

## ACÇÃO DA OXAMNIQUINE SOBRE O SCHISTOSOMA MANSONI EM CAMUNDONGOS EXPERIMENTALMENTE INFECTADOS

Anna KOHN (1), C. J. SERAPIÃO (2), Nattale KATZ (3) e E. P. DIAS (3)

### RESUMO

Foi estudada a acção oxamniquine sobre o *Schistosoma mansoni* em camundongos experimentalmente infectados com a cepa L. E. Em 50% dos animais sacrificados após o 3.º dia do tratamento foi observada parada da oviposição, sem que ainda houvesse deslocamento dos vermes para o fígado. Após duas semanas praticamente todos os vermes encontravam-se no fígado e 100% dos camundongos mostravam alterações do oograma. As alterações morfológicas foram mais precoces e intensas nos vermes machos, que já a partir do 3.º dia do tratamento apresentavam uma embebição do parênquima, que se tornou mais frouxo com formação de pequenas lacunas irregulares. A partir do 15.º dia as alterações degenerativas encontradas foram vacuolização, desaparecimento dos núcleos nas células do parênquima e formação de amplos espaços vazios na camada muscular e no parênquima (lesão "em bolha"). As lesões do tegumento foram parciais e discretas, sendo ausentes no aparelho digestivo. Nos vermes fêmeas as lesões foram de menor intensidade ao nível do parênquima e após 7 dias foi observado redução na quantidade de material vitelínico e no volume do ovário. O conteúdo do intestino das mesmas exibiu acentuada despigmentação. Quanto ao comprimento dos vermes machos e fêmeas recuperados dos animais tratados havia uma significativa redução quando comparado com os controles, já a partir do 3.º dia do tratamento. Foi ainda encontrado nos camundongos tratados, um macho albergando seis fêmeas no canal ginecóforo. Nos camundongos sacrificados 90 e 120 dias após a administração da oxamniquine, em que pese acentuada diminuição no número de vermes encontrados, já havia novamente casais nas veias mesentéricas e também uma predominância de vermes fêmeas sobreviventes, mas respectivamente em 80 e 50% dos animais a oviposição dos vermes continuava suspensa.

### INTRODUÇÃO

A oxamniquine é uma droga que apresenta elevada atividade na infecção esquistossomótica experimental e clínica 1,2,4,5.

Segundo Foster<sup>1</sup>, quando camundongos experimentalmente infectados pelo *Schistoso-*

*ma mansoni* (cepa de Porto Rico) foram tratados com oxamniquine com dose única oral de 50 mg/kg, o deslocamento dos vermes para o fígado foi observado já a partir do 2.º dia. Seis dias após o tratamento, todos os vermes

(1) Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ

(2) Departamento de Patologia da U.F.R.J.

(3) Centro de Pesquisas "René Rachou", FIOCRUZ

Trabalho realizado em parte, com auxílio do Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Pedidos de Separatas: Anna Kohn, Instituto Oswaldo Cruz, FIOCRUZ — Caixa Postal, 926 — 20000 RIO DE JANEIRO, BRASIL.

encontravam-se neste órgão, mas após 14 dias enquanto os vermes machos ficaram irremediavelmente presos no fígado, apenas 27% das fêmeas foram ali encontradas, pois a maioria havia novamente migrado para as veias mesentéricas. Por outro lado, 100% dos camundongos apresentavam alterações do oograma do 3.º ao 14.º dia, indicando que a parada da oviposição se dava 24-48 horas após a administração da oxamniquine. Utilizando de uma outra cepa de *S. mansoni* proveniente da África oriental foi observado que eram necessárias doses de 1,5 a 2,5 maiores para obtenção da mesma atividade esquistossomicida 1.

É interessante salientar que a maior susceptibilidade dos machos à ação de drogas foi também vista com o hycanthone<sup>3,6</sup>, sendo que com o niridazole acontece o contrário, ou seja, as fêmeas são as mais susceptíveis ao tratamento 14.

O presente trabalho estuda a ação da oxamniquine sobre o *S. mansoni* de camundongos experimentalmente infectados visando detectar as alterações morfológicas e fisiológicas produzidas nos vermes.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Infecção dos animais** — Foram utilizadas cercárias eliminadas por *Biomphalaria glabrata* infectados no laboratório (cepa LE). Camundongos albinos cujo peso variou de 18 a 20g foram inoculados com  $100 \pm 20$  cercárias, por via subcutânea (PELLEGRINO & KATZ, 1968<sup>8</sup>).

**Tratamento dos animais** — Após 45 dias de infecção, os camundongos foram tratados com oxamniquine, por via oral, com dose única de 100 mg/kg.

**Avaliação da atividade terapêutica** — Grupos de camundongos foram sacrificados por secção cervical 2, 6, 12 e 24 horas e 3, 7, 15, 30, 60, 90 e 120 dias, após o tratamento.

Camundongos infectados, mas não tratados foram utilizados como controle e sacrificados 45, 48, 52 e 60 dias após a infecção.

Os esquistossomos localizados nas veias mesentéricas e fígado foram recuperados por perfusão<sup>8</sup>.

O estudo do oograma foi feito em fragmentos retirados do intestino delgado, comprimidos entre lâmina e laminula e examinados microscopicamente. Alteração do oograma foram consideradas significativas, quando um ou mais estádios de ovos imaturos estavam ausentes<sup>8</sup>.

**Estudos morfológico dos vermes** — Os vermes recuperados por perfusão foram fixados com formol neutro a 10%, corados pelo carmin clorídrico alcoólico, desidratados na série alcoólica, diafanizados com creosoto de Faia e montados em bálsamo do Canadá. As medidas foram feitas em microscópio Leitz com ocular micrométrica.

Para o estudo histológico, os vermes foram incluídos em parafina e feitos cortes de 3-5  $\mu$  que foram corados pela hematoxilina-eosina, tricrômico de Gomori, Alcian blue (pH 0,5 e 3,5) e pelo ferrocoloidal.

**Análise estatística** — Para análise dos comprimentos dos vermes foi utilizado o teste de Mann-Whitney (Wilcoxon). Usou-se nas variâncias, correções para empates<sup>7</sup>.

## RESULTADOS

**Atividade anti-parasitária nos camundongos** — Na Tabela I podem ser vistos as alterações obtidas após a administração da oxamniquine em camundongos infectados experimentalmente com *S. mansoni* e que foram sacrificados em diferentes tempos. Não foram encontradas diferenças significativas na distribuição de vermes e no oograma nos animais sacrificados 2, 6, 12 e 24 horas após o uso da droga. Naqueles sacrificados 3 dias após o tratamento, 50% já apresentaram alterações no oograma, indicando parada da postura, mas a distribuição dos vermes no sistema porta, ainda foi semelhante ao grupo controle. Após 7 dias, já havia inversão na distribuição dos vermes, sendo que aproximadamente 80% dos vermes encontravam-se no fígado e 100% dos animais já apresentavam alterações do oograma. É interessante ressaltar que nos camundongos sacrificados após 90 e 120 dias, foram encontrados um pequeno número de vermes vivos no mesentério, mas as alterações do oograma ainda persistiram em respectivamente 80% e 50% dos animais.

T A B E L A I

Resultados obtidos em camundongos experimentalmente infectados com *Schistosoma mansoni* e tratados com oxamniquine na dose única de 100mg/kg, por via oral. Os animais foram sacrificados e examinados em diferentes períodos após o tratamento.

Período após o tratamento	Número de animais examinados	Número médio de vermes	Número de vermes								Mortos no fígado	Alterações do oograma (%)
			Mesentério				Fígado					
			macho	fêmea	Acasa-lado	Total (%)	macho	fêmea	Acasa-lado	Total (%)		
2 horas	2	20,5	—	2	19	40(97,6)	—	1	—	1( 2,4)	—	—
6 "	3	12,3	14	4	7	32(86,5)	5	—	—	5(13,5)	—	—
12 "	4	9,8	8	2	9	28(71,8)	5	2	2	11(28,2)	—	—
24 "	2	20,0	8	13	8	37(92,5)	1	2	—	3( 7,5)	—	—
3 dias	4	20,7	16	2	22	62(74,7)	5	4	6	21(25,3)	—	50,0
7 "	4	19,2	5	13	0	18(23,4)	23	13	1	38(49,3)	27,3	100,00
15 "	4	21,2	4	28	1	34(40,0)	2	6	—	8( 9,4)	50,6	100,00
Controle+	10	24,6	27	7	37	208(84,6)	13	3	11	38(15,4)	—	—
90 "	10	2,2	1	11	5	22( — )	ooo	ooo	ooo	ooo	ooo	80,0
120 "	8	4,0	3	15	7	32( — )	ooo	ooo	ooo	ooo	ooo	50,0
Controle+	10	13,7	35	10	33	111(81,0)	9	11	3	26(19,0)	—	—

+: animais sacrificados 45 dias após a infecção  
ooo: não determinado

**Alterações morfológicas dos vermes** — Nos vermes examinados após 2, 6, 12 e 24 horas do tratamento não foram evidenciadas modificações estruturais a microscopia óptica. Após 3 dias, nos vermes machos foi observado uma embebição do parênquima, que se torna mais frouxo, com formação de pequenas lacunas irregulares, que se acentuam nos vermes recuperados 7 dias após o tratamento. Nos recuperados após 15 dias do tratamento, foram vistas alterações de natureza degenerativa no parênquima do corpo do verme: vacuolização, desaparecimento de núcleos, formação de amplos espaços vazios irregulares que em algumas ocasiões contém restos nucleares e material amorfo. Em alguns vermes, esses espaços contém material hialino, homogêneo, de comportamento acidofílico frente a hematoxilina-eosina. Não foi possível demonstrar o conteúdo mucopolissacáride deste material (coloração pelo ferro-coloidal) (Figs. 1 a 10). A seguinte gradação de intensidade das alterações nos vermes machos foi observada: 1) lesões que predominam no parênquima e se caracterizam

por rarefação dos elementos celulares, irregularidade no volume dos núcleos, mostrando-se alguns picnóticos, outros tumefeitos e homogeneizados. O citoplasma das células mais comprometidas e remanescentes, assume aspecto granuloso grosseiro, vacuolado, sugerindo uma evolução para ruptura da membrana celular. Forma-se amplo espaço vazio e rendilhado na porção central da lesão. Em relação com estas alterações mais intensas, observa-se alteração do aspecto fibrilar da camada fibrilar, com o surgimento de uma faixa espessa e homogênea, constituída pelo tegumento e pelo remanescente celular. (Figs. 2, 3 e 8). 2) Desnudação do tegumento que se mostra desprovido dos espinhos em algumas áreas, e em outras com uma distribuição irregular; desaparecimento por completo das bossas, com surgimento de verdadeiras vesículas irregulares entre o tegumento e o remanescente da camada muscular; desaparecimento da camada muscular, bem como das células parenquimatosas com a formação de amplos espaços em forma de bolha irregular, limitados por

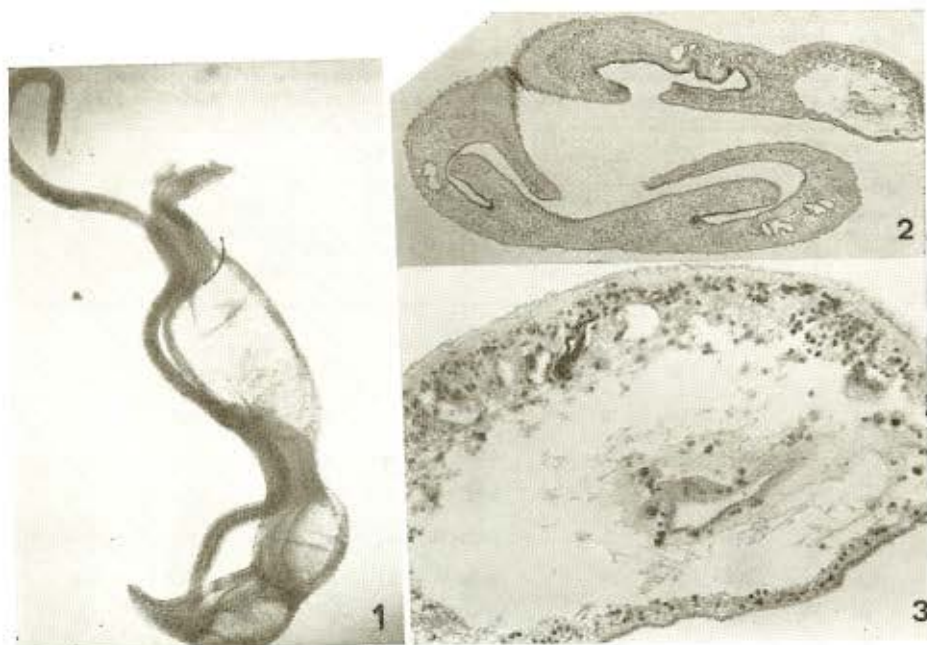


Fig. 1 — Macho e fêmea de *S. mansoni* após 15 dias de tratamento com oxamniquine. Observar lesões "em bolha" no corpo do macho (Aumento: 2,5  $\times$ ). Fig. 2 — Amplo espaço irregular ocupando região posterior do corpo do verme macho (Coloração: H.E.; Aumento: 4  $\times$ ). Fig. 3 — Maior aumento da lesão anterior (Coloração: H.E.; Aumento: 4  $\times$ ).

uma textura frouxa e presença de elementos celulares esparsos e de núcleos picnóticos desprovidos de citoplasma (Fig. 8).

Alguns vermes mostram-se encarquilhados. O tegumento junto com a camada muscular formam uma faixa homogênea e hialina de espessura irregular, que em algumas ocasiões se intermistura com células parenquimatosas. Estas células parenquimatosas desaparecem na porção central do verme e mostram-se com núcleos picnóticos na área mais periférica (Fig. 3).

As lesões "em bolha" podem num determinado verme, se restringir à extremidade anterior ou posterior, ou ocupar a porção mediana. No entanto, é freqüente o encontro da lesão ocupando todo o corpo do verme (Fig. 1).

O aparelho reprodutor mostrou a presença de eventuais lesões, provavelmente não relacionadas com o tempo de tratamento, e que grosseiramente podem ser descritas como uma redução no número de células germinativas ao lado da presença de material amorfo goticular basofílico.

Não foram observadas, alterações estruturais do aparelho digestivo.

Alguns vermes machos que foram recuperados por perfusão do fígado, apresentaram um tipo peculiar de lesão, representada por infiltração difusa do corpo do verme por células inflamatórias do tipo mono e polimorfonuclear, que estavam acumuladas em torno do parasita, formando camada mais ou menos espessa. A infiltração do corpo era variada, ora se fazendo em pequenos focos, ora em grandes extensões, correspondendo sempre a zonas em que se observam alterações degenerativas e/ou necrose da parede do verme (Figs. 9 e 10).

Nas fêmeas, as lesões são de menor intensidade no que se refere ao parênquima. Por outro lado, as alterações no sistema reprodutor são bastante conspicuas, de surgimento após os sete dias de tratamento e basicamente representadas por uma redução na quantidade de material vitelínico e no volume do ovário. O conteúdo do intestino das mesmas exhibe acentuada despigmentação (Figs. 4-6).

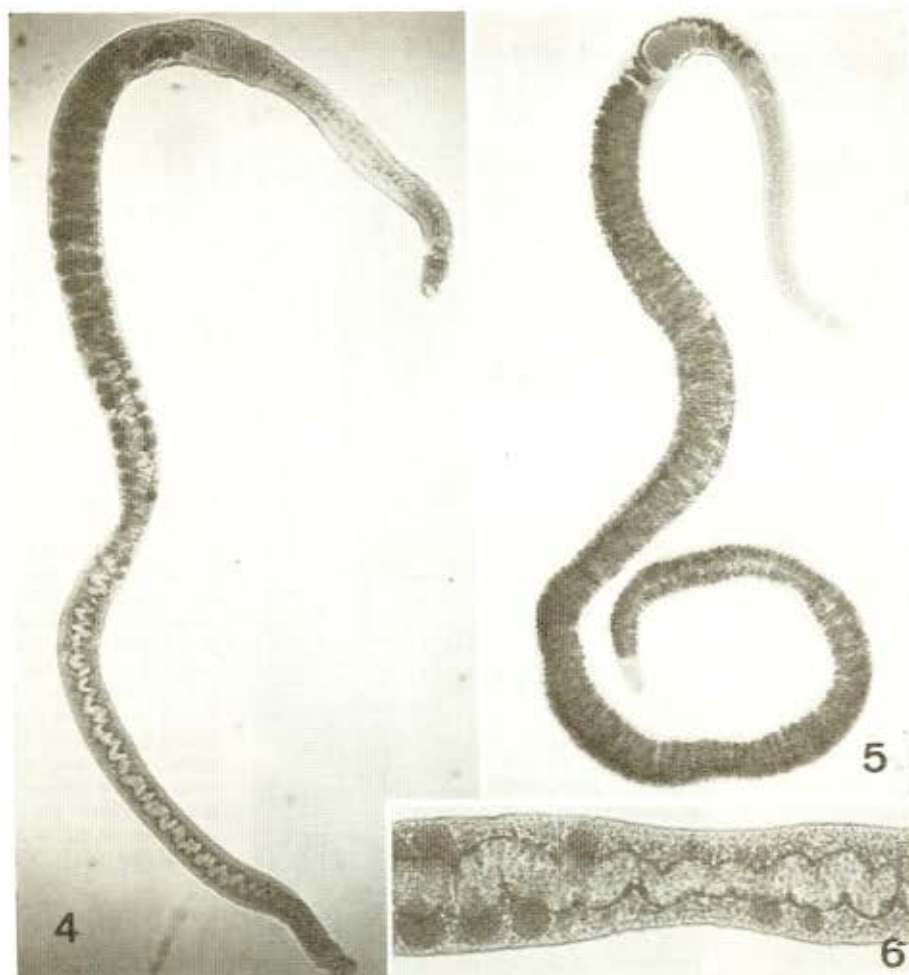


Fig. 4 — Fêmea de *S. mansoni* após 7 dias de tratamento apresentando redução do material vitelínico na metade posterior do corpo. Comparar com a Fig. 5 (Aumento: 4  $\times$ ). Fig. 5 — Fêmea de *S. mansoni* normal (Aumento: 4  $\times$ ). Fig. 6 — Detalhe da Fig. 4, vendo-se as alterações dos folículos vitelínicos (Aumento: 10  $\times$ ).

**Avaliação biométrica** — Nas Tabelas II e III podem ser vistas as médias das diferentes medidas realizadas nos exemplares de *S. mansoni*. Nos vermes recuperados 2, 6, 12 e 24 horas após o tratamento, não houve redução significativa no comprimento do corpo. Após 3

dias, os machos e fêmeas de *S. mansoni* apresentam redução significativa no seu comprimento total, quando comparados com os vermes do grupo controle, com tempos iguais de infecção e que não foram tratados (Tabela IV).





Fig. 7 — Grupo de vermes, apresentando variados tipos de lesão. (Coloração: H.E.; Aumento: 30  $\times$ ).  
Fig. 8 — Verme macho — Desaparecimento dos espinhos, hialinização e homogeneização do tegumento, vesiculação e rarefação nuclear do parênquima. (Coloração: H.E.; Aumento: 600  $\times$ ).  
Fig. 9 — Verme macho — Observar infiltração inflamatória do corpo do verme, relacionada com áreas de degeneração e necrose. (Coloração: H.E.; Aumento: 100  $\times$ ).  
Fig. 10 — Detalhe da figura anterior (Aumento: 500  $\times$ )

TABELA II

Medidas (em mm) de exemplares machos de *S. mansoni* após tratamento com oxamniquine

	GRUPO CONTROLE (TEMPO DE INFECÇÃO-DIAS)				GRUPO TRATADO (TEMPO DE TRATAMENTO, APÓS 45 DIAS DE INFECÇÃO)						
	45	48	52	60	2 horas	6 horas	12 horas	24 horas	3 dias	7 dias	15 dias
COMPRIMENTO	4,08 ± 0,67 (56)	6,77 ± 2,28 (56)	0,50 ± 1,77 (36)	5,21 ± 1,31 (52)	4,69 ± 1,47 (13)	4,71 ± 0,60 (20)	4,94 ± 1,03 (21)	4,24 ± 0,76 (22)	3,62 ± 0,44 (20)	4,20 ± 0,69 (17)	3,91 ± 1,16 (19)
LARGURA AO NÍVEL DO ACETÁBULO	0,26 ± 0,06 (14)	0,27 ± 0,07 (19)	0,25 ± 0,07 (14)	0,34 ± 0,07 (21)	0,19 ± 0,03 (8)	0,23 ± 0,04 (16)	0,25 ± 0,04 (13)	0,26 ± 0,04 (10)	0,23 ± 0,06 (19)	0,24 ± 0,06 (17)	0,25 ± 0,07 (17)
MAIOR LARGURA	0,41 ± 0,07 (15)	0,49 ± 0,05 (19)	0,48 ± 2,07 (14)	0,43 ± 0,09 (21)	0,44 ± 0,17 (13)	0,43 ± 0,07 (19)	0,37 ± 0,05 (21)	*1 0,39 ± 0,08 (22)	0,39 ± 0,09 (18)	*2 0,38 ± 0,07 (16)	*3 0,36 ± 0,08 (12)
VENTIOSA ORAL	0,19 ± 0,02 (15)	0,23 ± 0,01 (19)	0,23 ± 0,02 (14)	0,21 ± 0,02 (21)	0,17 ± 0,02 (12)	0,16 ± 0,03 (20)	0,18 ± 0,02 (15)	0,16 ± 0,03 (20)	0,17 ± 0,02 (19)	0,16 ± 0,02 (17)	0,16 ± 0,03 (19)
	x 0,19 ± 0,02 (12)	x 0,21 ± 0,03 (13)	x 0,21 ± 0,02 (4)	x 0,21 ± 0,02 (18)	x 0,18 ± 0,03 (10)	x 0,19 ± 0,05 (17)	x 0,17 ± 0,03 (11)	x 0,18 ± 0,02 (19)	x 0,18 ± 0,02 (8)	x 0,17 ± 0,03 (12)	x 0,19 ± 0,02 (16)
ACETÁBULO	0,18 ± 0,05 (13)	0,28 ± 0,02 (19)	0,26 ± 0,03 (14)	0,21 ± 0,05 (19)	0,20 ± 0,04 (12)	0,19 ± 0,03 (16)	0,19 ± 0,05 (12)	0,18 ± 0,06 (19)	0,19 ± 0,04 (15)	0,16 ± 0,05 (13)	0,20 ± 0,04 (14)
	x 0,17 ± 0,04 (8)	x 0,24 ± 0,05 (11)	x 0,28 ± 0,02 (5)	x 0,19 ± 0,05 (14)	x 0,18 ± 0,04 (6)	x 0,17 ± 0,03 (10)	x 0,16 ± 0,01 (9)	x 0,16 ± 0,03 (14)	x 0,17 ± 0,03 (7)	x 0,15 ± 0,04 (10)	x 0,18 ± 0,06 (8)
ESÔFAGO	0,18 ± 0,05 (8)	0,31 ± 0,03 (15)	0,22 ± 0,03 (13)	0,24 ± 0,05 (21)	0,17 ± 0,05 (10)	0,23 ± 0,11 (9)	0,18 ± 0,05 (7)	0,17 ± 0,06 (10)	0,14 ± 0,03 (15)	0,15 ± 0,16 (7)	0,19 ± 0,07 (9)
DISTÂNCIA INÍCIO VENT. ORAL, INÍCIO ACETÁBULO	0,38 ± 0,09 (11)	0,55 ± 0,05 (18)	0,53 ± 0,06 (10)	0,51 ± 0,08 (18)	0,33 ± 0,06 (6)	0,28 ± 0,11 (16)	0,30 ± 0,07 (13)	0,26 ± 0,04 (10)	0,30 ± 0,04 (14)	0,34 ± 0,04 (5)	0,34 ± 0,07 (14)
Nº DE TESTÍCULOS	7,09 ± 0,70 (11)	8,20 ± 1,08 (15)	7,50 ± 1,09 (12)	7,76 ± 1,14 (21)	7,57 ± 1,27 (7)	7,94 ± 1,39 (16)	8,00 ± 1,13 (12)	7,70 ± 1,25 (10)	7,93 ± 1,38 (14)	7,85 ± 1,41 (13)	7,50 ± 1,08 (10)
TESTÍCULOS	0,04 ± 0,01 (22)	0,06 ± 0,02 (30)	0,05 ± 0,02 (24)	0,05 ± 0,02 (42)	0,04 ± 0,02 (18)	0,05 ± 0,03 (37)	0,04 ± 0,01 (25)	0,04 ± 0,01 (24)	0,04 ± 0,01 (32)	0,04 ± 0,02 (26)	0,05 ± 0,02 (22)
	x 0,08 ± 0,02 (22)	x 0,07 ± 0,02 (30)	x 0,07 ± 0,02 (24)	x 0,06 ± 0,02 (42)	x 0,07 ± 0,02 (18)	x 0,07 ± 0,03 (36)	x 0,07 ± 0,02 (25)	x 0,07 ± 0,02 (24)	x 0,07 ± 0,02 (32)	x 0,05 ± 0,01 (26)	x 0,07 ± 0,02 (22)
VESÍCULA SEMINAL	0,03 ± 0,01 (4)	0,04 ± 0,01 (14)	0,05 ± 0,01 (11)	0,04 ± 0,01 (18)	0,03 ± 0,01 (6)	0,04 ± 0,02 (8)	0,02 ± 0,005 (4)	0,03 ± 0,01 (10)	0,03 ± 0,01 (17)	0,03 ± 0,01 (7)	0,05 ± 0,01 (7)
	x 0,04 ± 0,005 (4)	x 0,05 ± 0,02 (14)	x 0,05 ± 0,01 (11)	x 0,05 ± 0,01 (18)	x 0,03 ± 0,01 (6)	x 0,04 ± 0,01 (8)	x 0,04 ± 0,01 (4)	x 0,03 ± 0,01 (10)	x 0,05 ± 0,01 (17)	x 0,03 ± 0,01 (8)	x 0,03 ± 0,01 (7)

Obs.: Os valores referidos em milímetros são médios, com desvio padrão. O número de medidas realizadas é citado entre parênteses. Também foram incluídos na amostra vermes imaturos.

\* 1 — Maior largura na zona da lesão em bôlha: 0,75

\* 2 — " " " " " " " " : 0,47

\* 3 — Média das larguras nas zonas de lesão : 0,55 ± 0,17 (17)

T A B E L A I I I

Medidas (em mm) de exemplares fêmeas de *S. mansoni* após tratamento com oxamniquine

	GRUPO-CONTROLE				GRUPO TRATADO						
	(TEMPO DE INFECÇÃO-DIAS)				(TEMPO DE TRATAMENTO APÓS 45 DIAS DE INFECÇÃO)						
	45	48	52	60	2 horas	6 horas	12 horas	24 horas	3 dias	7 dias	15 dias
Comprimento	5,24 ± 1,41 (45)	9,05 ± 2,16(31)	8,67 ± 2,62(28)	6,11 ± 2,52(32)	7,03 ± 1,20(14)	6,31 ± 1,22(15)	6,28 ± 0,61 (11)	6,55 ± 0,92 (17)	6,02 ± 1,57(16)	4,31 ± 1,16(14)	4,76 ± 1,68(6)
Largura do nível do acetábulo	0,06 ± 0,04 (10)	0,09 ± 0,02(17)	0,10 ± 0,02(15)	0,13 ± 0,03(23)	0,09 ± 0,02(11)	0,09 ± 0,01(11)	0,08 ± 0,01 ( 8)	0,08 ± 0,01 (14)	0,11 ± 0,04(20)	0,10 ± 0,02(14)	0,11 ± 0,02(7)
Maior Largura	0,20 ± 0,03 (10)	0,23 ± 0,05(19)	0,22 ± 0,03(17)	0,19 ± 0,40(21)	0,20 ± 0,03(15)	0,19 ± 0,02(15)	0,21 ± 0,03 (11)	0,19 ± 0,05 (19)	0,20 ± 0,05(20)	0,17 ± 0,03(14)	0,18 ± 0,03(7)
Ventosa Oral	0,08 ± 0,01 ( 9)	0,10 ± 0,02(18)	0,09 ± 0,01(17)	0,10 ± 0,01(23)	0,08 ± 0,02(13)	0,07 ± 0,01(15)	0,07 ± 0,01 (10)	0,07 ± 0,01 (17)	0,07 ± 0,02(18)	0,08 ± 0,01(13)	0,08 ± 0,02(7)
Acetábulo	0,07 ± 0,01 ( 9)	0,08 ± 0,01(11)	0,08 ± 0,01(13)	0,09 ± 0,01(23)	0,07 ± 0,01(10)	0,07 ± 0,01(13)	0,05 ± 0,01 ( 7)	0,07 ± 0,01 ( 9)	0,07 ± 0,005(12)	0,07 ± 0,01(12)	0,07 ± 0,01(7)
	0,04 ± 0,02 ( 4)	0,07 ± 0,02(14)	0,06 ± 0,01(13)	0,09 ± 0,03(19)	0,05 ± 0,01 ( 8)	0,04 ± 0,01(10)	0,04 ± 0,02 ( 5)	0,04 ± 0,02 (10)	0,05 ± 0,02(10)	0,05 ± 0,02( 6)	0,06 ± 0,02(5)
	0,04 ± 0,01 ( 3)	0,06 ± 0,02(12)	0,06 ± 0,01(11)	0,07 ± 0,02(13)	0,05 ± 0,01 ( 7)	0,05 ± 0,02(10)	0,06 ± 0,01 ( 6)	0,05 ± 0,01 ( 8)	0,05 ± 0,01(10)	0,05 ± 0,01( 4)	0,05 ± 0,01(4)
Esôfago	0,09 ± 0,02 ( 8)	0,19 ± 0,05(13)	0,19 ± 0,05(12)	0,17 ± 0,04(17)	0,12 ± 0,03( 6)	0,09 ± 0,03( 9)	0,10 ± 0,02 ( 5)	0,10 ± 0,06 ( 9)	0,10 ± 0,03(16)	0,12 ± 0,05( 5)	0,13 ± 0,02(5)
Distância Início Vent. Oral, início Acetábulo	0,21 ± 0,03 ( 9)	0,30 ± 0,03(16)	0,30 ± 0,03(12)	0,32 ± 0,03(16)	0,27 ± 0,03( 4)	0,18 ± 0,02( 7)	0,20 ± 0,04 ( 6)	0,16 ± 0,04 ( 9)	0,20 ± 0,04( 7)	0,24 ± 0,08( 5)	0,23 ± 0,05(5)
Ovário	0,33 ± 0,04 (11)	0,42 ± 0,09(19)	0,41 ± 0,12(17)	0,42 ± 0,11( 7)	0,33 ± 0,04(15)	0,33 ± 0,06(16)	0,27 ± 0,04 (11)	0,32 ± 0,09 (21)	0,31 ± 0,08(17)	0,23 ± 0,06(11)	0,26 ± 0,09(6)
	0,10 ± 0,02 (11)	0,11 ± 0,03(19)	0,10 ± 0,02(17)	0,10 ± 0,02( 7)	0,10 ± 0,02(15)	0,10 ± 0,01(16)	0,11 ± 0,02 (11)	0,11 ± 0,01 (21)	0,11 ± 0,01(17)	0,10 ± 0,01(11)	0,08 ± 0,03(6)
Ovo	0,10 ± 0,01 ( 9)	0,11 ± 0,01(15)	0,11 ± 0,01( 9)	0,09 ± 0,01( 6)	0,10 ± 0,01(12)	0,10 ± 0,01(15)	0,10 ± 0,01 ( 8)	0,10 ± 0,01 (18)	0,10 ± 0,03(13)	0,10 ± 0,01( 2)	0,10 ± 0,02(5)
	0,04 ± 0,005( 9)	0,04 ± 0,01(14)	0,04 ± 0,01( 9)	0,04 ± 0,02( 6)	0,04 ± 0,01(10)	0,04 ± 0,01(16)	0,04 ± 0,004( 8)	0,04 ± 0,004(17)	0,05 ± 0,02(13)	0,04 ± 0,0007( 2)	0,04 ± 0,01(5)

Obs.: Os valores referidos em milímetros são médios, com desvio padrão. O número de medidas realizadas é citado entre parênteses. Também foram incluídos na amostra vermes imaturos.

\* Completando a amostra com fêmeas imaturas, temos o resultado: 0,24 ± 0,14(23) x 0,06 ± 0,03(23)



TABELA IV  
Comparação dos comprimentos dos vermes tratados e não tratados

Caso	Tamanho da amostra com tratamento	Tamanho da amostra controle	Estatística de Mann-Whitney	Nível descrito de significância
Machos 24 horas após tratamento x Machos controle 45 dias de infecção.	21	67	1121	> 0.95 +
Machos 3 dias após tratamento x Machos controle 48 dias de infecção.	20	56	293,5	< 10 <sup>-7</sup>
Machos 7 dias após tratamento x Machos controle 52 dias de infecção.	17	24	225	< 5 x 10 <sup>-5</sup>
Machos 15 dias após tratamento x Machos controle 60 dias de infecção.	20	44	405,5	< 5 x 10 <sup>-4</sup>
Fêmeas 24 horas após tratamento x Fêmeas controle 45 dias de infecção.	17	45	750	> 0.99 +
Fêmeas 3 dias após tratamento x Fêmeas controle 48 dias de infecção.	18	23	248	< 5 x 10 <sup>-4</sup>
Fêmeas 7 dias após tratamento x Fêmeas controle 52 dias de infecção	14	24	114,5	< 10 <sup>-6</sup>

+: não significante

As demais estruturas não apresentam alterações, com exceção do ovário das fêmeas tratadas que sofre diminuição do seu tamanho.

Como raridade, pode ser citado o achado em um camundongo tratado de um exemplar macho com seis fêmeas no canal ginecóforo (Fig. 11).

## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostram que na cepa LE de *S. mansoni* em camundongos experimentalmente infectados a oxamniquine age mais lentamente que nos animais infectados com a cepa de Porto Rico<sup>1</sup>. De fato, apenas a partir do 3.º dia do tratamento havia indicação da parada da postura, sem que houvesse ainda deslocamento dos vermes para o fígado e alterações morfológicas de grande monta. Estas observações evidenciam que a atividade inicial da oxamniquine pode ser detectada a nível fisiológico (parada da oviposição), sendo que as alterações morfológicas detectadas à microscopia, se fazem mais tarde. Estas lesões morfológicas foram mais evidentes nos machos que nas fêmeas o que talvez possa explicar a maior atividade da droga sobre os primeiros.

Quando os animais foram sacrificados após 90 e 120 dias do tratamento, foram recuperados 4 machos, 26 fêmeas e 12 acasalados. Ressalte-se que apesar do encontro de vermes acasalados 3 a 4 meses após o tratamento, em 80 e 50% dos camundongos persistia a parada da postura. Portanto, com a oxamniquine é ação sobre a postura a primeira a ser detectada e também a última a se recuperar, mostrando novamente o valor do método do oograma desenvolvido por PELLEGRINO e colaboradores para avaliação de agentes com atividade na esquistossomose<sup>8,11</sup>. Ressalte-se no entanto, que observações ao nível de ultraestrutura podem mudar esta conclusão. Estes estudos estão em andamento.



Fig. 11 — Macho de *S. mansoni* com 6 fêmeas no canal ginecóforo, recuperado após 90 dias de tratamento. (Aumento: 2,5 x)

Das inúmeras alterações morfológicas encontradas, a lesão "em bolha" parece ser a patognomônica para esta droga, cuja atividade se faz inicialmente ao nível do parênquima dos vermes respeitando o tegumento que só mais tardiamente é parcialmente alterado e sem também comprometer o aparelho digestivo. Sob estes aspectos a ação da oxamniquine é completamente diferente daquela encontrada após o uso do paramino-fenoxialcanos<sup>12, 13</sup> ou do niridazole<sup>14</sup>. No entanto, já na fase mais tardia das observações após 15 dias do tratamento, são vistos diminuição acentuada do tamanho dos vermes e também do aparelho reprodutor além de lesões extensas em todo o corpo, até necrose total e eventual infiltração por células do hospedeiro. Estas alterações que aparecem na fase final do processo são semelhantes às outras drogas esquistossomicidas acima citadas.

Os estudos de alterações morfológicas e a avaliação biométrica devem sempre acompanhar a avaliação de agentes esquistossomicidas, seja na tentativa de observar lesões mais discretas nas estruturas orgânicas dos vermes, seja para o melhor conhecimento da ação dos agentes esquistossomicidas.

#### SUMMARY

##### Oxamniquine action on *Schistosoma mansoni* in experimentally infected mice

Oxamniquine action on *Schistosoma mansoni* was studied in mice experimentally infected with L.E. strain.

In 50% of animals sacrificed after 3rd day of treatment, an interruption of egg laying was observed, which occurred before the worms moved into the liver. After two weeks practically all worms were located in the liver and 100% of the mice presented oogram alteration. Morphological alterations were more precocious and intense in male worms; from the 3rd day of treatment there has been observed an imbibition of the parenchyma, which became more loose and presented a formation of tiny irregular intercellular spaces. On the 15th day the degenerative alterations found were vacuolization, disappearance of the parenchyma cell nuclei, and formation of wide empty spaces in the muscle layer and in the parenchyma ("bub-

ble lesion"). Tegument lesions were found to be partial and moderate and lesions were absent in the digestive tract. In the female worms the lesions were of a smaller intensity at the parenchyma level and after 7 days a reduction was observed in the vitellinic material and in ovary volume. The contents of the intestines of the female worms showed a pronounced lack of pigmentation. As to the length of male and female worms recovered from treated animals, there was a significant reduction when compared with the control ones, already from the 3rd day of treatment. Among the treated mice it was also found a male carrying six females in the gynecophorous canal. In mice sacrificed 90-120 days after giving oxamniquine, a pronounced decrease of the number of worms has been found. Nevertheless, alive worms with a predominance of female ones were still in the mesenteric veins but respectively in 80% and 50% of the animals, worm egg laying remained absent.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos aos Drs. R. Foster e D. Napoleão Costa e Silva pelo envio da droga e informações remetidas, ao Prof. Sérgio Wechsler a análise estatística dos resultados e ao Sr. Antonio Emídio Ferreira pelo auxílio técnico.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FOSTER, R. — The preclinical development of oxamniquine. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 15(Suppl 1): 1-9, 1973.
2. FOSTER, R. & CHEETHAM, B. L. — Studies with the schistosomicide oxamniquine (UK-4271) I. Activity in rodents and "in vitro". *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 67: 674-684, 1973.
3. FOSTER, R.; CHEETHAM, B. L.; MESMER, E. T. & KING, D. F. — Comparative studies of the action of mirasan, lucanthone, hycanthone and niridazole against *Schistosoma mansoni* in mice. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 65: 45-58, 1971.
4. KATZ, N.; PELLEGRINO, J.; GRINBAUM, E.; CHAVES, A. & ZICKER, F. — Preliminary clinical trials with oxamniquine, a new antischistosomal agent. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 15: 25-29, 1973.
5. KATZ, N.; GRINBAUM, E.; CHAVES, A.; ZICKER, F. & PELLEGRINO, J. — Clinical trials with oxamniquine, by oral route, in schistosomiasis mansoni. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 18: 371-377, 1976.

6. LEE, H. G. — Aspects of the effect of thioxanthone on *Schistosoma mansoni* in mice and in vitro. *Bull. WHO* 46: 397-402, 1972.
7. LEHMANN, E. L. & D'ABRERA, H. J. M. — *Nonparametrics, statistical methods based on ranks*. 457 pp. Holden-Day Inc., McGraw-Hill International Book Company, U.S.A., 1974.
8. PELLEGRINO, J. & FARIA, J. — The oogram method for the screening of drugs in *Schistosomiasis mansoni*. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 14: 363-369, 1965.
9. PELLEGRINO, J. & KATZ, N. — Experimental chemotherapy of schistosomiasis mansoni. *Adv. Parasitol.* 6: 233-290. Ben Dawes, ed. Academic Press, 1968.
10. PELLEGRINO, J.; KATZ, N. & DIAS, E. P. — Quimioterapia experimental da esquistossomose. VII. Ensaio laboratoriais com a oxamniquine, um novo agente esquistossomicida. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 15 (Suppl 1): 99-103, 1973.
11. PELLEGRINO, J.; OLIVEIRA, C. A.; FARIA, J. & CUNHA, A. S. — New approach to the screening of drugs in experimental schistosomiasis mansoni in mice. *Ann. J. Trop. Med. Hyg.* 11: 201-215, 1962.
12. STANDEN, O. D. — The progress of degenerative changes in schistosomes following the treatment of experimental infections with 1: 7-bis (p-dimethylamino-phenoxy) heptane. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 49: 416-423, 1955.
13. STANDEN, O. D. — Observations in mice on the schistosomicidal properties of 1:7-bis (p-aminophenoxy) heptane "in vivo" and "in vivo/in vitro". In "Bilharziasis" — G.E.W. (Wolstenholme G.E.W. and O'Connor, M., eds). Ciba Foundation Symposium, Little, Brown. Boston, Massachusetts, pp. 266-286, 1962.
14. STRIEBEL, H. P. — The effects of niridazole in experimental schistosomiasis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 160 (Art. 2): 491-518, 1969.

Recebido para publicação em 10/11/1978.

