

VARIAÇÕES NOS NÍVEIS DAS CÉLULAS SANGÜÍNEAS PERIFÉRICAS ENCONTRADAS EM *HOLOCHILUS BRASILIENSIS NANUS* THOMAS, 1897, INFECTADOS COM *SCHISTOSOMA MANSONI* SAMBON, 1907, PRÓPRIO DA PRÉ-AMAZÔNIA*

Othon de Carvalho Bastos**
Sônia M. F. Silva***
Grace Mary J. Pires Leal**
João M. Bacelar Neto**

BASTOS, O. de C. et al. Variações nos níveis das células sangüíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, infectados com *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, próprio da Pré-Amazônia. Rev. Saúde públ., S. Paulo, 19: 431-7, 1985.

RESUMO: Foram constituídos quatro grupos de roedores silvestres para a contagem de células sangüíneas periféricas, da seguinte forma: Grupo I — formado de animais normais, nascidos em biotério, com 30 dias de vida; Grupo II — formado de animais que foram capturados no campo e considerados não infectados com *S. mansoni*, após ovohelmintoscopia das fezes, realizada durante 30 dias de observação; Grupo III — animais capturados no campo, naturalmente infectados com o esquistossomo, e o Grupo IV — de animais nascidos em biotério, com 30 dias de vida, e infectados com 150 cercárias de *S. mansoni*, oriundas da Região da Baixada Maranhense. Semanalmente, a partir da data da infecção, estes animais foram sangrados e tiveram suas células sangüíneas periféricas contadas global e especificamente. Os resultados mostraram que o número de hemácias e leucócitos por mm³ não variou nos animais normais, tanto de campo como de biotério. No grupo de animais experimentalmente infectados, foi observado decréscimo do número de hemácias à proporção que a infecção evoluía. Comportamento oposto foi verificado com os leucócitos. Elevados níveis de eosinófilos só foram observados nos animais com infecção natural. Estes resultados foram discutidos com dados da literatura e considerados importantes para complementar as informações sobre este hospedeiro natural do trematódeo, oferecido como modelo experimental do verme, e para sua própria história natural.

UNITERMOS: *Holochilus brasiliensis nanus*. Infecção experimental. *Schistosoma mansoni*. Células sangüíneas, contagem. Roedores silvestres.

INTRODUÇÃO

A participação de eosinófilos no processo de defesa dos hospedeiros frente a infecção esquistossomótica tem sido relatada clínica¹² e experimentalmente^{6,10}. Os vários estágios de desenvolvimento do *Schistosoma mansoni* estão relacionados com a eosinofilia sangüínea periférica^{2,10}; eosinofilia tissular^{8,14} e eosinofiloipoiése^{15,18}. Existem evidências, também, da participação destas células acidófilas no

mecanismo imunológico de resistência à reinfecção pelo trematódeo em hospedeiros experimentais^{7,16}, que não o roedor silvestre. Estes animais, por sua vez, são hospedeiros definitivos do verme e transmitem a esquistossomose de maneira idêntica ao homem.

No Brasil, foram encontrados roedores naturalmente infectados, classificados em várias espécies^{1,3,4,11,13}; inclusive

* Financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Proc. 40.3815-82).

** Do Programa de Pesquisa e Pós-Graduação em Imunologia, Departamento de Patologia — Campus Universitário do Bacanga — Universidade Federal do Maranhão — 65.000 — São Luís, MA — Brasil.

*** Bolsista do CNPq.

no Maranhão, onde foi possível isolar a linhagem silvestre de *S. mansoni* e comparar seu comportamento parasitológico com a linhagem humana, isolada de doentes autóctones da Região da Baixada Maranhense⁵, a exemplo de que foi feito em São Paulo⁴. O roedor silvestre utilizado neste estudo foi o *Holochilus brasiliensis nanus*, capturado na Região da Baixada Maranhense, pertencente à Pré-Amazônia.

No presente trabalho, procuramos conhecer os níveis das células sanguíneas destes roedores, quer normais, quer infectados com o trematódeo, com vistas a constatar aspectos de suas reatividades imunológicas, sobretudo no que diz respeito aos eosinófilos.

MATERIAL E MÉTODOS

Captura de Roedores Silvestres

Roedores silvestres foram capturados na cidade de São Bento, localizada às margens do grande lago natural da Região da Baixada Maranhense, utilizando malhas de pescar e ratoeiras*. Somente os classificados como *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, foram utilizados no presente trabalho.

Constituição dos Grupos de Estudo

Foram constituídos quatro grupos de animais para a contagem de células sanguíneas periféricas, conforme descrito a seguir:

- Grupo I — Constituído de 10 animais normais, nascidos em biotério, com 30 dias de vida;
- Grupo II — Formado de 10 animais que foram capturados no campo e considerados não infectados com *S. mansoni*, após ovoidoscopia das fezes realizada durante 30 dias de observação;

* As capturas foram feitas com o auxílio de funcionários da SUCAM (Superintendência de Campanhas de Saúde Pública).

Grupo III — Dez animais capturados no campo, naturalmente infectados com *S. mansoni*;

Grupo IV — Nove roedores, com 30 dias de vida, infectados com 150 cercárias de *S. mansoni*, oriundas da Região da Baixada Maranhense. Semanalmente, pela via percutânea, a partir da data de infecção, estes animais foram sangrados.

A sangria dos animais de todos os grupos foi feita pelo plexo oftálmico e sempre no mesmo horário (às 12:00h).

Contagem de Células Sanguíneas

As células sanguíneas dos roedores foram quantificadas global e especificamente, utilizando o método *Panótipo pappenheim*.

A metodologia seguida foi a de contar 3 vezes cada diluição sanguínea, quer seja para hemácias, quer seja para leucócitos, em placas de Newbauer. A contagem específica dos leucócitos procedeu-se corando os esfregaços sanguíneos com o corante "wright-may-grunwald-giemsa", obedecendo rotina utilizada em laboratório hematológico.

RESULTADOS

O resultado da quantificação das células sanguíneas dos roedores silvestres, pertencentes aos diferentes grupos, estão apresentados nas Tabelas 1 a 4.

Comparando as médias das contagens celulares dos elementos do Grupo I (animais de biotério) com os do Grupo II (animais normais de campo), constatou-se que não ocorreu diferenças significativas entre as contagens globais e específicas.

Os dados pertencentes aos animais do Grupo III (esquistossomóticos de cam-

BASTOS, O. de C. et al. Variações nos níveis das células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, infectados com *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, próprio da Pré-Amazônia. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **19**:431-7, 1985.

po) indicam que o número de células acidófilas (eosinófilos) está elevado, em relação aos indivíduos normais. A média de 13 eosinófilos por mm³ (Tabela 3), encontrada neste grupo de animais, foi, também, superior a todos os valores médios destas células estudadas em animais experimentalmente infectados.

Analisando os dados pertinentes ao Grupo IV (Tabela 4), verifica-se que, quanto às contagens globais, ocorreu elevação do número de leucócitos durante a evolução da infecção, enquanto que, com o número de hemácias, ocorreu o inver-

so. Quanto à contagem específica, os linfócitos foram as células que se apresentaram em maior número, seguidas dos neutrófilos. Não ocorreu diferença significativa entre os valores resultantes das contagens específicas destas células, durante a evolução do processo infeccioso. Os eosinófilos, monócitos e basófilos (célula que apareceu somente neste grupo) comportaram-se de maneira idêntica aos linfócitos e neutrófilos, isto é, cada uma delas não apresentou diferença significativa entre os dados obtidos nas diferentes semanas de infecção.

TABELA 1

Células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* nascidos em biotério, com 30 dias de vida.

Animais	* Contagens						
	Global (mm ³)		Específica (%)				
	H	L	Baso	Eose	Neut	Linf	Mono
1	4.030.000	7.500	0	3	51	44	2
2	4.670.000	6.280	0	3	47	48	2
3	4.000.000	5.430	0	2	23	75	0
4	4.100.000	6.170	0	3	45	50	2
5	4.220.000	5.350	0	6	31	63	0
6	5.240.000	4.380	0	7	15	77	1
7	4.650.000	4.270	0	5	14	80	1
8	4.170.000	4.330	0	5	18	76	1
9	4.780.000	5.020	0	6	16	78	0
10	4.590.000	4.100	0	6	17	75	2
\bar{X}	4.445.000	5.283	0	5	28	67	3
σ	383.855	1.045	0	2	14	13	1

* Resultado médio de três observações.

Células sanguíneas: H: Hemácias; L: Leucócitos; Baso: Basófilos; Eose: Eosinófilos; Neut: Neutrófilos; Linf: Linfócitos; Mono: Monócitos.

BASTOS, O. de C. et al. Variações nos níveis das células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, infectados com *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, próprio da Pré-Amazônia. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **19**:431-7, 1985.

TABELA 2

Células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* capturados na Baixada Maranhense, não infectados com *Schistosoma mansoni*.

Animais	* Contagens						
	Global (mm ³)		Específica (%)				
	H	L	Baso	Eose	Neut	Linf	Mono
1	4.560.000	5.120	0	7	29	62	2
2	4.549.000	7.620	0	6	30	62	2
3	4.490.000	7.070	0	6	31	61	2
4	4.340.000	5.940	0	6	29	63	2
5	4.370.000	5.780	0	7	30	63	0
6	4.780.000	5.700	0	7	28	63	2
7	3.890.000	5.200	0	6	29	64	1
8	3.090.000	5.120	0	7	26	66	1
9	4.450.000	4.630	0	7	30	63	0
10	4.500.000	3.950	0	6	33	60	1
\bar{X}	4.301.900	5.613	0	7	30	63	1
σ	457.959	1.033	0	1	2	2	1

* Resultado médio de três observações.

Células sanguíneas: H: Hemácias; L: Leucócitos; Baso: Basófilos; Eose: Eosinófilos; Neut: Neutrófilos; Linf: Linfócitos; Mono: Monócitos.

TABELA 3

Células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* esquistossomóticos, capturados na Baixada Maranhense.

Animais	* Contagens						
	Global (mm ³)		Específica (%)				
	H	L	Baso	Eose	Neut	Linf	Mono
1	3.960.000	5.870	0	11	31	56	2
2	5.190.000	7.000	0	20	49	30	1
3	4.750.000	6.180	0	21	40	39	0
4	4.040.000	4.250	0	10	29	58	3
5	3.530.000	3.630	0	11	51	38	0
6	4.520.000	8.230	0	13	34	43	0
7	4.370.000	2.368	0	10	53	36	1
8	4.070.000	5.450	0	10	43	45	2
9	3.840.000	3.800	0	10	50	39	1
10	4.090.000	4.500	0	10	38	51	2
\bar{X}	4.236.000	5.128	0	13	42	44	2
σ	457.344	1.664	0	4	8	9	1

* Resultado médio de três observações.

Células sanguíneas: H: Hemácias; L: Leucócitos; Baso: Basófilos; Eose: Eosinófilos; Neut: Neutrófilos; Linf: Linfócitos; Mono: Monócitos.

BASTOS, O. de C. et al. Variações nos níveis das células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, infectados com *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, próprio da Pré-Amazônia. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, 19:431-7, 1985.

TABELA 4

Células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* infectados experimentalmente com *Schistosoma mansoni*, observadas durante 8 semanas. Número médio determinado de contagens de nove animais e seus respectivos desvios-padrão (σ).

Semanas	* Contagens						
	Global (mm ³)		Específica (%)				
	H	L	Baso	Eose	Neut	Linf	Mono
1. ^a	3.714.844 (275.309)	2.911 (366)	1 (0,3)	2 (0,6)	18 (7,6)	76 (7,8)	3 (0,7)
2. ^a	4.573.511 (254.812)	3.666 (326)	0 (0)	3 (1)	15 (6,5)	80 (7)	2 (2)
3. ^a	4.767.377 (357.564)	4.533 (471)	0 (0)	3 (1,1)	9 (4,5)	84 (5,1)	4 (1,9)
4. ^a	4.539.733 (343.883)	5.155 (932)	1 (0,3)	3 (2,2)	11 (5,6)	84 (5,8)	2 (0,5)
5. ^a	4.585.288 (259.001)	4.977 (1.008)	0 (0)	4 (1,8)	10 (3,5)	82 (4,6)	4 (1,3)
6. ^a	4.360.355 (211.820)	5.244 (691)	1 (0,5)	3 (1,1)	11 (5)	83 (5,8)	2 (0,5)
7. ^a	4.336.622 (662.253)	4.888 (626)	1 (0,4)	3 (2,2)	15 (6,1)	79 (6,1)	2 (1,1)
8. ^a	3.774.000 (670.230)	5.621 (1.426)	0 (0)	2 (1,5)	22 (16,6)	74 (16,8)	2 (0,7)

* Contagem média determinada de nove animais.

Células sanguíneas: H: Hemácias; L: Leucócitos; Baso: Basófilos; Eose: Eosinófilos; Neut: Neutrófilos; Linf: Linfócitos; Mono: Monócitos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

A imunopatologia da esquistossomose descreve a presença de eosinofilia em doentes e em animais de experiência²⁰. Sabe-se que estas células estão presentes nas reações granulomatosas hepática¹⁷ e pulmonares¹⁴. Foi demonstrada sua participação frente ao esquistossomo, seus ovos e antígenos solúveis²⁰, tendo anticorpos e complemento como substâncias mediadoras¹⁹.

Em nossos dados, verificamos a presença de eosinofilia somente nos animais naturalmente infectados (Grupo III). O número de eosinófilos encontrado em animais do Grupo IV (experimentalmente infectados) não diferiu dos encontrados nos animais normais, quer de área, quer de biotério.

Estes comportamentos podem ser discutidos como:

— A normalidade no número de células, exposto no quadro dos animais infectados experimentalmente, pode ser pensada como tendo sido pouco o tempo de observação, haja vista os resultados similares encontrados em camundongos esquistossomóticos, onde a eosinofilia foi constatada somente a partir da oitava semana de infecção¹⁷.

— A presença elevada destas células acidófilas em roedores com infecção natural pode ser devida a fatores ligados ao tempo de infecção e/ou infecções mistas; considerando que são frequentemente encontrados outros parasitas, além do esquistossomo, como, por exemplo, a *Hymenolepis sp*; *Strongylóides sp*; *Ascari ratis*; *Litomosoides carinii*.

BASTOS, O. de C. et al. Variações nos níveis das células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, infectados com *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, próprio da Pré-Amazônia. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **19**:431-7, 1985.

Sabendo que os níveis sanguíneos de eosinófilos sofrem variações diurnas⁹, tomamos o cuidado de coletar as amostras sempre no mesmo horário.

Acreditamos que a leucocitose e a hematopenia ocorridas no Grupo IV, durante a evolução da parasitose, deva ser consequência natural da debilitação orgânica dos roedores, pelo comprometimento dos principais órgãos afetados pelo parasita.

Os quadros representativos das contagens das células sanguíneas periféricas de *Holochilus*, natural e experimentalmente infectados com *S. mansoni*, assim como os dados destes animais normais da Região da Baixada Maranhense, e dos nascidos em biotério, servem para complementar as informações deste hospedeiro natural do trematódeo, oferecido como modelo experimental do verme e para sua própria história natural.

BASTAS, O. de C. et al. [Variations in peripheral blood cell levels examined in *Schistosoma mansoni* — infected *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, from lower Amazonia, Brazil. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **19**:431-7, 1985.

ABSTRACT: *Holochilus brasiliensis nanus* is a rodent, native to the State of Maranhão, Brazil, which is frequently found when captured to be infected and diseased with *Schistosoma mansoni*. It is therefore a useful animal model for experimental studies on schistosomiasis. Studies on the peripheral blood counts in four groups of these rodents are reported. The blood counts of uninfected wild (Group 1) and uninfected laboratory-reared rodents (Group 2) were not found to differ. The laboratory-reared-infected rodents were repeatedly examined over 8 weeks; a progressive rise in the white cell count, and a fall in the red cell count, was noted. Eosinophilia was observed only in the naturally infected wild rodents (Groups 3). These data increased the knowledge regarding the blood counts of these animals when infected with *Schistosoma mansoni*, information that is important in such a useful natural animal model for schistosomiasis mansoni.

UNITERMS: *Holochilus brasiliensis nanus*. Experimental infection. *Schistosoma mansoni*. Blood cell count. Wild rodents.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMORIM, J.P. Infestação do homem e de roedores silvestres pelo *Schistosoma mansoni* em localidades do município de Viçosa (Estado de Alagoas, Brasil). *Arq. Hig. Saúde públ.*, **27**(94): 335-9, 1926.
2. ATTA, A.M.; MAGALHÃES, L.A.; AL-CÂNTARA, F.G. & PAREJA, G. Esquistossomose mansônica. I. Evolução do quadro patológico: análise parasitológica, hematológica e histológica. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **15**: 72-92, 1981.
3. BARBOSA, F.S.; DOBBIN Jr., J.E. & COELHO, M.V. Infestação natural de *Rattus rattus frugivorus* por *Schistosoma mansoni* em Pernambuco. *Publ. Av. Inst. Aggeu Magalhães*, **2**: 43-6, 1953.
4. BASTOS, O. de C.; MAGALHÃES, L.A.; RANGEL, H.A. & PIEDRABUENA, A.E. Alguns dados sobre o comportamento parasitológico das linhagens humana e silvestre do *Schistosoma mansoni*, no Vale do Rio Paraíba do Sul, SP (Brasil). *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **12**: 184-99, 1978.
5. BASTOS, O. de C.; SILVA, A.M.A.; SOUZA, E.P.; LEMOS NETO, R.C. & PIEDRABUENA, A.E. Ocorrência de linhagens humana e silvestre de *Schistosoma mansoni* na Pré-Amazônia. I — Estudo em moluscos. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **16**: 292-8, 1982.
6. BRUCE, J.L.; WARREN, K.S. & SADUN, E.H. Observations on the pathophysiology of schistosomiasis mansoni in monkeys. *Exp. Parasit.*, **13**: 194-8, 1963.

BASTOS, O. de C. et al. Variações nos níveis das células sanguíneas periféricas encontradas em *Holochilus brasiliensis nanus* Thomas, 1897, infectados com *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907, próprio da Pré-Amazônia. *Rev. Saúde públ.*, S. Paulo, **19**:431-7, 1985.

7. BUTTERWORTH, A.E.; DAVID, J.R.; FRANKS, D.; MAHMOUD, A.A.F.; DAVID, P.H.; STURROCK, R.F. & HOUBA, V. Antibody-dependent eosinophil-mediated damage to ⁵¹Cr-labeled schistosomula of *Schistosoma mansoni*: damage by purified eosinophils. *J. exp. Med.*, **145**: 136-50, 1977.
 8. CAPRON, M.; CAPRON, A.; TORPIER, G.; BAZIN, H.; BOUT, D. & JOSEPH, M. Eosinophil — dependent cytotoxicity in rat Schistosomiasis Involvement of IgG₂. Antibody and role of mast cells. *Eur. J. Immunol.*, **8**: 127-33, 1978.
 9. COLLEY, D.G. Variations in peripheral blood eosinophil levels in normal and *Schistosoma mansoni* — infected mice. *J. Ky med. Ass.*, **83**: 871-6, 1974.
 10. COLLEY, D.G.; KATZ, S.P. & WIKEL, S.K. Schistosomiasis: an experimental model for the study of immunopathologic mechanisms which involve eosinophils. *Adv. Biosci.*, **12**: 653-65, 1974.
 11. DIAS, L.C.S.; ÁVILA-PIRES, F.D. de & PINTO, A.C.M. Parasitological and ecological aspects of *Schistosoma mansoni* in the valley of the Paraíba do Sul River (S. Paulo State, Brazil). 1. Natural infection of small mammals with *Schistosoma mansoni*. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.*, **72**: 496-500, 1978.
 12. DIAZ-RIVERA, R.S.; ROMOS-MORALES, F.; KOPPISCH, E.; GARCIA-PALMIERI, M.R.; CITRON-RIVERA, A.A.; MARCHAND, E.J.; GONZALEZ, O. & TORREGROSA, M.V. Acute Manson's schistosomiasis. *Amer. J. Med.*, **21**: 918-43, 1956.
 13. KAWAZOE, V. & PIZA, J.T. Roedores silvestres e marsupiais como possíveis reservatórios do *Schistosoma mansoni* na Represa Americana, São Paulo. In: Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 12.º/Congresso da Sociedade Brasileira de Parasitologia, 1.º, Belém, 1976. *Resumo dos temas livres*. Belém, 1976. Resumo n.º 108.
 14. LICHTENBERG, F. Von; SHER, A.; GIBSONS, N. & DOUGHTY, B.L. Eosinophil-enriched inflammatory response to schistosomula in the skin of mice immune to *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Path.*, **84**: 479-98, 1976.
 15. MAHMOUD, A.A.F.; WARREN, K.S. & GRAHAM Jr., R.C. Anti eosinophil serum and the kinetics of eosinophilia in schistosomiasis mansoni. *J. exp. Med.*, **142**: 560-74, 1975.
 16. MAHMOUD, A.A.F.; WARREN, K.S. & PETERS, P.A. A role for the eosinophil in acquired resistance to *Schistosoma mansoni* infection as determined by antieosinophil serum. *J. exp. Med.*, **142**: 805-13, 1975.
 17. OLDS, G.R. & MAHMOUD, A.F. Role of host granulomatous response in murine schistosomiasis mansoni — eosinophil — mediated destruction of eggs. *J. clin. Invest.*, **66**: 1191-9, 1980.
 18. PHILLIPS, S.M. & COLLEY, D.G. Immunologic aspects of host response to schistosomiasis. Resistance, immunopathology, and eosinophil involvement. *Prog. Allergy*, **24**: 49-182, 1978.
 19. RAMALHO-PINTO, F.J.; McLAREN, D.J. & SMITHERS, S.R. Complement-mediated killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by rat eosinophils in vitro. *J. exp. Med.*, **147**: 147-56, 1978.
 20. WELLER, P.F. & GOETZL, E.J. The human eosinophils roles in host defense and tissue injury. *Amer. J. Path.*, **100**: 792-820, 1980.
- Recebido para publicação em 20/02/1985
Reapresentado em 24/06/1985
Aprovado para publicação em 02/07/1985