

## REAÇÕES TECIDUAIS NA INFECÇÃO EXPERIMENTAL DO CAMUNDONGO POR *TOXOCARA CANIS*

Felix R. ZYNGIER (1)

### RESUMO

O Autor descreve as lesões hepáticas, pulmonares, cerebrais e musculares estriadas observadas ao longo de 90 dias de evolução, na toxocaríase experimental em camundongo. O quadro hepático constou de infiltrados periportais e parenquimatosos de células mononucleares que atingiram o máximo de intensidade na 3.<sup>a</sup> semana de infecção, regredindo a seguir. No pulmão houve edema de paredes alveolares, congestão vascular e infiltrados inflamatórios que confluíram até um quadro de hepatização pulmonar em torno do 30.<sup>o</sup> dia, tendendo a se resolver com o passar do tempo. Cristais de Charcot-Leyden e secreção brônquica PAS e Alcian-Blue-positiva também foram observados. As lesões musculares consistiram em discreta inflamação difusa e no cérebro as larvas se apresentaram em número crescente com pouca ou nenhuma inflamação em torno. Alguns aspectos histoquímicos das larvas também são discutidos.

### INTRODUÇÃO

Alguns trabalhos prévios da literatura abordam as lesões histológicas observadas na toxocaríase humana e experimental<sup>2, 3, 5, 11, 14</sup>.

A importância desses estudos reside no estabelecimento de modelo experimental adequado onde a doença possa ser estudada em seus diversos aspectos. Tal modelo deveria ser tão próximo quanto possível da infecção natural, o que talvez requeira mais de uma abordagem do problema.

Este trabalho se propõe a descrever a sequência das lesões observadas em vários órgãos de camundongos infectados por via oral com *Toxocara canis*.

### MATERIAL E MÉTODOS

*Ovos embrionados* — Os ovos de *Toxocara canis* foram obtidos mediante dissecação de fêmeas adultas. A vagina e terço proximal do útero foram removidos e os ovos

suspensos em uma solução a 1% de formolína e incubados por um mês, ao fim do qual observou-se a presença de larvas de 2.<sup>o</sup> estágio.

*Infecção dos animais* — Vinte camundongos brancos foram infectados, cada um com 1.000 ovos embrionados administrados por sonda gástrica. A seguir lotes de dois animais foram escolhidos ao acaso e sacrificados nos dias 1, 2, 3, 7, 10, 21, 30, 60 e 90 após a infecção.

*Preparo e processamento dos tecidos* — Os camundongos eram anestesiados com Nembutal e a traquéia dissecada. O método de CURRY & col.<sup>6</sup> foi seguido com algumas modificações, para a fixação do pulmão. O fixativo usado foi formol-salina a 10%. Além do pulmão, fragmentos de fígado, cérebro e musculatura estriada também foram processados. Coraram-se os cortes histológicos pelos métodos HE, PAS, PAS após digestão pela diastase, Van Gieson, Gomori e Alcian-Blue<sup>8</sup>.

(1) Professor de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade Regional de Medicina, 15100 São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil

## RESULTADOS

**Fígado** — No primeiro dia após a infecção apenas se observaram pequenos focos de infiltração nas trabéculas hepáticas e espaços portais, onde poucas células gigantes também foram vistas. No dia seguinte os infiltrados mostraram-se maiores, com predomínio de linfócitos, histiócitos e uns poucos polimorfonucleares. Havia alguma perda de PAS-positividade nos hepatócitos circundando os focos de infiltração celular. No 3.º dia o aspecto estava basicamente inalterado.

No 7.º e 10.º dias após a infecção notou-se tendência à localização dos infiltrados inflamatórios em focos mais definidos e menores (Fig. 1).

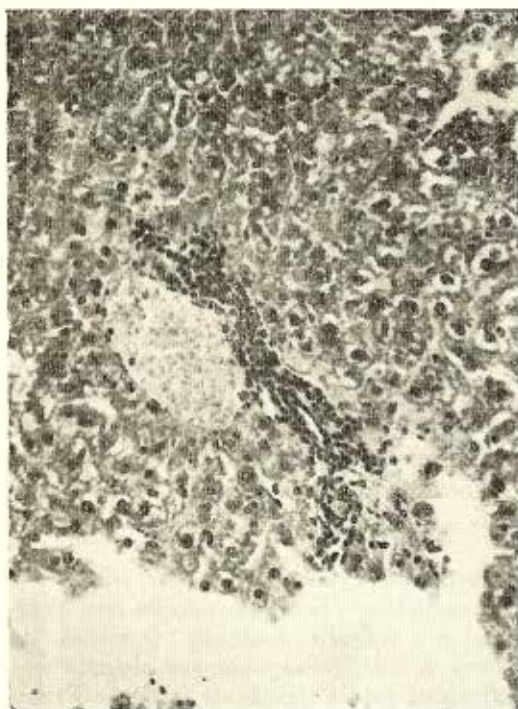


Fig. 1 — Fígado de camundongo no 10.º dia de infecção experimental por *Toxocara canis*. Pequeno infiltrado inflamatório. H.E., 200 ×

A partir da terceira semana de infecção as lesões mostraram rápida diminuição em número e tamanho, e a partir do 30.º dia o aspecto histológico foi normal. No 90.º dia foi visto um granuloma em fígado normal.

Consistia de várias camadas concêntricas de fibroblastos em torno de poucas células cuboidais e PAS-negativas. Não foi encontrada larva nesse granuloma em numerosos cortes.

**Pulmão** — Nos dois primeiros dias a principal alteração foi o espessamento da parede alveolar devido a edema, infiltração celular e congestão vascular. No 3.º dia a confluência dos infiltrados celulares era um aspecto marcante, sendo constituídos principalmente por células mononucleares e alguns eosinófilos. No interior dos brônquios foi vista secreção PAS e Alcian-Blue-positiva.

No sétimo dia a confluência celular e a secreção brônquica eram de aspecto comparável ao descrito no 3.º dia, embora bastante mais intenso. O décimo dia de infecção revelou um padrão de acometimento pulmonar difuso e intenso, com grandes áreas de hepatização, algumas das quais em torno de larvas do parasita (Fig. 2).

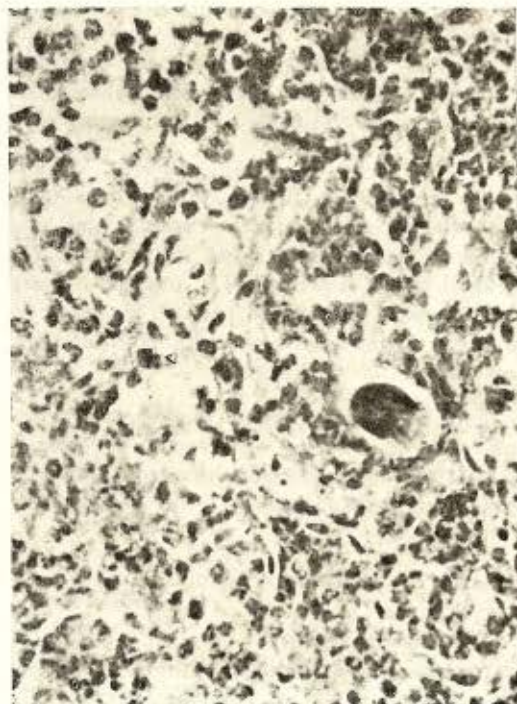


Fig. 2 — Pulmão de camundongo no 7.º dia de infecção experimental por *Toxocara canis*. Área de intenso infiltrado inflamatório em torno de uma larva. PAS, 400 ×

Após 21 dias de infecção os infiltrados celulares ainda eram bastante intensos. Algumas áreas assumiram aspecto pseudo-linfóide pela riqueza em elementos mononucleares. Ainda havia secreção PAS e Alcian Blue-positiva nos brônquios, onde numerosos cristais de Charcot-Leyden também eram vistos (Fig. 3). No 30.º dia algumas áreas de parênquima mostravam reabertura de muitos alvéolos, embora ainda persistissem grandes áreas de inflamação. O segundo mês de infecção revelou processo inflamatório bem mais discreto e difuso, embora ainda com presença de secreção brônquica.



Fig. 3 — Pulmão de camundongo no 21.º dia de infecção por *Toxocara canis*. Secreção brônquica com restos celulares e numerosos cristais de Charcot-Leyden. PAS, 400 x

No 90.º dia os dois animais mostravam quadros histológicos diversos: um deles apresentava retorno quase que completo à normalidade, enquanto o outro ainda exibia algumas áreas de infiltrado inflamatório intenso. A proliferação de macrófagos foi observada em ambos.

**Cérebro** — As lesões cerebrais mostraram-se sempre discretas ao longo dos 90 dias. As larvas foram inicialmente observadas no 3.º dia de infecção e seu número cresceu quando as infecções progrediram. Geralmente eram circundadas por tecido cerebral normal (Fig. 4) ou pequenos infiltrados celulares. Raramente observou-se infiltrado perivascular.



Fig. 4 — Cérebro de camundongo no 7.º dia de infecção experimental por *Toxocara canis*. Presença de larva sem qualquer reação tecidual. PAS, 400 x

**Musculatura estriada** — Os músculos estriados também mostraram um acometimento brando, onde larvas foram raramente vistas, e o quadro limitou-se a discretos focos inflamatórios.

**Histoquímica das larvas** — As larvas não demonstraram coloração específica pelos métodos do Alcian-Blue, Van Gieson ou Gomori. Demonstraram, todavia, grande quantidade de material PAS-positivo nas áreas da subcutícula, sistema digestivo, cavidade corporal e, em menor grau, nas colunas excre-

toras. Essa positividade desapareceu quase que por completo após a digestão pela diastase, o que sugere que o glicogênio contribui em grande parte para o "pool" de carboidratos dessas larvas.

#### DISCUSSÃO

A lesão hepática neste estudo mostrou-se como precoce e fugaz. O granuloma observado no 90.<sup>o</sup> dia é bastante referido em casos humanos <sup>7</sup>.

As alterações pulmonares em nosso experimento parecem mais intensas do que as referidas no passado <sup>1, 2, 5</sup>. Os brônquios mostraram secreção de mucoproteínas ácidas, fenômeno que não consta da literatura pertinente e cujo papel na infecção merece maior estudo. Os infiltrados inflamatórios tiveram grande intensidade e duração. Os cristais de Charcot-Leyden mostram o componente de hipersensibilidade envolvido nesta reação.

A patologia cerebral apenas mostrou a presença das larvas e pouca ou nenhuma inflamação, ambos os aspectos bem descritos nessa lesão <sup>4, 7, 15, 16</sup>.

A histoquímica larval demonstrou sobretudo a alta concentração de glicogênio no interior do parasita. Estudos prévios <sup>10</sup> realizados com *A. lumbricoides* revelam que o glicogênio e a trealose perfazem 95% do total de carboidratos do ovo não embrionado. Nos ovos embrionados a larva continha todo o glicogênio existente. No verme adulto os músculos retêm 80% do glicogênio total e a hemolinfa 5% <sup>9</sup>. MACAT & col. <sup>13</sup> observaram que o glicogênio compreende 30% dos carboidratos totais do *A. suum*. Embora seja pouco provável que espécies tão próximas apresentem discrepâncias tamanhas no seu conteúdo de glicogênio, esse aspecto merece estudos mais detalhados. Tais verificações ainda não foram realizadas no *Toxocara canis*. Nossos achados histoquímicos sugerem o alto teor de glicogênio nessas larvas, distribuído principalmente nas áreas subcuticulares, hemolinfa, sistema digestivo, e algo menos nos canais excretores. Este achado é típico de nematódios que vivem em ambiente pobre em oxigênio. Os nematódios de vida livre, por outro lado, apresentam depósitos bem menores de glicogênio <sup>12</sup>.

#### SUMMARY

##### *Histopathological response in the experimental Toxocara canis infection of mice*

The Author describes the hepatic, pulmonary, cerebral and muscular lesions in experimental toxocariasis. The liver histology showed periportal and parenchymal infiltrates that reached a maximum around the 3<sup>rd</sup> week of infection, receding thereafter. The pulmonary picture was one of alveolar wall edema, congestion and infiltration, with progressive lung consolidation. Charcot-Leyden crystals and PAS and Alcian-Blue-positive bronchial secretion were also seen. After one month of infection these lesions tended to improve progressively.

Muscular lesions were mild and diffuse, consisting basically of scattered inflammation. Larvae were present in the brain in increasing numbers starting from the 3<sup>rd</sup> day of infection, and there was usually little or no inflammatory cells around them.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALJEBOORI, T.I.; STOUT, C. & IVEY, M. H. — *Toxocara canis* infections in baboons. II — Distributions of larvae and histopathological response. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 19:815-820, 1970.
2. BISSRU, B. — Studies on the liver, lung, brain and blood of experimental animals infected with *Toxocara canis*. *J. Helminth.* 43:267-272, 1969.
3. BOTTI, L. — Sui nodulini miliarici parassitari in zene di cane. Identificazione delle forme larvali infestanti e riproduzione sperimentale. *Atti della società Italiana di Scienza Veterinaria* 11:737-742, 1958.
4. BRAIN, L. & ALLAN, B. — Encephalitis due to infection with *Toxocara canis*: Report of a suspected case. *Lancet* 1:1355-1356, 1964.
5. BURREN, C.H. — Experimental toxocariasis. Some observations on the histopathology of the migration of *Toxocara canis* larvae in the mouse. *Zeit. Parasit.* 30:152-163, 1968.
6. CURRY, R.H.; SIMON, G.T. & RITCHIE, A.C. — An electron microscopic study of normal mouse lung and the early diffuse

- changes following uracil mustard administration. *J. Ultrastruc. Res.* 28:335-345, 1969.
7. DENT, J.H.; NICHOLS, R.L.; BEAVER, P.C.; CARRERA, G.M. & STAGGERS, R. J. — Visceral larva migrans. With a case report. *J. Path.* 32:77-81, 1956.
  8. DRURY, R.A.B. & WALLINGTON, E.A. — *Carleton's histological Technique*. Oxford, University Press, 1967.
  9. FAIRBAM, D. — The biochemistry of *Ascaris*. *Exp. Parasit.* 6:491-554, 1957.
  10. FAIRBAM, D. & PASSEY, R.F. — Occurrence and distribution of trehalose and glycogen in the eggs and tissues of *Ascaris lumbricoides*. *Exp. Parasit.* 6:566-574, 1957.
  11. GERBILSKI, V.L. — Pathological changes of the intestinal wall following its occlusion by a mass of Ascarids *Toxocara canis*. *Medskaya Parazit.* 24:295-300, 1955.
  12. LEE, D.L. — *The Physiology of Mematodes*. London, Oliver and Boyd Ltd., 1955.
  13. MEGAT, W.J.; HUBBARD, W.J. & JESKA, E.L. — *Ascaris suum*. Quantitative chemical analysis of eggs and larvae. *Exp. Parasit.* 32:102-108, 1972.
  14. MANSON-BAHR, Sir Philip — The histological patterns of visceral larva migrans (parasitic granuloma) and its role in diagnosis. *J. Trop. Med. Hyg.* 64:129-133, 1961.
  15. MOORE, M.T. — Human *Toxocara canis* encephalitis with lead encephalopathy. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 21:201-210, 1962.
  16. THEIL, P.H. van — Comments on a case of *Toxocara* infection in the Netherlands. *Trop. Geograph. Med.* 12:67-71, 1960.

Recebido para publicação em 21/3/1974.