

1- INTRODUÇÃO

1.1. Helmintos Intestinais

As helmintoses intestinais resultam em mortalidade relativamente baixa e expressiva morbidade para o homem, apresentando ampla distribuição geográfica com altos índices de prevalência. Uma das principais fontes de infecção são alimentos contaminados, fazendo com que a boca seja uma das principais portas de entrada, e as fezes a principal via de eliminação. Desta forma, é natural que a grande maioria dos helmintos parasitos tenha como habitat natural o intestino humano (MELLO *et al.*, 1988).

1.2. Nematóides Parasitos Intestinais

Nematóides parasitos intestinais causam algumas das infecções mais comuns no mundo, afetando muitos países em desenvolvimento (ALI *et al.*, 2014). Essas infecções resultam em alta morbidade devido a combinação de seus efeitos na nutrição e resposta imunológica do hospedeiro (LAWRENCE, 2003). Entre os parasitos intestinais, os helmintos se destacam como sendo os mais comuns, principalmente no Brasil.

1.3. *Strongyloides spp*

Entre os helmintos parasitos intestinais encontra-se o gênero *Strongyloides*, com cerca de 38 espécies que parasitam vertebrados (REY, 2011).

Strongyloides venezuelensis é um parasito de roedores, usualmente encontrado em ratos, e muito utilizado como modelo de estudo para infecções com nematóides (MARUYAMA *et al.*, 2006). Sua capacidade de causar infecção é influenciada por variações na temperatura, tempo de cultura (MACHADO *et al.*, 2011), entre outros fatores.

1.3.1. Epidemiologia

Strongyloides stercoralis é o nematóide intestinal causador da strongiloidiase, uma helmintíase usualmente responsável por infecções assintomáticas crônicas no trato gastrointestinal de hospedeiros humanos imunocompetentes, e permanecendo não detectado por anos. Em indivíduos imunocomprometidos, essa infecção pode acarretar em um quadro denominado Síndrome da hiperinfecção ou uma doença disseminada pelo organismo (PAULA & COSTA-CRUZ, 2011).

Esse parasito infecta humanos através de penetração pela pele e tem um ciclo de vida complexo envolvendo 2 estágios de desenvolvimento: fase de vida-livre, em ambientes com boas condições de temperatura e umidade (tornando várias regiões do Brasil favoráveis ao desenvolvimento e manutenção do parasito); e a fase como parasito no hospedeiro, onde a fêmea partenogênica *S. stercoralis* libera poucos ovos por dia, de forma intermitente,

depositados no epitélio intestinal. O diagnóstico é feito pela presença de larva rabiditóide, liberada nas fezes do paciente (PAULA & COSTA-CRUZ, 2011). Devido a intermitência da oviposição são necessários sete amostras de fezes para aumentar as chances de detecção e positividade do exame, sendo o método de Baermann modificado por Moraes (1948) uma das técnicas mais utilizadas para o diagnóstico da estrogiloidiase. Já para o tratamento dessa infecção, ZAHA *et al.* (2000) obtiveram altos índices de cura efetiva com o uso de ivermectina.

Devido a um processo de auto-infecção, pode ocorrer um rápido aumento no número de larvas infectantes, fazendo com que a estrogiloidiase persista por décadas (PAULA & COSTA-CRUZ, 2011). Os sintomas gastrintestinais mais comuns gerados pela estrogiloidiase são dores abdominais, borborigmos, inchaço abdominal e desarranjos intestinais de gravidade variada (ZAHA *et al.*, 1992).

Apesar dos avanços tecnológicos e de conhecimento científico para tratamento e prevenção, a estrogiloidiase continua sendo uma doença parasitária de grande impacto na saúde pública do Brasil. Sua ocorrência é maior no Nordeste brasileiro e em indivíduos acima de 60 anos (PAULA & COSTA-CRUZ, 2011). Considerando que o Brasil é um país tropical e o caráter de cronicidade e auto-infecção desse parasito - que pode resultar em graves formas de hiperinfecção e disseminação - a estrogiloidiase torna-se um problema de importância médica e social que infelizmente é negligenciado pelas autoridades de saúde (PAULA & COSTA-CRUZ, 2011). ONAH & NAWA (2000), afirmavam que a estrogiloidiase atingia de 30 a 100 milhões de pessoas em cerca de 70 países. Entretanto, publicações posteriores já relatam

entre 100-200 milhões de indivíduos infectados por *Strongyloides* (VINEY & LOK, 2007), e esse número tende a ser ainda subestimado uma vez que as infecções são difíceis de serem detectadas (VINEY & LOK, 2007).

1.3.2. Ciclo Biológico

O ciclo de vida do *S. venezuelensis* (Fig. 1) é estudado a partir de infecções experimentais, sendo que sua rota de migração foi caracterizada por TAKAMURE (1995). Usualmente o hospedeiro se infecta quando larvas filarióides infectantes penetram na pele e/ ou digerem a superfície de mucosas. Essas larvas infectantes (L3) têm acesso aos vasos sanguíneos e migram da pele para o pulmão, antes de se instalar na mucosa duodenal já na forma adulta, em processo similar ao observado em humanos na infecção por *S. stercoralis* (GONÇALVES *et al.*, 2012; TAKAMURE, 1995; NEGRÃO-CORRÊA *et al.*, 2003). Durante a migração, larvas L3 passam para o estágio L4 dentro de poucos dias quando o parasito adulto aparece no intestino, sendo detectado pela presença de ovos e/ou larvas nas fezes (McHUGH *et al.*, 1994; TSUJI *et al.*, 1997).

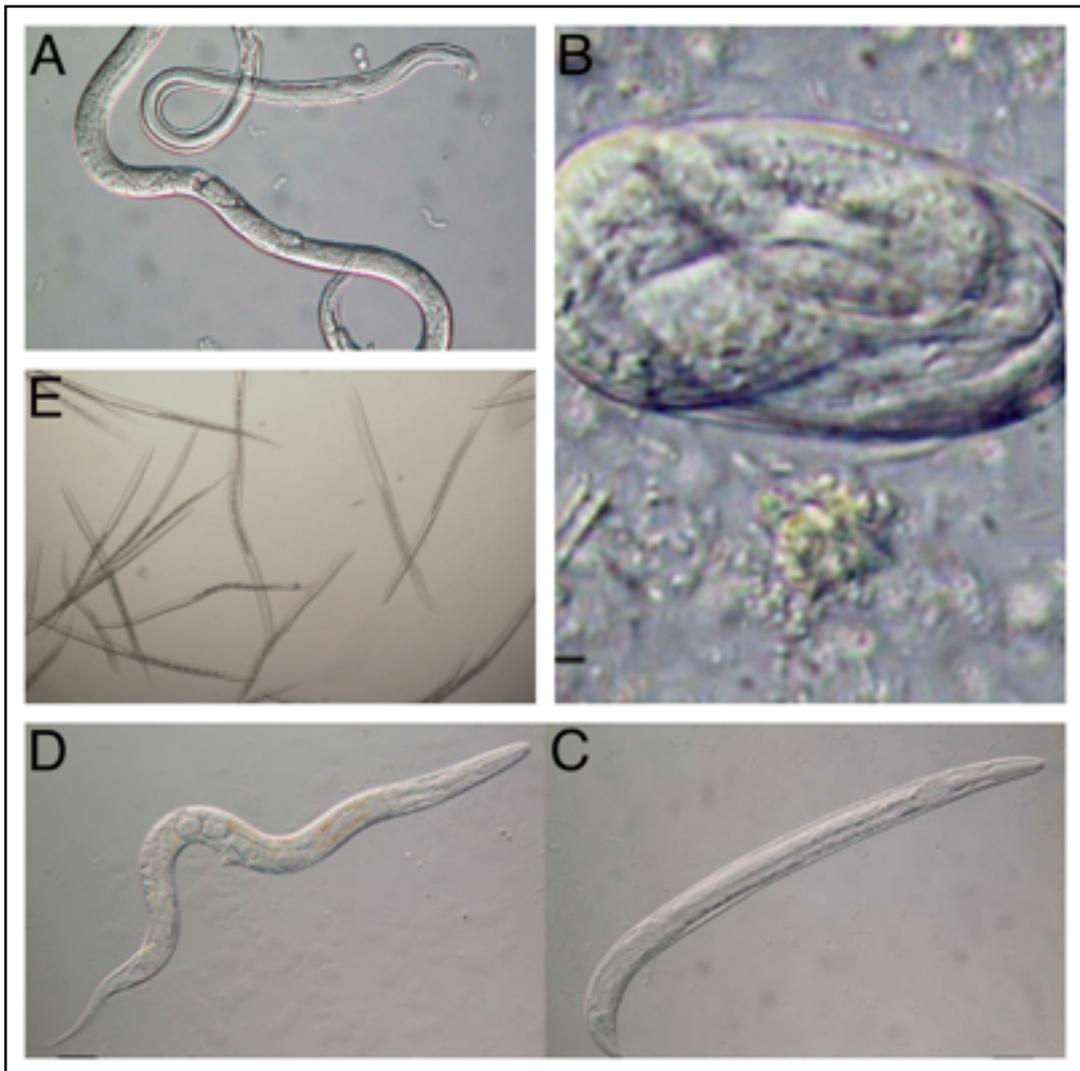


Figura 1: Aspectos morfológicos. A) Strongyloide fêmea adulta (escala-30µm); B) Ovo contendo larva em estágio L1 (escala-10µm); C) Macho e D) Fêmea de vida livre ([www. wormbook.org](http://www.wormbook.org) acessado em 20/01/2015) (escala-50µm); E) Larva em estágio L3 infectante (Fisiotox) (aumento 10x).

Além do ciclo direto, onde larvas rabditóides (L1) se desenvolvem em larvas filarióides (L3) infectantes, também pode ocorrer o ciclo indireto onde larvas L1 se transformam em larvas rabditóides L2 no meio ambiente. As larvas L2 por sua vez passam a larvas L3 e L4 de vida-livre, sendo que essas se desenvolvem em fêmea e machos adultos, também de vida-livre. Esses se

reproduzem sexuadamente no meio ambiente e todos os descendentes se tornam larvas L3 infectantes (GROVER, 1996).

1.4. Trânsito Gastrintestinal

O trânsito gastrintestinal envolve um processo complexo, regulado precisamente para que a assimilação dos nutrientes ingeridos seja realizada e a eliminação dos resíduos oportuna. As técnicas comumente utilizadas na prática clínica são empregadas principalmente para determinar o esvaziamento gástrico e o tempo de trânsito gastrintestinal, como a cintilografia e as radiografias seriadas com marcadores radiopacos. Estas técnicas são semi-quantitativas, apresentam baixa resolução espacial e demandam elevadas doses de radiação ionizante (CAMILLERI & FORD, 1998). Os métodos manométricos tradicionais, empregando dispositivos como balões e catéteres de perfusão de água são muito invasivos, podendo interferir e influenciar os eventos mecânicos (AZPIROZ & MALAGELADA, 1985; HUIZINGA & DANIEL, 1986). Outro aspecto que dificulta a avaliação dos padrões motores, empregando-se técnicas convencionais, é o acesso aos segmentos proximais do cólon em razão de sua forma e posição anatômicas, complicando a utilização de métodos que empregam radiação ionizante e tornando extremamente desconfortáveis os que demandam a utilização de sondas.

Por outro lado, estudos experimentais tem utilizado muito modelos *in vitro* para análise de segmentos do trato gastrintestinal (PEREIRA, 2008). As respostas intestinais às infecções parasitárias foram basicamente descritas *in vitro* (VALLANCE *et al.*, 1999; KHAN & COLLINS, 2005; PEREIRA, 2008). A

eliminação das variáveis *in vitro* pode ser interessante para analisar uma resposta isolada, mas esse mesmo isolamento torna os resultados não comparáveis aos obtidos *in vivo*. Deve-se considerar especialmente a grande influência do sistema nervoso entérico e autônomo, além dos fatores integrativos entre os diferentes segmentos do TGI, como os hormônios e os reflexos neurais (JOHNSON, 2014).

1.4.1. Avaliação do Trânsito

1.4.1.1. Biosusceptometria de Corrente Alternada

A avaliação do trânsito gastrointestinal em animais experimentais ocorre pela quantificação do deslocamento de marcadores como carvão vegetal, corantes, radiomarcadores e substâncias não-absorvíveis (BAGGIO *et al.*, 2003; ENCK & WIENBECK, 1989). Carvão vegetal (CHEN *et al.*, 1995) e corantes, como vermelho fenol (GEORGE, 1968), são incorporados à refeição teste e podem ser utilizados para quantificação de esvaziamento gástrico e trânsito gastrointestinal. Após ingestão, em intervalos pré-determinados de tempo, cada grupo de ratos/camundongos é morto e realizada laparotomia. Avalia-se, desse modo, a quantidade de marcador presente no estômago e intestino através da distância percorrida por estes alimentos no interior de cada segmento do trato. A curva de variação de volume do material no estômago corresponde ao esvaziamento gástrico, e o deslocamento do marcador pelo intestino delgado determina o trânsito (QUINI *et al.*, 2012). Entre as desvantagens destes métodos estão a necessidade de um grande número de

animais para compor os grupos experimentais e a morte de todos para observar tais parâmetros.

A Biosusceptometria de Corrente Alternada (BAC) foi desenvolvida por pesquisadores das Universidades Estaduais de São Paulo e sua concepção veio ao encontro das necessidades de utilizar métodos biomagnéticos em uma área de pesquisa que, no Brasil, ainda era pouco explorada. Os investimentos proporcionados pelas principais agências de fomento à pesquisa culminaram no aperfeiçoamento dessa instrumentação, possibilitando sua aplicação no desenvolvimento de diversos estudos enfocando a fisiologia básica do trato gastrintestinal (TGI) e, paralelamente, em pesquisas envolvendo tecnologia e processos farmacêuticos (AMÉRICO *et al.*, 2009; QUINI *et al.*, 2012; AMÉRICO *et al.*, 2010; CORÁ *et al.*, 2005; MIRANDA *et al.*, 2010).

A Biosusceptometria de corrente alternada (BAC) é uma técnica biomagnética que permite avaliar a atividade mecânica da contração gástrica, o esvaziamento gástrico e o trânsito gastrintestinal (AMÉRICO *et al.*, 2010; QUINI *et al.*, 2012). A BAC registra campos magnéticos gerados pela ingestão de materiais magnéticos para estudar a fisiologia dos órgãos (CORÁ *et al.*, 2005). Além disso, vem sendo utilizada devido a diversas vantagens, como ser potencialmente não-invasiva, não utilizar radiação ionizante, apresentar baixo custo e boa razão sinal/ruído (AMÉRICO *et al.*, 2010).

1.5. Acupuntura Sistêmica

A acupuntura sistêmica (AS) é um tratamento da medicina tradicional chinesa, realizado através da inserção de agulhas em pontos específicos da pele, com estimulação manual ou por eletroacupuntura (EA). A EA estimula acupontos com corrente elétrica, e parece ter resultados reproduzíveis mais consistentes, tanto na clínica como nas pesquisas (YIN & CHEN, 2010); e vem sendo aplicada na prática clínica, tornando-se reconhecida mundialmente. Os mecanismos responsáveis por sua eficácia vêm sendo testados por pesquisas em diversas instituições internacionais (TSENG *et al.*, 2005), e aparentemente a estimulação de baixa frequência da eletroacupuntura influencia funcionalmente nervos, músculos e mecanismos neuroquímicos (KIM *et al.*, 2008).

A acupuntura, e em especial a EA, já teve seu papel confirmado no alívio da dor, principalmente durante o pós-operatório, e em náuseas e vômitos induzidos por quimioterapia (HOLMÉR *et al.*, 2012; GAVRONSKY *et al.*, 2012).

1.5.1. Acupuntura Sistêmica e Motilidade Gastrointestinal

Atualmente, numerosos estudos vem sendo realizados para examinar os efeitos da eletroacupuntura em distúrbios funcionais gastrointestinais, onde os sintomas são intensos, mas não se consegue determinar uma causa orgânica para a desordem (OUYANG & CHEN, 2004). Assim, tanto estudos clínicos quanto em animais têm explorado os efeitos da EA sistêmica sobre a secreção gástrica, motilidade e atividade mioelétrica (BERSCHNEIDER, 2002; YIN *et al.*, 2010). Nesse sentido, a acupuntura pode ser opção terapêutica para pacientes com gastroparesia intratável (CHEONG *et al.*, 2014).

Na AS, a eletroestimulação no acuponto *Zusanli* ou E36 em modelo animal, tem sido associada à aceleração no esvaziamento gástrico, restauração da acomodação gástrica em cães vagotomizados e relaxamento do fundo gástrico em ratos (OUYANG *et al.*, 2004; TADA *et al.*, 2003). O ponto E36 é considerado na medicina chinesa um ponto mestre em acupuntura, isso porque tem efeitos potentes na analgesia, em condições inflamatórias, fraqueza geral e no tratamento de problemas gastrintestinais (BERSCHNEIDER, 2002). Além disso, E36 é um dos pontos específicos para a modulação da atividade imunológica, sendo que esta via de modulação compartilharia a mesma via analgésica (JOHNSTON *et al.*, 2011; YIM *et al.*, 2007; TAKAHASHI, 2009).

Há evidências de que a estimulação do ponto E36 é capaz de modular a função e o número das células NK (JOHNSTON *et al.*, 2011; PETTI *et al.*, 1998), iniciando uma cascata de reações que estimula a produção e disseminação no sangue de beta-endorfinas. Isto ocorre devido a estimulação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal para a liberação de neurotransmissores opióides endógenos, que caminham via corrente sanguínea, aos locais do corpo onde estão presentes as células imunes (CHO *et al.*, 2006; JOHNSTON *et al.*, 2011). Em termos celulares, a punção em E36 induz a produção de enzima *óxido nítrico sintase* (NO sintase) podendo estimular as células *natural killers* (NK) induzindo o aumento da proliferação e da atividade contra as células cancerígenas (JOHNSTON *et al.*, 2011). Por outro lado, outros autores têm descrito atividade imunossupressora do tratamento com acupuntura através da supressão da atividade linfocítica (TAKAHASHI *et al.*, 2009). A acupuntura no ponto E36 também pode estimular e sincronizar sinais no

circuito cérebro-cerebelo, que é especialmente evidente também no sistema límbico, atuando assim de forma central na regulação das funções imunológicas (HUI *et al.*, 2000).

A primeira publicação associando acupuntura e secreção gástrica foi realizada em pacientes com úlcera duodenal e dispepsia, e demonstrou que a acupuntura é eficaz em reduzir a secreção de ácido clorídrico (SODIPO & FALAIYE, 1979). Recentemente, estudos explorando a eficácia da AS para o tratamento de distúrbios da motilidade gastrintestinal foram realizados e observou-se que a EA no acuponto PC6 provoca diminuição do número de relaxamentos do esfíncter esofágico inferior em resposta a distensão gástrica em gatos (WANG *et al.*, 2007). Entretanto, em grande parte dos estudos, o E36 tem demonstrado maior eficácia quando se trata de aumentar a motilidade gastrintestinal. A EA no acuponto E36 causou aumento da pressão no esfíncter esofágico inferior e no pico da amplitude da peristalse esofágica em gatos (SHUAI *et al.*, 2008). CHEN *et al.* (2008), observaram uma melhora nas relações entre distensão retal e motilidade antral, possivelmente por um aumento da atividade vagal e também parcialmente mediada por opióides, utilizando o mesmo ponto E36. O mesmo mecanismo de ação vem sendo defendido por outros autores como NOGUCHI (2008; 2010). YIN *et al.* (2010) também utilizando EA no acuponto E36 observaram melhora da disritmia gástrica, no retardo do esvaziamento gástrico, trânsito intestinal e na acomodação gástrica comprometida em ratos diabéticos, cujos efeitos também possivelmente são mediados via estimulação vagal.

A partir desses e de outros estudos é possível especular sobre a forma como a acupuntura parece atuar na motilidade gastrintestinal. IWA *et al.* 2007

estabeleceram que EA nos membros inferiores (E36) induz a contração gástrica enquanto no abdome (VC12) induz ao relaxamento gástrico. O efeito excitatório sobre a motilidade gástrica causado pela EA no E36 foi relatado como mediado por regiões supramedulares pela via parassimpática (SATO *et al.*, 1993; TATEWAKI *et al.*, 2003), enquanto o efeito inibitório foi atribuído ao simpático via reflexo medular (TADA *et al.*, 2003). LIN *et al.* (2007) demonstram haver uma modulação por estimulação simpática e vagal, inibindo e estimulando respectivamente a motilidade gástrica via fibras aferentes do tipo C e A alfa.

2- JUSTIFICATIVA

O estudo da relação parasito-hospedeiro na infecção por *S. venezuelensis* tem demonstrado que esse parasito, apesar de não conseguir estabelecer um parasitismo permanente, consegue ovipor e se manter por determinado período no hospedeiro. A resposta imune nessa situação é determinante, uma vez que a imunossupressão é uma das condições para que o *S. stercoralis* estabeleça uma hiper-infecção associada a uma doença disseminada. Pouco se sabe sobre o papel da motilidade gastrintestinal na expulsão do parasito, que parece ocorrer em indivíduos imunocompetentes submetidos a infecção com nematóides (KHAN & COLLINS, 2005). Os poucos estudos realizados nesse sentido são em sua maioria *in vitro* e com outros parasitas (VALLANCE *et al.*, 1999; KHAN & COLLINS, 2005), entretanto uma possível atuação da motilidade gastrintestinal na expulsão de *S. venezuelensis* ainda não foi adequadamente descrita *in vivo*. Dessa forma, a atenuação da influência do sistema nervoso entérico, bem como de outras variáveis biológicas que podem estar atuando sobre a motilidade gastrintestinal, fazem com que esses resultados não espelhem toda a complexidade do fenômeno que ocorre *in vivo*. Por sua vez os estudos *in vivo* implicam na morte de muitos animais e/ou na utilização de radiação ionizante o que é, por si, incompatível com a repetição de experimentos em um mesmo animal para acompanhar o processo infeccioso. A BAC é uma técnica atual, compatível com a sobrevivência do animal e que foi validada por diversos experimentos, inclusive em humanos

(QUINI *et al.*, 2012; MARQUES *et al.*, 2014). Assim, com a técnica adequada, torna-se possível caracterizar a motilidade gastrointestinal durante o período de infecção, expandindo ainda mais o entendimento sobre a relação parasito hospedeiro em animais infectados por *S. venezuelensis*.

Soma-se a isso o estudo dessa relação perante diferentes cargas parasitárias. Durante a infecção, a resposta do hospedeiro desenvolve mecanismos efetores para combater o parasito. Entretanto, essa resposta pode se tornar descontrolada ou regulada por mecanismos que modulam a reação inflamatória. BORGES e colaboradores (2012) mostraram que a carga de parasitas inoculada influencia o desenvolvimento da doença; quanto mais alto o número de parasitos inoculados, menor é a taxa de sobrevivência para a infecção experimental com *Trypanosoma cruzi*. Surpreendentemente, não foram encontrados até o momento estudos relacionados a carga parasitária para *Strongyloides venezuelensis*.

Sabemos como o organismo se comporta imunologicamente perante a infecção por *S. venezuelensis* com cargas intermediárias (entre 1000 e 3000 larvas); entretanto, avaliar a infecção com carga muito baixa ou muito alta, pode gerar respostas que elucidem o perfil parasitológico gerado pelo parasita, e sua influência na resposta do hospedeiro em termos de expulsão do parasita por alterações no transito gastrointestinal.

Por outro lado, alguns trabalhos publicados têm demonstrado a regulação da resposta imune e da motilidade gastrointestinal pela acupuntura (YAMAGUCHI *et al.*, 2007; IWA *et al.* 2007), todavia, inexitem até o momento trabalhos relacionando a acupuntura ao tratamento de estrogiloidíase. Assim, a acupuntura poderia desempenhar um papel importante no tratamento de

helminthoses intestinais por ser não invasivo, sem efeitos colaterais e atuar tanto na motilidade gastrintestinal, quanto na resposta imune. Logo, um modelo empregando *S. venezuelensis* em ratos poderia ser relevante para melhor compreensão dos seus mecanismos fisiopatológicos na motilidade gastrintestinal e para observar as ações da acupuntura nessa situação.

3- OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Analisar as inter-relações entre motilidade gastrintestinal e parâmetros parasitológicos em modelo animal de infecção com diferentes cargas parasitárias de *S. venezuelensis*, e ainda considerar os efeitos de tratamento com acupuntura.

3.2. Objetivos específicos

Parte I) Avaliação do trânsito gastrintestinal após infecção com diferentes cargas de larvas L3 de *S. venezuelensis* (400, 2000, 10000 larvas) em ratos, por meio da quantificação de:

- ovos por grama de fezes (OPG);
- numero de vermes no intestino delgado;
- fecundidade;
- esvaziamento gástrico;
- transito gastrintestinal;
- peso das fezes;
- correlação linear entre os grupos e parâmetros.

Parte II) Efeito da acupuntura (E36, VC12 e Sham) no trânsito gastrintestinal de ratos infectados com 2000 larvas L3 de *S. venezuelensis*, por meio da quantificação de:

- ovos por grama de fezes;
- numero de vermes no intestino delgado;
- fecundidade;
- esvaziamento gástrico;
- transito gastrintestinal;
- peso das fezes;
- correlação linear entre os grupos e parâmetros.

4- MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Procedimento Experimental

Foram utilizados um total de 120 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus* – linhagem *Wistar*), com peso entre 250 e 350g, mantidos na sala de manutenção de animais do Laboratório Fisiotox – CUA/UFMT, em condições e local adequados. Projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da UFMT em 18 de Abril de 2013 (Protocolo no. 23108.002959/13-3). Os ratos foram divididos em grupos com um mínimo de 5 animais cada um:

❖ Três grupos (105) infectados com diferentes cargas parasitárias (baixa – 400 larvas, média – 2000 larvas, alta – 10000 larvas) de *S. venezuelensis*, submetidos ao registro do trânsito gastrintestinal, contagem de ovos por grama de fezes (OPG), número de vermes, pesagem das fezes, determinação do índice “diarrhea score” e da fecundidade do parasito, ao longo de 21 dias.

❖ Três grupos (15 ratos) infectados com carga média de 2000 larvas de *S. venezuelensis* e tratados com acupuntura sistêmica em pontos verdadeiros (E36 e CV12) e falso (Sham) submetidos a avaliação de OPG e trânsito gastrintestinal ao longo de 21 dias, além do número de vermes e fecundidade ao final do experimento, para avaliação do tratamento.

Os grupos tratados foram considerados controles de si mesmo, uma vez que foi determinado o trânsito gastrintestinal e peso das fezes antes da

infecção, no dia zero (0 dpi). Após a infecção, para o acompanhamento ao longo de 21 dias, os parâmetros foram analisados nos seguintes dias: 3º dia pós infecção (dpi), 6ºdpi, 9ºdpi, 12ºdpi, 15ºdpi, 18ºdpi e 21ºdpi, no qual os animais foram eutanasiados por decaptação.

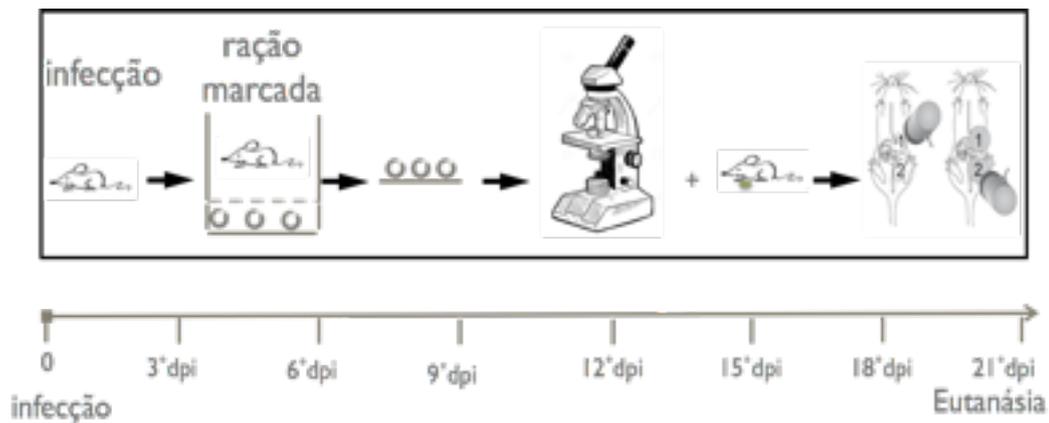


Figura 2: Procedimento experimental.

4.2. Parasito

A cepa de *S. venezuelensis* utilizada durante a pesquisa é mantida em laboratório desde 1987, e foi gentilmente cedida pelo Prof. Dr. Allan Lane de Melo, do Departamento de Parasitologia da Universidade Federal de Minas Gerais. A mesma cepa está sendo mantida em Gerbils (*Meriones unguiculatus*) no Laboratório Fisiotox – CUA/UFMT, para os experimentos.

4.2.1. Indução ao Parasitismo



Figura 3: Recuperação de larvas L3.

Ovos de *S. venezuelensis* foram isolados das fezes de gerbils, misturados em vermiculita para coprocultura e levados à estufa para incubação a 27°C durante 72 horas. Em seguida foi realizado o método de Baermann modificado por MORAES (1948) sob luz direta e água à 33°C, por 2 horas, para recuperação das larvas infectantes (L3), por termofotohidrotropismo.

As larvas foram lavadas em solução salina tamponada (PBS- *phosphate buffer saline*- pH 7,4) e centrifugadas (3000 rpm por 3 minutos – 25° C); sendo que este procedimento foi repetido 3 vezes. Posteriormente foi feita a contagem do número de larvas por estimativa em microscópio estereoscópio. Ao término da contagem, foram colocadas sob luz direta até sua utilização. As larvas (L3) foram inoculadas por administração subcutânea em ratos *Wistar*.

4.2.2. Contagem de Ovos e Vermes.

A contagem de ovos por grama de fezes (OPG) foi realizada em câmara de McMaster (DUNN & KEYMER, 1986; TAIRA *et al.*, 1991), em cada um dos dias experimentais para verificação da fase do ciclo em que se encontram os animais, sendo considerados apenas os ovos encontrados dentro do gradeado. Para tanto, foram separados 2g de fezes, dissolvidas em 28 ml de solução saturada. Após a homogeneização, parte dessa solução foi utilizada para preencher a câmara de McMaster.

Um grupo de animais, mortos em cada um dos tempos experimentais, foi utilizado paralelamente para a recuperação de vermes do intestino delgado. Após a morte desses animais, foi realizada a laparoscopia para retirada do intestino delgado. Realizou-se então um corte longitudinal no intestino para facilitar a migração dos parasitos fêmeas adultos submetidos por cerca de 3 horas ao método de Baermann modificado por MORAES (1948), para sua migração e separação para posterior contagem.

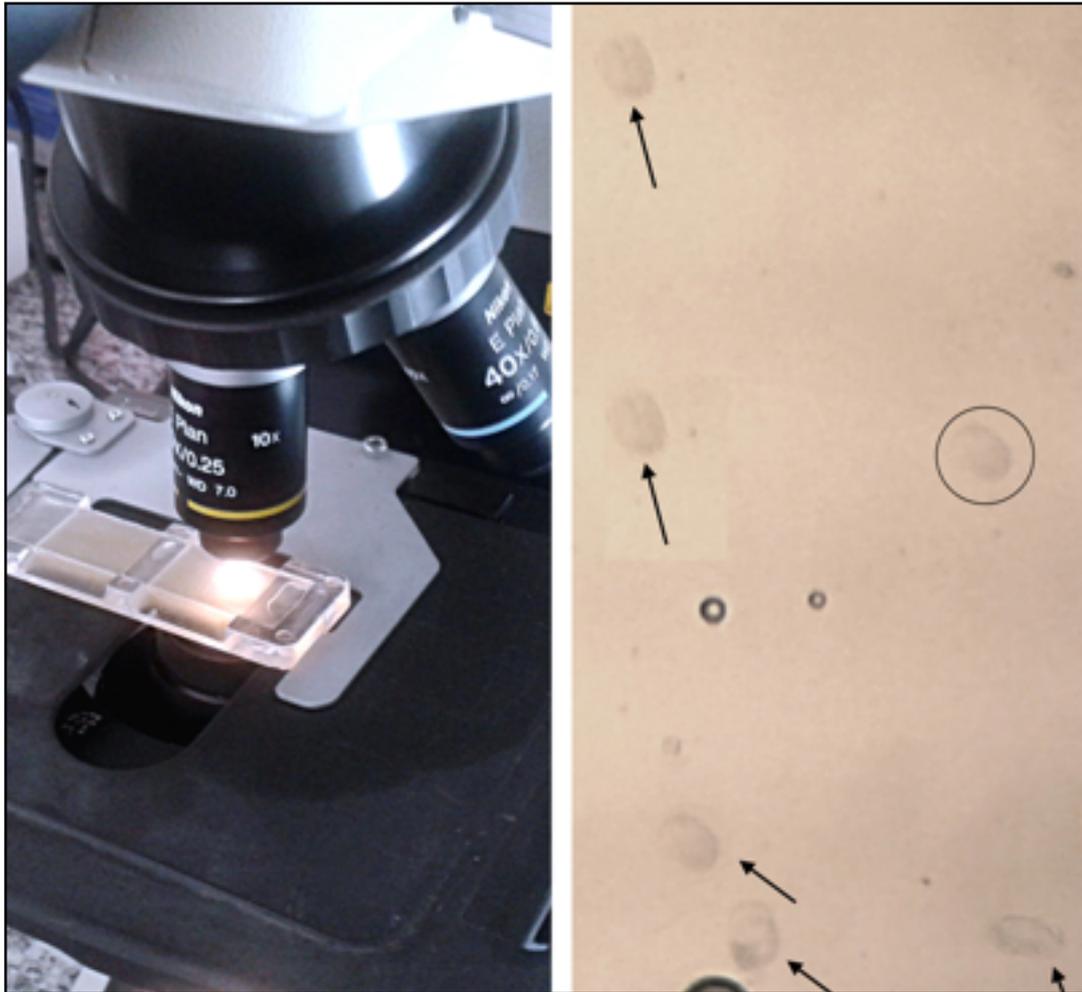


Figura 4: Contagem de ovos por grama de fezes (OPG) em câmara de McMaster.

Circulo e setas indicam os ovos.

4.3. Biosuceptometria de Corrente Alternada (BAC)

Os sensores magnéticos, utilizados para análise do trânsito GI, possuem bobinas externas que funcionam como excitadoras, e internas como detectoras (arranjo coaxial). Materiais ferromagnéticos como as ferritas (MnFe_2O_4) respondem intensamente à aplicação de um campo magnético e são inertes quando submetido a testes físico-químicos (CORÁ *et al.*, 2005).

Assim, na ausência de qualquer material magnético, o sensor permanece balanceado e nenhuma voltagem é detectada. Entretanto, a aproximação de

qualquer material magnético provoca maior concatenação do fluxo magnético sobre a bobina detectora mais próxima. Esse desbalanceamento no fluxo gera uma força eletromotriz proporcional à massa e à distância entre o material e o sensor, que pode ser registrada.

Assim, para medir o trânsito GI todos os animais utilizados no experimento foram submetidos à análise pela BAC, como descrito a seguir.

4.3.1. Medida do Trânsito Gastrintestinal

Todos os ratos foram acondicionados individualmente, 24 horas antes dos procedimentos, em gaiolas anticoprofágicas, compostas por um fundo de malha de arame para facilitar a deposição fecal e evitar a coprofagia. Uma ração magneticamente marcada (1,8 g de ração comercial acrescido de 0,2 g de ferrita em pó) foi ingerida e monitorada ao longo do TGI em tempo real, por meio da BAC, em intervalos de 15 minutos por seis horas. Dois pontos do abdome do animal foram predeterminados pela posição anatômica por representarem estômago e ceco (Fig. 5).

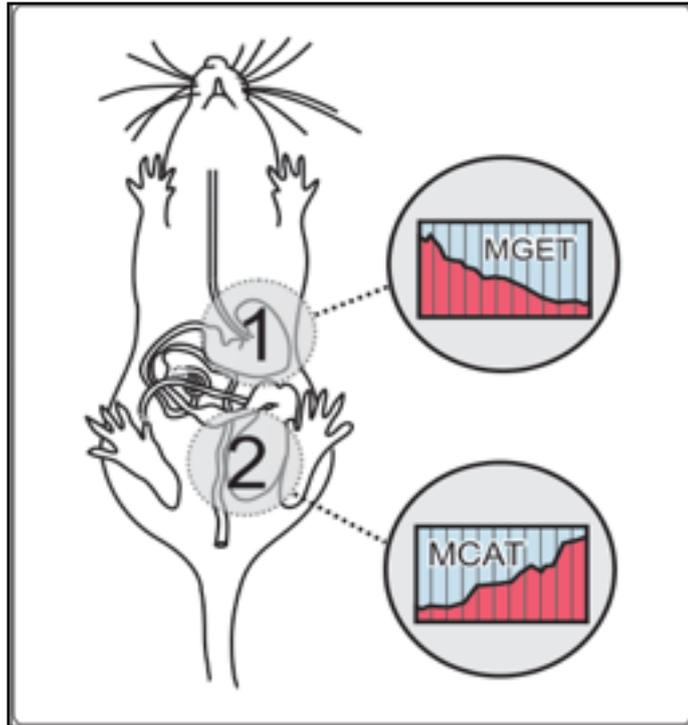


Figura 5: Pontos estabelecidos anatomicamente para medida de esvaziamento gástrico (1) e chegada do alimento ao ceco (2). Extraído de CALABRESI, 2013.

Além disso, para analisar as possíveis alterações de motilidade gastrointestinal durante a infecção, foi determinado o índice de “Diarrhea Score”, segundo a qual: “0” é utilizado para fezes firmes; “1” para mal formadas; “2” para aquosas com resquícios perianais; “3” para grave sujeira perianal. O peso das fezes pode ser considerado normal entre 15-20 g; poucas fezes entre 10-15 g e muitas fezes para pesos entre 20-25 g, de acordo com TAKASUMA *et al.* (1996) e STERN *et al.* (2007).

4.4. Tratamento com Acupuntura

Considerando a carga intermediária de infecção com 2000 larvas o perfil parasitológico mais adequado para estudo experimental, essa carga foi

escolhida para infectar os animais submetidos à acupuntura. Após a primeira medida de trânsito gastrointestinal e pesagem das fezes, utilizadas como controle, os animais foram infectados com 2000 larvas de *S. venezuelensis*. Logo após, os animais foram aleatoriamente divididos em 3 grupos (E36, CV12 e Sham) e submetidos às primeiras sessões de acupuntura. Para maior precisão na localização dos pontos específicos foi feita tricotomia local e empregada caneta localizadora de pontos do Acupuntoscópio Eletrônico Múltiplo (modelo WQ – 10D1). Uma vez localizados os pontos, os grupos foram submetidos aos respectivos tratamentos, com duração de 20 minutos. Todos os animais foram submetidos, durante 21 dias, a sessões de acupuntura de acordo com o grupo ao qual fazem parte, de três em três dias (0 dpi, 3°dpi, 6°dpi, 9°dpi, 12°dpi, 15°dpi, 18°dpi e 21°dpi) e com a mesma duração. Findo esse período (no 21°dpi) foram submetidos à nova avaliação do trânsito gastrointestinal e mortos por meio de decapitação com guilhotina.



Figura 6: Punturação do acuponto E36 no membro posterior de rato *Wistar*.

No ponto de acupuntura sistêmica E36 (*Zusanli*) a aplicação da agulha sistêmica 0,25 x 15 mm foi feita perpendicularmente, 0,5-1 polegadas, utilizando agulhas de 15 mm, bilateralmente. Esse ponto se localiza na porção anterior da perna, entre a tuberosidade da tíbia e a cabeça da fíbula (Fig. 6).

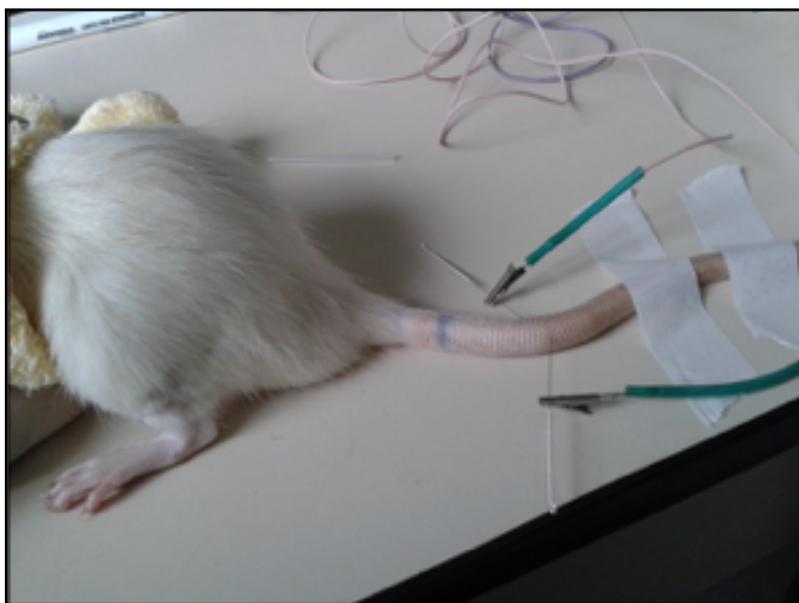


Figura 7: Punturação do não-acuponto falso Sham na cauda.

Para o acuponto VC12 (*Zhongwan*) a mesma aplicação foi realizada, posicionando as agulhas uma de cada lado do ponto. Esse ponto se localiza na linha sagital mediana, sobre a linha alba, a meia distância exata da sínfise xifosternal e a cicatriz umbilical (Fig. 8). Para o ponto falso de acupuntura Sham foram escolhidas regiões da cauda onde não houve sinalização de acuponto pela caneta Localizadora de pontos (Fig. 7).



Figura 8: Punturação do acuponto CV12 na linha sagital mediana.

4.5. Análise dos dados e Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão (SEM). Para comparação dos valores médios dos parâmetros foram empregados Análise de Variância (ANOVA), seguidos de Teste de Comparações Múltiplas de Tukey, com limite de significância estatística até 5% ($p < 0,05$). A correlação de Pearson foi utilizada para avaliar o grau de associação entre os parâmetros analisados.

Todos os registros na forma de matriz numérica de transito gastrointestinal foram analisados em Origin® e os momentos estatísticos calculados para quantificar os seguintes parâmetros: tempo médio de esvaziamento gástrico (MGET), definido como o tempo (min) no qual a quantidade média de material

magnético foi esvaziada do estômago, ponderado pela área sob a curva de esvaziamento; tempo médio de chegada ao ceco (MCAT) foi definido como o tempo t (min) no qual ocorreu aumento na quantidade média de ração marcada recém-chegada ao ceco, ponderado pela área sob a curva entre a chegada e o valor máximo acumulado; e tempo médio de trânsito de intestino delgado (MSITT) determinado pela diferença entre MCAT e MGET (PODCZECK *et al.*, 1995).

5- RESULTADOS

Para organizar os resultados obtidos, os mesmos foram subdivididos em dois subitens principais que resultaram em dois artigos.

5.1. Avaliação do trânsito gastrintestinal após infecção com diferentes cargas de *S. venezuelensis* (400, 2000, 10000 larvas) em ratos.

5.1.1. Análise Parasitológica

Nas figuras de 9 à 11 estão apresentados os resultados referentes aos parâmetros parasitológicos. Há uma diferença significativa no 9° dpi entre as diferentes cargas parasitárias avaliadas. É possível perceber um único pico de oviposição no 9° dpi nas cargas parasitárias média e alta (2000 e 10000 L3). A intensidade de OPG foi menor para a carga de 10000 comparado com a carga de 2000. O pico de OPG para a carga de 400 parasitas foi detectado apenas no 15° dpi (Fig. 9).

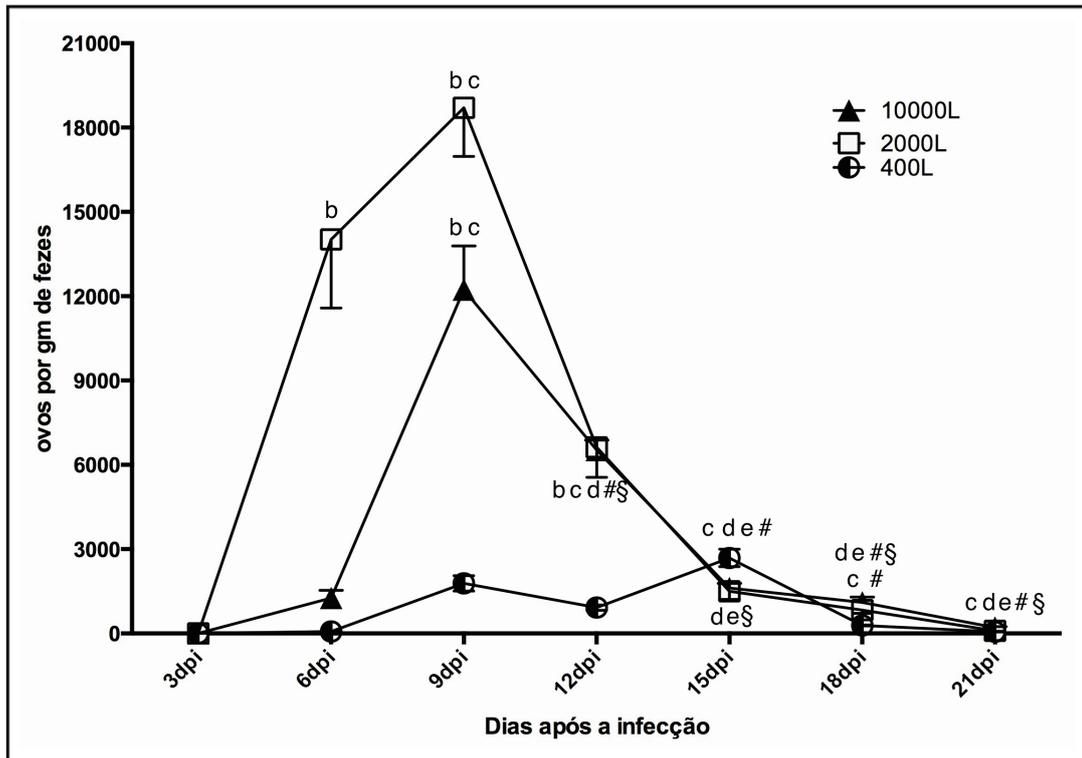


Figura 9: Contagem de ovos por grama de fezes. Valores expressos em média \pm erro padrão para infecção com 2000 (#) e 10000 (§) larvas. ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi.

Por outro lado, o número de vermes adultos teve um aumento significativo no 6ºdpi quando os animais foram infectados com alta carga parasitária. A infecção com 2000 larvas teve um pico de vermes atrasado e menor, mas significativo, apenas no 15ºdpi. No grupo infectado com 400 larvas não houve um pico significativo na contagem de vermes (Fig. 10).

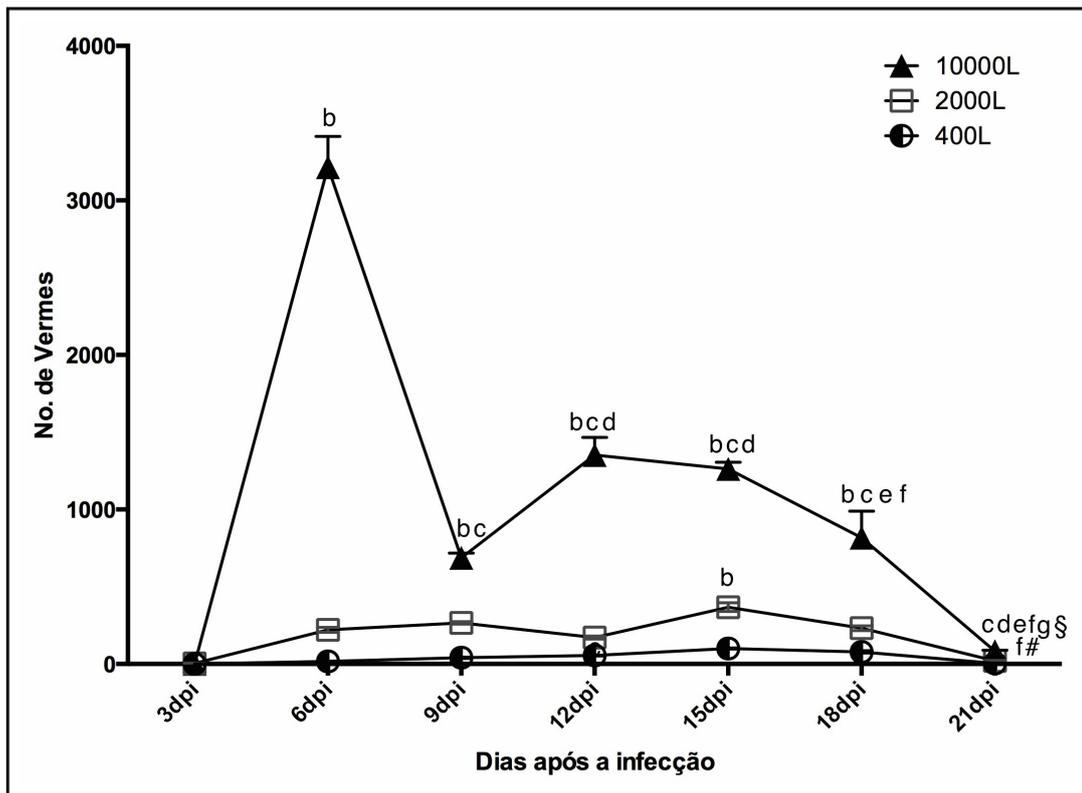


Figura 10: Contagem de vermes recuperados do intestino delgado. Valores expressos em média \pm erro padrão para infecção com 2000 (#) e 10000 (§) larvas. ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi; ^g vs 18dpi.

A análise de ovos por fêmea de parasita foi realizada para determinar a fecundidade e os resultados podem ser observados na figura 11. Apesar das cargas inoculadas, todos os grupos tiveram o pico de fecundidade no 9ºdpi. Não obstante, a infecção com 2000 larvas causou uma alta fecundidade comparado aos outros grupos. Observou-se também que a fecundidade diminuiu progressivamente ao longo da infecção, exceto no grupo 400 L3.

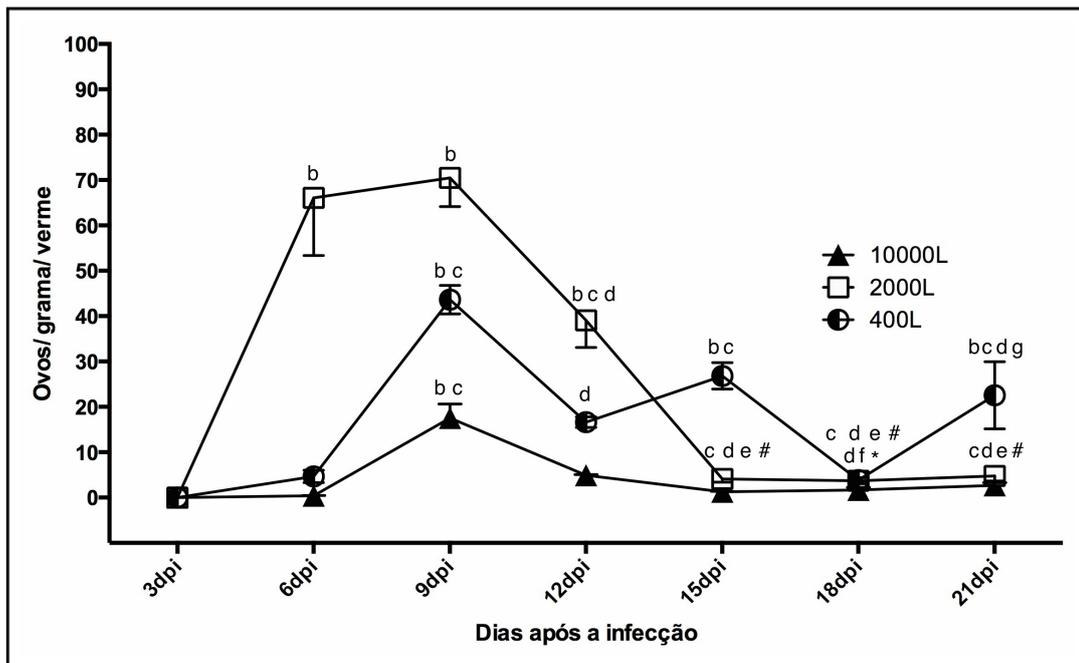


Figura 11: Fecundidade obtida pela relação entre o número de ovos/grama pelo número de vermes (fêmea). Valores expressos em média \pm erro padrão para infecção com 2000 (#) e 10000 (§) larvas. ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi; ^g vs 18dpi.

5.1.2. Análise do Trânsito Gastrintestinal

O perfil de trânsito gastrintestinal durante a infecção experimental pode ser observada nas figuras 12 - 14. Houve uma diminuição no esvaziamento gástrico a partir do 3º dpi, exceto para a carga de 400 larvas (Fig. 12).

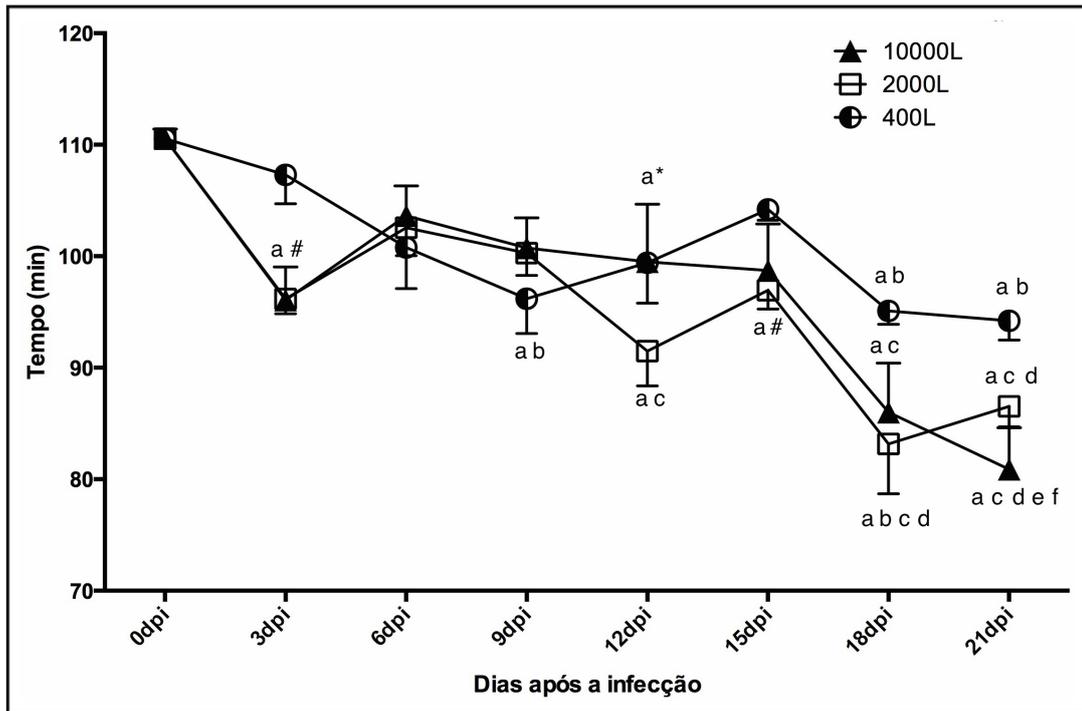


Figura 12: Tempo de esvaziamento gástrico. Valores expressos em média \pm erro padrão para dos grupos infectados com 400 (*) e 2000 (#) larvas. ^a vs 0 dpi (não infectado); ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi.

Na infecção com baixa carga parasitária (400 L3), a chegada ao ceco do alimento foi mais rápida no 15ºdpi, entretanto, manteve-se virtualmente sem mudanças nos outros dias. Não houve alteração significativa no que concerne à chegada do alimento ao ceco para os outros grupos (Fig. 13).

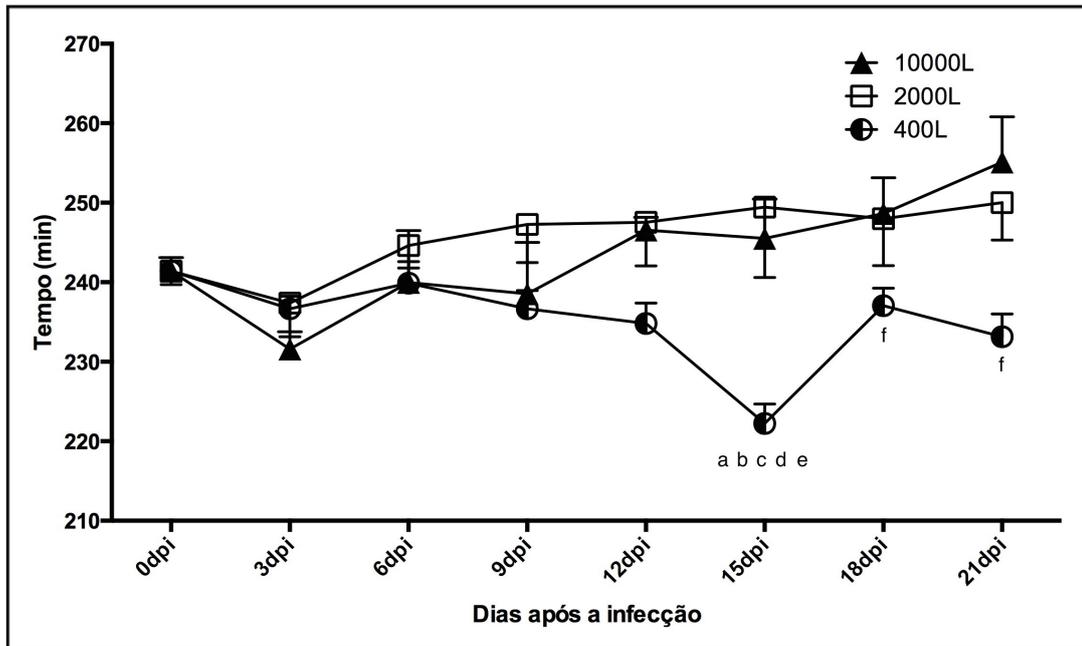


Figura 13: Tempo de chegada do alimento ao ceco. Valores expressos em média \pm erro padrão para dos grupos infectados. ^a vs 0dpi (não infectado); ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi.

Após a inoculação com 2000 ou 10000 parasitas, o alimento permaneceu mais tempo no intestino delgado à partir do 15^odpi (Fig. 14). Logo, o esvaziamento gástrico foi mais rápido a o trânsito intestinal foi mais lento ao longo da infecção com 2000 e 10000 larvas.

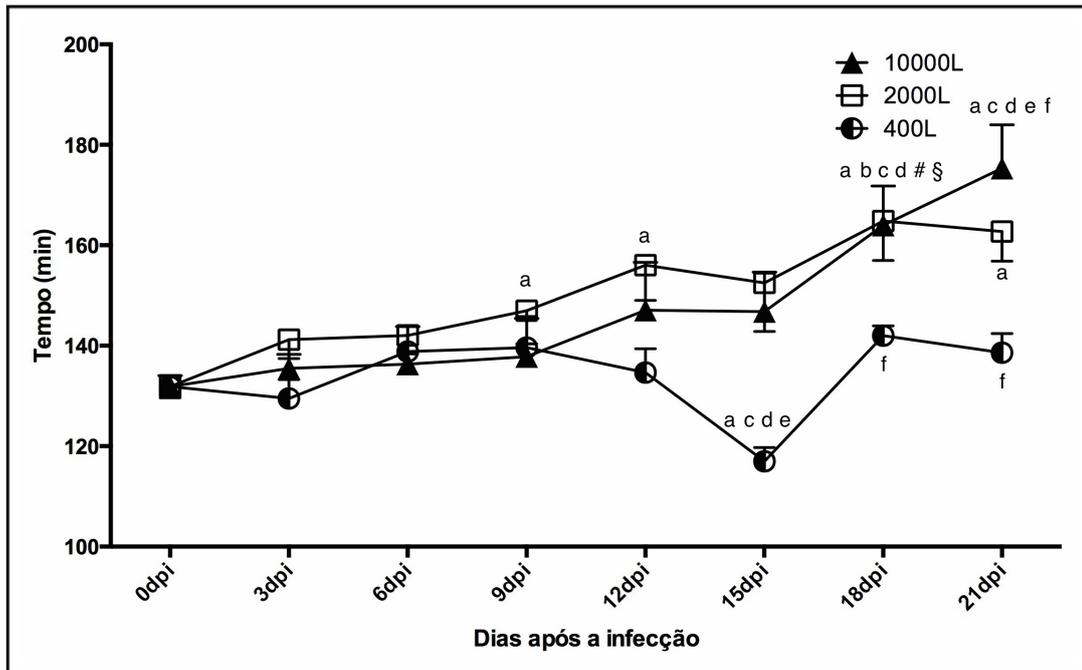


Figura 14: Tempo de trânsito do alimento pelo intestino delgado. Valores expressos em média \pm erro padrão para dos grupos infectados com 2000 (#) e 10000 (§) larvas. ^a vs 0dpi (não infectado); ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi.

Para estimar indiretamente os efeitos do tempo do trânsito intestinal, o peso das fezes foi avaliado durante a infecção (Tabela 1), bem como o índice de *Diarrhea score*. Não foi observada qualquer mudança na consistência das fezes para as cargas parasitárias estudadas (dados não mostrados). As cargas parasitárias baixa e média tiveram uma diminuição acentuada no peso das fezes no 9^odpi a uma recuperação por volta do 18^odpi. Por outro lado, não houve mudança no peso das fezes após a infecção com 10000 parasitas.

Tabela 1. Peso das fezes (g) no período analisado de infecção com 400, 2000 e 10000 larvas.

	400L	2000L	10000L
0dpi controle	13,52 ± 2,77	13,52 ± 2,77	13,51 ± 2,77
3dpi	10,15 ± 1,70	9,21 ± 3,10	10,10 ± 3,43
6dpi	9,04 ± 2,33	12,02 ± 4,18	10,41 ± 1,53
9dpi	6,78 ± 3,40 ^{a g}	5,39 ± 2,25 ^{a e}	9,99 ± 2,09
12dpi	9,96 ± 2,40	7,89 ± 2,82 ^a	10,28 ± 2,22
15dpi	10,28 ± 6,48	12,90 ± 3,48 ^d	14,18 ± 2,94
18dpi	13,05 ± 3,85	13,64 ± 2,05 ^{d e}	11,80 ± 2,81
21dpi	9,10 ± 2,95	9,21 ± 2,85	9,96 ± 5,51

^a vs 0dpi (não infectado); ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^g vs 18dpi. Todos dos resultados expressos como media ± erro padrão.

5.1.3. Análise Comparativa entre os Parâmetros

Para melhor compreensão dos resultados obtidos, a Tabela 2 apresenta uma análise comparativa entre os parâmetros parasitológicos e de trânsito gastrointestinal através do coeficiente de correlação (r).

Table 2. Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre os parâmetros parasitológicos e de trânsito gastrointestinal.

	400L				2000L	10000L
	Vermes	SITT	CAT	Fecundidade	Vermes	CAT
OPG	0,72*	-0,4*	-0,5*		0,38**	
GET				-0,3**	0,57*	-0,43**
CAT	-0,5**			-0,4**		

* $p < 0,0001$, ** $p < 0,01$

Como demonstrado na tabela 2, houve uma correlação linear entre os diferentes parâmetros após inoculação de 400 parasitas. Uma correlação negativa foi observada entre OPG e chegada do alimento ao ceco ($R = -0,50$) e o trânsito intestinal ($R = -0,40$). Ao mesmo tempo, uma elevada fecundidade parece estar associada a um esvaziamento gástrico mais rápido ($R = -0,30$) e chegada ao ceco também mais rápida ($R = -0,4$). Houve uma correlação negativa entre a chegada do alimento ao ceco e o número de vermes; o que indica que uma grande quantidade de parasitas acelera a chegada do alimento ao ceco. Além disso, o número de vermes e oviposição aumentaram de forma linear ($R = 0,72$).

No grupo infectado com 2000 larvas, houve uma correlação positiva entre o número de vermes e OPG ($R = 0,38$) e esvaziamento gástrico ($R = 0,57$). Assim, mais parasitas no intestinal delgado significaram maior oviposição e um esvaziamento gástrico mais lento. Surpreendentemente, na carga parasitária mais alta houve apenas uma correlação negativa entre os parâmetros de trânsito, GET e CAT.

5.2. Efeito da acupuntura (E36, VC12 e Sham) no trânsito gastrintestinal de ratos infectados com S. venezuelensis.

5.2.1 Análise Parasitológica

Considerando a carga intermediária de 2000 larvas com perfil parasitológico mais adequado para estudo experimental, essa carga foi utilizada para infectar os animais submetidos à acupuntura em um ponto falso (Sham) e nos acupontos E36 e VC12. Na avaliação parasitológica, todos os grupos mostraram um pico de OPG no 9º dpi (Fig. 15).

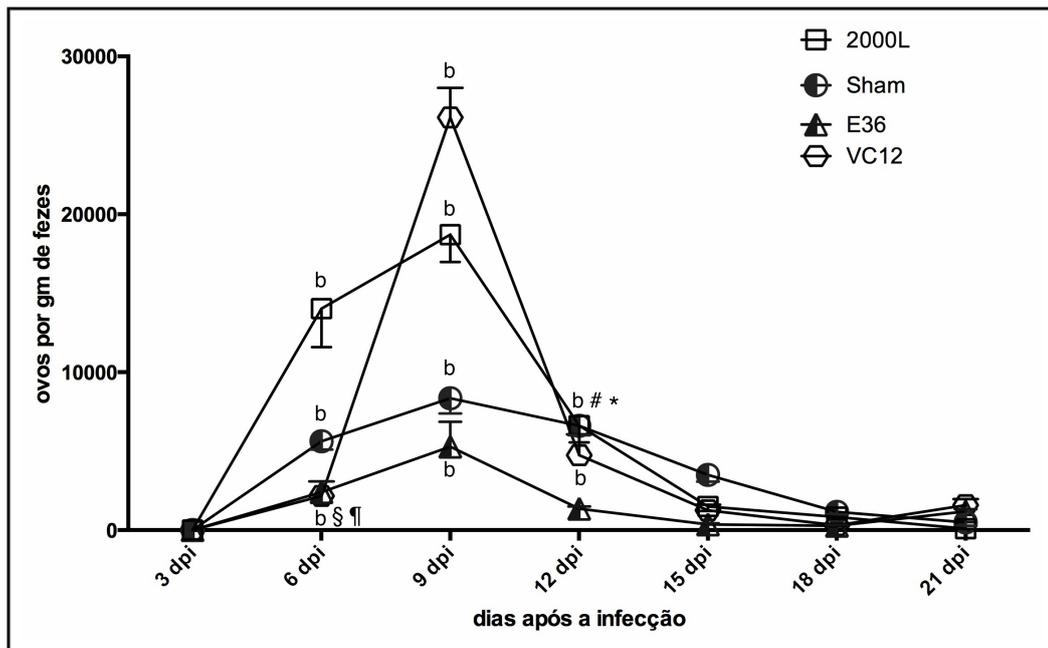


Figura 15: Contagem de OPG para os grupos infectados com 2000 larvas não tratado (#); tratado com ponto falso Sham (*); tratados nos acupontos E36 (§) e VC12 (¶). Valores expressos em média \pm erro padrão. ^b vs 3dpi

O número de vermes no 21^o dpi e OPG durante os dias 6, 9 e 12 após a infecção foram reduzidos com o tratamento efetuado no acuponto E36 em comparação ao grupo Sham (Fig. 16). No entanto, esses valores foram maiores do que os apresentados por animais infectados com 2000L e não tratados. O tratamento com acuponto VC12 provocou aumento do OPG comparado aos picos de oviposição dos outros grupos.

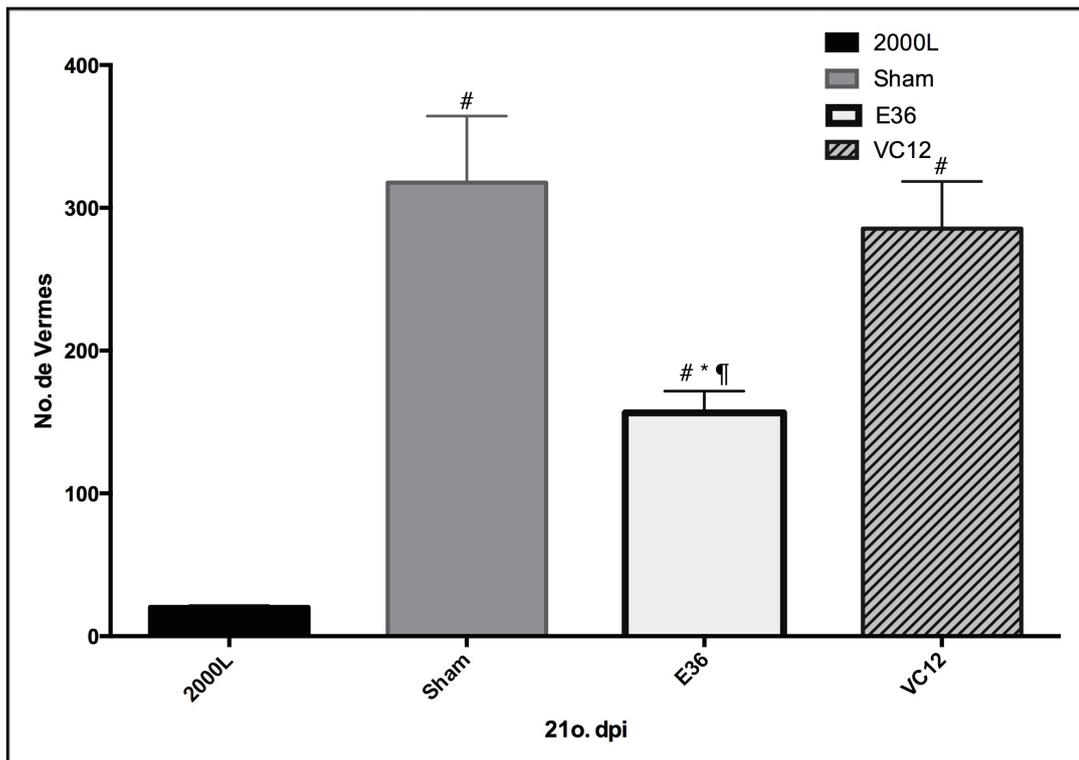


Figura 16: Contagem do número de vermes no 21ºdpi para os grupos infectados com 2000 larvas não tratado, tratado com ponto Sham, tratado nos acupontos E36 e VC12. Valores expressos em média \pm erro padrão. # vs 2000L (não tratado); * vs Sham; ¶ vs VC12.

Além disso, uma vez que a fecundidade é afetada pelas fêmeas parasitas adultas e o número de ovos nas fezes, o tratamento de acupuntura com os dois acupontos aumentou a fecundidade comparado ao grupo Sham e 2000 larvas (Fig. 17).

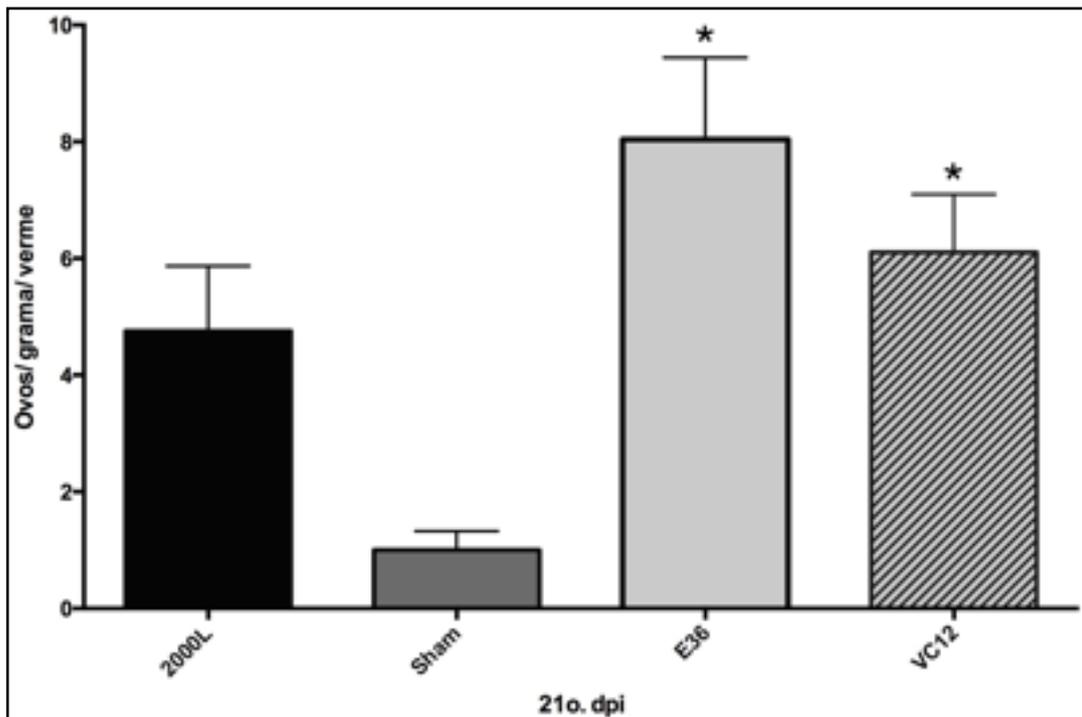


Figura 17: Fecundidade no 21ºdpi para os grupos infectados com 2000 larva não tratado, tratados com ponto Sham, acupontos E36 e VC12. Valores expressos em média \pm erro padrão. * vs Sham.

5.2.2 Análise da Motilidade Gastrointestinal

Os efeitos do tratamento de acupuntura no trânsito gastrointestinal de animais infectados com *S. venezuelensis* pode ser observado nas figuras 18 à 20. Ao longo da infecção, não houve modificação substancial do trânsito gastrointestinal para os grupos Sham e E36. No grupo VC12, esvaziamento gástrico foi acelerado no dia 12 e 21ºdpi (Fig. 18). O grupo E36 apresentou uma lentificação no GET no 18ºdpi em relação ao 3ºdpi.

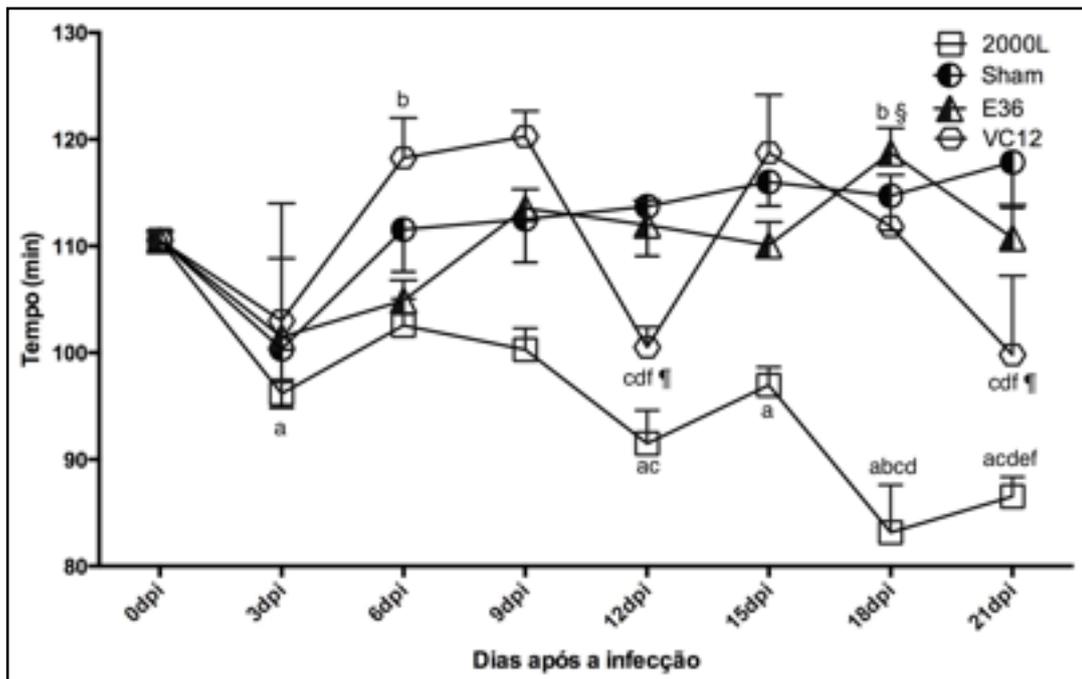


Figura 18: Tempo de esvaziamento gástrico para o tratamento de acupuntura. Valores expressos em média \pm erro padrão para dos grupos infectados com 2000 larvas e não tratados, tratado com ponto Sham, com os acupontos E36 e VC12. ^a vs 0dpi (não infectado); ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi.

Somando-se à isso, após o tratamento com VC12 o trânsito gastrointestinal e a chegada do alimento ao ceco foi lentificada do dia 3 ao dia 21 após a infecção (Fig. 19-20). O tratamento de acupuntura no acuponto E36 não resultou em alterações significativas no trânsito intestinal.

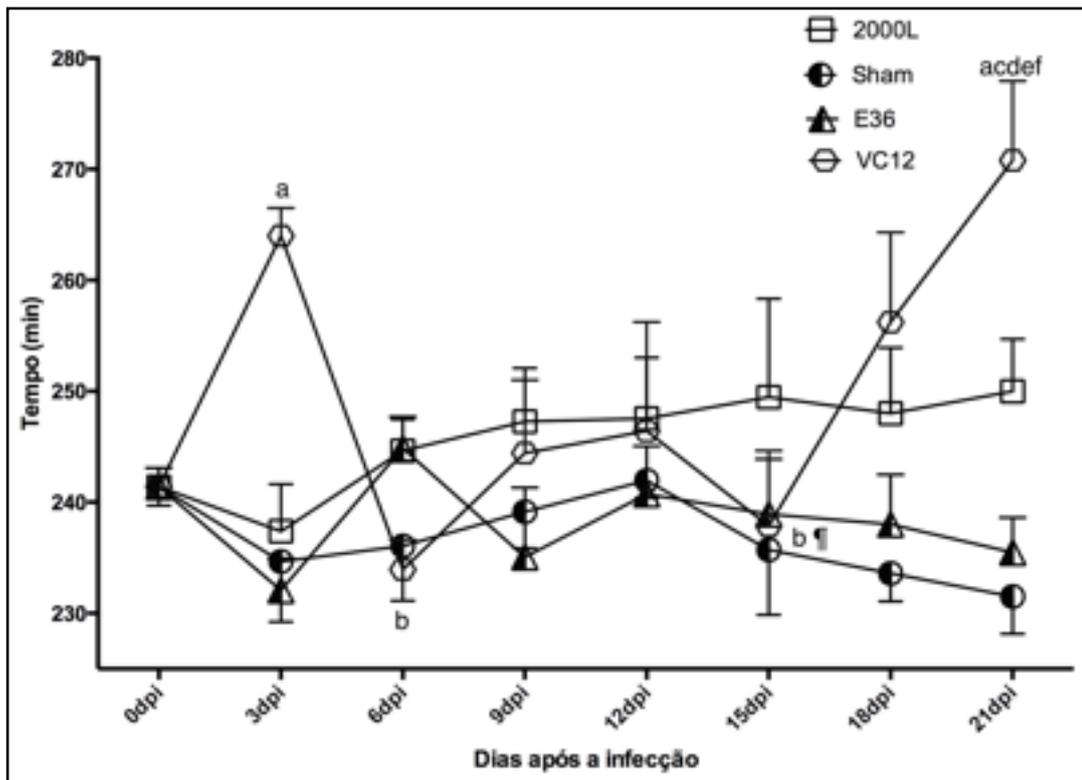


Figura 19: Tempo de chegada do alimento ao ceco para o tratamento de acupuntura. Valores expressos em média \pm erro padrão para dos grupos infectados com 2000 larvas e tratado com ponto Sham, com os acupontos E36 e VC12. ^a vs 0dpi (não infectado); ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi.

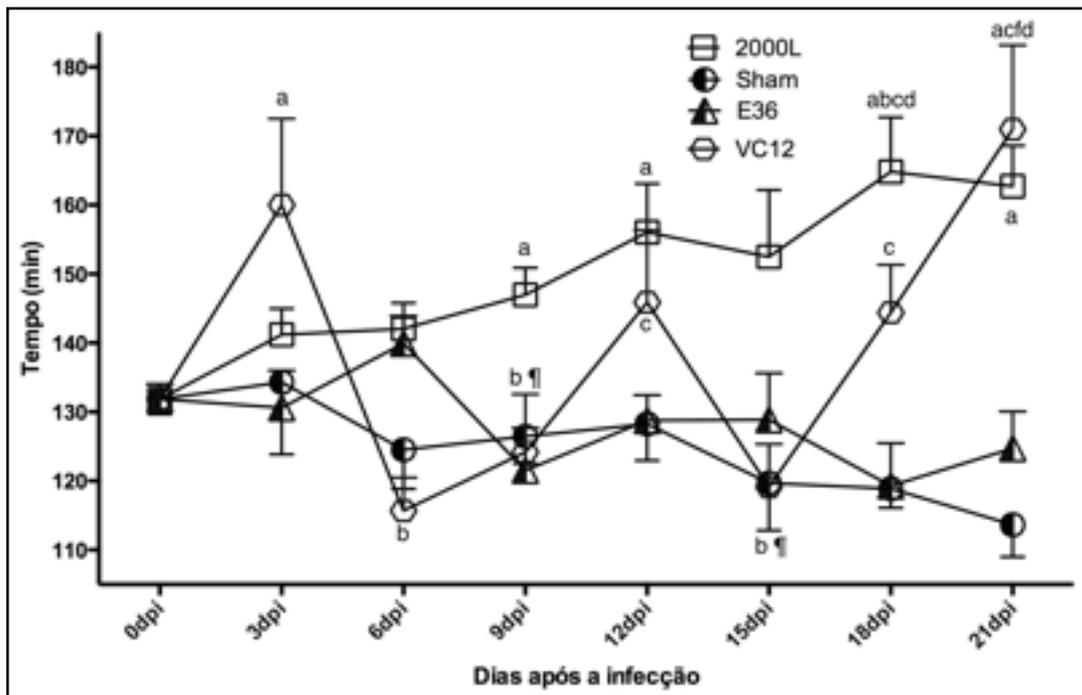


Figura 20: Tempo de trânsito do alimento pelo intestino delgado para o tratamento de acupuntura. Valores expressos em média \pm erro padrão para dos grupos infectados com 2000 larvas e tratado com ponto Sham, com os acupontos E36 e VC12. ^a vs 0dpi (não infectado); ^b vs 3dpi; ^c vs 6dpi; ^d vs 9dpi; ^e vs 12dpi; ^f vs 15dpi.

Na figura 21 observa-se o peso das fezes ao longo dos 21 analisados após a infecção. O peso das fezes foi menor no dia 12 após a infecção em animais tratados com VC12 comparado aos tratados com E36, confirmando a lentificação do trânsito gastrointestinal. Ao longo do experimento não houveram outras diferenças estatísticas entre os grupos de tratamento e o controle não tratado (2000L).

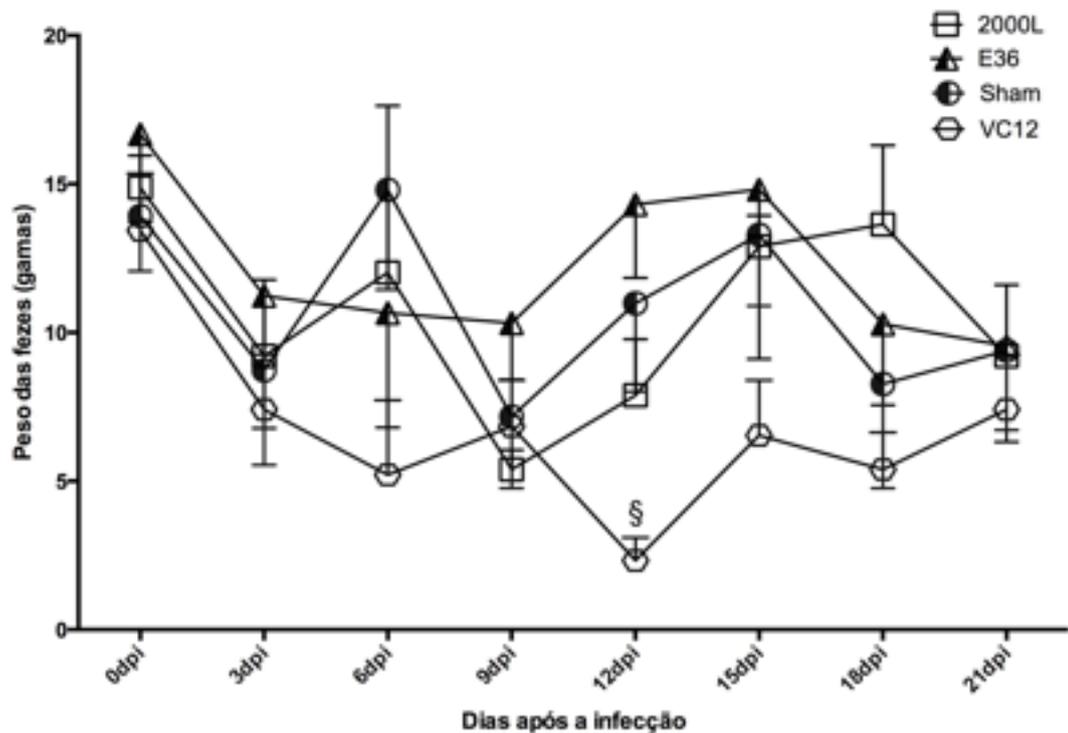


Figura 21: Peso das fezes para os diferentes grupos de tratamento. Valores expressos em média \pm erro padrão. § vs grupo E36.

5.2.3. Análise Comparativa entre os Parâmetros

A correlação de *Pearson* mostrou uma relação positiva entre o tempo de infecção e o esvaziamento gástrico para os grupos Sham e E36, enquanto uma correlação negativa foi observada para o grupo VC12 (tabela 3). Durante a infecção, a passagem do tempo significativamente acelerou o esvaziamento gástrico ($R=-0.35$) e lentificou o trânsito gastrintestinal ($R=0.34$) no decurso do tratamento com VC12. Além disso, houve uma correlação positiva entre oviposição e chegada do alimento ao ceco no grupo Sham.

Table 3. Coeficiente de correlação de *Pearson* (r) obtido entre os parâmetros parasitológicos e o perfil de trânsito gastrointestinal para o tratamento de acupuntura.

	Sham		E36	VC12	
	GET	CAT	GET	GET	SITT
OPG		0,48**			
Tempo	0,54*		0,45**	-0,35***	0,34****

*p<0,0003; **p<0,003; ***p<0,03

6- DISCUSSÃO

6.1. Avaliação do trânsito gastrintestinal após infecção com diferentes cargas de *S. venezuelensis* (400, 2000, 10000 larvas) em ratos.

O trânsito gastrointestinal de ratos submetidos à diferente carga parasitária na infecção experimental por *S. venezuelensis* foi caracterizado por meio da BAC, que foi, pela primeira vez empregada em uma helmintíase. O aumento na carga parasitária reduziu a relação entre os parâmetros parasitológicos e de trânsito gastrointestinal, sendo que aparentemente o funcionamento do TGI permanece alterado mesmo após o término da infecção. Por outro lado, uma pequena carga parasitária conduziu a uma resposta mais linear, provavelmente devido a uma perturbação gastrointestinal reduzida. Estes resultados sugerem que o número de larvas inoculadas desempenha um papel importante na patogênese da infecção, por causar perturbações gastrintestinais em ratos, tal como foi previamente demonstrada em coelhos (KOBAYASHI & HORII, 2008).

Um número excessivo de parasitos resultou em uma baixa fecundidade (Fig. 11). Esses achados sugerem uma competição entre vermes adultos e, conseqüentemente, uma diminuição na taxa de fecundidade (FERREIRA *et al.*, 2007). Outros estudos demonstraram que em infecções muito intensas os efeitos tendem a ser menores do que em infecções mais brandas, sendo que esse fenômeno ficou conhecido como efeito “Crowding”. O efeito “crowding” foi descrito por Webster (1923) durante infecção tifoide e posteriormente, confirmado em outras circunstâncias (LURIE, 1930). Entretanto até o momento

esse fenômeno ainda não tinha observado em infecção por *S. venezuelensis*. O esvaziamento gástrico foi mais rápido, o trânsito intestinal lentificado (Figuras 12 e 14) e o peso das fezes, por sua vez, não mudou significativamente (Tabela 1). Esses resultados estão de acordo com uma sobrecarga nas funções fisiológicas que se segue ao íleo paralítico e a lesão dos gânglios mesentéricos (KOBAYASHI *et al.*, 2009; De PAOLI & JOHNSEN, 1978).

No homem, *S. stercoralis* é um nematóide intestinal causador da estrogiloidíase, que provoca uma infecção crônica assintomática do trato gastrintestinal em hospedeiros imunocompetentes e pode permanecer indetectável por décadas. Em pacientes imunocomprometidos essa infecção pode evoluir para uma síndrome de hiperinfecção ou doença disseminada (KEISER & NUTMAN, 2004; MARCOS *et al.*, 2008). No entanto, existem poucos estudos sobre infecção com altas cargas em ratos sem imunossupressão associada. É importante estimar o efeito de um número alto de vermes no trânsito gastrintestinal na ausência de qualquer tratamento medicamentoso, uma vez que a imunossupressão *per se* pode modificar os parâmetros motores GI (DALL'AGNOL *et al.*, 2014). Nosso modelo proporcionou uma nova abordagem para a compreensão da hiper-infecção considerando que o tempo de trânsito intestinal lentificado pode intensificar a auto-infecção por *S. stercoralis*. Na síndrome da hiper-infecção, uma completa perturbação da mucosa gastrintestinal, ulceração, íleo paralítico com enteropatia exudativa, tanto quanto sangramento excessivo podem ocorrer devido a invasão direta pelas larvas infectantes (CSERMELY *et al.*, 2006; SARAEI *et al.*, 2014). Considerando que a hiper-infecção é uma característica do *S. stercoralis* e apesar das graves manifestações, a maioria dos estudos

têm utilizado apenas cargas intermediárias (1000 - 3000 L3) comparável a infecção assintomática (FERREIRA *et al.*, 2010; GONÇALVES *et al.*, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2013; WILKES *et al.*, 2007). A carga intermediária representa uma infecção auto-controlada a qual o hospedeiro é capaz de responder. Nesse sentido, nossos dados mostram um aumento significativo na fecundidade com carga intermediária comparado à infecção com 10000 larvas. O pico de oviposição e fecundidade foi acompanhado por uma redução drástica no peso das fezes no mesmo dia após a infecção, nesse grupo infectado com a carga intermediária (Tabela 1).

Para um melhor entendimento da relação parasito-hospedeiro e da patogenia dessa infecção, uma série de estudos tem visado a caracterização imunológica (CHIUSO-MINICUCCI *et al.*, 2010; HERBERT *et al.*, 2002; GONÇALVES *et al.*, 2012) e o perfil pulmonar da infecção por *S. venezuelensis* (SILVEIRA *et al.*, 2002; NEGRÃO-CORRÊA *et al.*, 2004). Entretanto, os esforços para explicar o trânsito GI durante a infecção *in vivo* são imprescindível, inclusive para outras espécies com interesse comercial, como coelhos e gerbis (KOBAYASHI & HORII, 2008; KOBAYASHI, 2009). Para analisar o trânsito GI, as técnicas precisam ser capazes de reproduzir condições experimentais agudas e crônicas, além da repetição de experimentos em um mesmo animal. Muitos animais morrem em procedimentos invasivos e/ou expostos a radiação ionizante, tornando difícil comparar os resultados com os obtidos no homem (ENCK & WIENBECK, 1989; BAGGIO *et al.*, 2003). BAC permite avaliar o trânsito GI e a contratilidade *in vivo*, considerando os níveis de hormônios/peptídeos intestinais e um sistema nervoso entérico intacto.

É possível que a presença de infecção por nematoide suscite um distúrbio funcional, incluindo alterações na atividade contrátil da camada muscular lisa e na regulação nervosa intrínseca (COLLINS, 1996). Na carga parasitária maior, por exemplo, houve apenas correlações negativas entre os parâmetros GET e CAT, que provavelmente indicam uma perturbação na coordenação motora realizada pelo sistema nervoso entérico (Tabela 2). Apesar do OPG e do número de vermes diminuir no 21º dpi, o trânsito GI permaneceu alterado após o 21º dpi, sinalizando uma lesão que pode ser transitória ou permanente no sistema nervoso entérico. A disfunção neuromuscular pode persistir mesmo após a redução da inflamação da mucosa (COLLINS, 1996). Por outro lado, já foi observado uma completa recuperação das lesões pulmonares provocadas pelo *S. venezuelensis* indicando que as lesões no trato gastrointestinal decorrentes desse parasito merecem novos estudos (SILVEIRA *et al.*, 2002).

Algumas citocinas, como IL-4 e IL-13, têm sido usualmente dosadas durante a infecção parasitária e seus efeitos ligados a hipercontratibilidade *in vitro* (SCHMIDT *et al.*, 2012). No entanto, apesar da importâncias dessas citocinas, pouco se sabe sobre os seus mecanismos e manifestações no GI *in vivo* (KOBAYASHI *et al.*, 2009). Efeitos excitatórios na contratilidade GI isolada nem sempre se refletem em uma propulsão do conteúdo luminal aumentada (TSUBOUCHI *et al.*, 2003). Além disso, distúrbios motores no GI podem tornar difícil o tratamento anti-helmíntico via oral (GIANNOULIS *et al.*, 1986; NONAKA *et al.*, 1998; TARR *et al.*, 2003). Nesse contexto, com o modelo experimental adotado neste trabalho é possível monitorar os efeitos durante toda a infecção em um mesmo animal e, ainda apresenta o de tratamento concomitante com outras drogas. Um estudo prolongado é necessário para

avaliar as modificações histológicas causadas pela fêmea do *S. venezuelensis* na mucosa do intestino delgado e para identificar as lesões que fazem com que o trânsito GI permaneça alterado mesmo após a redução dos vermes e do OPG. No futuro, as investigações sobre a motilidade gastrointestinal podem ajudar a desvendar uma possível relação com a re-infecção.

O esvaziamento gástrico permaneceu acelerado e o trânsito intestinal lentificado até o fim do experimento. Estabelecer um modelo para estudar a infecção com *S. venezuelensis* é muito importante para avaliações focadas na gravidade dos danos gastrintestinais *in vivo*. Sintetizando, o aumento na carga parasitária reduziu a correlação entre parâmetro parasitológico e o perfil de trânsito gastrointestinal, embora todas as cargas tenham ocasionado dano gastrointestinal persistente.

6.2 Efeito da acupuntura (E36, VC12 e Sham) no trânsito gastrointestinal de ratos infectados com *S. venezuelensis*.

A acupuntura tem sido amplamente utilizada para o tratamento de vários distúrbios GI (WANG *et al.*, 2013). No entanto, há pouca informação sobre os seus efeitos em ratos parasitados. Este é o primeiro estudo que utiliza a acupuntura no tratamento de um parasita intestinal, como os pertencentes ao gênero *Strongyloides*. Em ambos os pontos de acupuntura aumentaram a taxa de fecundidade em comparação com o grupo Sham ao término do tratamento, podendo atrapalhar a resposta do hospedeiro ao parasita. AGUIAR *et al.*

(2012) mostraram que o tratamento E36 aumentou a susceptibilidade à infecção por *Leishmania major*.

Nossos dados sugerem que o grupo Sham não foi completamente adequado devido à sua semelhança com os resultados obtidos durante o tratamento com acuponto E36. O grupo Sham mostrou uma correlação positiva entre o OPG e o tempo de chegada do alimento ao ceco, o que significa que um aumento da oviposição leva à um trânsito intestinal lentificado. O E36 não alterou a oviposição ao longo de 21 dias de infecção comparado ao grupo Sham. Na verdade, exceto por reduzir o número de vermes no 21° dpi e, conseqüentemente, aumentar a taxa de fecundidade, o acuponto E36 não foi capaz de provocar modificações significativas no tempo de trânsito intestinal ou no peso das fezes comparado com o grupo Sham. Em relação ao grupo infectado não tratado, no entanto, tanto o grupo E36 quanto o Sham aceleraram o transito gastrintestinal. O tratamento com VC12 aumentou significativamente o OPG no 9°dpi em comparação com os grupos Sham e E36. Inesperadamente, o tratamento com VC12 aumentou o OPG e o número de vermes, lentificou o tempo de trânsito intestinal e, conseqüentemente, diminuiu do peso das fezes (no 12°dpi). Corroborando com esses dados, o esvaziamento gástrico foi significativamente mais rápido no 12° e 21°dpi. Independentemente do tratamento de acupuntura, a infecção tende a seguir o mesmo perfil observado no grupo não tratado, exceto pelas alterações no trânsito gastrintestinal que parecem ter sido minimizadas.

Diversas evidências demonstraram que acupontos localizados em diferentes partes do corpo produzem efeitos diferentes através de reflexos somatoautonômicos específicos. Por exemplo, o efeito facilitador do E36, no

membro posterior, sobre a motilidade gástrica (contrações musculares) parece ser mediado pela via somatoparassimpática, enquanto o efeito inibitório (relaxamento muscular) da acupuntura no abdômen foi atribuído à via somatossimpática (LI *et al.*, 2007; TATEWAKI *et al.*, 2003). Além disso, um efeito excitatório do E36 e inibitório do VC12 na motilidade gástrica por meio de acupuntura manual também tem sido demonstrado em ratos (YANG-SHUAI 2014; LI *et al.*, 2006; LI *et al.*, 2007). Nossos dados corroboram com esses achados, demonstrando uma relação positiva entre o esvaziamento gástrico e tempo de infecção no grupo E36, e uma correlação negativa no grupo VC12. Ao longo da infecção, os animais tratados com E36 tiveram o seu esvaziamento gástrico retardado, enquanto que os animais tratados com VC12 apresentaram um esvaziamento gástrico acelerada. Investigar esses dois pontos de acupuntura no hospedeiro infectado com *S. venezuelensis* proporciona um modelo favorável à observação de seus efeitos opostos sobre o transito gastrintestinal.

Convém ressaltar que os dados levantam um alerta para os riscos do tratamento com acupuntura em áreas endêmicas para parasitas que tem sido associados com altas taxas de morbidade e mortalidade, como o *S. stercoralis* (PAULA & COSTA-CRUZ, 2011; VINEY & LOK, 2007). *Strongyloides venezuelensis*, que infecta naturalmente ratos, são frequentemente utilizados em estudos experimentais que visam a compreensão do perfil parasitológico no homem por *S. stercoralis* (SCHILTER *et al.*, 2010), considerando que a estrogiloidiase tem uma distribuição mundial heterogênea e afeta atualmente entre 100-200 milhões de pessoas (VINEY & LOK, 2007).

Nossos dados também levantam uma questão sobre a importância da seleção de pontos de acupuntura. Considerando-se que a acupuntura já é uma prática de uso generalizado, sua segurança deve ser estabelecida e a incidência de eventos adversos, em diferentes contextos e populações, melhor detalhada (MacPHERSON & HAMMERSCHLAG, 2012; ERNST & WITHE, 1997). Só recentemente, na era da medicina baseada em evidências, a acupuntura vem sendo testada por avaliação sistemática de sua eficiência, monitoramento de eventos adversos, e exploração de fisiologia subjacente (MacPHERSON & HAMMERSCHLAG, 2012). Assim, tratamentos empregando o acuponto VC12 em indivíduos infectados com *S. stercoralis* em áreas endêmicas requerem atenção devido à probabilidade de constipação e maior oviposição. No mesmo contexto, o acuponto E36 deve ser cuidadosamente manipulado, porque aumenta a taxa de fecundidade, embora não altere o trânsito gastrointestinal em relação ao grupo Sham. No entanto, considerando o paciente como um todo, a acupuntura gera efeitos locais e sistêmicos (CHOI *et al.*, 2012), conforme pode ser observado durante o tratamento com E36 reduzindo o número de vermes e melhorando o perfil motor comparado ao controle não tratado.

Em nossos experimentos, o não-acuponto (Sham) localizado na cauda, não representou uma forma adequada de grupo controle, uma vez que os resultados foram muito semelhantes aos do grupo E36. O grupo sham aumentou o número de vermes após os 21 dias de tratamento, embora tenha reduzido a taxa de fecundidade. Convém salientar que acupuntura em não-ponto (Sham) não é fisiologicamente inerte e produz efeitos clínicos mensuráveis (LUNDEBERG *et al.*, 2008; MOFFET, 2009). Estudos recentes

com acupuntura, utilizando ensaios clínicos randomizados, incluindo grupos sham e sem tratamento (MADSEN *et al.*, 2009; KOOG & JUNG, 2013), não foram capazes de determinar diferenças entre eles (DIENER *et al.*, 2006;. LINDE *et al.*, 2005; MELCHART *et al.*, 2005). Estudos consistentemente mostraram que ambos os tratamentos de acupuntura tanto real e quanto placebo conferem benefícios significativos sobre as condições controle de não-tratamento (BALLEGAARD *et al.*, 1993; COAN *et al.*, 1980); entretanto, acupuntura real parece ser significativamente mais eficiente do que a acupuntura placebo (BERMAN *et al.*, 2004; VICKERS *et al.*, 2012) ou similar (WHITE *et al.*, 2000; CHERKIN *et al.*, 2009). Apesar da adoção de vários tipos de controles, considerando-se que os mecanismos fisiopatológicos subjacentes a resposta à acupuntura ainda não estão claros (CHOI *et al.*, 2012), mais estudos são necessários para utilização de acupuntura em modelo parasitado. A disseminação dos tratamentos de acupuntura exige conhecimento sobre seus efeitos em todas as condições, incluindo infecção parasitária intestinal.

7- CONCLUSÕES

7.1. Parte I- Avaliação do trânsito gastrointestinal após infecção com diferentes cargas de S. venezuelensis (400, 2000, 10000 larvas) em ratos.

❖ O parasito interfere no trânsito GI acelerando o esvaziamento gástrico e lentificando o trânsito intestinal, sendo que essas alterações permanecem mesmo com a melhora da infecção.

❖ O organismo foi mais responsivo a menor carga do que as maiores cargas.

❖ O aumento da oviposição é concomitante ao menor peso das fezes, sinalizando uma constipação no 9º dpi.

7.2. Parte II- Efeito da acupuntura (E36, VC12 e Sham) no trânsito gastrointestinal de ratos infectados com *S. venezuelensis*.

❖O tratamento de acupuntura em indivíduos parasitados é questionável uma vez que não favoreceu apenas o hospedeiro na infecção por *S. venezuelensis*.

❖O tratamento com acuponto E36 apresenta pontos positivos e negativos para a relação parasito-hospedeiro.

❖O tratamento com acuponto VC12 apresenta pontos positivos apenas para o parasito, não necessariamente para o hospedeiro.

❖O ponto Sham na cauda não foi completamente adequado, uma vez que obteve resultados diferentes do grupo não tratado e semelhante ao E36.

❖Até o momento, nossos dados desencorajam o tratamento com acupuntura durante a infecção por *S. venezuelensis* até que novos estudos sejam realizados.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGUIAR, D.N.; SILVA, M.M.; PARREIRA, W.V.; TOME, F.D.; BATISTA, L.F.; GOMES, C.M.; OLIVEIRA, M.A.P. Electroacupuncture at the ST36 acupoint increases interleukin-4 responsiveness in macrophages, generation of alternatively activated macrophages and susceptibility to *Leishmania major* infection. *Chinese Medicine*, v.7, P. 17, 2012.

ALI, A.M.; MASUD, T.; ARIF, S. Frequency of parasitic infection in faecal specimens. *J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad.*, v. 26 (1), p. 49-51, 2014

AMÉRICO, M.F.; MIRANDA, J.R.A.; CORÁ, L.A.; ROMEIRO, F.G. Electrical and mechanical effects of hyoscine butylbromide on the human stomach: a non-invasive approach. *Physiol. Meas.*, v.30(4), 363–70, 2009.

AMÉRICO, M.F.; MARQUES, R.G.; ZANDONÁ, E.A.; ANDREIS, U.; STELZER, M.; CORÁ, L.A.; OLIVEIRA, R.B.; MIRANDA, J.R.A. Validation of ACB in vitro and in vivo as a biomagnetic method for measuring stomach contraction. *Neurogastroenterol. Motil.*, v. 22(12), p.1340–74, 2010.

AZPIROZ, F. & MALAGELADA, J.R. Intestinal control of gastric tone. *Am. J. Physiol.*, v. 249, p. G501-G507, 1985.

BAGGIO, C. H. et al. Gastroprotective effects of a crude extract of *Baccharis illinita* DC in rats. *Pharmacol Res*, v. 47, p. 93-98, 2003.

BALLERGAARD, S.; MUTEKI, T.; HARADA, H. et al. Modulatory effect of acupuncture on the cardiovascular system: a cross-over study. *Acupuncture and Electro-Therapeutics Research*, v. 18 (2), pp. 103–115, 1993.

BERMAN, B. M.; LAO, L.; LANGENBERG, P.; LEE, W. L.; GILPIN, A. M. K.; and HOCHBERG, M. C. Effectiveness of acupuncture as adjunctive therapy in osteoarthritis of the knee. A randomized, controlled trial. *Annals of Internal Medicine*, v. 141 (12), pp. 901–910, 2004.

BERSCHNEIDER, H.M. Complementary and Alternative Veterinary Medicine and gastrointestinal disease. *Clinical Thecniques in small animal practice.*, v. 17 (1), p.19-24, 2002.

BORGES, D.C.; ARAÚJO, N.M.; CARDOSO, C.R.; CHICA, J.E.L. Different parasite inocula determine the modulation of the immune response and outcome of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Immunology*, v.138, p. 145-156, 2012.

CALABRESI, Marcos Felipe de Freitas. Avaliação da atividade de contração e esvaziamento gástrico em ratos gastrectomizados por biosusceptometria AC. Botucatu, 2013. 45p. Dissertação (Mestrado em Biologia Geral e Aplicada). Instituto de Biociência, Universidade Estadual Paulista.

CAMILLERI, M. & FORD, M.J. Review article: colonic sensorimotor physiology in health, and its alteration in constipation and diarrhoeal disorders. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v. 12, p. 287-302, 1998.

CHEN, T. S. et al. Effects of sex steroid hormones on gastric emptying and gastrointestinal transit in rats, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, v. 268, p. G171-G176, 1995.

CHEN, J.; SONG, G.Q.; YIN, J.; KOOTHAN, T.; CHEN, J.D.Z. Electroacupuncture improves impaired gastric motility and slow waves induced by rectal distension in dogs. *Am J Physiol: Gastrointest Liver Physiol*. v. 295, p.G614-G620, 2008.

CHEONG, KB; ZHANG, J-P; HUANG, Y. The effectiveness of acupuncture in postoperative gastroparesis syndrome- a systematic review and meta-analysis. *Comp. Thep. Med.*, v. 22 (4), p.767-786, 2014.

CHERKIN, D. C.; SHERMAN, K. J.; AVINS, A. L. et al. A randomized trial comparing acupuncture, simulated acupuncture, and usual care for chronic low back pain. *Archives of Internal Medicine*, v. 169 (9), pp. 858–866, 2009.

CHIUSO-MINICUCCI, F.; MARRA, N.M.; ZORZELLA-PEZAVENTO, S.F.G.; FRANÇA, T.G.D.; ISHIKAWA, L.L.W.; AMARANTE, M.R.V.; AMARANTE, A.F.T.; SARTORI, A. Recovery from *Strongyloides venezuelensis* infection in Lewis rats is associated with a strong Th2 response. *Parasite Immunology*, v. 32, p. 74-78, 2010.

CHO, Z.H.; HWANG, S.C.; WONG, E.K.; SON, Y.D.; KANG C.K.; PARK, T.S.; BAI, S.J.; KIM, Y.B.; LEE, Y.B.; SUNG, K.K.; LEE B.H.; SHEPP, L.A; MIN, K.T. Neural substrates, experimental evidences and functional hypothesis of acupuncture mechanisms. *Acta Neurol Scand.*, v.113(6), p. 370-7, 2006.

CHOI, W.; LEE, S.; CHO, S.; PARK, K. Differential autonomic response to acupuncture at wood and metal of five-shu acupoints. *J. Altern. Complement. Med.*, v. 18 (10), p. 959-64, 2012.

COAN, R. M.; WONG, G.; LIANG KU, S. The acupuncture treatment of low back pain: a randomized controlled study. *American Journal of Chinese Medicine*, v. 8 (1-2), pp. 181– 189, 1980.

COLLINS, S.M. The immunomodulation of enteric neuromuscular function: implications for motility and inflammatory disorders. *Gastroenterology*, v. 111, p. 1683-1699, 1996.

CORÁ, L.; ROMEIRO, F.; STELZER, M.; AMERICO, M.; OLIVEIRA, R.; BAFFA, O.; MIRANDA, J.R.A. AC biosusceptometry in the study of drug delivery. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, v. 57(8), p.1223–41, 2005.

CSERMELY, L.; JAAFAR, H.; KRISTENSEN, J.; CASTELLA, A.; GORKA, W.; CHEBLI, A.A.; TRAB, F.; ALIZADEH, H.; HUNYADY, B. Strongyloides hyperinfection causing life-threatening gastrointestinal bleeding. *World Journal of Gastroenterology*, v. 12 (39), p. 6401-4, 2006.

DALL'AGNOL, D.J.R.; HAUSCHILDT, A.T.; LIMA, M.B.; CORÁ, L.A.; TEIXEIRA, M.C.B.; AMERICO, M.F. Effects of immunosuppressive drugs on gastrointestinal transit of rats: effects of Tacrolimus, Cyclosporine and Prednisone. *Transplantation Proceedings*, v. 46 (6), p. 1872-1874, 2014.

De PAOLI, A. & JOHNSEN, D.O. Fatal Strongyloidiasis in Gibbons (*Hylobates lar*). *Veterinary Pathology*, v. 15, p. 31-39, 1978.

DIENER, H. C., KRONFELD, K., BOEWING, G., LUNGENHAUSEN, M., MAIER, C., MOLSBERGER, A., *et al.* (2006). Efficacy of acupuncture for the prophylaxis of migraine: a multicentre randomised controlled clinical trial. *Lancet Neurology*, v.5(4), p.310–316, 2006.

DUNN, A & KEYMER, A. Factors affecting the reliability of the McMaster technique. *J. Helminthol.*, v. 60 (4), p. 260-2, 1986.

ENCK, P.; WIENBECK, M. Repeated noninvasive measurement of gastrointestinal transit in rats. *Physiol Behav*, v. 46, p. 633-637, 1989.

ERNST, E. & WHITE, A. Life-threatening adverse reactions after acupuncture? A systematic review. *Pain*, v. 71, p. 123e126, 1997.

FERREIRA, C.M.; PEREIRA, A.T.; SOUZA, R.S.; CASSALI, G.D.; SOUZA, D.G.; LEMOS, V.S.; TEIXEIRA, M.M.; CORRÊA-NEGRÃO, D. Prevention of changes in airway function facilitates *Strongyloides venezuelensis* infection in rats. *Microbes and Infection*, v. 9, p.813-820, 2007.

FERREIRA, CM; PEREIRA, ATM; SOUZA, RS; COELHO, FM; POOLE, S; TEIXEIRA, MM; NEGRÃO-CORRÊA, D. Role of IL-13 in a model of *Strongyloides venezuelensis* infection in rats. *Microbes and Infection.*, 12, 409-414, 2010.

GAVRONSKY, S.; KOENIGER-DONOHUE, R.; STELLER, J.; HAWKINS, J.W. Postoperative pain: acupuncture versus percutaneous electrical nerve stimulation. *Pain Manag Nurs.*, v.13(3), p.150-6, 2012.

GEORGE, J.D. New clinical method for measuring the rate of gastric emptying: the double sampling test meal, *Gut*, v. 9, p. 237-242, 1968.

GIANNOULIS, E.; ARVANITAKIS, C.; ZAPHIROPOULOS, A.; NAKOS, V.; KARKAVELAS, G.; HARALAMBIDIS, S. Disseminated strongyloidiasis with uncommon manifestations in Greece. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 89, p.171-178, 1986.

GONÇALVES, A.L.R.; SILVA, C.V.; UETA, M.T.; COSTA-CRUZ, J.M. A new faecal antigen detection system for *Strongyloides venezuelensis* diagnosis in immunosuppressed rats. *Experimental Parasitology*, v.125, p.338-341, 2010.

GONÇALVES, A.L.R.; SILVA, C.V.; UETA, M.T.; COSTA-CRUZ, J.M. Antigen, antibody and immune complex detection in serum samples from rats experimentally infected with *Strongyloides venezuelensis*. *Experimental Parasitology.*, v.130, p.205-208, 2012.

GROVE, D.I. Human strongyloidiasis. *Advanced Parasitology*, v.38, p. 251-309, 1996.

HERBERT, D.R., NOLAN, T.J., SCHAD, G.A., ABRAHAM, D. The role of B-cells in immunity against larval *Strongyloides stercoralis* in mice. *Parasite immunology*, v. 24, p.95-101, 2002.

HOLMÉR PETTERSSON, P.; WENGSTROM Y. Acupuncture prior to surgery to minimise postoperative nausea and vomiting: a systematic review. *J Clin Nurs*, v. 21 (13-14), p.1799-805, 2012.

HUI, K.K.; LIU, J.; MAKRIS, N.; GOLLUB, R.L.; CHEN, A.J.; MOORE, C.I.; KENNEDY, D.N.; ROSEN, B.R.; KWONG, K.K. Acupuncture modulates the limbic system and subcortical gray structure of the human brain: evidence from fMRI studies in normal subjects. *Hum Brain Mapp.*, v. 9(1), p.13-25, 2000.

HUIZINGA, J.D. & DANIEL, E.E. Control of human colonic motor function. *Dig. Dis. Sci.*, v. 31, p. 865-877, 1986.

IWA, M.; TATEIWA, M.; SAKITA, M.; FUJIMIYA, M.; TAKAHASHI, T. Anatomical evidence of regional specific effects of acupuncture on gastric motor function in rats. *Auton Neurosci*, v.137, p.67–76, 2007.

JOHNSON, Leonard R. Regulation: nerves and smooth muscle. In _____. *Gastrointestinal physiology*. 9^o ed. ebook: Elsevier, p. 33- 45, 2014.

JOHNSTON, M. F.; SÁNCHEZ, E.O.; VUJANOVIC, N. L.; LI, W. Acupuncture may stimulate anticancer immunity via activation of natural killer cells. *Evidence-Based complementary and alternative medicine*, p. 1-14, 2011.

KHAN, W.I. & COLLINS, S.M. Gut motor function: immunological control in enteric infection and inflammation. *Clin Exp Immunol*, v.143, p. 389-397, 2005.

KEISER, P.B., NUTMAN, T.B. *Strongyloides stercoralis* in the immunocompromised population. *Clin . Microbiological Reviews*, v.17, p. 208-217, 2004.

KIM, Y.S.; HONG, J.W.; NA B.J.; PARK, S.U; JUNG, W.S.; MOON, S.K.; KO, C.N.; CHO, K.H.; BAE, H.S. The effect of low versus high frequency electrical acupoint stimulation on motor recovery after ischemic stroke by motor avoked potentials study. *Am J Chin Med.*, v.36 (1), p.45-54, 2008.

KOBAYASHI, I.; HORII, Y. Gastrointestinal motor disturbance in rabbits experimentally infected with *Strongyloides papillosus*. *Veterinary Parasitology*, v.158, p.67-72, 2008.

KOBAYASHI, I.; KAJISA, M.; FARID, A.S.; YAMANAKA, A.; HORII, Y. Paralytic ileus and subsequent death caused by enteric parasite *Strongyloides*

papillosus in Mongolian gerbils. *Veterinary Parasitology*, v.162(1-2), p.100-5, 2009.

KOOG, Y.H; JUNG, W.Y. Time course of placebo effect of acupuncture on pain: a systematic review. *ISRN Pain*, v. 2013, p. 204-108, 2013.

LAWRENCE, C.E. is there a common mechanism of gastrointestinal nematode expulsion. *Parasite Immunol.*, v. 25 (5), p. 271-81, 2003.

LI, Y. Q.; ZHU, B.; RONG, P. J.; BEN, H.; LI, Y. H. "Effective regularity in modulation on gastric motility induced by different acupoint stimulation," *World Journal of Gastroenterology*, v. 12 (47), pp. 7642–7648, 2006.

LI, Y.-Q.; ZHU, B.; RONG, P.-J.; BEN, H.; LI, Y.-H. "Neural mechanism of acupuncture-modulated gastric motility," *World Journal of Gastroenterology*, v. 13, (5), pp. 709–716, 2007

LIN, Y.P.; YI, S.X.; YAN, J.; CHANG, X.R. Effect of acupuncture at foot-yangming meridian on gastric mucosal blood flow, gastric motility and brain-gut peptide. *World J Gastroenterol.*, v. 13(15), p. 2229-2233, 2007.

LINDE, K.; STRENG, A.; JÜRGENS, S.; HOPPE, A.; BRINKHAUS, B.; WITT, C. et al. Acupuncture for patients with migraine: a randomized controlled trial. *JAMA*, v. 293(17), p. 2118–21, 2005

LUNDEBERG, T.; LUND, I.; NÄSLUND, J.; & THOMAS, M. The Emperors sham - wrong assumption that sham needling is sham. *Acupuncture in Medicine*, v. 26(4), p. 239–242, 2008.

LURIE, M. B. The effect of crowding upon tuberculosis in guinea pigs, acquired by contact and by inoculation. *J. Exp. Med.* p. 729-41, 1930.

MACHADO, ER; CARLOS, D; SORGI, CA; RAMOS, SG; SOUZA, DI; SOARES, EG; COSTA-CRUZ, JM; UETA, MT; ARONOFF, DM; FACCIOLI, LH. Dexamethasone effects in the *Strongyloides venezuelensis* infection in a murine model. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, v. 84 (6), p.957-966, 2011.

MACPHERSON, H. & HAMMERSCHLAG, R. Acupuncture and the emerging evidence base: contrived controversy and rational debate. *J acupunct Meridian Stud.*, v. 5 (4), p.141-147, 2012.

MADSEN, M.V.; GØTZSCHE, P.C.; HROBJARTSSON, A. Acupuncture treatment for pain: systematic review of randomised clinical trials with acupuncture, placebo acupuncture, and no acupuncture groups. *BMJ*, v. 338, p. a3115, 2009.

MARCOS, L.A.; TERASHIMA, A.; DUPONT, H.L.; GOTUZZO, E. Strongyloides hyperinfection syndrome: an emerging global infectious disease. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.102, p.314-318, 2008.

MARQUES, R.G.; AMÉRICO, M.F.; SPADELLA, C.T.; CORÁ, L.A.; OLIVEIRA, R.B.; MIRANDA, J.R.A. Different patterns between mechanical and electrical activities: an approach to investigate gastric motility in a model of long-term diabetic rats. *Physiol Meas*, v. 35, p.69-81, 2014.

MARUYAMA, H; NISHIMAKI, A.; TAKUMA, Y. et al. Successive changes in tissue migration capacity of developing larvae of an intestinal nematode *Strongyloides venezuelensis*. *Parasitology*, v.132, p.411-418, 2006.

MCHUGH, T.D.; JENKINS, T.; GREENWOOD, R.; MCLAREN, D.J.; The migration and attrition of *Strongyloides ratti* in naive and sensitized rats. *J Helminthol*, v. 68, p.143–8, 1994.

MELCHART, D.; STRENG, A.; HOPPE, A.; BRINKHAUS, B.; WITT, C.; WAGENPFEIL, S.; et al. Acupuncture in patients with tension-type headache: randomised controlled trial. *BMJ*, v. 331(7513), p.376–382, 2005.

MELLO, D.A.; PRIPAS, S.; FUCCI, M.; SANTORO, M.C.; PEDRAZZANI, E.S. Helmintosos intestinais. *Rev Saude Publ*, v. 22 (2), p.140-9, 1988.

MIRANDA, J.R.A.; CORÁ, L.A.; AMÉRICO, M.F.; ROMEIRO, F.G.; A.C biosusceptometry technique to evaluate the gastrointestinal transit of pellets under influence of prandial state. *J. Pharm. Sci.*, v. 99(1), p.317–24, 2010.

MOFFET, H. H. Sham acupuncture may be as efficacious as true acupuncture: a systematic review of clinical trials. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, v.15(3), p.213–216, 2009.

MORAES, R.G. Contribuição para o estudo do *Strongyloides stercoralis* e da estrogiloidose no Brasil. *Rev. Serv. Esp. Saúde Pública.*, v.1, p. 507-624.1948.

NEGRÃO-CORRÊA, D.; SILVEIRA, M.R.; BORGES, C.M.; SOUZA, D.G.; TEIXEIRA, MM. Changes in pulmonary function and parasite burden in rats infected with *Strongyloides venezuelensis* concomitant with induction of allergic airway inflammation. *Infection and Immunity*, v.71 (5), p.2607-2614, 2003.

NEGRÃO-CORRÊA, D; SOUZA, DG; PINHO, V; BARSANTE, MM; SOUZA, ALS; TEIXEIRA, MM. Platelet-activating factor receptor deficiency delays elimination of adult worms but reduces fecundity in *Strongyloides venezuelensis*-infected Mice. *Infect and Immun.*, 72 (2), 1135-1142, 2004

NOGUCHI, E. Mechanism of reflex regulation of the gastroduodenal function by acupuncture. *eCAM*, v.5 (3), p.251-256, 2008.

NOGUCHI, E. Acupuncture regulates gut motility and secretion via nerve reflexes. *Autonomic Neuroscience: basic and clinical*, v.156, p.15-18, 2010.

NONAKA, D., TAKAKI, K., TANAKA, A. M., UMENO, M., TAKEDA, T., YOSHIDA, M., HARAGUCHI, Y., OKADA, K., SAWAE, Y. Paralytic ileus due to strongyloidiasis: case report and review of the literature. *American Journal of Tropical Medicine Hygiene*, v. 59, p.535-538, 1998.

ONAH, D.N.; NAWA, Y. Mucosal immunity against parasitic gastrointestinal nematodes. *Korean J Parasitol*, v. 38 (4), p.209-236, 2000.

OUYANG, H. & CHEN, J.D.Z. Review article: therapeutic roles of acupuncture in functional gastrointestinal disorders. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, v. 20, p. 831-841, 2004.

OUYANG H.; XING J. et al. Electroacupuncture Restores Impaired Gastric Accommodation in Vagotomized Dogs. *Digestive Diseases and Sciences*, v. 9 (9): pp. 1418–1424, 2004.

PAULA, F.M. & COSTA-CRUZ, J.M. Epidemiological aspects of strongyloidiasis in Brazil. *Parasitology*, v.138 (11), p.1331-1340, 2011.

PETTI, F.; BANGRAZI, A.; LIQUORI, A.; REALE, G.; IPPOLITI, F. Effects of acupuncture on immune response related to opioid-like peptides. *J Tradit Chin Med.*, v.18(1), p.55-63, 1998.

PEREIRA, Ana Terezinha de Moura. Papel de eosinófilos no desenvolvimento de proteção, na imunopatologia e nas alterações funcionais induzidas pela

infecção por *Strongyloides venezuelensis* Brumpt (1934), em camundongos Balb/c. Belo Horizonte , 2008. 115p. Dissertação (Mestrado em Parasitologia). Instituto de Ciências Biológicas III, Universidade Federal de Minas Gerais.

PODCZECK, F.; NEWTON, J.M.; YUEN, K.H. The description of the gastrointestinal transit of pellets assessed by gamma scintigraphy using statistical moments. *Pharmacological Research*, v. 12, p. 376-379, 1995.

QUINI, C.C.; AMÉRICO, M.F.; CORÁ, L.A.; CALABRESI, M.F.; ALVAREZ, M.; OLIVEIRA, R.B.; MIRANDA, J.R. Employment of a noninvasive magnetic method for evaluation of gastrointestinal transit in rats. *J Biol eng*, v. 6(1), p.6, 2012.

REY, L. *Strongyloides stercoralis* e estrogiloidíase. In:_____. Parasitologia. 4a. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.604 - 613, 2011.

RODRIGUES, R.M.; RIBEIRO-CARDOSO, C.; RIBEIRO-GONÇALVES, A.L.; SILVA, N.M.; MASSA, V.; ALVES, R.; UETA, M.T.; SANTANA-SILVA, J.; COSTA-CRUZ, J.M. Increased susceptibility to *Strongyloides venezuelensis* infection is related to the parasite load and absence of major histocompatibility complex (MHC) class II molecules. *Experimental Parasitology*, v.135, p.580-586, 2013.

SARAEI, M., HOSSEINBIGI, B., SHAHNAZI, M., BIJANI, B. Fatal *Strongyloides* hyper-infection in a patient with myasthenia gravis. *Infection*, 2014 (in press).

SATO, A; SATO, Y; SUZUKI, A; UCHIDA, S. Neural mechanism of the reflex inhibition and excitation of gastric motility elicited by acupuncture-like stimulation in anesthetized rats. *Neurosci. Res.*, 18 (1), 53-62, 1993.

SCHILTER, H.C.; PEREIRA, A.T.; ESCHENAZI, P.D.; FERNANDES, A.; SHIM, D.; SOUSA, A.L.; TEIXEIRA, M.M.; NEGRÃO-CORRÊA, D. Regulation of immune responses to *Strongyloides venezuelensis* challenge after primary infection with different larvae doses. *Parasite Immunol.*, v. 32 (3), p.184-92, 2010.

SCHMIDT, S.; HOVING, J.C.; HORSNELL, W.G.; MEARNES, H.; CUTLER, A.J.; BROMBACHER, T.M.; BROMBACHER, F. Nippostrongylus-induced intestinal hypercontractility requires IL-4 receptor alpha-responsiveness by T cells in mice. *Public Library of Science One*, v.7(12), p.e52211, 2012

SHUAI, X.; XIE, P.; LIU, J.; XIANG, Y.; LI, J.; LAN, Y. Different effects of electroacupuncture on esophageal motility and serum hormones in cats with esophagitis. *Dis. Esophagus*, v.21, p.170-175, 2008.

SILVEIRA, M.R., NUNES, K.P., CARA, D.C., SOUZA, D.G., CORRÊA, J.R. A., TEIXEIRA, M.M., NEGRÃO-CORRÊA, D. Infection with *Strongyloides venezuelensis* induces transient airway eosinophilic inflammation, an increase in immunoglobulin E, and hyperresponsiveness in rats. *Infection and Immunity*, v.70 (11), p.6263-6272, 2002.

SODIPO, J.; FALAYIE, J.M. Acupuncture and gastric acid studies. *Am J Chin Med*, v.7, p.356-361, 1979.

STERN, S.T.; TALLMAN, M.N.; MILES, K.K. et al. Gender-related differences in myphenolate mofetil-induced gastrointestinal toxicity in rats. *Drug metabolism and disposition*, v. 35 (3), p.449-454, 2007.

TADA, H.; FUKITA, M.; HARRIS, M.; TATEWAKI, M.; NAKAGAWA, K.; YAMAMURA, T.; PAPPAS, T.N.; TAKAHASHI, T. Neural mechanism of acupuncture-induced gastric relaxations in rats. *Dig. Dis. Sci.*, v. 48 (1), p. 59-68, 2003.

TAIRA, N., MINAMI, T., SMITANON, J. Dynamics of faecal egg counts in rabbits experimentally infected with *Strongyloides papillosus*. *Vet. Parasitol.*, v.39, p.333-336, 1991.

TAKAHASHI T.; SUMINO H. et al. Acupuncture Modifies Immune Cells. *J Exp Clin Med*, v.1(1), p.17-22, 2009.

TAKAMURE, A. Migration route of *Strongyloides venezuelensis* in rodents. *Int. J. Parasitol.*, v. 25: p. 907-911, 1995.

TAKASUMA, K.; HAGIWARA, T.; HIROHASHI, M. et al. Involvement of beta-glucuronidase in intestinal microflora in the intestinal toxicity of the antitumor camptothecin derivative irinotecan hydrochloride (CPT-11) in rats. *Cancer research*, v. 56, p. 3752-3757, 1996.

TATEWAKI, M.; HARRIS, M.; UEMURA, K.; UENO, T.; HOSHINO, E.; SHIOTANI, A.; PAPPAS, T.N.; TAKAHASHI, T. Dual effects of acupuncture on gastric motility in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*, v. 285(4), p. R862-72, 2003.

TARR, P.E., MIELE, P.S., PEREGOY, K.S., SMITH, M.A., NEVA, F.A., LUCEY, D.R. Case report: rectal administration of ivermectin to a patient with *Strongyloides hyper* infection syndrome. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v. 68, p. 453-455, 2003.

TSENG, C.-S.; SHEN W. S. et al. Dynamic Change of Energy Metabolism by Electroacupuncture Stimulation in Rats. *Am J Chin Med.*, v. 33(5), p. 767-78, 2005.

TSUBOUCHI, T., SAITO, T., MIZUTANI, F., YAMAUCHI, T., IWANAGA, Y. Stimulatory action of itopride hydrochloride on colonic motor activity in vitro and in vivo. *Journal of Pharmacological and Experimental Therapeutics*, v. 306 (2), p.787-793, 2003.

TSUJI, N.; OHTA, M.; FUJISAKI, K. Expression of a 70-kDa heat- shock-related protein during transformation from free-living infective larvae to the parasitic stage in *Strongyloides venezuelensis*. *Parasitol Res.*, v. 83, p. 99–102, 1997.

VALLANCE, B.A.; BLENNERHASSETT, P.A.; DENG, Y.; MATTHAEI, K.I.; YOUNG I.G.; COLLINS, S.M. IL-5 contributes to worm expulsion and muscle hypercontractility in a primary *T. spiralis* infection. *Am. J. Physiol.*, v. 277 (2-1), p.G400-8, 1999.

VINEY, M.E. & LOK, J.B. *Strongyloides* spp. *Wormbook*, v.23, p.1-15, 2007.

VICKERS, A. J.; CRONIN, A. M.; MASCHINO, A. C. *et al.* Acupuncture for chronic pain: individual patient data meta-analysis. *Archives of Internal Medicine*, v. 172, no. 19, pp. 1444–1453, 2012.

YAMAGUCHI, N; TAKAHASHI, T; SAKUMA, M; SUGITA, T; UCHIKAWA, K; SAKAIHARA, S; KANDA, T; ARAI, M; KAWAKITA, K. Acupuncture regulates leucyte subpopulations in human peripheral blood. *eCAM*, v.4 (4), p.447-453, 2007.

YANG-SHUAI, S.; ZHAO-KUN, Y.; JUAN-JUAN, X.; WEI, H.; HONG, S.; XIAO-YO, W.; LING, H.; XIANG-HONG, J.; BING, Z. Somatosensory nerve fibers mediated generation of De-qi in manual acupuncture and local moxibustion-like stimuli-modulated gastric motility in rats. *eCAM* p.1-8, 2014.

YIM, Y.K.; LEE, H.; HONG, K.E.; KIM, Y.I.; LEE, B.R.; SON, C.G.; KIM, J.E. Electro-acupuncture at acupoint st36 reduces inflammation and regulates

immune activity in collagen-induced arthritic mice. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, v.4 (1), p.51-7, 2006.

YIN, J. & CHEN, J.D.Z. Gastrointestinal motility disorders and acupuncture. *Autonomic neuroscience*, v.157 (1-2), p.31-37, 2010.

YIN J., CHEN J., CHEN J.D. Ameliorating effects and mechanisms of electroacupuncture on gastric dysrhythmia, delayed emptying, and impaired accommodation in diabetic rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* v. 298(4), p.G563-70, 2010.

WANG, C.; ZHOU, D.F.; SHUAI, X.W.; LIU, J.X.; XIE, P.Y. Effects and mechanism of electroacupuncture at PC6 on frequency of transient lower esophageal sphincter relaxation in cats. *World J Gastroenterol*, v.13, p. 4873-4880, 2007.

WANG, H.; SHEN, G.M.; LIU, W.J.; HUANG, S.; ZHANG, M.T. The neural mechanism by which the dorsal vagal complex mediates the regulation of the gastric motility by *weishu* (RN12) and *Zhongwan* (BL21) stimulation. *eCAM*, 2013.

WEBSTER, LT. Contribution to the manner of spread of mouse typhoid infection. *J. Exp. Med.*, p. 263-74, 1923.

WHITE, A. R.; RESCH, K.-L.; CHAN, J. C. K. et al. Acupuncture for episodic tension-type headache: a multicenter randomized controlled trial. *Cephalalgia*, v. 20, no. 7, pp. 632–637, 2000.

WILKES, C.P., BLEAY, C., PATERSON, S., VINEY, M.E. The immune response during a *Strongyloides ratti* infection of rats. *Parasite Immunology* v. 29, p.339-346, 2007.

ZAHA, O.; NIIMURA, S.; KINJO, N. et al. Clinical study on symptoms in patients with Strongyloidiasis. *Kansenshogaku Zasshi*, v.66, p.1378-1382, 1992.

ZAHA, O.; HIRATA, T.; KINJO, F.; SAITO, A. Strongyloidiasis- Progress in diagnosis and treatment. *Internal Medicine*, v.39 (9), p.695-700, 2000.

9- ANEXOS

ANEXO A:

Certificado de aprovação pela
Comissão de Ética em Pesquisa Animal
da UFMT.

ANEXO B

Confirmação de submissão de artigo ao
periódico Parasitology.

Artigo submetido para publicação

ANEXO C:

Artigo elaborado para publicação no
periódico *The American Journal of
Chinese Medicine.*