

## DESENVOLVIMENTO DA INFECÇÃO ESQUISTOSSOMÓTICA EM ANIMAIS SUBMETIDOS AO "STRESS" \*

Sumaya Aby Faraj Silva \*\*, Carlos Alberto Moreira Campos \*\*\*

### RESUMO

Camundongos albinos de ambos os sexos, infectados com o *Schistosoma mansoni*, foram submetidos a meios estressantes - luz intermitente e/ou movimentos bruscos (isolados ou conjugados) - e comparados ao grupo controle, apenas infectado. Os animais receberam o meio estressante 15 dias antes, no dia da infecção e 15 dias após a infecção, com o "stress" prolongando-se até à necrópsia dos animais. Observou-se, no grupo experimental, notáveis modificações quanto à carga parasitária, ao número de granulomas hepáticos e à mortalidade dos animais, concluindo-se que a condição de "stress" potencia uma infecção parasitária de um modo geral, e a esquistossomótica em particular, presumindo-se o risco que corre o portador da infecção pelo *S. mansoni*, vivendo na zona rural ou urbana e que hoje vive rodeado de meios estressantes.

**UNITERMOS:** *Schistosoma mansoni*. Esquistossomose experimental. "Stress" e parasitismo.

### INTRODUÇÃO

A suscetibilidade de um hospedeiro a uma infecção aumenta como resultado de "stress", já tendo sido observado que frangos, naturalmente resistentes ao *Bacillus anthracis*, tornam-se suscetíveis à infecção com a redução de sua temperatura corporal por resfriamento (2). Já foi mostrado, também, que ratos infectados com o *Trypanosoma duttoni*, normalmente apatogênico para esses roedores, quando submetidos ao "stress" morrem bem antes que os animais do grupo controle, devido à exacerbação da patogenia do protozoário (11).

\* Realizado no Departamento de Microbiologia e Parasitologia do Centro de Biociências - UFRN.

\*\* Bióloga, bacharel em Parasitologia.

\*\*\* Prof. Adjunto do Dept<sup>o</sup> de Microbiologia e Parasitologia.

SILVA, S. A. F.; CAMPOS, C. A. M. Desenvolvimento da infecção esquistossomótica em animais submetidos ao "stress". Rev. Pat. Trop. 19(2):143-149, jul./dez. 1990.

Outros trabalhos sobre o efeito de variados tipos de "stress" (frio, ruído, estímulos elétricos, etc.) no parasitismo relatam, por exemplo, o aumento da suscetibilidade de gatos a *Entamoeba histolytica* (3), da maior sobrevivência de *Trichinella spiralis* em ratos (10), do aumento da patogenicidade do *Histomonas* sp. em frangos (13) e de coccídios e tricomonas em esquilos (4).

A esquistossomose mansônica é uma das mais importantes endemias parasitárias que atinge o homem, sabendo-se que, só no Brasil, existe um número considerável de indivíduos infectados. É uma doença típica da zona rural. Contudo, as migrações internas, principalmente o êxodo rural, têm levado muitos indivíduos infectados com o *S. mansoni* para as zonas urbanas dos grandes centros. Aí, os que não ficam entregues à própria sorte, sofrendo as agressões do meio, assumem subempregos em ambientes totalmente estressantes, seja com ruídos, luminosidades, frio, calor, etc., onde - possivelmente - essas condições de "stress" influem, de alguma maneira, na evolução da infecção esquistossomótica do indivíduo parasitado.

Assim, procurou-se observar na esquistossomose experimental do camundongo - por ser o animal de laboratório que melhor reproduz a infecção - exacerbações na patogenia da doença, medidas por possíveis modificações da carga parasitária, na produção de granulomas no fígado e mortalidade dos animais infectados e submetidos a meios estressantes.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para verificação da carga parasitária e mortalidade dos animais, usou-se cerca de 30 camundongos albinos (*Mus musculus*), em cada grupo experimental, sendo o controle correspondente formado por 15 animais apenas infectados. Para se observar a produção de granulomas, mais 15 animais foram utilizados, com igual número de controles.

Para obtenção das cercárias infectantes, foram utilizados caramujos (*Biomphalaria glabrata*) provenientes do moluscário do Departamento e infectados com a cepa LE do *S. mansoni*. As cercárias, após concentradas (6), foram inoculadas nos camundongos por via subcutânea. Inoculou-se cerca de 30 cercárias por camundongos por ser um número médio que não interfere - por si só - com a mortalidade dos animais e a contagem de vermes adultos, na perfusão, ser bem mais fácil que com um número maior.

Os meios estressantes utilizados - isolados ou em conjunto - foram luz intermitente e movimento brusco. A luz intermitente foi obtida através de uma lâmpada conectada a um "plug pisca-pisca", ligado por toda a noite e em alguns períodos do dia. O movimento brusco foi obtido com uma mesa agitadora "Fanen", onde os animais eram colocados num depósito plástico (balde). A

SILVA, S. A. F.; CAMPOS, C. A. M. Desenvolvimento da infecção esquistossomótica em animais submetidos ao "stress". Rev. Pat. Trop. 19(2):143-149, jul./dez. 1990.

mesa era ligada várias vezes ao dia, por cerca de cinco minutos de cada vez. Tanto para o uso da luz quanto para o movimento, procurou-se não estabelecer horários para evitar o condicionamento dos animais. Os experimentos foram feitos estressando-se os animais 15 dias antes, no dia da infecção e 15 dias após a infecção, repetindo-se, diariamente, o estímulo estressante até à necropsia do animal. Os experimentos foram feitos em duas etapas: 1ª - com um tipo de "stress" (luz) e 2ª - com os dois tipos (luz e movimento).

A necropsia da maioria dos animais foi feita após cerca de 40 dias (quando a infecção já estava estabelecida) e a recuperação de vermes adultos foi feita pela técnica de perfusão (7). Os granulomas hepáticos foram observados pela técnica de isolamento dos mesmos (8), com os animais sacrificados aos 50, 60 e 80 dias.

Para verificação da significância entre os valores obtidos, nos diferentes experimentos, foi aplicado o teste t de Student, como recomendado por SNEDECOR e COCHRAN (12), com testes realizados ao nível de 5% de probabilidade.

## RESULTADOS

### Carga Parasitária

Foram feitas recuperações de vermes adultos do sistema porta de camundongos infectados e estressados, para avaliação da carga parasitária. Observou-se que, com o uso de apenas um agente estressante (luz), a recuperação de vermes adultos foi maior nos animais estressados 15 dias antes. Com o uso de dois agentes estressantes (luz e movimento), também observou-se uma maior recuperação de vermes nos animais submetidos previamente ao "stress", sendo

TABELA 1 - Carga parasitária de camundongos infectados e submetidos a dois agentes estressantes e do grupo controle.

Início do "stress"	Vermes		Recuperados		P
	Grupo Experimental		Grupo Controle *		
	Nº	%	Nº	%	
dia - 15	26	86,6			< 0,05
dia 0	18	60,0	16	53,3	NS
dia + 15	14	46,0			NS

\* - 15 animais sem "stress", perfundidos com cerca de 40 dias de infecção.  
NS - Não significativo.

que, neste caso, o aumento da carga parasitária foi bastante significativo ( $p < 0,05$ ), com a média de vermes recuperados por animal assim distribuída (Tabela 1): dia - 15 = 26 (86,6%), dia 0 = 18 (60,0%) e dia + 15 = 14 (46,6%).

Por sua vez, o grupo controle - apenas infectado - apresentou uma carga parasitária média de 16 vermes (53,3%), comportando-se de maneira semelhante aos animais estressados no dia 0 e no dia + 15.

### Isolamento de Granulomas do Fígado

Nos camundongos infectados e estressados (grupo experimental), os primeiros granulomas apareceram a partir do 37º dia e foram aumentando, gradativamente, de número. Todavia, observa-se que, naqueles animais submetidos ao "stress" prévio (iniciado 15 dias antes da infecção), a percentagem de granulomas foi maior quando comparada à percentagem dos granulomas dos animais estressados no dia da infecção e, significativamente, maior do que a daqueles onde o "stress" teve início 15 dias após a infecção ( $P < 0,05$ ). A Tabela 2 mostra os resultados obtidos com os animais submetidos aos dois tipos de "stress" (luz e movimento). No grupo controle, os granulomas foram detectados em torno do 41º dia. Além disso, os animais desse grupo tiveram uma produção de granulomas semelhante à dos animais estressados 15 dias depois da infecção, que não é significativo em relação aos outros animais estressados no dia - 15 e dia 0.

TABELA 2 - Aumento no número de granulomas hepáticos de camundongos infectados e submetidos a dois agentes estressantes e nos camundongos do grupo controle.

Dias de Infecção	Início do "stress" e % de granulomas						
	dia -	15 (p)	dia 0	(p)	dia +	15 (p)	Grupo Controle*
50	53,0	(< 0,05)	47,3	(< 0,05)	33,2	(NS)	35,5
60	76,8	(< 0,05)	64,6	(< 0,05)	52,3	(NS)	54,5
80	87,7	(< 0,05)	73,6	(NS)	64,7	(NS)	67,3

\* - 15 animais sem "stress", perfundidos com os mesmos dias de infecção dos animais do grupo experimental.

NS - Não significativo.

### Mortalidade dos Animais

Os animais trabalhados do grupo experimental tiveram uma mortalidade variável em função do "stress" recebido (quantidade e duração). Observou-se

que os animais submetidos à luz e movimento prévios (- 15) apresentaram uma mortalidade de cerca de 43% contra 29% dos animais mortos com o "stress" iniciado 15 dias após a infecção. Ao comparar-se as taxas obtidas da mortalidade dos animais estressados 15 dias antes e 15 dias depois da infecção com a dos animais que tiveram o "stress" iniciado no dia da infecção, nota-se que quanto menor é o tempo que o animal passa sob "stress", menor é a mortalidade dos mesmos (Tabela 3). O grupo controle, observado por um período de cerca de 40 dias de infecção, apresentou uma percentagem de 22% de mortalidade, percentagem essa bastante semelhante à dos animais estressados 15 dias após a infecção.

TABELA 3 - Mortalidade de camundongos infectados e submetidos a dois agentes estressantes e do grupo controle.

Início do "stress"	Grupo Experimental	Grupo Controle*	P
	% de Mortalidade	% de Mortalidade	
dia - 15	43,0		< 0,05
dia 0	37,0	22,0	< 0,05
dia + 15	29,0		NS

\* - 15 animais sem "stress", perfundidos com cerca de 40 dias de infecção.

NS - Não significativo.

### DISCUSSÃO

A recuperação de vermes adultos foi variável, sendo maior nos animais estressados 15 dias antes da infecção e com agentes estressantes conjugados (luz e movimento). O aumento significativo no número de vermes recuperados nos animais, dupla e previamente estressados, faz supor que o *S. mansoni* encontra meio propício para sua maior e melhor sobrevivência em animais em estado de "stress". Muitos outros fatores devem estar envolvidos para explicar o aumento no número de parasitos no animal estressado, mas o que parece ser mais aceito é o aparecimento desse meio favorável, proporcionado pelo hospedeiro estressado, permitindo uma rápida reprodução do parasito (5).

Como já observado (1), o aumento gradativo de ovos envolvidos por granulomas no fígado e a manutenção dessas formações em níveis altos, deve exprimir a migração normal dos vermes da veia porta para as veias mesentéricas, com consequente postura pela fêmea. No caso ora estudado, observou-se o aparecimento dos primeiros granulomas no fígado dos animais em torno do 37º dia, quando se sabe que, em condições normais, esses granulomas aparecem cerca de 40 dias após a infecção (1). Além do mais, o número de granulomas

SILVA, S. A. F.; CAMPOS, C. A. M. Desenvolvimento da infecção esquistossomótica em animais submetidos ao "stress". *Rev. Pat. Trop.* 19(2):143-149, jul./dez. 1990.

isolados foi bem maior nos animais, previamente, estressados e significativamente, maior quando comparado com o número verificado nos animais estressados 15 dias depois.

Quanto à mortalidade dos animais, observou-se uma variação em função do "stress" recebido; os animais que receberam, previamente, o agente estressante duplo apresentaram maior índice de mortalidade, fazendo supor uma diminuição da resistência do hospedeiro e consequente aumento do dano patológico.

Dessa maneira, é de se presumir que, também, o homem acometido com o *S. mansoni* - principalmente, o de mais baixa classe sócio-econômica - pode desenvolver uma infecção mais grave devido às agressões do meio que o cerca, uma vez que vive e trabalha em ambientes estressantes.

## CONCLUSÕES

O efeito do "stress" sobre a evolução parasitária parece ter - como causa imediata - a redução da resistência ao parasito e consequente aumento de sua patogenicidade.

Observou-se que o efeito foi variável, sendo proporcional à duração e quantidade do "stress" sofrido pelo animal. Além do mais, o "stress" parece fazer com que o animal parasitado proporcione ao parasito um meio mais favorável para que ele se reproduza e sobreviva.

Os processos intermediários que produzem a redução da resistência ao parasitismo precisam ser melhor esclarecidos, uma vez que - ao que parece - essa redução da resistência ao parasito é, normalmente, atribuída à depressão das respostas inflamatórias (imunossupressão) e à produção de anticorpos do hospedeiro, consequência do aumento da secreção hormonal por parte da córtex supra-renal dos vertebrados, como resposta ao "stress" (2).

Assim, conclui-se, finalmente, que a condição de "stress" potencia uma infecção parasitária de um modo geral, e a esquistossomótica em particular, sendo fácil intuir o perigo que corre o ser humano portador de infecção pelo *S. mansoni*, vivendo nos dias atuais rodeado de meios estressantes - nas zonas rural ou urbana - com possibilidades de ter exacerbada a patogenia desse trematódeo que o parasita, com consequências danosas e imprevisíveis.

## SUMMARY

### Development of schistosomiasis infection in animals submitted to stress

Albinic mice of both sex, infected with *Schistosoma mansoni*, was submitted to stress - intermittent light and/or brusque move (alone or conjugate)

SILVA, S. A. F.; CAMPOS, C. A. M. Desenvolvimento da infecção esquistossomótica em animais submetidos ao "stress". *Rev. Pat. Trop.* 19(2):143-149, jul./dez. 1990.

and compared to control group, only infected. Animals received the stress 15 days before, in the day of infection and 15 days after infection, with the stress prolonged to animal necropsy. Observed in experimental group noticeable modifications in worm burden, number of hepatic granuloma and mortality of animals, concluding that the stress condition is favorable to parasitary infection of general mode, and the schistosomiasis in particular, presuming the risk that the infected man with *S. mansoni* - in rural or urbane zone - living to day contorned by stressants in environment.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01.. BRENER, Z. Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Bras. Malariol. Doenç. Trop.*, 8:565-75, 1956.
02. CHENG, T. C. *Parasitologia general*. Editorial AC, Madrid, 1978.
03. JOSEPHINE, M. A. Experimental studies on *Entamoeba histolytica* in kittens. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 7:158-64, 1958.
04. NOBLE, G. A. Stress and parasitism. II - Effect of crowding and fighting among ground squirrels on their coccidia and trichomonas. *Exp. Parasitol.*, 12:368-71, 1962.
05. NOBLE, G. A. Stress and parasitism. IV - Cold stress and *Entamoeba*. *Exp. Parasitol.*, 19:264-8, 1966.
06. PELLEGRINO, J. & MACÊDO, D. A. A simplified method for the concentration of cercariae. *J. Parasitol.*, 41:329-30, 1955.
07. PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. Técnica de perfusão para colheita de *Schistosoma mansoni* em cobaios. *Rev. Bras. Malariol., Doenç. Trop.*, 8:589-97, 1956.
08. PELLEGRINO, J. & BRENNER, Z. Method for isolating schistosomes granuloma for mouse liver. *J. Parasitol.*, 42:564, 1956.
09. ROBBINS, S. L. *Patologia estrutural e funcional*. Editora Interamericana Ltda., Rio de Janeiro, 1975.
10. ROBINSON, E. J. Survival of *Trivhinnella* in stressed hosts. *J. Parasitol.*, 47:16-7, 1961.
11. SHEPPE, W. A. & ADAMS, J. R. The pathogenic effect of *Trypanosoma duttoni* on hosts under stress conditions. *J. Parasitol.*, 43:55-9, 1957.
12. SNEDECOR, G. W. & COCHRAN, W. G. *Statistical methods*. 6rd. Ames, The Iowa State University Press, 1971.
13. WALTER, C. J. The effect of various stresses upon histomoniasis in chickens and turkeys. *Poultry Science*, 39:361-6, 1960.