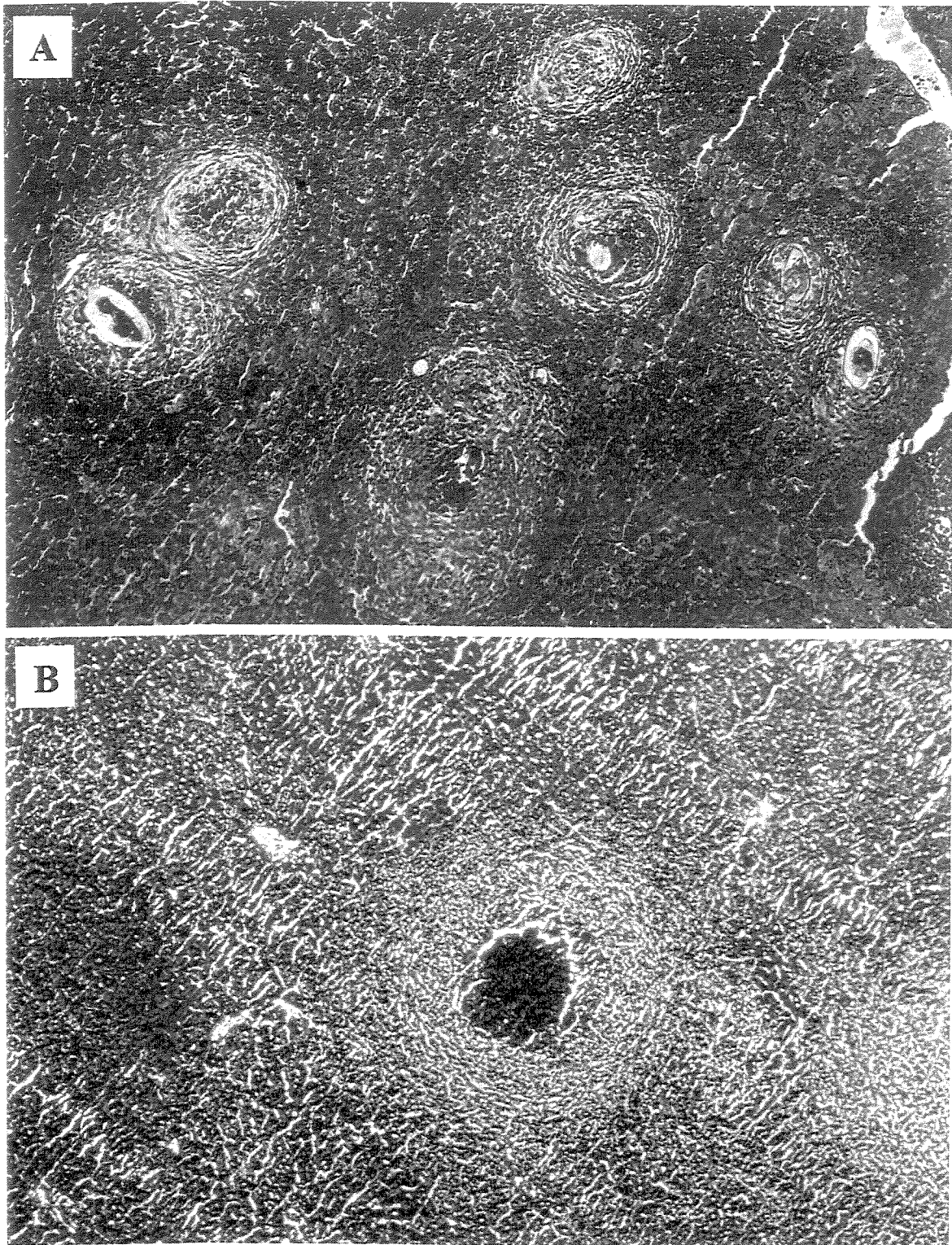


FIG. 4: Corte histológico do fígado de camundongo Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata*. Coloração Tricrômico de Masson. 100x.

- A-** infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.
 - B-** Infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona.
- Observa-se em B quantidade de granulomas menor que em A.

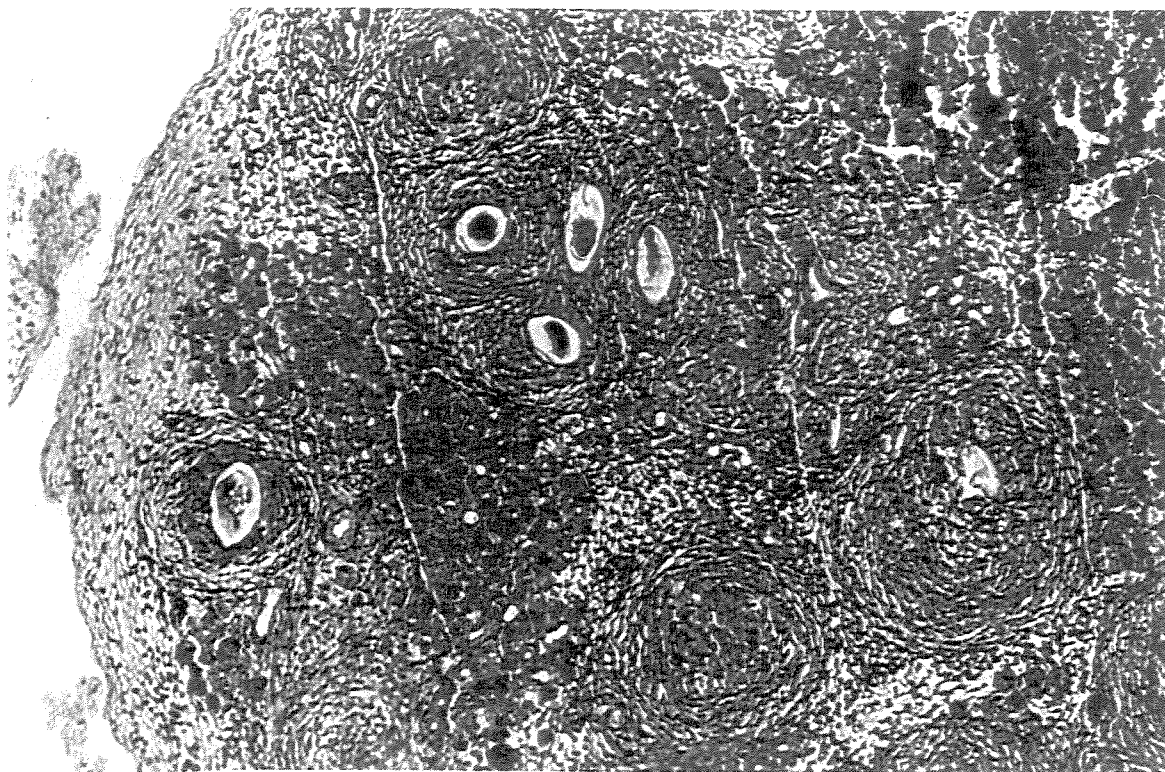


FIG. 5: Corte histológico do pâncreas de camundongo Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona. Observa-se a grande quantidade de granulomas por área de tecido, característica desse grupo experimental. Coloração Tricrômico de Masson. 100x.

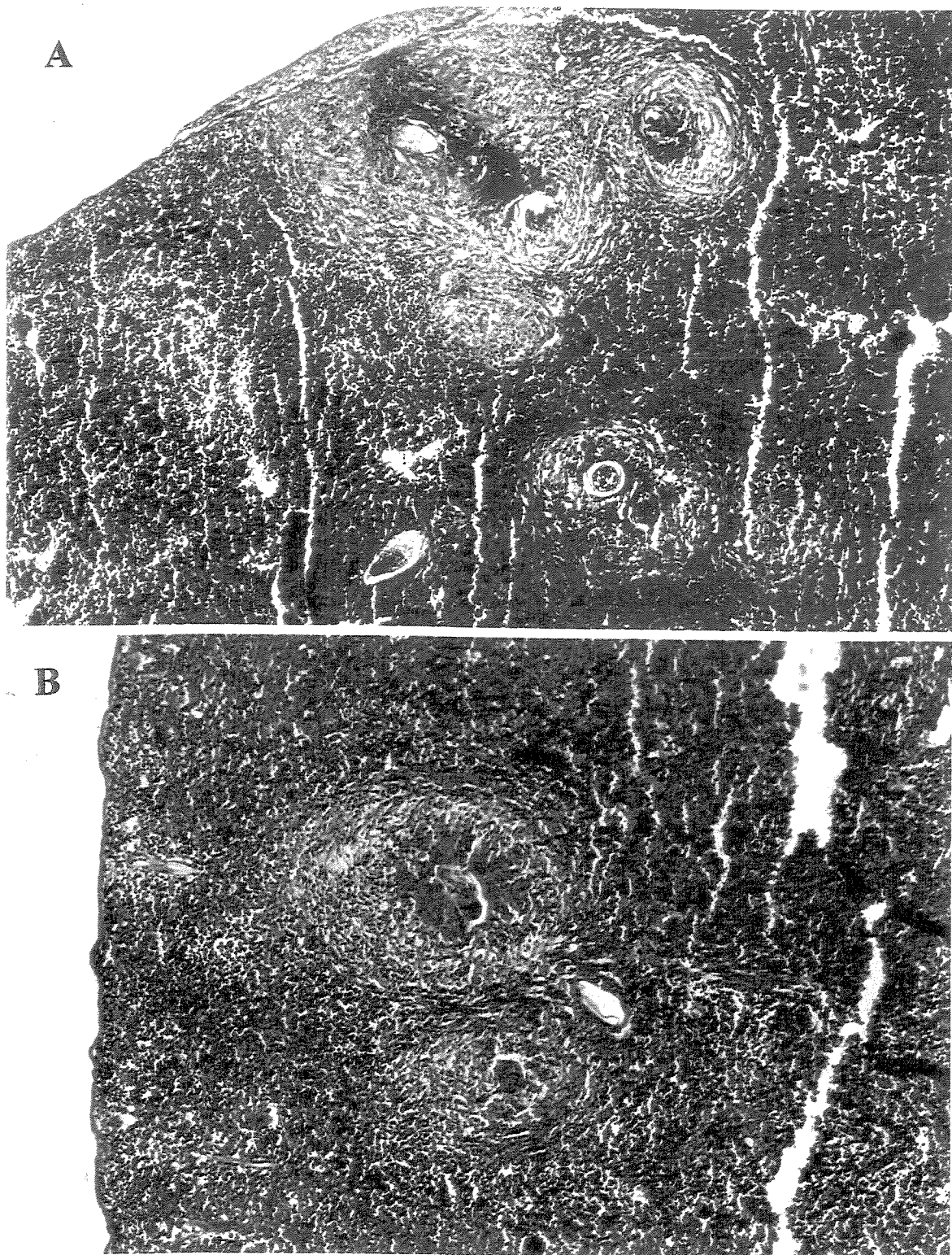


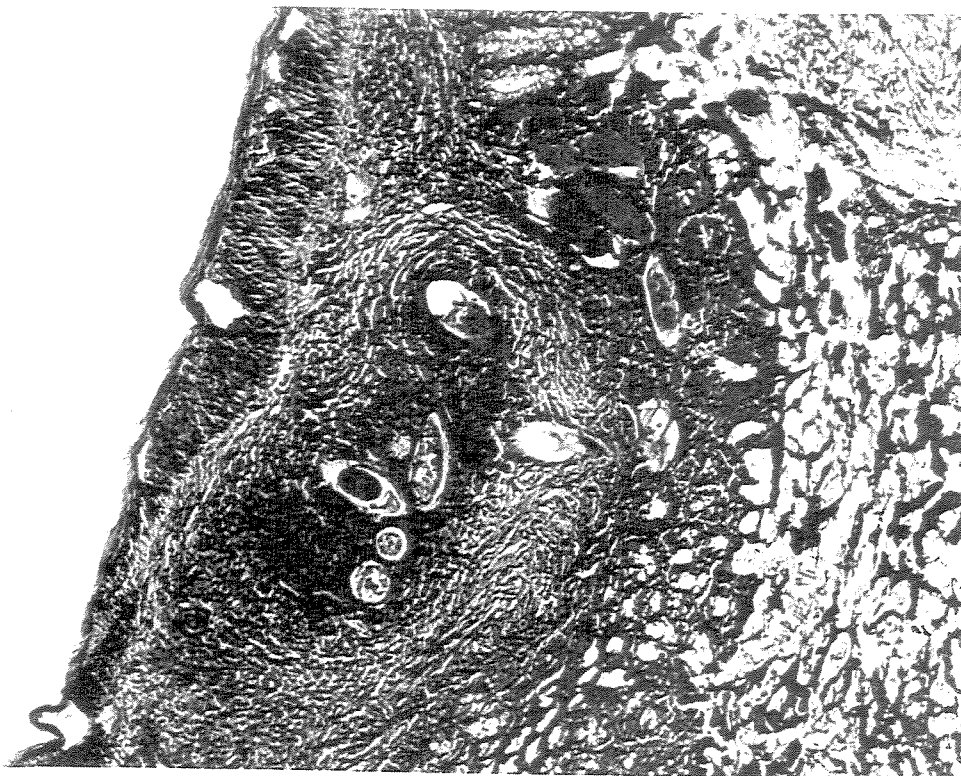
FIG. 6: Cortes histológicos do baço de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata*. Coloração Tricrômico de Masson. 100x.

A- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.

B- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona.

Observa-se que os granulomas, apesar de não diferirem quanto ao tamanho, apresentam-se em maior quantidade em A.

A



B

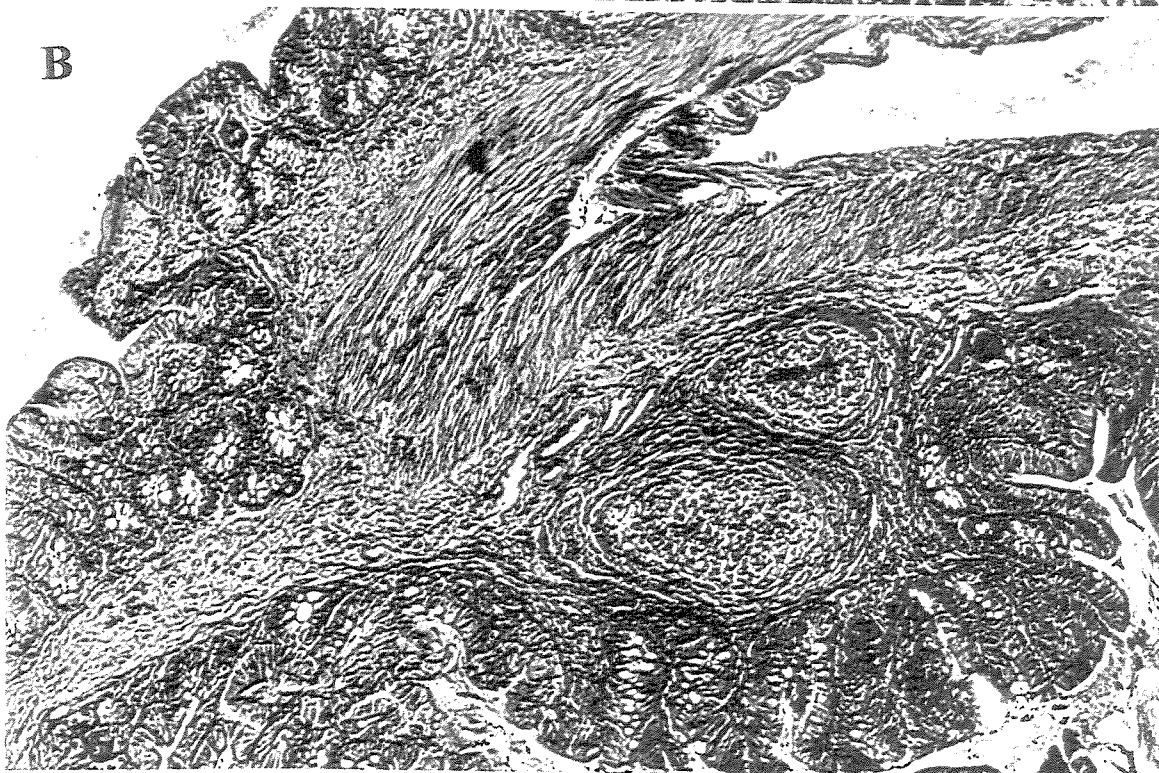


FIG. 7: Cortes histológicos do intestino de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata*. Coloração Tricrômico de Masson. 100x.

A- infecção realizada com cercarias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.

B- infecção realizada com cercarias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona.

Observa-se a inexistência de diferença significativa no tamanho dos granulomas encontrados em A e em B. Porém, observa-se maior quantidade dos granulomas em A.

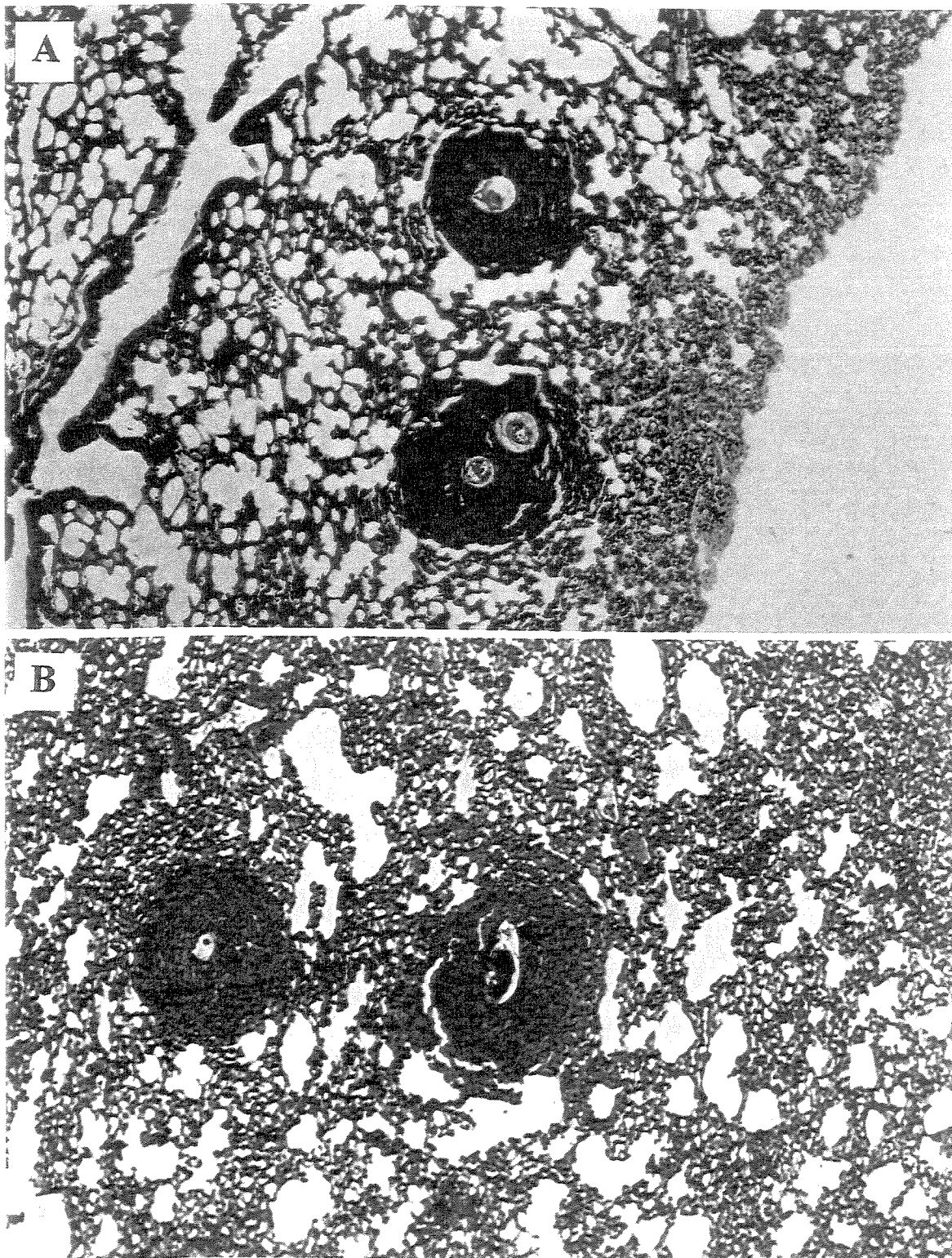


FIG. 8: Cortes histológicos do pulmão de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata*. Coloração Tricrômico de Masson. 100x.

A- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.

B- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona.

Observa-se que os granulomas encontrados em A e em B apresentam-se semelhantes tanto em tamanho quanto em quantidade.

Tabela IV: Valor médio do tamanho dos granulomas em cada órgão de camundongos expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni*.

ÓRGÃO	G R U P O I		G R U P O II	
	Nº MÉDIO GRANULOMAS/ CAMUNDONGOS MEDIDOS EM CADA ÓRGÃO	ÁREA (μm^2)	Nº MÉDIO GRANULOMAS/ CAMUNDONGOS MEDIDOS EM CADA ÓRGÃO	ÁREA (μm^2)
FÍGADO (p= 0.0084)	4,80	33.335 $\pm$ 12.718	4,56	47.991 $\pm$ 19.551
BAÇO (p= 62.18%)	1,90	46.968 $\pm$ 33.799	2,59	42.666 $\pm$ 24.662
PULMÃO (p= 27,09%)	2,00	54.734 $\pm$ 21.402	2,40	54.205 $\pm$ 26.338
PÂNCREAS (p= 1.34%)	3,09	25.673 $\pm$ 16.783	2,11	50.986 $\pm$ 27.643
INTESTINO (p= 20.74%)	2,71	42.652 $\pm$ 23.646	2,83	37.429 $\pm$ 13.079

GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

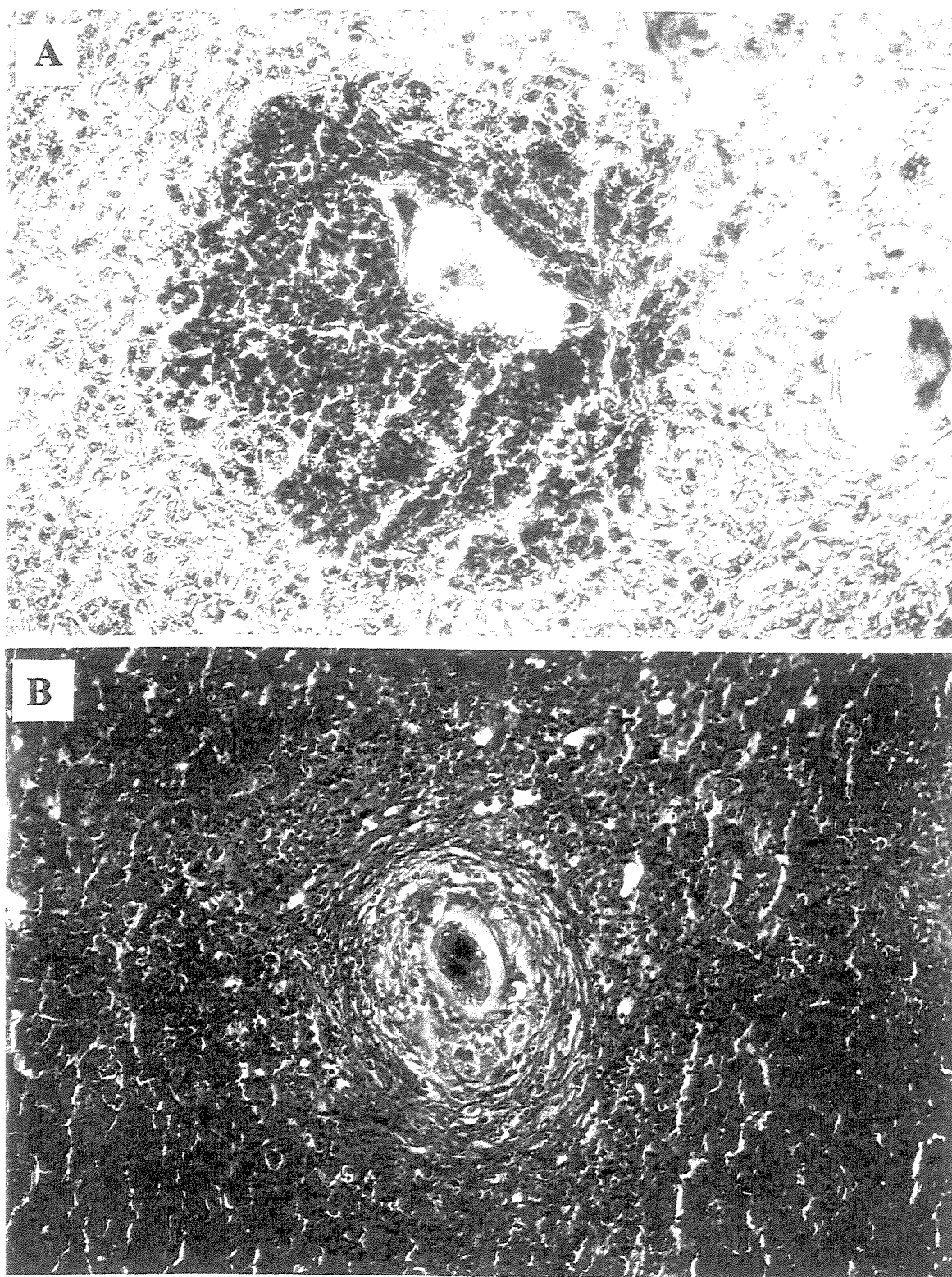


FIG. 9: Cortes histológicos do fígado de camundongos Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata*. Coloração Tricrômico de Masson.

A- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona. 400x.

B- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona. 200x.

Observa-se em A granuloma menor que em B.

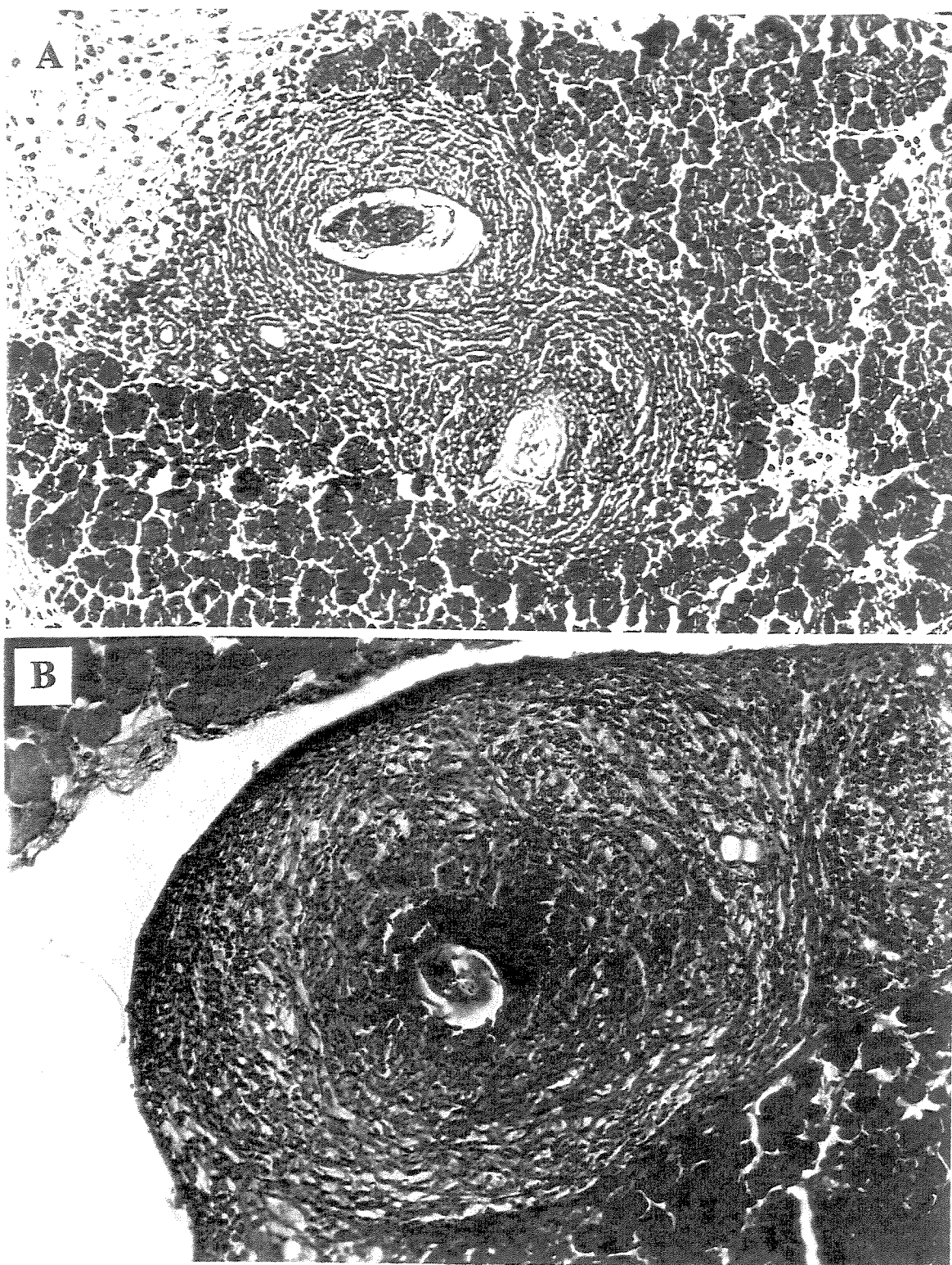


FIG. 10: Cortes histológicos do pâncreas de camundongos Swiss 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata*. Coloração Tricrômico de Masson. 200x.

A- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.

B- infecção realizada com cercárias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona.

Observa-se em A granulomas menores que em B.

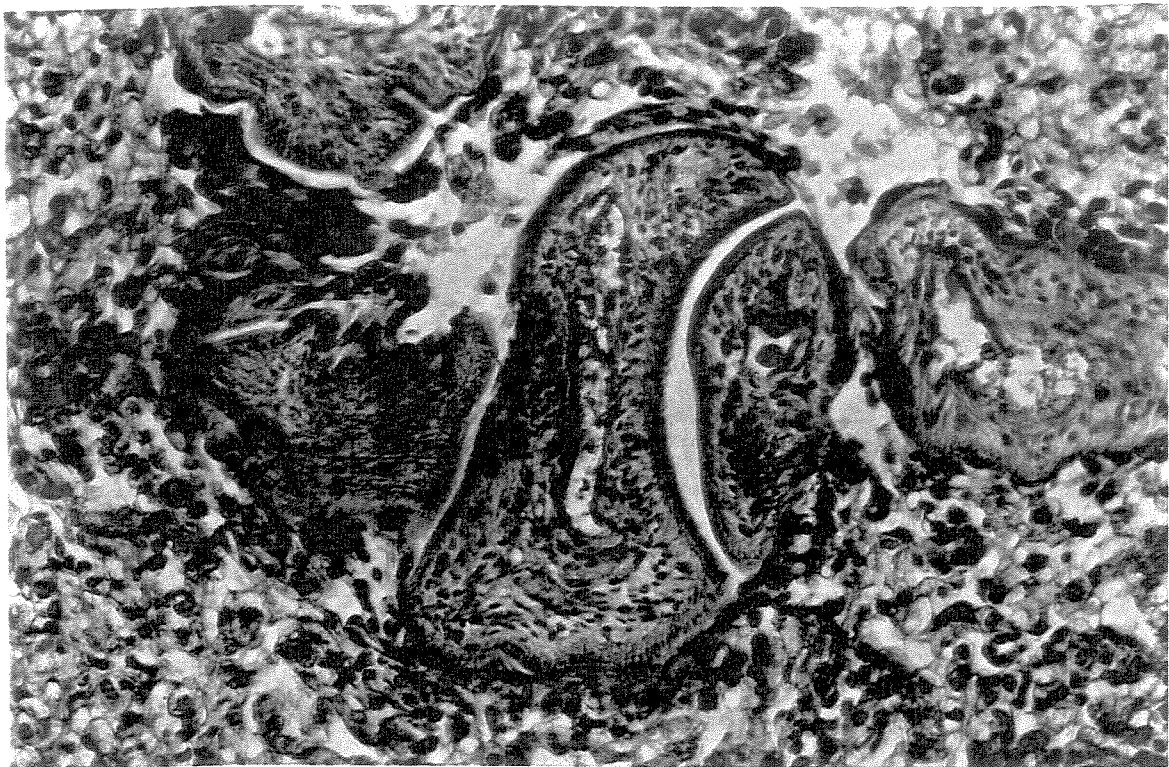


FIG. 11: Corte histológico do pulmão de camundongo Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona. Presença de adulto de *S. mansoni*. Coloração Tricrômico de Masson. 400x.

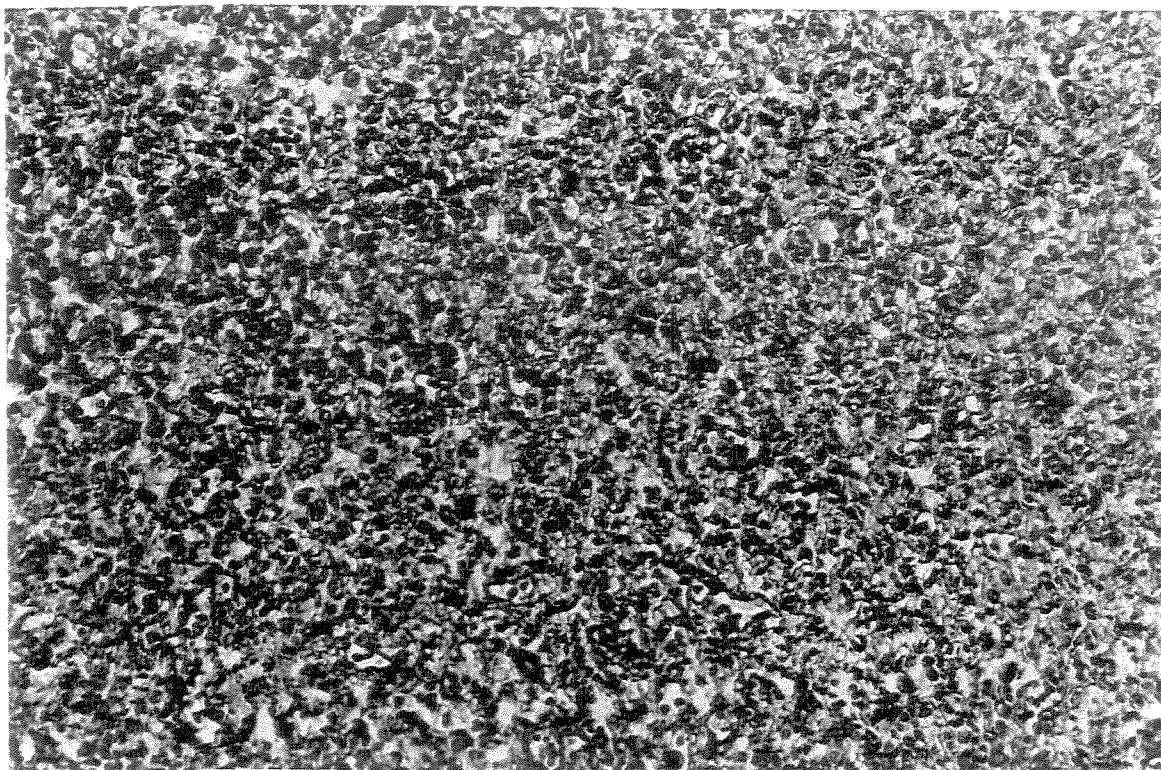
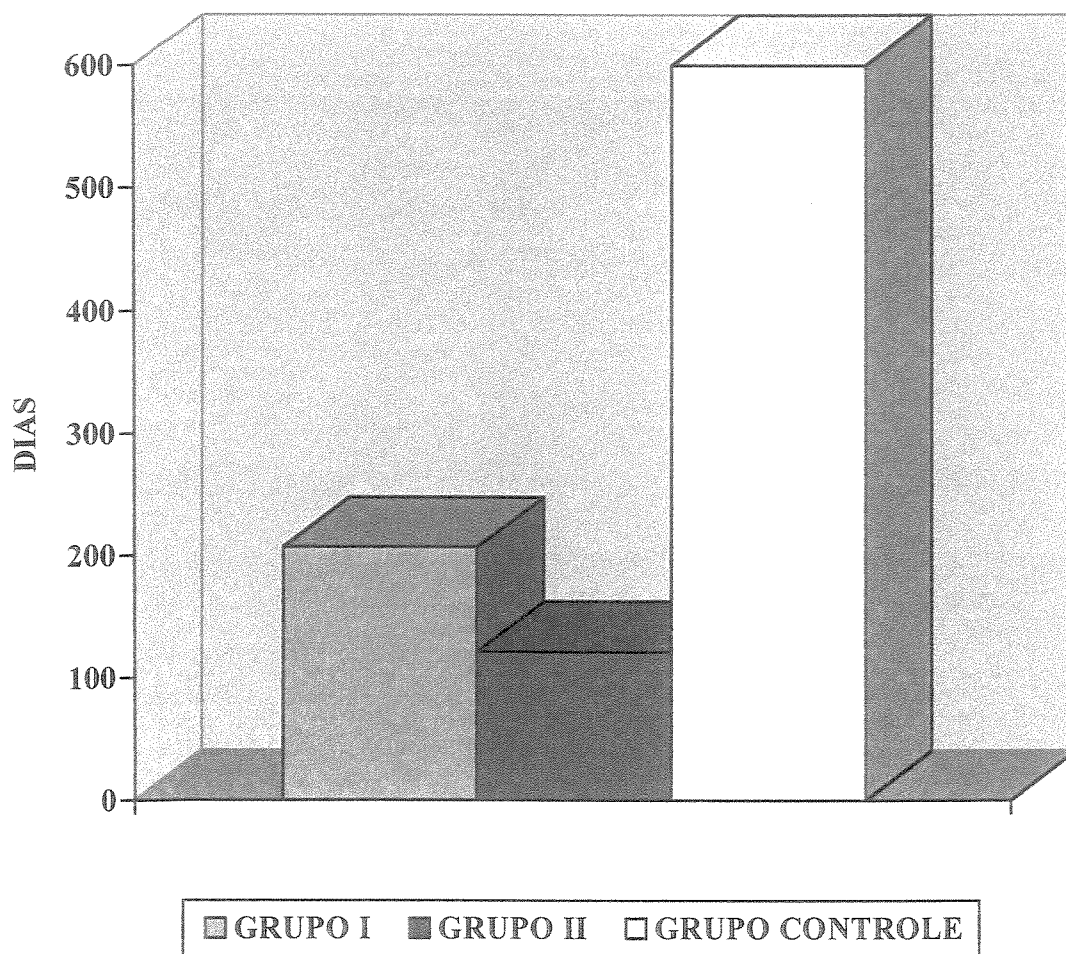


FIG.12: Corte histológico do pulmão de camundongo Swiss SPF 60 dias após a exposição a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona. Tecido apresentando-se em estado de atelectasia. Coloração Tricrômico de Masson. 200x.

SOBREVIVÊNCIA:

Observando-se diariamente os camundongos, notou-se que os não infectados sobreviveram muito mais. Mas a mortalidade entre os infectados não mostrou relação alguma com a origem das cecárias utilizadas na infecção (Figs 13 e 14).

FIG. 13: TEMPO MÉDIO DE SOBREVIVÊNCIA (DIAS) DOS CAMUNDONGOS APÓS O INÍCIO DO EXPERIMENTO (GRUPO CONTROLE) OU APÓS A EXPOSIÇÃO A 60 CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*



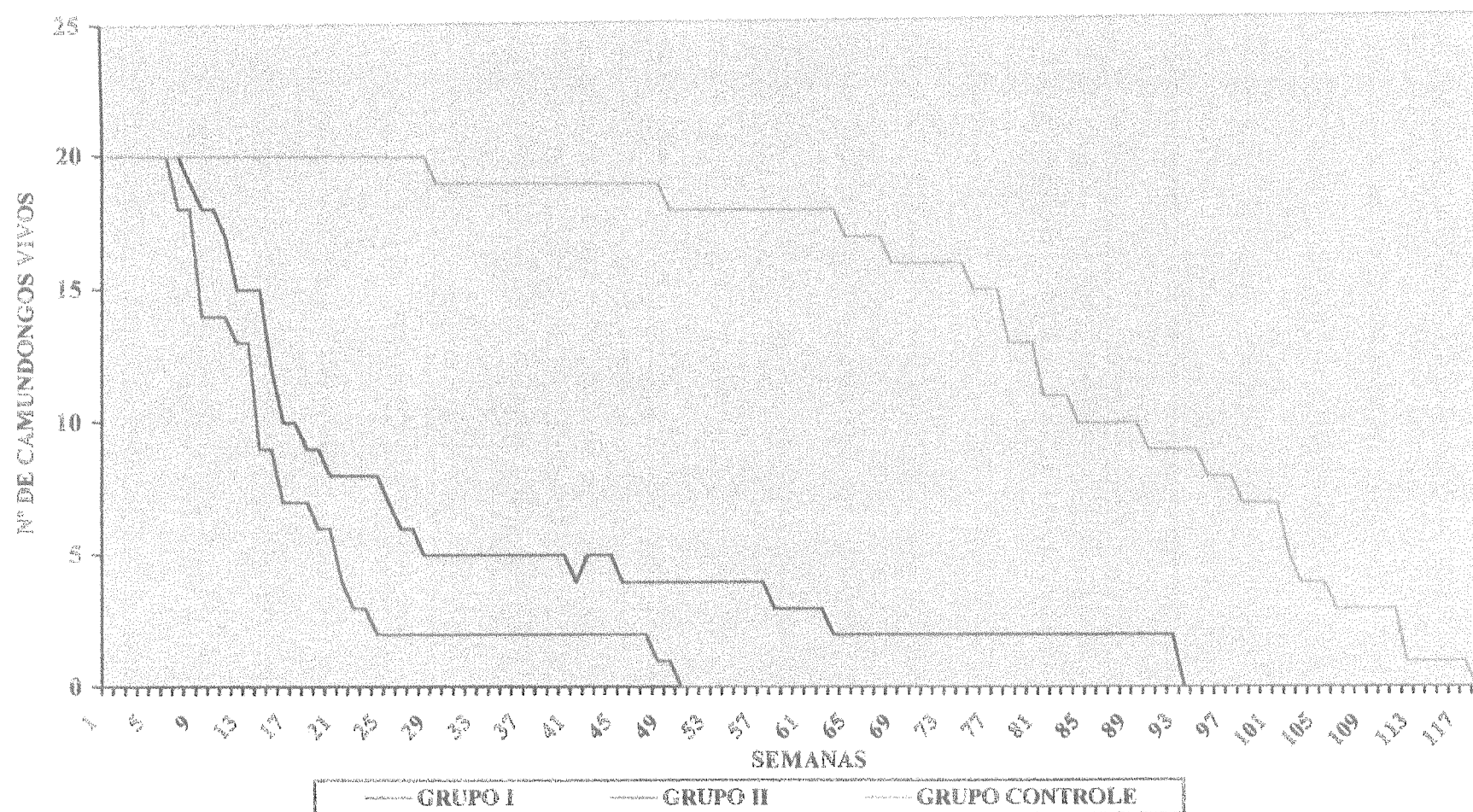
(p= 9.6%)

GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

GRUPO CONTROLE: Camundongos Swiss SPF não expostos a infecção

FIG. 14: NÚMERO DE CAMUNDONGOS VIVOS EM CADA GRUPO NO DECORRER DO EXPERIMENTO



GRUPO I: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* tratados com hidrocortisona.

GRUPO II: Camundongos Swiss SPF expostos a 60 cercárias de *Schistosoma mansoni* da linhagem BH oriundas de moluscos *Biomphalaria glabrata* não tratados com hidrocortisona.

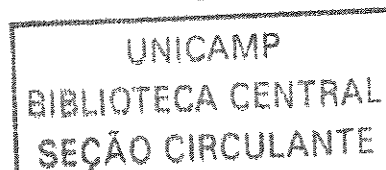
GRUPO CONTROLE: Camundongos Swiss SPF não expostos a infecção.

IX – DISCUSSÃO:

Os mecanismos envolvidos no processo de penetração das cercárias são muito complexos: tais larvas em pequeno espaço de tempo mudam de ambiente, emergindo do molusco em que se desenvolvem para o ambiente aquático e, a seguir, para o hospedeiro definitivo. O organismo do hospedeiro vertebrado oferece um ambiente ativo, apresentando reações à presença de larvas, durante o relacionamento parasita-hospedeiro que haverá de manter-se durante todo o parasitismo. Miller & Wilson (1978) afirmaram que 60 a 70% das cercárias de *S. mansoni* não conseguem penetrar pela pele do camundongo.

Anteriormente foi verificado (Magalhães & Carvalho, 1969 b; Lemos Neto et al., 1978) que cercárias da linhagem BH apresentaram maior capacidade de penetração pela cauda do camundongo que as da linhagem SJ, capacidade essa relacionada com a maior suscetibilidade do hospedeiro intermediário (*B. glabrata*). Embora em moluscos tratados com hidrocortisona as reações hemocitárias em torno dos esporocistos sejam raras ou brandas à semelhança do que ocorre com moluscos selecionados geneticamente para a suscetibilidade, não observamos uma capacidade maior das cercárias produzidas nestes moluscos em penetrar no tegumento dos camundongos (Tabela I). Zanotti-Magalhães et al. (1991) verificaram maior capacidade de penetração das cercárias quando utilizaram *B. glabrata* selecionada geneticamente para a suscetibilidade. Bruno (1997) verificou maior capacidade de penetração das cercárias quando estas provinham de moluscos tratados com sacarose.

Nas infecções por helmintos, em geral, a gravidade da doença do hospedeiro está relacionada com a carga parasitária, mas no caso da esquistossomose tal carga tem importância relativa, já que a patogênese está mais ligada à presença de reações



granulomatosas em torno dos ovos do parasita. Os estudos de Magalhães & Carvalho (1969a, 1973, 1976) mostraram ser a linhagem BH mais patogênica que a SJ pela maior quantidade de granulomas hepáticos, mesmo não tendo diferido o número de vermes entre as duas linhagens. Saoud (1966), estudando o desenvolvimento de várias linhagens geográficas de *S. mansoni*, verificou que a linhagem egípcia, apesar do grande número de vermes observados nos camundongos, era menos patogênica. Em nossos experimentos o número total de vermes presentes nos animais infectados não apresentou relação com a suscetibilidade dos moluscos nos quais se desenvolveram, já que os roedores infectados por cercárias de moluscos tratados por hidrocortisona (mais suscetíveis) não apresentaram na necropsia maior número de vermes (Tabela I). No entanto, cercárias provenientes de moluscos mais suscetíveis (moluscos tratados) determinaram maior desenvolvimento de fêmeas, o que favoreceu o acasalamento dos vermes. O menor número de vermes machos compensou o aumento de fêmeas, igualando assim o número total de vermes nos 2 grupos experimentais. Nas infecções por *S. mansoni* é freqüente que o número de machos predomine sobre o número de fêmeas. Segundo Paraense & Santos (1949) a causa do predomínio dos esquistossomos machos no organismo do hospedeiro experimental deve ser buscada ou em alguma peculiaridade evolutiva dos estágios larvais no molusco ou na maior vulnerabilidade de cercárias potencialmente fêmeas ante as defesas orgânicas do vertebrado.

Na primeira situação a produção de cercárias fêmeas seria menos intensa do que a produção de larvas masculinas. Disso resultaria que a eliminação de cercárias fêmeas pelo molusco seria mais lenta, de tal modo que em intervalos de tempos iguais emergiria menor número de fêmeas e maior número de machos. Neste caso, a evolução da infecção

do molusco por larvas fêmeas até a eliminação das últimas cercárias seria mais prolongada do que a evolução da infecção por larvas masculinas, a não ser que no primeiro caso fossem produzidos menos indivíduos (Paraense & Santos, 1949).

Os resultados por nós encontrados confirmam a primeira hipótese. Em experimentos anteriores (Serrano et al. 2002) observamos que os moluscos submetidos ao tratamento com hidrocortisona foram os primeiros a eliminar cercárias, levando-nos a acreditar em uma antecipação do processo de produção das mesmas. Como resultado teríamos cercárias fêmeas emergindo dos moluscos tratados com hidrocortisona mais rapidamente que dos moluscos não tratados. Dessa forma a percentagem de cercárias fêmeas disponíveis na ocasião da infecção dos roedores seria maior quando essas fossem oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.

Esquistossomos acasalados foram observados principalmente nas veias mesentéricas por ocasião da necropsia dos animais, confirmando os resultados verificados por Zanotti et al. (1982) sobre o deslocamento dos vermes visando o acasalamento e a oviposição.

A presença de maior número de vermes acasalados foi consequência de proporção equivalente de ambos os sexos, o que não foi observado em animais infectados com cercárias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona (Tabela I). Este aspecto é importante para a biologia dos esquistossomos, pois tem sido relatado que o desenvolvimento somático e germinativo do *S. mansoni* é dependente da presença de ambos os sexos e que o contato da fêmea com o canal ginecóforo do macho durante o processo de acasalamento é fundamental para seu desenvolvimento. Por isso as fêmeas costumam retornar ao canal ginecóforo dos machos após o período de oviposição (Zanotti

et al. 1982).

O maior número de vermes acasalados nas infecções por cercárias provenientes de moluscos tratados com hidrocortisona constitui fator importante para a patogenia, desde que os ovos produzidos pelos vermes são responsáveis pelo desencadeamento da enfermidade.

Segundo Lichtenberg (1962, 1964), a reação granulomatosa ocorrida ao redor dos ovos do parasita depositados em órgãos do hospedeiro definitivo seria uma tentativa do mesmo para controlar a dispersão de substâncias antigênicas e restringi-las ao local de deposição, onde seriam desnaturadas e metabolizadas. Reis e Andrade (1987) acreditam que a ocorrência de granuloma periovular na esquistossomose provavelmente serve mais para proteger os tecidos das secreções do miracídio do que para atacá-lo. A duração e o tamanho do granuloma estariam relacionados com a persistência do ovo na lesão e a capacidade de destruição dos antígenos pelas células de defesa do hospedeiro. A reação granulomatosa em torno do ovo de *S. mansoni* é específica e considerada como uma manifestação de hipersensibilidade retardada, cuja sensibilização pode ser obtida pela transferência de células do baço ou de linfonodo de animais previamente infectados com *S. mansoni* (Warren et al. 1967).

Em geral, acredita-se que na esquistossomose a quantidade de ovos nos tecidos do hospedeiro é que determina a patogênese. No entanto, Saoud (1966), entre outros, sugeriu que a ampla distribuição dos ovos nos diferentes órgãos seria motivo de maior virulência do que a própria quantidade de ovos encontrada nos mesmos.

A hepatosplenomegalia, forma anátomo-clínica mais importante da esquistossomose pela gravidade e pela frequência, está relacionada com a resposta

imunológica granulomatosa, mediada por linfócitos T, observada em torno do ovo de *S. mansoni*. As lesões hepáticas caracterizam-se por uma fibrose periportal com vários graus de obstrução dos ramos intra-hepáticos da veia porta. O parênquima hepático fora do local da reação granulomatosa conserva sua estrutura normal, mas em uma fase mais tardia poderá apresentar septação fibrosa e mesmo áreas focais de regeneração nodular (Andrade 1965). As lesões obstrutivas portais e a deposição de colágeno condicionam o aparecimento de hipertensão portal, com circulação colateral e formação de varizes esofagianas. Estas últimas podem romper-se e produzir hemorragias esofágicas e gastrointestinais que podem ser fatais (Cheever 1993).

Utiliza-se muitas vezes o peso do fígado e do baço como forma de avaliar a hepatoesplomegalia naqueles que sofrem de esquistossomose. O aumento do fígado varia muito, tendendo a diminuir nas fases avançadas da doença, em decorrência da própria fibrose. O aumento do volume do órgão costuma afetar mais seu lobo esquerdo. Contrariamente ao observado por Magalhães et al. (1975), no presente experimento camundongos infectados por *S. mansoni* proveniente de moluscos mais suscetíveis não apresentaram fígado maior (Tabela II). Acredita-se ter sido isso consequência da redução do tamanho dos granulomas desses roedores. Tal compensação teria ocasionado semelhança no peso do fígado dos animais de ambos os grupos. É o que já havia sido observado por Warren (1967) na linhagem egípcia, ao observar associação entre o aumento menor do fígado e tamanho menor dos granulomas.

A esplenomegalia costuma ser mais acentuada que a hepatomegalia. O aumento do peso do baço se deve a dois fatores principais: a congestão venosa passiva determinada pela hipertensão portal, e uma hiperplasia das células do sistema macrófago-

linfocitário com diferenciação plasmocitária e produção de gamaglobulina, como sucede habitualmente nas respostas à presença de grande quantidade de substâncias antigênicas. Em material experimental Andrade (1989) verificou que o aumento do baço se deve inicialmente a uma estimulação antigênica do tecido linfo-reticular, enquanto a congestão apareceria mais tardiamente. Outro dado que indica predominância inicial da proliferação reticular é que a esplenomegalia nos indivíduos jovens mostra acentuada hiper celularidade da polpa vermelha, com a presença de numerosos monócitos, linfócitos grandes, médios e pequenos, plasmócitos, macrófagos e granulócitos, em contraste com as alterações predominantemente congestivas dos indivíduos idosos (Magalhães Filho & Coutinho Abath 1960). Em nosso experimento o baço dos camundongos infectados por *S. mansoni* de moluscos não tratados, apesar de apresentar menor número de granulomas por área de tecido, mostrou-se mais pesado (Tabela II). Isso nos leva a crer que tal aumento de peso tenha sido originário de hipertensão portal, causando congestão passiva, secundariamente à proliferação linfo-reticular.

Neste experimento, encontramos diferenças na quantidade, no tamanho e na distribuição dos granulomas nos tecidos dos hospedeiros. Os granulomas hepáticos dos camundongos infectados por *S. mansoni* oriundos de moluscos tratados com hidrocortisona mostraram-se com menor tamanho, além de terem sido encontrados em maior quantidade (Figs 4 e 9). O mesmo ocorreu com os granulomas do pâncreas (Figs 5 e 10). No baço e no intestino desses animais, a quantidade de granulomas também foi maior, mas não houve diferença quanto ao tamanho (Figs 6 e 7). Apenas no pulmão foi encontrada semelhança tanto no número quanto no tamanho dos granulomas em camundongos de ambos os grupos (Fig 8). Observando tais resultados, fica evidente a relação entre a suscetibilidade do

hospedeiro intermediário e a quantidade de granulomas formada nos órgãos do vertebrado, já que a maior suscetibilidade dos moluscos tratados determinou maior número de ovos nos tecidos, assim como diminuição no tamanho dos granulomas hepáticos e do pâncreas.

Baseados nos resultados de Jankovic et al. (1998), acreditamos que na infecção causada por *S. mansoni* oriundo de moluscos tratados com hidrocortisona deve ter havido uma alteração dos efeitos imunorregulatórios, afetando a resposta de linfócitos T ao ovo.

Doenhoff et al. (1985) sugeriram existir relação entre o diâmetro do granuloma hepático e o número de ovos eliminados pelas fezes. Segundo eles, haveria uma redução ou modulação da reação granulomatosa, facilitando a penetração do ovo no tecido, dificultando sua saída, o que controlaria o processo eliminatório de ovos. Em nossos experimentos os roedores cujos granulomas hepáticos apresentaram menor diâmetro foram os infectados por cercárias vindas de moluscos tratados com hidrocortisona; neste grupo, os roedores eliminaram maior quantidade de ovos nas fezes.

Buchanan et al. (1973) sugeriram que, em decorrência da supressão da resposta imune celular, uma doença sistêmica fatal poderia se desenvolver. Tais autores verificaram, na fase mais avançada da doença, que os ovos são circundados por uma zona de necrose liquefativa, contendo restos celulares e neutrófilos fragmentados. As lesões hepáticas podem, então, ser contaminadas por bactérias, promovendo infecções sistêmicas, toxemia e septicemia. Segundo os mesmos autores o organismo do hospedeiro, uma vez apresentando incapacidade de montar resposta imune mediada por célula, torna-se indefeso contra as atividades enzimáticas e de fosfolipídeos dos ovos de *Schistosoma mansoni*. O

granuloma teria, então, o papel de sequestrar e destruir o material antigênico difusível pelo ovo.

Acredita-se na hipótese de as reações granulomatosas intestinais serem fator de maior importância para a determinação da eliminação de ovos pelas fezes do que o tamanho dos granulomas hepáticos.

A evolução da resposta do hospedeiro à presença de ovos de *S. mansoni* em animais experimentais tem sido dividida em vários estágios, de acordo com vários autores. Segundo Raso e Bogliolo (1970) os granulomas apresentam os seguintes estágios: fase necrótica-exsudativa, fase exsudativa, fase produtiva e fase de cura por fibrose. Inicialmente ocorre, ao redor do ovo, o aparecimento de uma zona de necrose de extensão variável, circundada por uma zona de exsudação celular (granulócitos, eosinófilos, neutrófilos e histiócitos). Nessa fase os ovos apresentam maior capacidade de atravessar os vasos, o que permite a instalação dos mesmos nos tecidos junta-vasculares, sendo então retidos na parede intestinal (Lenzi et al. 1991). Na segunda fase os granulomas são ricos em eosinófilos e monócitos, envolvendo uma camada central de necróticos. Muitas vezes, principalmente nos primeiros 70 dias de infecção, são encontrados granulomas nos quais a zona de necrose não existe ou é muito discreta, sendo constituídos quase exclusivamente pelas células de exsudação principalmente eosinófilos e neutrófilos. Os granulomas na fase exsudativa são de grande importância na patenogênese das infecções esquistossomóticas. Nessa fase ocorre a destruição da parede vascular e/ou do parênquima adjacente. Isso ocorre devido à produção de enzimas proteolíticas pelos miracidios, que atravessam a casca do ovo e acabam tornando mais intensa a inflamação, coalescendo e mesmo necrosando a parede intestinal, facilitando então a eliminação dos ovos. Além disso, Lenzi et al. (1987,

1997) mostraram que a presença de eosinófilos favorece a liberação de ovos, participando da passagem dos ovos para as fezes. Células inflamatórias peri-ovulares, principalmente eosinófilos, associam-se aos ovos durante a passagem para o canal intestinal, sendo às vezes envolvidos por material necrótico. Os eosinófilos, quimicamente atraídos por algum fator intestinal intraluminal, penetram nas glândulas intestinais antes dos ovos. Certos produtos eosinófilos, sozinhos ou associados a produtos oriundos de monócitos/macrófagos, são responsáveis pela corrosão da membrana basal e destruição ou afastamento das células epiteliais superpostas, abrindo assim canais de passagem dos ovos para o lúmen intestinal. Uma das collagenases de eosinófilos cliva especificamente colágenos do tipo I e II e, junto com enzimas de monócitos/macrófagos, destroem as fibras da matrix extracelular, dando origem a um meio sem fibras facilmente penetrável pelos ovos, permitindo assim que eles sejam ejetados para as fezes pelos movimentos peristálticos do intestino. Muitas vezes os ovos são envolvidos por células necróticas. A presença de material necrótico também favorece a liberação dos ovos para o lúmen intestinal.

Sendo assim, acreditamos na hipótese de aumento da intensidade do processo inflamatório na parede intestinal, devido ao grande número de ovos e da necrose do tecido em camundongos infectados por *S. mansoni* oriundos de *B. glabrata* tratada com hidrocortisona. Isso seria consequência de uma maior quantidade de reações granulomatosas intestinais em fase exsudativa ou de quantidade maior de eosinófilos periovulares em cada uma dessas reações.

A forma cardiopulmonar da esquistossomose mansônica pode ser considerada como uma complicação da forma hepatosplênica. Alguns ovos e vermes localizados no

território do sistema porta são levados até os pulmões, principalmente depois que a fibrose hepática e a hipertensão portal determinarem o desenvolvimento de intensa circulação colateral. Através das vias anastomóticas portocava que se abriram, estabelece-se um curto-circuito que facilita o transporte de ovos diretamente das veias intestinais para o pulmão e outros órgãos. Mesmo helmintos adultos podem migrar por esses caminhos. Retidos nos capilares e precapilares pulmonares, os ovos provocam aí aglutinação de plaquetas, formação de trombos intravasculares e necrose dos vasos. A destruição de grande número de vasos pulmonares pelos ovos e vermes pode levar a um regime de hipertensão na pequena circulação que provoque o aparecimento de hipertrofia do ventrículo direito do coração e, depois, provoque dilatação, que progredirão até que sobrevenha uma insuficiência cardíaca de mau prognóstico: é o *cor pulmonale* esquistossomótico. Nem todos os casos de fibrose pulmonar evoluem para a hipertensão na pequena circulação. Em alguns pacientes, as áreas de fibrose são recanalizadas por vasos de neoformação e podem dar origem, então, a comunicações diretas arteriovenosas. O sangue, passando por aí mais facilmente do que pelos capilares alveolares, deixa de ser adequadamente oxigenado: é o *shunt* arteriovenoso (fistulas arteriovenosas), que pode condicionar também o aparecimento de cianose em alguns pacientes.

Em torno dos ovos retidos no tecido pulmonar formam-se granulomas. A disseminação de granulomas pelo parênquima pulmonar pode simular o quadro de tuberculose miliar. Calcula-se em 24% a incidência da esquistossomose pulmonar, mas a ocorrência do quadro clínico de *cor pulmonale* crônico costuma ser menos freqüente. Em 80 casos de forma hepatosplênica da esquistossomose, Andrade (1989) observou 21 casos de *cor pulmonale* crônico. Em nosso experimento, a presença de granulomas nos pulmões

foi menos comum que a encontrada em outros órgãos (Tabela III), sendo semelhante a quantidade encontrada nos roedores tanto infectados por *S. mansoni* vindos de moluscos tratados com hidrocortisona quanto nos infectados por cercárias oriundas de moluscos não tratados com hidrocortisona (Fig 3).

A partir do pulmão os ovos podem atingir a circulação geral e dessa forma alcançar vários órgãos, com formação de granulomas, inclusive no SNC.

Apesar da pequena quantidade de ovos no pulmão dos hospedeiros, a quantidade encontrada nos outros órgãos estudados foi grande, principalmente nos infectados por cercárias vindas de moluscos tratados (Fig. 3). A ocorrência de atelectasia, consequência do colapso pulmonar mecânico por compressão, diminuindo o volume do órgão, também não foi freqüente, tendo sido observada tanto em camundongos infectados por *S. mansoni* vindos de moluscos tratados com hidrocortisona quanto nos infectados por cercárias oriundas de moluscos não submetidos a esse tratamento (Fig 12). Fica clara assim a inexistência de relacionamento da atelectasia com a origem do *S. mansoni*.

Em alguns roedores foram ainda encontrados *S. mansoni* adultos no pulmão (Fig. 11). Tal ocorrência também não mostrou relacionamento com a origem do trematódeo utilizado na infecção, já que apareceram adultos tanto no pulmão de camundongos infectados por *S. mansoni* oriundo de moluscos tratados com hidrocortisona quanto nos infectados por cercárias vindas de moluscos não tratados. A ocorrência de granulomas e vermes adultos nos pulmões reflete a gravidade do quadro hepático que, não retraindo o parasita no capilar sinusóide, permite a migração de elementos parasitários através da comunicação da veia porta com a veia supra-hepática.

X – CONCLUSÕES:

Observando grupos de camundongos infectados por cercárias de *S. mansoni* de origens diferentes (moluscos tratados ou não com hidrocortisona) pudemos chegar às seguintes conclusões:

- 1) A origem das cercárias (moluscos tratados ou não com hidrocortisona) não influenciou a capacidade de penetração das larvas no tegumento dos camundongos.
- 2) A quantidade total de vermes recuperados não mostrou relação com a suscetibilidade dos moluscos nos quais se desenvolveram as cercárias. A maior quantidade de vermes fêmeos encontrados nos camundongos infectados por cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona deve ser resultado de uma antecipação do processo de produção das cercárias fêmeas nos moluscos, ocasionando maior quantidade de fêmeas disponíveis na ocasião da infecção dos roedores.
- 3) A maior porcentagem de acasalamento de adultos de *S. mansoni* oriundo de moluscos tratados com hidrocortisona, produzindo maior quantidade de ovos, assim como maior quantidade de granulomas em fase exsudativa e/ou maior quantidade de eosinófilos nas reações granulomatosas determinaram a maior eliminação de ovos pelas fezes.
- 4) No fígado e no pâncreas dos roedores infectados por cercárias produzidas em moluscos tratados com hidrocortisona foi encontrada maior quantidade de granulomas de menor tamanho que os encontrados nos roedores do outro grupo experimental. No baço e no intestino desses animais também foi maior a quantidade

de granulomas, porém não houve diferença quanto ao tamanho das reações. Só no pulmão tanto o tamanho quanto a quantidade de granulomas foram semelhantes em ambos os grupos.

- 5) Inexistência de relação entre a ocorrência de atelectasia pulmonar e a origem do *S. mansoni*, o mesmo ocorrendo com a presença de adultos no pulmão do camundongo, já que tais fatos foram observados em camundongos de ambos os grupos experimentais.
- 6) Fígado de camundongos de ambos os grupos apresentando peso semelhante provavelmente devido à redução do tamanho dos granulomas dos roedores infectados por cercárias oriundas de moluscos tratados com hidrocortisona.
- 7) Baço de camundongos infectados por *S. mansoni* originado em moluscos não tratados apresentando maior peso, possivelmente devido à hipertensão portal, causando congestão passiva, secundariamente à proliferação linfo-reticular.

XI - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abe T, Colley DG 1984. Modulation of *Schistosoma mansoni* egg-induced granuloma formation. III. Evidence for an anti-idiotypic, I-J-positive, I-J-restricted, soluble T suppressor factor. *J Immunol* 132: 2084-2088.
- Andrade ZA 1965. Hepatic schistosomiasis. Morphological aspects. In Popper H & Schaffner, *Progress in Liver Disease*, Gruner & Stratton, New York. v II p 228-242.
- Andrade ZA 1989. Evolution and involution of hepatosplenic schistosomiasis. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 84 (supl.1): 58-75.
- Andrade ZA, Warren KS 1964. Mild prolonged schistosomiasis in mice: alterations in host response with time and development of portal fibrosis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 58: 53-57.
- Aswaad S 1949. Liver puncture biopsy in Egyptian infants and children. *J Roy Egypt Med Ass* 32: 146-157.
- Bayne CJ, Buckley PM, de Wan PC 1980. *Schistosoma mansoni*: Cytotoxicity of hemocytes from susceptible hosts for sporocysts in plasma from resistant *Biomphalaria glabrata*. *Exp Parasitol* 50: 409-416.
- Bayne CJ, Boswell CA, Loker ES, Yui MA 1985. Plasma components which mediate cellular defences in the gastropod mollusk *Biomphalaria glabrata*. *Dev Comp Immunol* 9: 523-530.
- Bennett JL 1997. Schistosomiasis: fibrosis and esophageal varices. *Parasitol Today* 13: 39.
- Bogliolo L 1959. Esquistossomose mansoni. Patologia. *Rev Bras Malariol & D Trop* 11: 259-429.

- Bogliolo L 1964. Subsídios para o estudo da anatomia patológica da forma aguda toxêmica da esquistossomose mansônica. *G E N Venezuela* 19(2): 157-236.
- Boros DL, Pelly RP, Warren KS 1975. Spontaneous modulation of granulomatous hypersensitivity in schistosomiasis mansoni. *J Immunol* 114: 1437-1441.
- Boros DL 1994. The role of cytokines in the formation of the schistosome egg granuloma. *Immunobiology* 191: 441- 450.
- Brenner Z, Pelegrino J, Oliveira FD 1956. Terapêutica experimental da esquistossomose mansônica. Aplicação do método de isolamento de granulomas do fígado de camundongos. *Rev Bras Malariol Doenças Trop* 8(4): 583-587.
- Brunet LR, Dunne DW, Pearce EJ 1998. Cytokine interaction and immune responses during *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitol Today* 14(10): 422-427.
- Bruno TIB 1997. *Influência da sacarose no desenvolvimento de cercárias de Schistosoma mansoni das linhagens BH e SJ*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas.
- Buchanan RD, Fine DP, Colley DG. *Schistosoma mansoni* infection in mice depleted of thymus-dependent lymphocytes. II. Pathology and altered pathogenesis. *Am J Pathol* 71: 207.
- Cheever AW 1993. Schistosomiasis: infection versus disease and hypersensitivity versus immunity. *Am J Pathol* 142: 699-702.
- Cheever AW, Mosimann JE, Deb S 1994. Natural history of *Schistosoma mansoni* infections in mice: egg production, egg passage in the feces, and contribution of host and parasite death to changes in worm numbers. *Am J Trop Med Hyg* 50: 269-280.

- Chensue SW, Warmington KS, Hershey SD, Terebuh PD, Othman M, Kunkel SL 1993. Envolving T cell responses in murine schistosomiasis. Th2 cells mediate secondary granulomatous hypersensitivity and are regulated by CD8⁺ T cells in vivo. *J Immunol* 151: 1391-1400.
- Chensue SW, Warmington KS, Ruth J, Lincoln PM, Kunkel SL 1994. Cross-regulatory role of interferon-gamma (IFN-gamma), IL-4 and IL-10 in schistosome egg granuloma formation of TH activity and inflammation. *Clin Exp Immunol* 98: 395-400.
- Coelho MV 1957. Aspectos do desenvolvimento das formas larvais de *Schistosoma mansoni* em *Australorbis nigricans*. *Rev Bras Biol* 17: 325 - 337.
- Coelho MV 1962. Susceptibilidade de *Australorbis tenagophilus* à infecção por *Schistosoma mansoni*. *Rev Inst Med Trop* 4: 289-295.
- Colley DG 1976. Adoptive suppression of granuloma formation. *J Exp Med* 143: 696-700.
- Conceição MJ, Coura JR 1983. Comportamentos experimentais em *Biomphalaria glabrata* de amostras de *Schistosoma mansoni* isoladas de pacientes com diferentes formas clínicas de esquistossomose. In *XIX Congr. da Soc. Bras. de Med. Trop*, Rio de Janeiro. p. 88.
- Correa-Oliveira R 1989. The human immune response to defined immunogens of *Schistosoma mansoni*: elevated antibody levels of paramyosin in stool-negative individuals from two endemic areas in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 83: 798 – 804.

- Correa-Oliveira R, Malaquias LCC, Falcão PL, Viana IRC, Bahia-Oliveira LMG, Silveira AMS, Fraga LAO, Prata A, Coffman RL, Lambertucci JR, Cunha-Melo JR, Martins-Filho OA, Wilson RA, Gazzinelli G 1998. Cytokines as determinants of resistance and pathology in human *Schistosoma mansoni* infection. *Braz J Med Biol Res* 31(1): 171-177.
- Dias LCS, Glasser CM, Etzel A, Kawazoe U, Hoshino-Shimizu S, Kanamura HY, Cordeiro JA, Marçal Jr O, Carvalho JF, Gonçalves JR. F, Patucci R 1988. The epidemiology and control of schistosomiasis mansoni where *Biomphalaria tenagophila* is the snail host. *Rev Saúde Pública* 22: 462-463.
- Doenhoff MJ 1997. A role for granulomatous inflammation in the transmission of infectious disease: schistosomiasis and tuberculosis. *Parasitology* 115: S113-S125.
- Doenhoff MJ, Hassounah OA, Lucas SB 1985. Does the immunopathology induced by schistosome eggs potentiate parasite survival? *Immunol Today* 6: 203-206.
- El-Mofty AM, Cahill KM 1964. Cutaneous manifestations of schistosomiasis. *Derm Trop* 3: 157-161.
- Flores Villanueva PO, Reiser H, Stadecker MJ 1994. Regulation of T helper cell responses in experimental murine schistosomiasis by IL-10; effect on expression of B7 and B7-2 costimulatory molecules by macrophages. *J Immunol* 153: 5190-5199.
- Flores Villanueva PO, Zheng XX, Storm TB, Stadecker MJ 1996. Recombinant IL-10 and IL-10/Fc treatment down-regulate egg antigen-specific delayed hypersensitivity reactions and egg granuloma formation in schistosomiasis. *J Immunol* 156: 3315-3320.
- Granath Jr WO, Yoshino TP 1984. *Schistosoma mansoni*: passive transfer of resistance by serum in the vector snail *Biomphalaria glabrata*. *Exp Parasitol* 58: 188-193.

- Guaraldo AMA, Magalhães LA, Rangel HA, Pareja G 1981. Evolução dos esporocistos de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, em *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) e *Biomphalaria tenagophila* (D'Orbigny, 1835). *Rev Saúde Pública* 15: 436-444.
- Hernandez HJ, Wong Y, Standecker MJ 1997. In infection with *Schistosoma mansoni*, B cell are required for T helper 2 cell responses but not for granuloma formation. *J Immunol* 158: 4832-4837.
- Hill J 1956. Chemotherapeutic studies wuth laboratory infections of *Schistosoma mansoni*. *Ann Trop Med Parasitol* 50: 39-48.
- Jankovic D, Kullberg MC, Dombrowicz D, Barbieri S, Caspar P, Wynn TA, Paul WE, Cheever AW, Kinet P, Sher A 1997. Deficient mice infected with *Schistosoma mansoni* mount normal Th2-type responses while displaying enhanced liver pathology. *J Immunol* 159: 1268-1875.
- Jankovic D, Cheever AW, Kulberg MC, Wynn TA, Caspar P, Lewis FA, Clynes R, Ravetch JV, Sher A 1998. CDA⁺ T cell-mediated granulomatous pathology in schistosomiasis is downregulated by a B cell-dependent mechanis requirine Fc receptor signaline. *J Exp Med* 187(4): 619-629.
- Kaplan MH, Whitfied JR, Boros DL, Grusby MJ 1998. Th2 cells are required for the *Schistosoma mansoni* egg-induced granulomatous response. *J Immunol* 160: 1850-1856.
- Lemos Neto RC, Magalhães LA, Piedrabuena AE 1978. Alguns aspectos referentes ao estudo de linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 proveniente dos estados de Minas Gerais e de São Paulo, Brasil. *Rev Saúde Pública* 12: 277-290.

- Lenzi HL, Lenzi JA, Sobral ACL 1987. Eosinophilis favor the passage of eggs to the intestinal lumen in schistosomiasis. *Braz J Med Biol Res* 20: 433-435.
- Lenzi HL, Lenzi JA, Kerr IB, Antunes SLG, Mota EM, Oliveira DN 1991. Extracellular matrix in parasitic and infectious diseases. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 86 (Suppl. III): 77-90.
- Lenzi HL, Pacheco RG, Pelajo-Machado M, Panasco MS, Romanha WS, Lenzi JÁ 1997. Immunological system and *Schistosoma mansoni*: co-evolutionary immunobiology. What is the eosinophil role in parasite-host relationship? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 92 (Suppl. II): 19-32.
- Lichtenberg FV 1962. Host response to eggs of *Schistosoma mansoni*. Granuloma formation in the insensitized laboratory mouse. *Am J Pathol* 71: 1.
- Lichtenberg FV 1964. Studies on granuloma formation. III. Antigen sequestration and destruction in the schistosome pseudotubercle. *Am J Pathol* 45: 75.
- Lima, JN 1991. *Estudo clínico e terapêutico da esquistossomose mansônica em menores de 15 anos do Vale do Ribeira, SP: comparação com oxamniquê, praziquantel e associação dessas drogas em baixas doses*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas.
- Magalhães LA 1969a. Estudo dos dados obtidos de uma população de *Biomphalaria glabrata* de Belo Horizonte infectada por *Schistosoma mansoni* da mesma cidade e de uma população de *Biomphalaria tenagophila* de Campinas infectada por *Schistosoma mansoni* de São José dos Campos. *Rev Soc Bras Med Trop* 3: 195-196.
- Magalhães LA 1969b. Técnica para avaliação da viabilidade de penetração de cercárias de *Schistosoma mansoni* em *Mus musculus*. *Hospital Rio* 75: 137-140.

- Magalhães LA, Carvalho JF 1969a. Verificação do número de machos e de fêmeas de *Schistosoma mansoni* capturados em camundongos infectados com 2 cepas do helminto. *Rev Soc Bras Med Trop* 3: 253-254.
- Magalhães LA, Carvalho JF 1969b. Determinação do número de cercárias provenientes de cepas diferentes de *Schistosoma mansoni* que conseguem penetrar sob condições de laboratório em *Mus musculus*. *Rev Soc Bras Med Trop* 3: 249-251.
- Magalhães LA, Carvalho JF 1973. Desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* das linhagens de Belo Horizonte (M.G.) e de São José dos Campos (S.P.) em *Mus musculus*. *Rev Saúde Pública* 7: 285-287.
- Magalhães LA, Alcantara FG, Carvalho JF 1975. Alguns dados referentes ao estudo parasitológico e anatomopatológico de 2 linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. *Rev Saúde Pública* 9: 1-5.
- Magalhães LA, Carvalho JF 1976. Sobre o comportamento de duas linhagens de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907. Proposição para método de estudo quantitativo. *Rev Soc Bras Med Trop* 10: 169-194.
- Magalhães Filho A, Coutinho-Abath E 1960. Lesões esplênicas iniciais na esquistossomose mansônica humana. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2: 251-259.
- Menezes H 1952. Granuloma esquistossomótico do miocárdio. *Rev Brasil Méd* 9: 4-5.
- Miller P, Wilson RA 1978. Migration of the schistosomula of *Schistosoma mansoni* from skin to lungs. *Parasitology* 77: 281-302.
- Montesano MA, Freeman GL, Secor WE, Colley DC 1997. Immunoregulatory idiotypes stimulate T helper 1 cytokine responses in experimental *Schistosoma mansoni* infections. *J Immunol* 158: 3800-3804.

- Newton WL 1952. The comparative tissue reaction of two strains of *Australorbis glabratus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol* 38: 362-366.
- Newton WL 1953. The inheritance of susceptibility to infection with *Schistosoma mansoni* in *Australorbis glabratus*. *Exp Parasitol* 2: 242-257.
- Paraense WL, Correa LR 1963a. Susceptibility of *Australorbis tenagophilus* to infection with *Schistosoma mansoni*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 5: 23-29.
- Paraense WL, Correa LR 1963b. Variation in susceptibility of populations of *Australorbis glabratus* to a strain of a *Schistosoma mansoni*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 5: 15-22.
- Paraense WL, Correa LR 1973. Susceptibility of *Biomphalaria pulex* from Brasil and Ecuador to two strains of *Schistosoma mansoni*. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 15: 127-130.
- Paraense WL, Correa LR 1978. Differential susceptibility of *Biomphalaria tenagophila* populations to infection with a strain of *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol* 64: 822-826.
- Paraense WL, Correa LR 1985. Further experiments on susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to *Schistosoma mansoni*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 80: 259-262.
- Paraense WL, Santos JM 1949. O sexo do *Schistosoma mansoni* nas infestações produzidas por cercárias de um único molusco. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 47 (1-2): 35-49.
- Pearce EJ, Caspar P, Grzych JM, Lewis FA, Sher A 1991. Downregulation of Th1 cytokine production accompanies induction of Th2 responses by a parasitic helminth, *Schistosoma mansoni*. *J Exp Med* 173: 159-166.

- Pellegrino J, Brener Z 1956. Method for isolating *Schistosoma mansoni* granuloma from mouse liver. *J Parasitol* 42: 564.
- Pellegrino J, Macedo DG 1955. A simplified method for the concentration of cercarias. *J Parasitol* 41: 329.
- Prata A 1957. *Biopsia retal na esquistossomose. Bases e aplicações no diagnóstico e tratamento*. Tese de Doutorado. Universidade Federal de Salvador, BA.
- Raso P, Bogliolo L 1970. Patologia, p. 77-130. In AS Cunha, *Esquistossomose Mansoni*, Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Raso P, Neves J 1965. Contribuição ao conhecimento do quadro anatômico do fígado na forma toxêmica da esquistossomose mansoni através de punções-biopsias. *Anais da Fac. Med. UFMG* 22: 147-165.
- Reis MG, Andrade ZA 1987. Functional significance of periovular granuloma in schistosomiasis. *Braz J Med Biol Res* 20: 55-62.
- Rezende SA, Oliveira VR, Aristobolo MS, Alves JB, Goes AM, Reis LFL. 1997. Mice lacking the gamma interferon receptor have an impaired granulomatous reaction to *Schistosoma mansoni* infection. *Infect Immunity* 65(8): 3457-3461.
- Richards CS 1970. Genetic of a molluscan vector of schistosomiasis. *Nature* 227: 806-810.
- Richards CS, Knight M, Lewis FA 1992. Genetics of *Biomphalaria glabrata* and its effect on the outcome of *Schistosoma mansoni* infection. *Parasitol Today* 8: 171-174.
- Ruiz JM 1957. Esquistossomose experimental. 5 .Dados sobre infestação experimental de *Biomphalaria tenagophila* (Orbigny) e *Australorbis glabratus* (Say). *Rev Bras Biol* 17: 179-185.

- Santana JV, Magalhães LA, Rangel H 1978. Seleção de linhagem de *Biomphalaria glabrata* e *Biomphalaria tenagophila* visando maior susceptibilidade ao *Schistosoma mansoni*. *Rev Saúde Pública* 12: 67-77.
- Santos NR 1967. *Esquistossomose mansônica autóctone no Vale do médio Paraíba, Estado de São Paulo, Brasil: contribuição para o estudo da zona endêmica, São Paulo*. Tese de Doutorado, Faculdade de Medicina da USP, São Paulo.
- Saoud MFA 1966. The infectivity and pathogenicity of geographical strains of *Schistosoma mansoni*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 60: 585-600.
- Schmid-Hempel P, Koella JC 1994. Variability and its implications for host-parasite interactions. *Parasitol Today* 10: 98-102.
- Serrano DR 2002. Influência da hidrocortisona no desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* em *Biomphalaria glabrata*. *Rev Soc Bras Med Trop* 35(2): 149-153.
- Standen OD 1953. Experimental schistosomiasis III. Chemotherapy and mode of drug action. *Ann Trop Med Parasitol* 47: 26-43.
- Van der Knaap WPW, Loker ES 1990. Immune mechanisms in trematode-snail interactions. *Parasitol Today* 6: 175-182.
- Wahl SM, Frazier-Jessen M, Jin WW, Kopp JB, Sher UM, Cheever AW 1997. Cytokines regulation of schistosome-induced granuloma and fibrosis. *Kidney Int* 51: 1370-1375.
- Warren KS 1967. 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 S Trop Med Hyg* 61: 795.
- Warren KS, Domingo EO, Cowan RBT 1967. Granuloma formation around schistosome eggs as a manifestation of delayed hypersensitivity. *Am J Pathol* 51:735.

- Wynn TA, Cheever AW, Jankovic D, Poindexter RW, Caspar P, Levis FA, Sher A 1995. An IL-12-based vaccination method for preventing fibrosis induced by schistosome infection. *Nature* 376: 594-596.
- Wyler DJ 1992. Why does liver fibrosis occur in schistosomiasis? *Parasitol Today* 8: 277-279.
- Yolles TK, Moore PV, De Ginsti DL, Ripson CA, Meleney HE 1947. A technique for the perfusion of laboratory animals for the recovery of *Schistosoma mansoni*. *J Parasitol* 33: 419-426.
- Zanotti EM, Magalhães LA, Piedrabuena AE 1982. Morfologia e desenvolvimento de *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, em infecções unissexuais experimentalmente produzidas no camundongo. *Rev Saúde Pública* 16: 114-119.
- Zanotti EM, Magalhães LA, Piedrabuena AE 1983. Avaliação da patogenicidade decorrente da infecção pelo *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, agente de infecções unissexuais em *Mus musculus*. *Rev Saúde Pública* 17: 394.
- Zanotti-Magalhães EM, Magalhães LA, Carvalho JF 1991. Relação entre a patogenicidade de *Schistosoma mansoni* em camundongos e a susceptibilidade do molusco vetor. I. Infeciosidade das cercárias e carga de vermes. *Rev Saúde Pública* 25 (5): 359-366.
- Zanotti-Magalhães EM, Magalhães LA, Carvalho JF 1993. Relação entre a patogenicidade do *Schistosoma mansoni* em camundongos e a susceptibilidade do molusco vetor. II. Número de ovos nas fezes e número e tamanho dos granulomas nas vísceras. *Rev Saúde Pública* 27 (6): 412-420.

- Zanotti-Magalhães EM, Magalhães LA, Carvalho JF 1995. Relação entre a patogenicidade do *Schistosoma mansoni* em camundongos e suscetibilidade do molusco vetor. III. Mortalidade, peso corporal, e das vísceras. *Rev Saúde Pública* 29(4): 265-270.
- Zanotti-Magalhães EM, Magalhães LA, Carvalho JF 1997. Relação entre a patogenicidade do *Schistosoma mansoni* em camundongos e suscetibilidade do molusco vetor. IV. Infecciosidade dos miracídios. *Rev Saúde Pública* 31(5): 488-494.

XII – APÊNDICE ESTATÍSTICO

**ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS
REALIZADA PELO
PROF. DR. JOSÉ FERREIRA DE CARVALHO**

Problema

Estudar o efeito de tratamento por corticóide do hospedeiro intermediário do *Schistosoma mansoni* sobre a patologia causada pelo helminto em *Mus musculus*.

Experimento

Caramujos foram infectados com miracídeos de *S. mansoni*. Os caramujos foram tratados com corticóide ou não, em escolha aleatória. Cercárias resultantes das infecções foram recolhidas. Camundongos foram, então, expostos a 60 cercárias. Apenas cercárias provenientes de um molusco foram usadas em cada infecção. A alocação dos camundongos aos tipos de cercárias foi feita aleatoriamente.

Ao cabo de um período comum, sacrificaram-se os roedores e diversos indicadores da patologia causada pela esquistossomose anotados.

Planejamento da análise

Os roedores classificam-se em dois grupos. Chamaremos os grupos de tratados e não tratados. O experimento é completamente aleatorizado.

As respostas (medidas) feitas são:

<i>Variável</i>	<i>Tipo (contínua ou discreta)</i>
Peso inicial	C
Peso final	C
Peso do fígado	C
Cercárias que penetraram	D
Núm. de vermes fêmeos	D
Núm. de vermes machos	D
Núm. de vermes acasalados	D
Total de vermes recuperados	D
Granulomas hepáticos (em lâmina)	D
Granulomas no fígado (total estimado)	D
Granulomas no pulmão	D
Granulomas no pâncreas	D
Granulomas no intestino	D

As respostas serão analisadas respeitando o esquema experimental utilizado. Apenas análise univariadas serão feitas.

Análises de variância serão empregadas para analisar as respostas contínuas. As respostas discretas serão comparadas através de modelos lineares generalizados. Para o

números total de vermes recuperados, a distribuição usada é uma binomial, com $n=60$. Do mesmo modo, como não se conhece o sexo, na fase de cercária, a distribuição binomial, ainda com $n=60$, pode ser usada para a comparação dos tratamentos. As demais variáveis discretas (números de granulomas do fígado estimados e os contados em lâminas) serão analisadas com o emprego da distribuição de Poisson. As funções de ligação canônicas de cada distribuição serão empregadas em cada caso (*logit* para a binomial, *logaritmo* para a Poisson).

Dados

Os dados foram fornecidos pelos pesquisadores, em planilha Excel. Uma análise descritiva univariada foi feita perfunctoriamente, para descobrir-se eventuais problemas nos dados, antes da fase de análise. Nada se encontrou digno de nota.

As distribuições de granulomas são assimétricas, o que é compatível com o modelo de Poisson, a ser usado nas análises.

Análises

As análises são feitas separadamente por variável. Apenas sumários são colocados nesta seção. Todas as saídas de computador estão em apêndice, para eventual consulta.

Peso final

Análise de variância: peso final

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
pesoinicial	1	46.59998671	46.59998671	5.87	0.0214
tratamento	1	2.71927302	2.71927302	0.34	0.5626

Não há evidência de efeito de tratamento sobre o peso final dos roedores ($p=56\%$).

Para referência, seguem as médias de mínimos quadrados de peso final (isto é, corrigidas para os pesos iniciais).

tratamento	Média de mínimos quadrados
nao	31.03
sim	30.35

Pesos do fígado e do baço.

Não há evidência de efeito de tratamento no peso do fígado ($p = 43\%$).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
tratamento	1	0.25214911	0.25214911	0.64	0.4286

O peso do baço mostra alguma evidência de efeito de tratamento ($p=5\%$).

Source	DF	Type III SS	Mean Square	F Value	Pr > F
tratamento	1	0.14342605	0.14342605	4.10	0.0513

Seguem as médias de mínimos quadrados, por tratamento, dos pesos do fígado e do baço.

tratamento	Peso fígado	Peso baço
nao	3.21	0.73
sim	3.04	0.60

Cercárias que penetraram

As probabilidades de penetração são comparadas, entre os grupos tratado e não tratado.

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	3.20	0.0737

O nível de significância, 7%, indica fraca evidência contra a hipótese nula.

Proporção de cercárias que penetraram (taxa de penetração)				
tratamento	N	Média	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média
nao	20	0.92	0.89	0.95
sim	20	0.90	0.85	0.95

As médias de mínimos quadrados são praticamente iguais, no experimento.

Total de vermes recuperados

Também é analisado por um modelo binomial. O número é um inteiro, certamente entre zero e sessenta.

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	2.26	0.1332

Não há evidência de diferença entre as proporções de vermes recuperados, entre os tratamentos.

Total de vermes recuperados				
tratamento	N	Média	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média
nao	20	42.8	36.9	48.8
sim	20	41.0	33.3	48.7

Proporção de sexos entre os vermes recuperados

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	172.16	<.0001

O nível de significância ($p < 0.0001$) mostra evidência forte contra a hipótese de que as proporções são iguais.

Proporções de vermes machos

tratamento	N	Média	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média
nao	20	0.62	0.53	0.71
sim	20	0.26	0.17	0.34

A diferença é notável. Os tratados tem proporção de machos menor do que os não tratados. Curiosamente, 50% é um valor possível para a proporção de não tratados, mas não para a de tratados.

Proporção de vermes acasalados

Esta proporção é importante, pela produção de ovos. O nível de significância mostra evidência forte contra a hipótese de igualdade das proporções ($p < 0.0001$).

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	32.06	<.0001

Proporção de vermes acasalados				
tratamento	N	Média	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média
nao	20	0.27	0.19	0.36
sim	20	0.42	0.34	0.50

Análises de números de granulomas

Hepáticos

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	4742254	<.0001

Há evidência de diferença entre as médias ($p < 0.0001$).

Granulomas hepáticos (estimados)				
tratamento	N	Média (/1000)	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média

			(/1000)	(/1000)
nao	20	752.	592	912
sim	20	1545	1178	1910488.49

Granulomas do fígado

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	17.63	<.0001

Há evidência de diferença entre as médias de granulomas de fígado entre os tratamentos ($p < 0.0001$).

Granulomas do fígado				
tratamento	N	Média (/1000)	Lim inf 95% para média (/1000)	Lim sup 95% para média (/1000)
nao	20	3.4631579	2.7792207	4.1470951
sim	20	6.6800000	6.1151739	7.2448261

Granulomas do pulmão

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	0.86	0.3543

Não há evidência de diferença entre as médias de granulomas do pulmão, entre os tratamentos ($p = 35\%$).

Granulomas do pulmão				
tratamento	N	Média	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média
nao	20	0.29	0.12	0.45
sim	20	0.49	0.17	0.80

Granulomas do baço

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	10.94	0.0009

Há evidência de diferenças entre as médias de granulomas do baço ($p=0.0009$).

Granulomas do baço				
tratamento	N	Média	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média
nao	20	0.91	0.70	1.12
sim	20	2.33	1.82	2.83

Granulomas do PÂNCREAS

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	3.55	0.0597

Há fraca evidência de diferenças entre tratamentos ($p=5\%$).

Granulomas do pâncreas				
tratamento	N	Média	Lim inf 95% para média	Lim sup 95% para média
nao	20	1.43	1.12	1.74
sim	20	2.31	1.38	3.25

Granulomas do intestino

LR Statistics For Type 3 Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
tratamento	1	6.25	0.0124

Há evidência de diferença entre as médias de tratamentos ($p=1\%$).

Granulomas do intestino				
tratamento	N	Média	Lim inf 95%	Lim sup 95%

			para média	para média
nao	20	1.04	0.80	1.27
sim	20	2.10	1.34	2.86

Análise de áreas de granulomas em diferentes órgãos de *Mus musculus* infectados com *S. mansoni* tratados (tratamento: sim, não)

Vários granulomas foram retirados de vísceras de camundongos e suas área foram medidas. Interessa comparar as áreas dos granulomas, em cada órgão, segundo os tratamentos.

A unidade experimental é o camundongo. O fato de se obter vários ganulomas de cada um leva à necessidade de corrigir a análise para o efeito de conglomerado (correlação entre observações nos mesmos camundongos). Para isso, empregou-se um modelo linear generalizado, com a técnica de equações de estimação generalizadas (GEE).

As comparações (testes) foram feitas com o emprego de estatísticas de escores, derivadas dessas análises.

Os níveis de significância obtidos estão agrupados na tabela que segue:

Órgão	Nível de significância
-------	------------------------

Baço	0.6218
------	--------

Fígado	0.0084
--------	--------

Intestino	0.2074
-----------	--------

Pulmão	0.2709
--------	--------

Pâncreas	0.0134
----------	--------

Pode-se concluir que há evidência de diferenças nas médias de áreas apenas no fígado e no pâncreas.

As médias e desvios padrões das áreas seguem:

	Órgão trat		
	area	area	
	Média	Desvio-padrão	
	Média	Desvio-padrão	
Baço	42666	24662	
	46968	33799	
Fígado	47991	19551	
	33335	12718	
Intestino	37429	13079	
	42652	23646	
Pulmão	54205	26338	
	54734	21402	

Pâncreas

50986
27643
25673
16783

Apêndice: listagem da saída do procedimento GENMOD do sistema SAS.

The SAS System
The GENMOD Procedure
Orgao=Baço

Model Information	
Data Set	WORK.TRAB
Distribution	Normal
Link Function	Identity
Dependent Variable	area
Observations Used	69

Class Level Information		
Class	Levels	Values
trat	2	não sim
cmdg	30	2 3 5 7 8 9 11 13 14 15 16 17 18 21 23 25 26 27 28 29 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40

Parameter Information		
Parameter	Effect	trat
Prm1	Intercept	
Prm2	trat	não
Prm3	trat	sim

Criteria For Assessing Goodness Of Fit			
Criterion	DF	Value	Value/DF
Deviance	67	53568827995	799534746.19
Scaled Deviance	67	69.0000	1.0299
Pearson Chi-Square	67	53568827995	799534746.19
Scaled Pearson X2	67	69.0000	1.0299
Log Likelihood		-804.1261	

Algorithm converged.

Analysis Of Initial Parameter Estimates							
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald 95% Confidence Limits		Chi-Square Pr > ChiSq
Intercept		1	46967.5	5572.64	36045.3	57889.7	71.04 <.0001

Analysis Of Initial Parameter Estimates								
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald 95% Confidence Limits		Chi-Square	Pr > ChiSq
t			5	7	6	4		
trat	não	1	4301.21	6978.46	-17978.7	9376.32	0.38	0.5377
trat	sim	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
Scale		1	27863.2	2371.87	23581.5	32922.3		
			3	6	6	3		

NOTE:

The scale parameter was estimated by maximum likelihood.

GEE Model Information	
Correlation Structure	Exchangeable
Subject Effect	cmdg (30 levels)
Number of Clusters	30
Correlation Matrix Dimension	8
Maximum Cluster Size	8
Minimum Cluster Size	1

Algorithm converged.

Analysis Of GEE Parameter Estimates							
Empirical Standard Error Estimates							
Parameter		Estimate	Standard Error	95% Confidence Limits		Z	Pr > Z
Intercept		49921.50	9373.22	31550.32	68292.68	5.33	<.0001
trat	não	-5332.38	10809.2	-26518.1	15853.38	-0.49	0.6218
trat	sim	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

Score Statistics For Type 3 GEE Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
trat	1	0.24	0.6215

orgao=Figado

Model Information	
Data Set	WORK.TRAB
Distribution	Normal
Link Function	Identity
Dependent Variable	area
Observations Used	154

Class Level Information		
Class	Levels	Values
trat	2	não sim
cmdg	33	1 2 3 5 7 8 9 11 13 14 15 16 17 18 19 21 22 23 24 25 26 27 28 29 32 33 34 35 36 37 38 39 40

Parameter Information		
Parameter	Effect	trat
Prm1	Intercept	
Prm2	trat	não
Prm3	trat	sim

Criteria For Assessing Goodness Of Fit			
Criterion	DF	Value	Value/DF
Deviance	152	42446426690	279252807.17
Scaled Deviance	152	154.0000	1.0132
Pearson Chi-Square	152	42446426690	279252807.17
Scaled Pearson X2	152	154.0000	1.0132
Log Likelihood		-1714.9773	

Algorithm converged.

Analysis Of Initial Parameter Estimates								
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald 95% Confidence Limits		Chi-Square	Pr > ChiSq
Intercept		1	33335.44	1956.564	29500.65	37170.24	290.28	<.0001
trat	não	1	14655.76	2681.312	9400.484	19911.03	29.88	<.0001
trat	sim	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
Scale		1	16601.99	945.9863	14847.68	18563.59		

NOTE:

The scale parameter was estimated by maximum likelihood.

GEE Model Information	
Correlation Structure	Exchangeable
Subject Effect	cmdg (33 levels)
Number of Clusters	33
Correlation Matrix Dimension	16
Maximum Cluster Size	16
Minimum Cluster Size	1

Algorithm converged.

Analysis Of GEE Parameter Estimates							
Empirical Standard Error Estimates							
Parameter		Estimate	Standard Error	95% Confidence Limits		Z	Pr > Z
Intercept		33975.77	2043.227	29971.12	37980.43	16.63	<.0001
trat	não	11893.63	3788.360	4468.579	19318.68	3.14	0.0017
trat	sim	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

Score Statistics For Type 3 GEE Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
trat	1	6.94	0.0084

The SAS System
The GENMOD Procedure
orgao=Intestino

Model Information	
Data Set	WORK.TRAB
Distribution	Normal
Link Function	Identity
Dependent Variable	area
Observations Used	89

Class Level Information		
Class	Levels	Values
trat	2	não sim
cmdg	32	1 2 3 5 7 8 9 13 14 15 16 17 18 19 21 22 23 24 25 26 27 28 29 32 33 34 35 36 37 38 39 40

Parameter Information		
Parameter	Effect	trat
Prm1	Intercept	
Prm2	trat	não
Prm3	trat	sim

Criteria For Assessing Goodness Of Fit			
Criterion	DF	Value	Value/DF
Deviance	87	29241527123	336109507.16
Scaled Deviance	87	89.0000	1.0230
Pearson Chi-Square	87	29241527123	336109507.16
Scaled Pearson X2	87	89.0000	1.0230
Log Likelihood		-998.9403	

Algorithm converged.

Analysis Of Initial Parameter Estimates								
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald 95% Confidence Limits		Chi-Square	Pr > ChiSq
Intercept		1	42652.36	2940.446	36889.20	48415.53	210.41	<.0001
trat	não	1	5223.45	3884.393	12836.7	2389.817	1.81	0.1787
trat	sim	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
Scale		1	18126.13	1358.611	15649.66	20994.49		

NOTE:

The scale parameter was estimated by maximum likelihood.

GEE Model Information	
Correlation Structure	Exchangeable
Subject Effect	cmdg (32 levels)
Number of Clusters	32
Correlation Matrix Dimension	7
Maximum Cluster Size	7
Minimum Cluster Size	1

Algorithm converged.

Analysis Of GEE Parameter Estimates							
Empirical Standard Error Estimates							
Parameter		Estimate	Standard Error	95% Confidence Limits		Z	Pr > Z
Intercept		44381.80	4692.701	35184.27	53579.33	9.46	<.0001
trat	não	-6618.83	5127.862	-16669.3	3431.600	-1.29	0.1968
trat	sim	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

Score Statistics For Type 3 GEE Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
trat	1	1.59	0.2074

The SAS System
The GENMOD Procedure
orgao=Pulmão

Model Information	
Data Set	WORK.TRAB
Distribution	Normal
Link Function	Identity
Dependent Variable	area
Observations Used	34

Class Level Information		
Class	Levels	Values
trat	2	não sim
cmdg	15	2 7 9 13 14 21 24 25 27 28 32 33 35 37 38

Parameter Information		
Parameter	Effect	trat
Prm1	Intercept	
Prm2	trat	não
Prm3	trat	sim

Criteria For Assessing Goodness Of Fit			
Criterion	DF	Value	Value/DF
Deviance	32	20077752739	627429773.10
Scaled Deviance	32	34.0000	1.0625
Pearson Chi-Square	32	20077752739	627429773.10
Scaled Pearson X2	32	34.0000	1.0625
Log Likelihood		-391.5847	

Algorithm converged.

Analysis Of Initial Parameter Estimates								
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald 95% Confidence Limits		Chi-Square	Pr > ChiSq
Intercept		1	54733.77	7684.544	39672.34	69795.20	50.73	<.0001
trat	não	1	-528.712	9146.437	-18455.4	17397.97	0.00	0.9539
trat	sim	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.
Scale		1	24300.66	2946.888	19159.97	30820.63		

NOTE:

The scale parameter was estimated by maximum likelihood.

GEE Model Information	
Correlation Structure	Exchangeable
Subject Effect	cmdg (15 levels)
Number of Clusters	15
Correlation Matrix Dimension	11
Maximum Cluster Size	11
Minimum Cluster Size	1

Algorithm converged.

Analysis Of GEE Parameter Estimates							
Empirical Standard Error Estimates							
Parameter		Estimate	Standard Error	95% Confidence Limits		Z	Pr > Z
Intercept		54719.53	4164.511	46557.24	62881.82	13.14	<.0001
trat	não	-5904.62	4164.537	-14067.0	2257.727	-1.42	0.1562
trat	sim	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

Score Statistics For Type 3 GEE Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
trat	1	1.21	0.2709

The SAS System
The GENMOD Procedure
orgao=Pâncreas

Model Information	
Data Set	WORK.TRAB
Distribution	Normal
Link Function	Identity
Dependent Variable	area
Observations Used	73
Missing Values	1

Class Level Information		
Class	Levels	Values
trat	2	não sim
cmdg	30	1 2 3 7 8 9 13 15 17 18 19 21 22 23 24 25 26 27 28 29 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40

Parameter Information		
Parameter	Effect	trat
Prm1	Intercept	
Prm2	trat	não
Prm3	trat	sim

Criteria For Assessing Goodness Of Fit			
Criterion	DF	Value	Value/DF
Deviance	71	38815544538	546697810.39
Scaled Deviance	71	73.0000	1.0282
Pearson Chi-Square	71	38815544538	546697810.39
Scaled Pearson X2	71	73.0000	1.0282
Log Likelihood		-836.9269	

Algorithm converged.

Analysis Of Initial Parameter Estimates								
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald 95% Confidence Limits		Chi-Square	Pr > ChiSq
Intercept		1	25672.69	4014.065	17805.27	33540.12	40.90	<.0001
trat	não	1	25312.96	5422.704	14684.65	35941.26	21.79	<.0001
trat	sim	0	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

Analysis Of Initial Parameter Estimates							
Parameter		DF	Estimate	Standard Error	Wald 95% Confidence Limits		Chi-Square Pr > ChiSq
Scale		1	23059.05	1908.381	19606.29	27119.85	

NOTE:

The scale parameter was estimated by maximum likelihood.

GEE Model Information	
Correlation Structure	Exchangeable
Subject Effect	cmdg (30 levels)
Number of Clusters	30
Clusters With Missing Values	1
Correlation Matrix Dimension	6
Maximum Cluster Size	6
Minimum Cluster Size	1

Algorithm converged.

Analysis Of GEE Parameter Estimates							
Empirical Standard Error Estimates							
Parameter		Estimate	Standard Error	95% Confidence Limits		Z	Pr > Z
Intercept		28784.05	4709.098	19554.39	38013.71	6.11	<.0001
trat	não	21123.10	6873.245	7651.788	34594.41	3.07	0.0021
trat	sim	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	.	.

Score Statistics For Type 3 GEE Analysis			
Source	DF	Chi-Square	Pr > ChiSq
trat	1	6.12	0.0134

NÚMERO DE OVOS NAS FEZES

$p < 0.0001$

CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*
ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* TRATADOS COM
HIDROCORTISONA

SEMANA	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
4 ^a	8,40	8,80
5 ^a	6,40	3,20
6 ^a	100,10	38,40
7 ^a	438,80	153,26
8 ^a	308,90	30,74
Total	172,52	188,51

CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*
ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* NÃO TRATADOS COM
HIDROCORTISONA

SEMANA	MÉDIA	DESVIO PADRÃO
4 ^a	0	0
5 ^a	5,06	2,26
6 ^a	39,20	17,55
7 ^a	232,80	110,96
8 ^a	277,20	50,80
Total	110,48	132,15

GRANULOMAS HEPÁTICOS

$p < 0.0001$

CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*
ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* TRATADOS COM
HIDROCORTISONA

Média: 15.446,08

Desvio Padrão: 6.606,95

CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*
ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* NÃO TRATADOS COM
HIDROCORTISONA

Média: 7.523,52

Desvio Padrão: 3.321,46

SOBREVIVÊNCIA

$p = 9\%$

CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*
ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* TRATADOS COM
HIDROCORTISONA

Média: 206,95

Desvio Padrão: 185,94

CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni*
ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* NÃO TRATADOS COM
HIDROCORTISONA

Média: 121,80

Desvio Padrão: 83,00

CAMUNDONGOS NÃO INFECTADOS POR *Schistosoma mansoni*

Média: 588,21

Desvio Padrão: 126,58

GRANULOMAS POR ÁREA DE TECIDO

ÓRGÃO		GRUPO I	GRUPO II
FÍGADO	p < 0,0001		
	MÉDIA	6,68	3,46
	DESVIO PADRÃO	1,00	1,40
PULMÃO	p = 35%		
	MÉDIA	0,49	0,29
	DESVIO PADRÃO	0,60	0,30
INTESTINO	p = 1%		
	MÉDIA	2,10	1,04
	DESVIO PADRÃO	1,40	0,50
PÂNCREAS	p = 5%		
	MÉDIA	2,31	1,43
	DESVIO PADRÃO	1,70	0,60
BAÇO	p = 0,0009		
	MÉDIA	2,33	0,91
	DESVIO PADRÃO	0,90	0,40

GRUPO I: CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni* ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* TRATADOS COM HIDROCORTISONA

GRUPO II: CAMUNDONGOS INFECTADOS POR CERCÁRIAS DE *Schistosoma mansoni* ORIUNDAS DE MOLUSCOS *Biomphalaria glabrata* NÃO TRATADOS COM HIDROCORTISONA