

## PERTURBAÇÕES ENDÓCRINAS NA ESQUISTOSSOMOSE. ASPECTOS EXPERIMENTAIS DA ESQUISTOSSOMOSE HEPATESPLÊNICA EM CAMUNDONGOS

José de Souza COSTA (1), Célia Netto DIAS (2), Maria da Purificação Paim BURGOS (3), Fortunato TRINDADE (3) e Olívia Lúcia Nunes COSTA (4)

### RESUMO

Com a finalidade de estudar as manifestações da esquistossomose sobre o desenvolvimento e possíveis implicações no funcionamento endócrino, camundongos foram infectados precocemente com *S. mansoni* em dois experimentos subseqüentes. No primeiro, 100 animais, 60 infectados e 40 controles, foram pesados semanalmente durante 3 meses e feitos estudos hemáticos aos 33 e 90 dias de vida, quando foram sacrificados e retirados vários órgãos para avaliação histológica. No segundo, 320 animais, sendo 213 infectados e 107 controles, foram tratados de maneira idêntica, mas ao fim do 2.º mês, a metade em cada grupo foi submetida à esplenectomia. Os resultados obtidos propiciaram as seguintes conclusões: A esquistossomose hepatesplênica é causa de atraso do crescimento. A esplenectomia propicia a retomada desse crescimento. A esplenectomia provoca diminuição de peso nos animais não infectados, mas não é causa de mortalidade, nem modifica o número de leucócitos em animais infectados ou controles. O hematócrito é mais elevado nos camundongos controles que nos infectados, operados e não operados, mas a anemia dos infectados melhora com a cirurgia. O estudo histológico dos órgãos extirpados não revelou maiores anormalidades, mas alguns aspectos de ovários e testículos parecem denotar discreto grau de disfunção.

### INTRODUÇÃO

É observação comum a de que indivíduos jovens, portadores de hêpato-esplenomegalia esquistossomótica, apresentam atraso do desenvolvimento somático-sexual<sup>6,17,20,22,26,28,34</sup>.

Manifestações de perturbações endócrinas em pacientes adultos, em estágios tardios da doença, tais como impotência, perda da libido, amenorréia, esterilidade e diminuição de pelos axilares e pubianos, também são frequentemente relatadas, principalmente naqueles com fibrose hepática e ascite<sup>4,6,14,16,17,18,19,20</sup>. Em

ambos os casos, a esplenectomia tem sido seguida de "normalização", isso é, de progressão do desenvolvimento somático, em grau maior ou menor, e de regularização das funções gonadais<sup>8,9,16,20</sup>.

Estudos têm sido feitos procurando correlacionar essas alterações com perturbações endócrinas diversas<sup>4,10,16,24</sup>. Entre nós merecem destaque os trabalhos de FERREIRA<sup>9</sup> e MACE-DO & col.<sup>15</sup>.

- (1) Professor Adjunto-Docente Livre de Ginecologia da Faculdade de Medicina da U.F.Ba
- (2) Professor Adjunto do Instituto de Matemática da U.F.Ba
- (3) Auxiliar de Ensino da Faculdade de Medicina da U.F.Ba
- (4) Residente de Anatomia Patológica do H.P.E.S.

Este trabalho foi executado no Laboratório de Endocrinologia Ginecológica do Hosp. Prof. Edgard Santos e parcialmente financiado pelo auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas (T.C. 6.821) e da Fundação Ford

Dois teorias foram propostas para explicar a relação entre o baço hipertrofiado e a deficiente atividade hipofisária.

1) Inibição da hipófise por um "fator" secretado pelo baço, causando diminuição da liberação de gonadotrofinas e do hormônio somatotrófico<sup>10</sup>.

2) Inativação pelas células do baço dos hormônios pituitários normalmente produzidos<sup>11,35</sup>.

Mas, não seria possível desprezar-se o fato de que a cronicidade da doença e a desnutrição concomitante podem deprimir tanto as funções hipofisárias como gonadais<sup>25</sup>, assim como a reduzida utilização tecidual e a deficiente metabolização hepática dos hormônios esteroides, principalmente de estrógenos e andrógenos, dariam como resultado a elevação dos níveis desses hormônios na circulação, com inibição da hipófise e conseqüente insuficiência somatogonadal<sup>36,37</sup>.

Essas suposições são postas em dúvida por outras investigações, como a de SUCUPIRA & PUPO<sup>30</sup>, que não encontraram sinais de hipofunção endócrina, estando os níveis de hormônio luteinizante, a reserva hipofisária e a função tireoideana normais para o estágio pré-puberal dos pacientes estudados, ao passo que o hormônio de crescimento apresentou níveis basais até mesmo aumentados, o que parece ressaltar o papel da desnutrição crônica no retardô somático e puberal desses pacientes.

Em face das hipóteses descritas, nenhuma conclusão foi alcançada até o momento. Todas são aceitáveis e é possível que dois ou mais desses mecanismos se associem para a produção do quadro.

As alterações hormonais já são bem conhecidas, mas observações do exato mecanismo fisisopatológico estão ainda por serem feitas.

O propósito deste trabalho é estudar as alterações que se processam em camundongos submetidos experimentalmente a hipertensão portal esquistossomótica, com vistas à possível identificação dos mecanismos que geram essas perturbações.

Para tanto, procuraremos correlacionar os dados obtidos pelo controle de peso corporal durante a experiência com o estudo histológico

da hipófise, supra-renais, ovários, testículos, útero e próstata, bem como de alguns índices hematológicos, além do papel da esplenectomia na evolução da doença.

## MATERIAL E MÉTODOS

O animal de escolha foi o camundongo que associa à facilidade de desenvolvimento de hipertensão portal<sup>2,7,32</sup> o baixo custo e a facilidade de manutenção.

Abandonamos a ligadura da veia porta, pela presteza de instalação de circulação colateral. Preferimos, então, a infecção de camundongos recém-nascidos por *Schistosoma mansoni*<sup>5,13,21,23</sup>, que tem a vantagem de permitir o início da doença em idade pré-puberal.

Inicialmente, procuramos determinar o número ideal de cercárias a serem inoculadas, não só com relação ao desenvolvimento da hipertensão portal como à sobrevida dos animais infectados. Com esse fim, camundongos recém-nascidos, com idades variando entre 1 e 5 dias, receberam quantidades entre 20 e 150 cercárias. Observou-se que a média de sobrevida era idêntica nos animais infectados entre 1 e 5 dias para igual número de cercárias e que não ocorreram casos de morte imediata, mesmo com o número mais elevado de cercárias. Por outro lado, animais inoculados com reduzido número de cercárias não desenvolveram hipertensão portal apreciável, enquanto aqueles infectados com grandes quantidades tiveram uma sobrevida muito curta, inferior ao tempo de instalação da puberdade. As melhores respostas, com relação ao desenvolvimento da hipertensão portal e à sobrevida, foram obtidas na faixa entre 50 e 70 cercárias. Fixamo-nos, portanto, em camundongos inoculados com um número médio de 50 cercárias no 2.º ou 3.º dias de vida, com o que conseguimos produção satisfatória de hipertensão portal e sobrevida superior a 50 dias para a maioria dos animais.

Dois etapas foram completadas neste estudo. Na primeira, 60 camundongos infectados e 40 controles de mesma idade foram submetidos a pesagem semanal. Aos 33 dias o hematócrito e a contagem global de leucócitos foram efetuados, exames esses que foram repetidos ao fim da experiência. O sangue foi obtido no primeiro caso por secção da extremidade da cauda e, no segundo, diretamente

da cava inferior. Aos 90 dias os animais foram sacrificados com éter e retirados os seguintes órgãos para estudo histológico: ovários, testículos, útero, próstata, supra-renais e hipófise. Na segunda fase, 10 lotes sucessivos de 213 animais inoculados com igual número de cercárias (6 grupos) e 107 controles de mesma idade (4 grupos) foram tratados de maneira idêntica, durante um período de 3 meses. Ao fim do segundo mês efetuou-se esplenectomia na metade dos camundongos em cada grupo, com a finalidade de observar o comportamento do peso e dos índices hemáticos nos animais operados e não operados. Ao término do terceiro mês todos os animais foram sacrificados.

Os camundongos foram mantidos em gaiolas, no laboratório, submetidos a idênticas condições ambientais e dietéticas. Todos foram provenientes do biotério da Fundação Gonçalo Moniz. Não houve preocupação em manter isolados os membros das diversas ninhadas, já que todos eram camundongos albinos da variedade Webster. O hematócrito foi determinado pela técnica de microhematócrito e a contagem foi feita em câmara de Neubauer. O material destinado a exame histológico foi fixado em solução de Bouin e incluído em blocos de parafina, com recortes de 5  $\mu$ . Foram aproveitadas somente os cortes em que as estruturas apresentavam-se em perfeitas condições. As colorações utilizadas foram hematoxilina-eosina e PAS, assim como colorações especiais pelo método de GOMORI<sup>12</sup> e tricrômico de MALLORY<sup>3</sup> para impregnação de fibras de reticulina.

#### Estatística utilizada:

1) Comparação entre médias para duas populações independentes, pela distribuição "t" de Student com  $(n_1+n_2-2)$  graus de liberdade, a um nível de significância  $\alpha = 5\%$ ;

2) Comparação entre médias para duas populações dependentes ou correlatas, pela distribuição "t" de Student com  $(n-1)$  graus de liberdade, a um nível de significância  $\alpha = 5\%$ ;

3) Teste de proporções através da distribuição amostral de  $\chi^2$  (qui-quadrado), a um nível de significância de 5%, para 1 grau de liberdade;

4) Análise da Variância para testar a significância de diferenças entre médias amostrais,

utilizando-se a distribuição F, a um nível de significância  $\alpha = 1\%$ .

#### Modelos empregados:

1) Análise da Variância de um critério ou para experimentos de um fator (Tabela I);

2) Análise da Variância de dois critérios ou experimentos de dois fatores (Tabela III).

## RESULTADOS

### 1 — Controle do peso corporal e esplenectomia

Para maior facilidade de avaliação, tomamos como pontos de referência as médias de peso aos 37 dias, idade média de instalação de hipertensão portal, aos 62 dias, imediatamente antes da esplenectomia, e aos 90 dias, término da experiência.

A análise estatística da diferença de peso dos camundongos entre 62 e 37 dias de idade forneceu as médias de 4,47 para controles e 0,74 para infectados. O teste de médias, usando o método da análise de variância, dessa diferença é apresentado na Tabela I, onde o P é altamente significativo ( $P < 0,01$ ).

Por sua vez, a diferença de peso entre 90 e 69 dias forneceu as médias de 2,97 para controles e 1,69 para infectados. As médias para animais esplenectomizados e não esplenectomizados foi de 2,16 e 3,85 nos controles e de 2,21 e 1,38 respectivamente, nos infectados (Tabela II). A análise desses dados é apresentada na (Tabela III).

Nota-se que, trabalhando a um nível de confiança de 5%, a diferença entre subgrupos não é significativa, apesar de haver uma tendência para a significância, desde que o valor en-

TABELA I

Diferenças entre médias de peso corporal, em gramas, para 2 grupos de camundongos aos 37 e 62 dias de vida

Fonte de variação	g.l.	Soma de quadrados	Quadrado médio
Entre grupos	1	475,65	475,65
Dentro dos grupos	145	1.720,38	11,86
Total	146	2.196,03	—

F = 40,105; g.l. = 1 e 145; P < 0,01

contrado de 2,978 está próximo do valor teórico esperado de 3,11.

Um teste de "t" para amostras não correlatas das diferenças entre médias (Tabela IV), revela-nos um  $P < 0,05$  e demonstra, assim, que a diferença de peso entre esplenectomizados e não esplenectomizados é significativa ao nível de 5%.

TABELA II

Médias das diferenças de peso corporal, em gramas, para 2 grupos de camundongos aos 69 e 90 dias de vida

Grupo	Subgrupo	Média das diferenças	Média
Controles	Esplenectomizados	2,16	2,97
	Não esplenectomizados	3,85	
Infectados	Esplenectomizados	2,21	1,69
	Não esplenectomizados	1,28	

TABELA III

Diferenças entre médias de peso corporal, em gramas, para 2 grupos de camundongos aos 69 a 90 dias de vida

Fonte de variação	g.l.	Soma de quadrados	Quadrado médio
Entre grupos	1	32,90	32,90 (*)
Entre subgrupos	2	40,38	20,19 (**)
Resíduo	78	528,90	6,78
Total	81	602,18	—

(\*)  $F = 4,835$ ; g.l. = 1 e 78;  $P < 0,05$

(\*\*)  $F = 2,978$ ; g.l. = 2 e 78;  $P > 0,05$

TABELA IV

Diferenças entre médias de peso corporal, em gramas, para 2 grupos de camundongos aos 69 e 90 dias de vida

Grupo	Esplenectomizados (E)	Não esplenectomizados (NE)	E-NE (*)
Controles	2,16	3,85	-1,69
Infectados	2,21	1,28	+0,93
Diferença	-0,05	+2,57	-2,62

(\*)  $t = 2,239$ ; g.l. = 78;  $p < 0,05$

## 2 — Estudo da sobrevida

Utilizando a distribuição amostral  $\chi^2$  para avaliar a relação entre esplenectomia e sobrevida em camundongos infectados (Tabela V), verifica-se a associação entre maior incidência de óbitos e animais não esplenectomizados ( $P < 0,05$ ).

TABELA V

Influência da esplenectomia em relação à sobrevida, em um grupo de camundongos infectados com *Schistosoma mansoni*

Infectados	Óbitos	Sobrevida	Total
Esplenectomizados	9	23	32
Não-esplenectomizados	68	36	104
Total	77	59	136

$\chi^2 = 13,775$ ; g.l. = 1;  $P < 0,05$

A mesma distribuição  $\chi^2$  aplicado em um grupo controle fornece resultado idêntico, como se pode verificar na Tabela VI.

TABELA VI

Influência da esplenectomia em relação à sobrevida, em um grupo de camundongos controles

Controles	Óbitos	Sobrevida	Total
Esplenectomizados	5	21	26
Não-esplenectomizados	23	30	59
Total	28	51	79

$\chi^2 = 4,421$ ; g.l. = 1;  $P < 0,05$

## 3 — Índices hemáticos

O estudo comparativo do número de leucócitos e hematócrito em grupos controles e infectados, aos 33 e 90 dias de vida, obtido pela aplicação do teste de "t" para amostras dependentes, demonstra uma diferença estatisticamente significativa ( $P < 0,05$ ) para as médias de hematócrito nos animais controles e do número de leucócitos e hematócrito nos infectados, enquanto a diferença do número de leucócitos entre 33 e 90 dias não é significativa ( $P > 0,05$ ) nos controles (Tabela VII).

TABELA VII

Comparação entre número de leucócitos e hematócrito em grupos controles e infectados, aos 33 e 90 dias de vida

Grupos	Médias		"t"	g.l.	P
	33 dias	90 dias			
<b>Controles</b>					
Leucócitos	11.184,88	9.768,60	0,930	42	> 0,05
Hematócrito	58,49	50,33	2,473	42	< 0,05
<b>Infectados</b>					
Leucócitos	18.345,78	9.135,71	6,933	44	< 0,05
Hematócrito	56,56	33,78	10,215	44	< 0,05

Quando se tenta a comparação desses índices nos grupos controles e infectados, ao fim da experiência (90 dias), entre camundongos esplenectomizados e não esplenectomizados, o teste de "t" para amostras independentes (Tabela VIII) revela que, surpreendentemente, não foi possível demonstrar diferença significativa, a um nível de confiança de 5%, no grupo de infectados ( $P > 0,05$ ), enquanto essa diferença foi significativa no grupo de controles ( $P < 0,05$ ).

TABELA VIII

Comparação entre número de leucócitos e hematócritos em animais esplenectomizados e não esplenectomizados, nos grupos controles e infectados, aos 90 dias de vida

Grupos	Médias		"t"	g.l.	P
	Esplenectomizados	Não esplenectomizados			
<b>Controles</b>					
Leucócitos	11.707,14	7.645,45	2,322	41	< 0,05
Hematócrito	44,90	55,50	2,361	41	< 0,05
<b>Infectados</b>					
Leucócitos	8.615,60	9.551,80	0,446	43	> 0,05
Hematócrito	30,30	36,56	1,676	43	> 0,05

Procedido o reagrupamento desses dados, correlacionando os animais esplenectomizados e não esplenectomizados nos controles e infectados, aos 90 dias de nascidos, o teste de "t" para amostras não correlatas demonstra uma diferença significativa com relação ao hematócrito nos dois grupos ( $P < 0,05$ ), ao passo

que o número de leucócitos não sofre variação apreciável, como mostra a Tabela IX.

TABELA IX

Comparação entre número de leucócitos e hematócrito, em grupos controles e infectados, nos animais esplenectomizados e não esplenectomizados, aos 90 dias de vida

Grupos	Médias		"t"	g.l.	P
	Controles	Infectados			
<b>Esplenectomizados</b>					
Leucócitos	11.707,14	8.615,60	1,721	39	> 0,05
Hematócrito	44,90	30,30	3,140	39	< 0,05
<b>Não esplenectomizados</b>					
Leucócitos	7.645,45	9.551,80	0,913	45	> 0,05
Hematócrito	55,50	36,56	5,287	45	< 0,05

#### 4 — Estudo histológico

Os dados relativos ao exame histológico dos órgãos extirpados, por não apresentarem qualquer diferença estatisticamente significante, serão abordados de forma descritiva mais adiante.

#### DISCUSSÃO

Como consequência do presente trabalho, alguns aspectos da hipertensão portal esquistossomótica em camundongos podem ser melhor avaliados, assim como as suas possíveis correlações com a esquistossomose humana.

Em primeiro lugar, as curvas ponderais (Fig. 1) mostram que somente após a 6.<sup>a</sup> semana de vida começa a haver diferença entre o peso dos animais controles e infectados, o que reitera ser necessário um longo período para a instalação da hipertensão portal e das suas manifestações. Nesse aspecto, apesar de estudos experimentais vários terem mostrado aumento progressivo do baço a partir da segunda semana pós-infecção, ANDRADE<sup>1</sup>, mostrou que essa esplenomegalia é devida à hiperplasia das células reticulo-endoteliais, seguida da diferenciação de células plasmáticas nos cordões esplênicos e da produção de  $\gamma$ -globulina, enquanto os aspectos congestivos da hipertensão portal só se tornam evidentes em

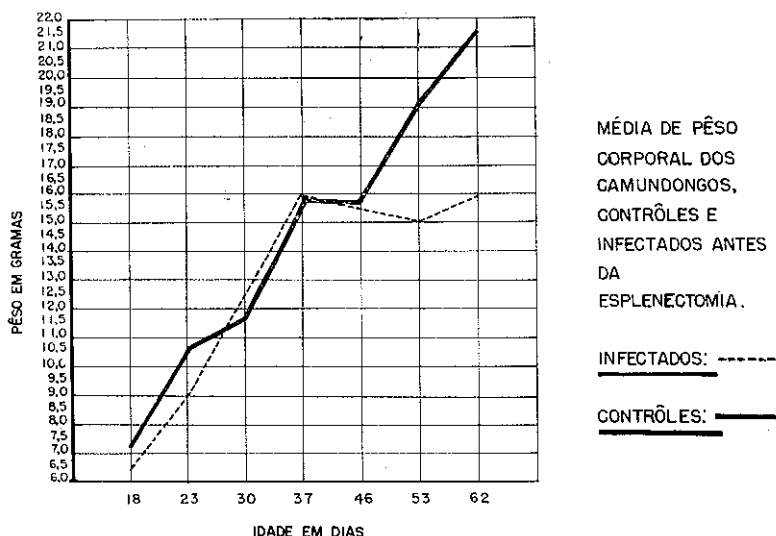


Fig. 1

períodos mais tardios da infecção, caracterizados por distensão dos seios venosos e hipertrofia e hiperplasia da trama reticulínica. Da mesma forma, DeWITT & WARREN<sup>7</sup> relatam que nenhuma alteração macroscópica foi encontrada no fígado às 6 semanas de infecção, ao passo que com 8 semanas, esse órgão mostrava apreciáveis aumentos e, com 10 semanas, além de hepatomegalia, varizes esofágicas, esplenomegalia e ascite faziam-se presentes.

Foi amplamente justificada, portanto, a concepção da infecção precoce, o que nos per-

mitiu a observação do comportamento do peso corporal exatamente na fase de crescimento, quando provavelmente essas modificações podem ser percebidas com maior evidência.

Em segundo lugar, observa-se que enquanto nos camundongos controles a média de peso aumenta progressivamente, nos infectados ela se estabiliza a partir da sexta semana, o que demonstra uma parada no crescimento desses animais, a qual persistiu até o fim da experiência nos animais não esplenectomizados (Fig. 2).

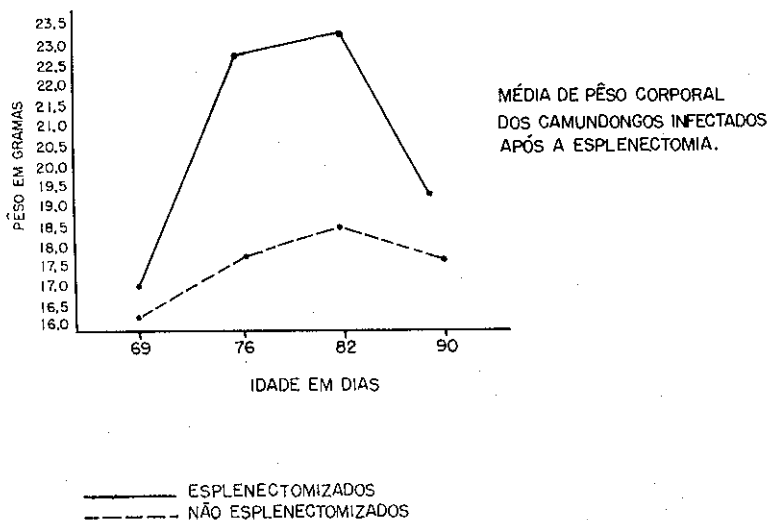


Fig. 2

A observação das curvas de peso corporal, nos dois grupos, dos animais esplenectomizados e não esplenectomizados, oferece aspectos que merecem elaboração.

Assim, nota-se na Fig. 2 que o peso dos camundongos infectados esplenectomizados aumenta rapidamente a partir da cirurgia, atingindo o máximo aos 82 dias de vida, passando a cair até o fim do experimento. A esplenectomia demonstra, seguramente, ser fator condicionante da aceleração do crescimento desses animais, quando comparados com aqueles não submetidos à cirurgia. Contudo, a queda subsequente da média de peso parece indicar que,

a longo prazo, a evolução da doença é capaz de comprometer o desempenho dos animais e superar parcialmente as vantagens obtidas de início, mesmo que não consiga anulá-las completamente.

Os achados apresentados na Fig. 3 são de veras surpreendentes. Percebe-se que, aparentemente sem razão, o peso dos animais controles esplenectomizados cai da média anterior de 21,5 g para cerca de 16,5 g, enquanto o dos não esplenectomizados permanece em níveis mais altos, e que essa diferença persiste até os 90 dias, fato que condicionou certas dificuldades na análise dos resultados.

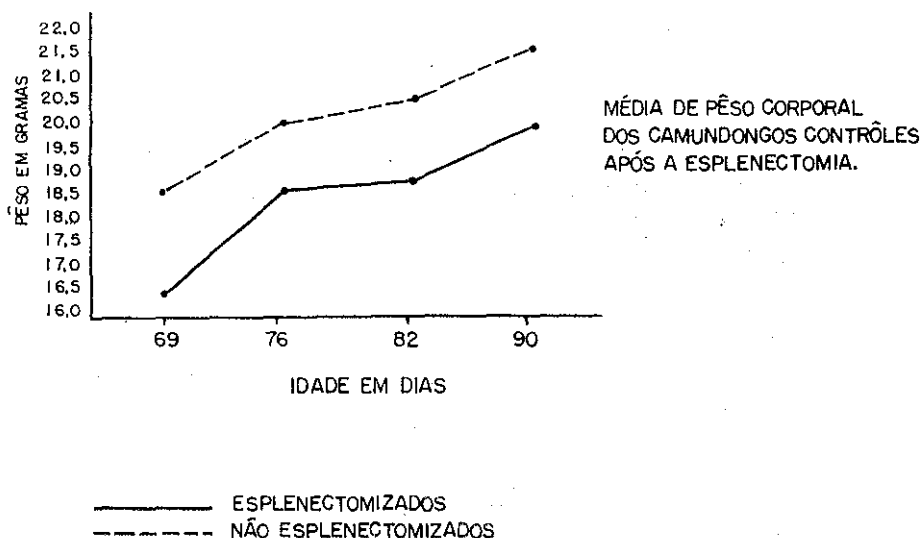


Fig. 3

Realmente, o exame cuidadoso das médias das diferenças de peso corporal dos camundongos entre 69 e 90 dias de vida demonstra que a análise de variância é insuficiente para a correta apreciação dos resultados porque, como é visto na Tabela IV, os controles esplenectomizados sofreram decréscimo de peso, enquanto os infectados aumentaram de peso. Essas modificações concorreram para a convergência das médias dos grupos e conseqüente diminuição da sua significância ( $P > 0,05$ ), em oposição ao encontrado entre 37 e 62 dias, em que  $P < 0,01$  (Tabela I), bem como pela não significância da diferença entre subgrupos (Tabela III). Arrumando de forma diferente esses mesmos dados (Tabela X), podemos observar que as médias das diferenças de peso corpo-

ral entre controles e infectados são significativamente diferentes nos animais não esplenectomizados, mas equivalentes nos esplenectomizados. Se tirarmos uma média dessas duas médias, veremos que o aumento de peso dos infectados esplenectomizados é anulada pela diminuição ocorrida nos controles, a qual, apesar de não completamente explicada, poderia ser levada à conta do trauma cirúrgico, da perda sanguínea e da própria esplenectomia. Se esse decréscimo de peso ocorre nos animais controles, logicamente deveria também acontecer nos camundongos infectados que, pelo contrário, aumentam, rápida e significativamente, de peso. O teste de "t" das diferenças entre médias revela-nos, primeiro, que tanto a diferença para menos nos controles como para mais

nos infectados é significativa; segundo, que o aumento de peso dos camundongos infectados, quando feita a correção para a diminuição ocorrida nos controles, é significativa (Tabela IV).

TABELA X

Médias das diferenças de peso corporal, em gramas, para 2 grupos de camundongos aos 69 e 90 dias de vida

Subgrupo	Grupo	Média das diferenças	Média
Esplenectomizados	Controle	2,16	2,18
	Infectado	2,21	
Não esplenectomizados	Controle	3,85	2,56
	Infectado	1,28	

De forma geral o desempenho das curvas ponderais dos camundongos infectados, neste trabalho, é semelhante ao que tem sido referido na esquistossomose humana por diversos Autores, não só no que se refere ao retardo do desenvolvimento somático e sexual<sup>4,6,9,14,15,16,18,20,22,26,31,33</sup>, como aos efeitos da esplenectomia<sup>9,16,17,20</sup>.

Na tentativa de avaliar o papel da esplenectomia com relação à integridade orgânica dos animais submetidos ao processo, uma análise colateral de sobrevida foi efetuada. Verifica-se na Tabela V que os animais infectados esplenectomizados têm uma menor proporção de óbitos (28,1%) do que os não esplenectomizados (65,4%), o que demonstra uma ação benéfica da esplenectomia em relação à doença. Mas, fato idêntico ocorre no grupo de controles, em que os camundongos esplenectomizados também fornecem menor taxa de mortalidade (12,3%) em relação aos não esplenectomizados (43,4%), o que nos leva a crer numa incidência puramente casual no primeiro achado (Tabela VI). Fica demonstrado, contudo, que a esplenectomia não desempenha qualquer papel letal para os animais. Tal fato é compatível com o que se observa em humanos, em que a esplenectomia em si não exerce qualquer influência no curso da doença, restringindo-se o seu papel à relativa descompressão do sistema porta e conseqüente diminuição das hemorragias provenientes das varizes esofági-

cas, de tal sorte melhorando as perspectivas de sobrevida dos portadores de esquistossomose hepatoesplênica.

Os estudos hematológicos na esquistossomose têm mostrado divergências, tanto no homem como no camundongo<sup>4,7,14,16,30</sup>. Em o nosso material resolvemos tomar para índices de avaliação a contagem de leucócitos e o hematócrito. Inicialmente verificamos que o número de leucócitos não sofreu variação nos animais controles nas duas tomadas, aos 33 e 90 dias de vida ( $P > 0,05$ ), enquanto nos infectados esse número foi sensivelmente menor aos 90 dias ( $P < 0,05$ ), como é visto na Tabela VII. Com relação ao hematócrito, a diferença foi significativa a 5% nos controles e infectados, nas duas verificações. Mas, como se pode verificar na Tabela VII a diferença foi muito menor nos controles (58,49 — 50,33) do que nos infectados (56,55 — 33,78), mostrando que existe marcada diminuição do hematócrito com o progredir da infecção.

Procuramos, a seguir, verificar um possível papel da esplenectomia nesses índices (Tabela VIII). Novamente aqui os resultados parecem desencontrados. Na medida em que, nos controles, o número de leucócitos foi significativamente maior nos camundongos esplenectomizados ( $P < 0,05$ ), não houve diferença estatisticamente significativa entre esplenectomizados e não esplenectomizados nos animais infectados ( $P > 0,05$ ). Por outro lado, o hematócrito mostrou-se significativamente mais baixo, a um nível de 5% de confiança, nos controles esplenectomizados do que nos não esplenectomizados, ao passo que não houve diferença nas taxas de hematócrito nas duas situações no grupo de esplenectomizados ( $P > 0,05$ ).

A inesperada discordância desses achados com o que supúnhamos dever acontecer levou-nos a testar uma diferente distribuição dos mesmos dados (Tabela IX). Dest'arte, quando comparamos, no grupo de esplenectomizados, a contagem de leucócitos nos animais controles e infectados, verificamos não haver significância estatística ( $P > 0,05$ ), fato que se repete nos camundongos não esplenectomizados, demonstrando não ter a esplenectomia qualquer influência sobre o número de leucócitos. De referência às taxas de hematócrito, observamos que elas são significativamente mais altas ( $P < 0,05$ ) nos controles do que nos in-

fectados, em ambos os grupos, o que comprova a ocorrência de anemia em estágios mais avançados da doença, a qual não é beneficiada pela retirada do baço.

A tabulação dos dados obtidos pelo exame histológico dos órgãos extirpados de camundongos controles e infectados aos 90 dias de vida, foi efetuada, mas os resultados não se prestaram para análise estatística, pelo que vão

a seguir analisados de forma puramente descritiva.

Conforme se observa na Tabela XI, na maioria dos órgãos estudados não houve alterações histológicas apreciáveis, sendo os achados referidos como normais, tanto nos animais controles como nos infectados. Aparentemente, não houve qualquer ingerência da esquistossomose ou da esplenectomia sobre esses órgãos.

TABELA XI

Distribuição dos animais em que o estudo histológico dos vários órgãos forneceu resultados considerados como normais

Órgão	Controles		Infectados	
	Esplenectomizados	Não esplenectomizados	Esplenectomizados	Não esplenectomizados
Hipófise	14	18	7	18
Útero	12	11	4	9
Próstata	6	9	5	7
Supra-renal	19	19	10	16
Trompa	—	—	—	2
Vesícula seminal	—	3	—	1

Alguns aspectos particulares foram referidos nos ovários e testículos examinados, os quais são apresentados na Tabela XII. Nos ovários, a presença de folículos em desenvolvimento (Figs. 4 e 5) e de corpos lúteos (Fig. 6) atestam o seu perfeito funcionamento na maioria dos casos, enquanto o achado de proliferação da teca interna em 10 casos não foi

explicada, podendo porém estar relacionado à intercorrência de ciclos anovulatórios, como relatado por POUSSADA<sup>27</sup>. Nos testículos, a ocorrência mais freqüente foi de espermatogênese completa (Figs. 7 e 8), em 39 órgãos estudados, enquanto espermatogênese ligeiramente diminuída foi encontrada muito mais raramente (7 casos).

TABELA XII

Aspectos histológicos mais freqüentes nos cortes de ovário e testículo nos diferentes grupos

Órgão	Controles		Infectados	
	Esplenectomizados	Não esplenectomizados	Esplenectomizados	Não esplenectomizados
<b>Ovário</b>				
Folículos em desenvolvimento	5	3	4	6
Proliferação da teca interna	5	2	1	2
Corpos lúteos	2	4	—	1
<b>Testículo</b>				
Espermatogênese completa	8	13	9	9
Espermatogênese diminuída	1	1	1	4



Fig. 4 — Ovário, com folículos em diferentes estágios de desenvolvimento, e trompa cortada transversalmente

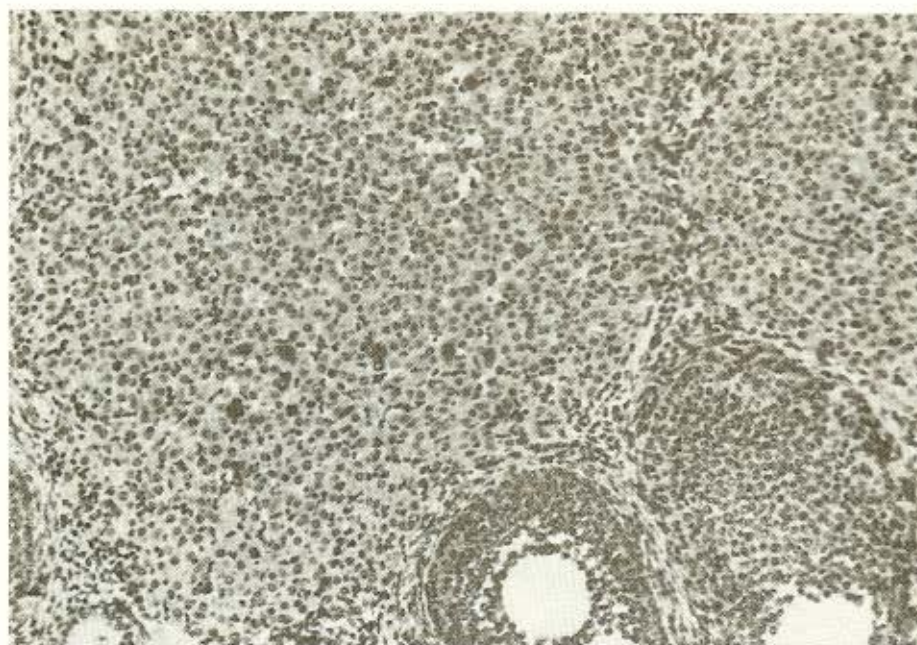


Fig. 5 — Ovário, com folículos primordiais em maturação, circundados por maciços de células luteínicas

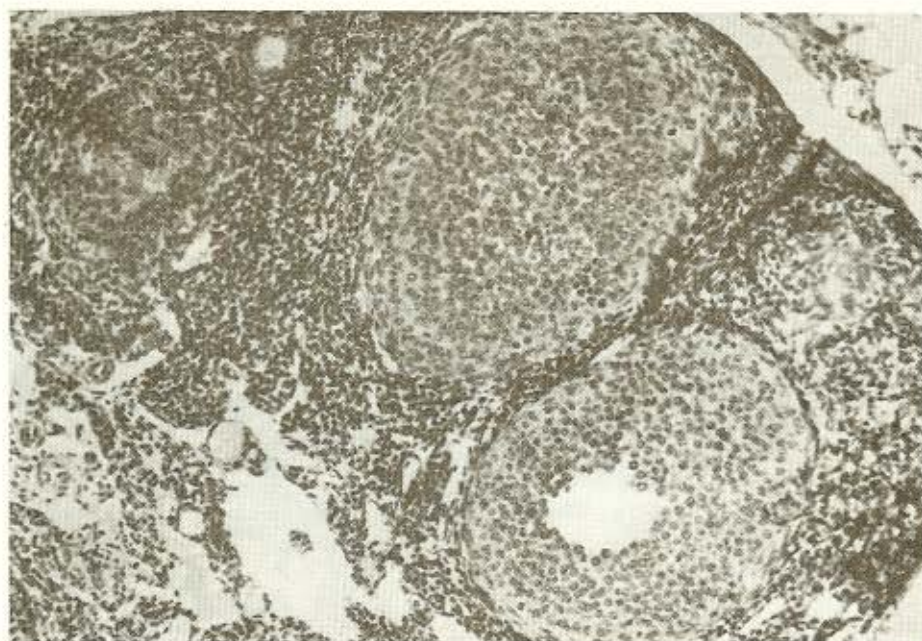


Fig. 6 — Ovário, com corpos lúteos.



Fig. 7 — Testículo, túbulos seminíferos com luz ampla.



Fig. 8 — Testículo, mostrando túbulos seminíferos, com espermatogênese.

Todos os 36 úteros examinados apresentaram estruturas normais (Fig. 9), bem como as 27 próstatas (Fig. 10).

Por fim, o total das hipófises investigadas, em número de 57, mostrou-se de aspecto histológico normal (Fig. 11), nos diversos grupos.

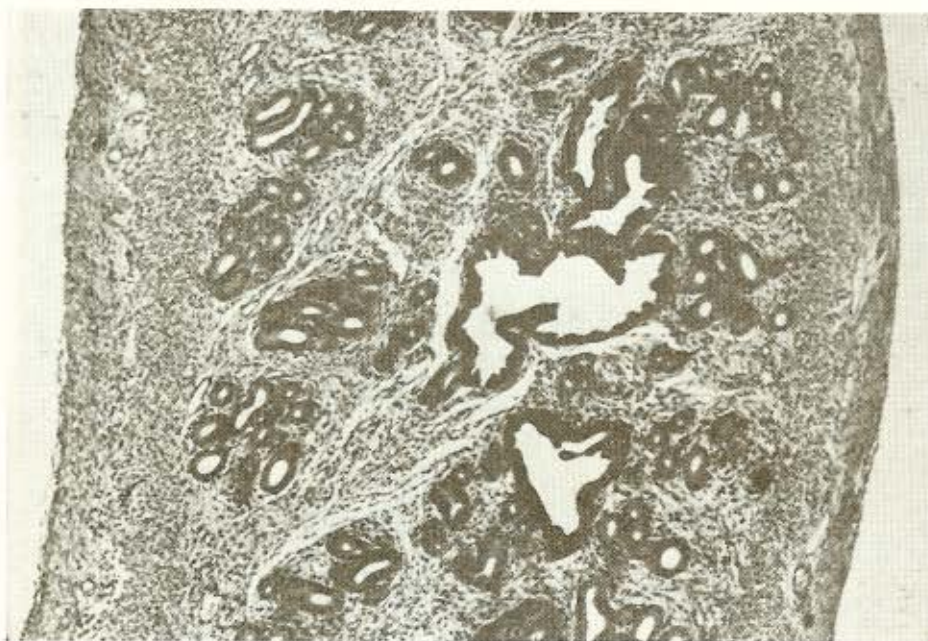


Fig. 9 — Útero, vendo-se miométrio e endométrio, com características normais.

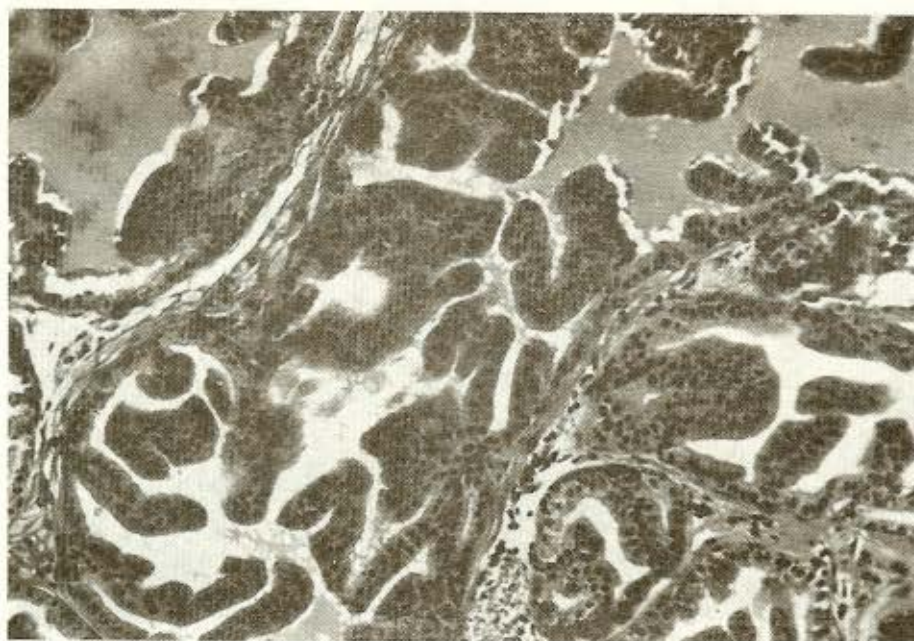


Fig. 10 — Próstata, com glândulas alveolares normais.

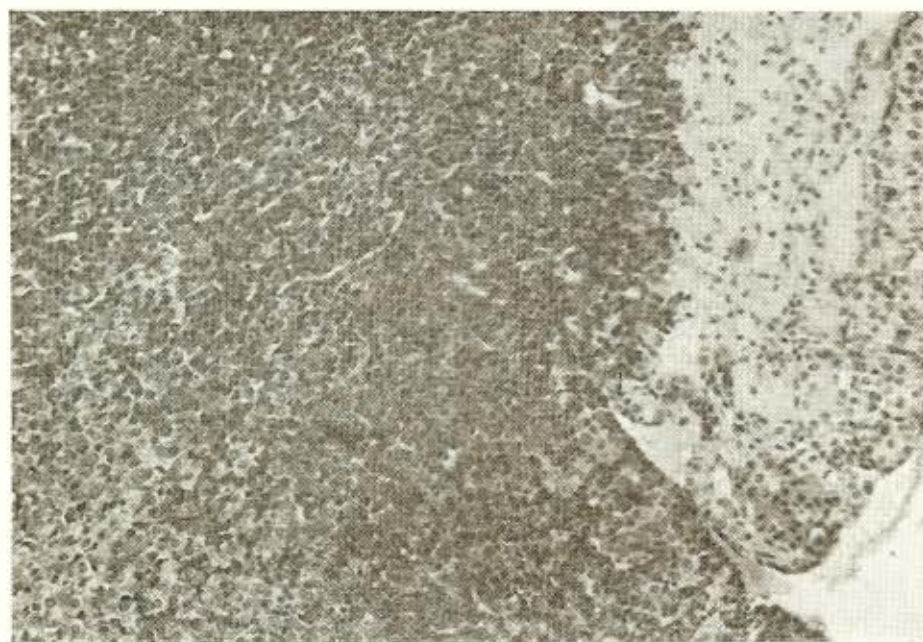


Fig. 11 — Hipófise normal, de aspecto trabecular.

Apesar de até certo ponto surpreendentes, esses achados são condizentes com os de POU-SADA<sup>27</sup>, em seu estudo sobre o ciclo ovulatório de camundongos, onde conclui que há um decréscimo do número de ciclos ovulatórios somente em fase avançada da infecção, embora esse fato não possa ser atribuído, exclusivamente, à hépato-esplenomegalia.

### CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que: 1) A hipertensão portal esquistossomótica é causa de atraso do desenvolvimento somático em camundongos infectados precocemente; 2) A esplenectomia propicia a retomada do desenvolvimento em camundongos infectados; 3) A esplenectomia é fator de diminuição de peso em camundongos não infectados; 4) A esplenectomia não desempenha qualquer papel letal na evolução dos animais; 5) O número de leucócitos decresce nos estágios mais avançados da infecção; 6) A esplenectomia não exerce qualquer influência sobre o número de leucócitos, tanto nos animais infectados como controles; 7) As taxas de hematócrito são significativamente mais altas nos controles do que nos infectados, esplenectomizados e não esplenectomizados; 8) A anemia presente nos animais infectados não se beneficia com a esplenectomia; 9) Na maioria dos órgãos histologicamente estudados os achados foram classificados como normais; 10) Alguns aspectos particulares encontrados em ovários e testículos parecem denotar discreto grau de disfunção dessas glândulas.

### SUMMARY

#### Endocrine disfunctions in Schistosomiasis. Experimental aspects of late schistosomiasis in mice

With the purpose of studying the influence of schistosomiasis on the development and the possible implications on the endocrine functions mice were infected with *S. mansoni* early in life in two subsequent experiments. In the first study, 100 animals comprising 60 infected and 40 control mice were weekly weighed for three months during which hematological measures were made at the 33rd and 90th days of age, when all were killed. Different organs were

taken for histological evaluation. In the second part 320 mice being 213 infected and 107 control were treated in the same fashion but at the end of the 2nd month splenectomy was performed in half in each group. The results achieved led to the following conclusions: Late schistosomiasis causes impairment of growth. Splenectomy allows restoration of the growth pattern. Splenectomy produces reduction of body weight in non-infected animals but is neither cause of death nor modifies the white cells count in both control and infected mice. Hematocrit is higher in non-infected than in infected splenectomized or not but the anemia present in this last group benefits from surgery. The histological study of the organs did not reveal gross abnormalities but specific aspects found in ovaries and testis seem to indicate a certain degree of disfunction.

### AGRADECIMENTOS

Externamos nossos agradecimentos ao Prof. Roberto Figueira Santos, pelo estímulo; ao Prof. José Guilherme da Motta, pela execução dos processos de infecção dos camundongos; ao Prof. Edilson Brito, pelo preparo das microfotografias, a Lene Yeda e Braz Orrico pela colaboração na confecção dos gráficos e a Elisabeth da Silva Peixoto pela execução do trabalho datilográfico.

### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ANDRADE, Z. A. — Aspectos experimentais da esplenomegalia da Esquistossomose. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4: 249-255, 1962.
2. BRENER, Z. — Observações sobre a infecção do camundongo pelo *Schistosoma mansoni*. *Rev. Brasil. Malariol. Doenças Trop.* 8: 565-575, 1956.
3. CHING, J. & PRADO, A. — A rapid Mallory trichrome stain. (chromotrope-aniline blue). *Arch. Path.* 62: 505-508, 1956.
4. CHU HSI-HSING; CHANG MEI-FANG; WANG FU; HSIEN SHUCHEN & LIN CHAO-CH'I — Observations on endocrine disturbances in patients with late Schistosomiasis japonica. *Chin. Med. J.* 82: 374-378, 1963.
5. COSTA, J. S.; SANTOS, R. F.; MOTTA, J. G. & OLIVEIRA, V. — Esquistossomose hepatoesplênica experimental em camundongos. Efeito da esplenectomia no desenvolvimento somático. *Anais do Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. Salvador, 1967, p. 19-20.

6. CUNHA, A. S. — Esquistossomose mansoni. São Paulo, Sarvier, 1970, 435 p.
7. DE WITT, W. B. & WARREN, K. S. — Hepato-splenic Schistosomiasis in mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 8: 440-445, 1959.
8. FARKAS, G. — Der Einfluss der Splenektomie auf die sexual function der Frau. *Zbl. Gynäk* 90: 1263-1629, 1968.
9. FERREIRA, J. M. — Aspectos endócrinos da Esquistossomose mansônica hepato-esplênica. [Tese]. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, Gráfica Piratininga, 1957, 173 p.
10. GORDON, A. S.; KLEINBERG, W. & CHARIPPER, H. A. — The reticulo-endothelial system and the concept of the "anti-hormone". *Science* 86: 62-63, 1937.
11. GORDON, A. S.; KLEINBERG, W. & CHARIPPER, H. A. — The reticulo endothelial system and hormone refractoriness. *J. Exp. Med.* 70: 333-336, 1969.
12. GRIDLEY in *MANUAL OF HISTOLOGIC AND SPECIAL STAINING TECHNIQS.* 2nd Edition. New York, Mc Graw-Hill Book, Co., Inc., 1960, p. 91-92.
13. HEARNshaw, G. R.; ERSRAW, W. E. & BREWSTER, D. J. — The effect of Schistosomiasis upon activity and growth in mice. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 57: 481-497, 1963.
14. HSUEH, C. H. & WU, Y. H. — Endocrine disturbances in late Schistosomiasis. *Chin. Med. J.* 82: 519-527, 1963.
15. MACEDO, A. C. C. & HORWITH, M. — Hepatosplenic Schistosomiasis mansoni associated with retarded growth and sexual development — Endocrine evaluation. *Gaz. Med. Bahia* 72: 69-84, 1972.
16. MAHDI, M. A. H. & BASALY, M. — Endocrinal imbalance in hepatosplenic Bilharziasis. *Gazette Kasr El Ainy, Fac. Med.* 21: 71-78, 1955.
17. MARQUES, A. — Infantilismo esplênico. *Rev. Med. Panam.* 2: 213-224, 1944.
18. MEIRA, J. A. — Esquistossomose mansoni hepato-esplênica. [Tese]. São Paulo, Edanee, 1951, 607 p.
19. MEIRA, J. A. — Quadro clínico da Esquistossomose mansônica. *Rev. Brasil. Malaríol. Doenças Trop.* 11: 248-257, 1959.
20. MEIRA LINS — Esquistossomose mansoni na infância em Pernambuco. Aspectos médicos sociais. [Tese]. Recife, Imprensa Oficial, 1950, 184 p.
21. MOTA, J. G.; OLIVEIRA, V. S. & BARRETO, A. C. — Susceptibilidade de camundongos lactentes à infecção por *S. mansoni*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 7: 337-342, 1965.
22. NABAWY, M.; GABR, M. & RAGAB, M. — Effects of Bilharziasis on development of Egyptian Children. *J. Trop. Med. Hyg.* 4: 271-277, 1961.
23. OLIVIER, L. & STIREWALT, M. A. — An efficient method for exposure of mice to cercariae of *S. mansoni*. *J. Parasit.* 38: 19-23, 1952.
24. PARTHEMORE, J.; MACEDO, A. C. C.; VIANNA, B. & FURTH, E. D. — Thyroidal radiiodine uptakes in hepatosplenic Schistosomiasis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 9: 79-86, 1967.
25. PERLOFF, H. W.; LASCHÉ, E. M.; NODINE, J. H.; SCHNEEBERG, N. G. & VIEILLARD, C. B. — The starvation state and functional hypopituitarism. *J. A. M. A.* 155: 1307-1312, 1954.
26. PESSOA, S. — Considerações sobre a Esquistossomose na infância. *Rev. Med. Cir. São Paulo* 13: 29-35, 1953.
27. POUSSADA, J. M. D. C. — Influência da Infecção Esquistossomótica sobre o ciclo ovulatório de camundongos. [Tese]. Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, 1974, 81 p.
28. PRATA, A. R. — Esquistossomose mansoni. In *Doenças Parasitárias e Infectuosas.* Ed. R. Veronesi. 5.ª Edição, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1972, p. 870-886.
29. STIREWALT, M. A. — Comparison of penetration and maturation of *Schistosoma mansoni* in four strains of mice. *Parasitol.* 55: 227-235, 1965.
30. SUCUPIRA, M. S. & PUPO, A. A. — Estudos hormonais do hipodesenvolvimento somático e puberal de portadores de esquistossomose mansônica. *Rev. Assoc. Med. Brasil.* 22: 154-161, 1976.
31. WALKER, A. R. P.; WALKER, B. F. & RICHARDSON, B. D. — Studies on Schistosomiasis in a South African Bantu schoolchild population. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 5: 792-799, 1970.
32. WARREN, K. S. — The etiology of hepato-esplenic Schistosomiasis mansoni in mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 10: 870-875, 1961.
33. WARREN, K. S. — Correlation between experimental and human infection with *Schistosoma mansoni*. *Nature (London)* 201: 899-901, 1964.
34. WRIGHT, W. H. — Schistosomiasis as a world problem. *Bull. N. Y. Acad. Med.* 44: 301-312, 1968.
35. ZONDEK, B. & SULMAN, F. — The mechanisms of action and metabolism of gonadotrophic hormones in the organism. *Vitamins and Hormones.* Vol. III. New York, Academic Press Inc., 1945, p. 297-336.
36. ZUBIRAN, S. & GOMES MONT, F. — Endocrine disturbances in chronic human malnutrition. *Vitamins and Hormones.* Vol. XI. New York, Academic Press Inc., 1953, p. 97-132.
37. ZUBIRAN, S.; GOMEZ, F. & LAND LAGUNA, J. — Endocrine disturbances and their dietetic background in undernourished in Mexico. *Ann. Intern. Med.* 42: 1259-1267, 1955.

Recebido para publicação em 30/11/1979.