

ASPECTOS ANATOMO-PATOLÓGICOS E RESPOSTA TERAPÊUTICA NA INFECÇÃO CHAGÁSICA CRÔNICA EXPERIMENTAL

Sonia G. ANDRADE (1) e Zilton A. ANDRADE (2)

RESUMO

Animais com infecção prolongada pelo *Trypanosoma cruzi* (215 a 575 dias de duração), foram em parte submetidos a tratamento pelo Bay 2502 e em parte serviram de controles para estudo comparativo das lesões anatomo-patológicas observadas depois do tratamento. Após alta dosagem do medicamento, administrado em dois períodos de 10 dias (4 doses de 200 mg/k/dia seguidas de 5 doses de 50 mg/k/dia), com um intervalo de 25 dias, os animais foram conservados no laboratório e sacrificados após 50 ou 100 dias depois de concluído o tratamento. As lesões anatomo-patológicas observadas nos animais controles e nos tratados, consistiam em: dilatação das câmaras cardíacas, dilatação da ponta do ventrículo esquerdo, miocardite crônica, fibrose intersticial e presença de formas amastigotas do *T. cruzi* em coração e em músculo esquelético. Entretanto, a incidência e a intensidade destas lesões foi nitidamente menor nos animais submetidos a tratamento e estavam ausentes no único animal em que se constatou cura parasitológica. Este fato indica que a diminuição da carga parasitária foi aparentemente suficiente para diminuir as lesões teciduais o que sugere a importância do fator patogênico representado pelo parasito.

INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior¹, observamos que camundongos com infecção experimental de longa duração pelo *Trypanosoma cruzi*, embora sem sinais evidentes da doença, na realidade apresentavam processo inflamatório disseminado, multi-focal, progressivo.

Com a continuação das observações, várias outras lesões, algumas já registradas anteriormente por KUMAR & col.⁶, foram vistas em animais com infecção prolongada pela cepa *Colombiana* do *T. cruzi*, representando um quadro muito aproximado ao observado na fase crônica da doença de Chagas no homem.

Como primeira tentativa de utilização deste modelo experimental, procuramos verifi-

car no presente trabalho se o tratamento com Nitrofurânico (Bay 2502), teria algum efeito sobre as lesões crônicas que os animais apresentam.

MATERIAL E MÉTODOS

Dezenove camundongos brancos pertencentes a vários grupos experimentais de infecção pela cepa *Colombiana* do *T. cruzi*^{2, 5} os quais permaneceram no laboratório por períodos prolongados, variando entre 200 e 550 dias após a infecção, foram utilizados no estudo. Os inóculos com que foram infectados os animais destes grupos experimentais foram em geral elevados, como pode ser

Trabalho realizado com o Auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas, através o Plano Integrado de Pesquisas em Doença de Chagas e Esquistossomose (T.C. 42/D.C.)

(1) Professor-Assistente, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil

(2) Professor-Titular, Universidade Federal da Bahia

visto na Tabela I e provinham do sangue citratado de camundongos, após passagens sucessivas. Os 19 camundongos com infecção prolongada foram divididos em dois grupos, um dos quais a ser submetido a tratamento pelo Bay 2502 e outro conservado como controle (Tabela I).

Tratamento — A droga foi administrada por entubação esofágica sob a forma de suspensão em água destilada. O tratamento foi feito em dois períodos de 10 dias com intervalo de 25 dias entre os dois.

Esquema terapêutico — em cada período de tratamento foram aplicadas 4 doses de 200 mg/k/dia, seguidas de 5 doses de 50 mg/k/dia, num total de 1.050 mg/k/dia.

Avaliação do tratamento — foi feita pelo acompanhamento da parasitemia e por testes de cura parasitológica nos animais que tiveram negatificação parasitêmica (xenodiagnóstico, subinoculação em camundongos recém-nascidos e pesquisa dos parasitos nos tecidos).

Estudo histopatológico — os animais que morreram durante o curso do tratamento foram autopsiados e seus órgãos fixados em formol a 10% para estudo histopatológico. Os que sobreviveram foram sacrificados após 50 ou 100 dias de conclusão do tratamento, sempre com os controles correspondentes.

RESULTADOS

I — *Avaliação geral dos animais com infecção prolongada* — Cinco dos dezoito animais foram considerados em estado precário, com acentuado grau de caquexia, atrofia muscular e do pâncreas adiposo, pelos escassos e dificuldade de locomoção e peso variando entre 20 e 25 g. Os restantes estavam em bom estado, bem desenvolvidos, pesando entre 27 e 34 g. Todos os animais tinham parasitemia positiva, embora sendo muito escassas as formas tripomastigotas no sangue periférico (1/100 campos 40 × 10).

II — *Resultado do tratamento* — Houve negatificação parasitêmica em 6 de 11 animais tratados. Os testes de cura foram aplicados, e apenas em um foi confirmada a cura parasitológica, pelo xenodiagnóstico e subinoculação em camundongos recém-nascidos.

III — *Estudo anátomo-patológico* — Tanto nos animais não-tratados como naqueles submetidos a tratamento, foram vistas alterações macro e microscópicas do coração, cuja incidência foi entretanto diferente nos dois grupos, como mostra a Tabela II. As alterações mais características e que foram observadas em 83% dos animais foram: acentuada dilatação das cavidades direitas, dilatação da ponta do ventrículo esquerdo, trombozes intra-cardíacas (Figs. 1, 2, 3, 7)

TABELA I

Dados experimentais de camundongos com infecção chagásica experimental de longa duração

Grupos Experimentais	Inóculos (n.º trip. em 0,2 ml)	N.º de animais	Duração infecção (dias)	N.º tratamento	N.º controle
A — (Co1/58)	135.000	2	575	1	1
B — (Co1/62)	218.000	2	455	1	1
C — (Co1/64)	336.000	3	395	2	1
D — (Co1/67)	1.684.480	1	335	1	—
E — (Co1/68)	1.286.960	2	305	1	1
F — (Co1/69)	1.530.320	3	290	2	1
G — (Co1/70)	635.440	2	275	1	1
H — (Co1/73)	812.160	4	215	2	2
Total		19		11	8

TABELA II

Lesões anátomo-patológicas em animais com infecção prolongada pelo *T. cruzi*: tratados pelo Bay 2502 e controles

Tipos de lesões	Controles	Tratados
Dilatação de AD & VD	62,5% (5/8)	45,5% (5/11)
Dilatação Ponta VE	50,0% (4/8)	17,0% (2/11)
Fibrose do miocárdio	50,0% (4/8)	36,3% (4/11)
Infiltrado inflamatório (*)	87,0% (6/8)	81,8% (9/11)
Presença de formas amastigotas do <i>T. cruzi</i>	62,2% (5/8)	18,1% (2/11)
Trombose cardíaca	25,0% (2/8)	0,0% (0/11)
Dilatação do duodeno	37,5% (3/8)	17,1% (2/11)

(*) A intensidade da inflamação foi nitidamente menor nos animais tratados

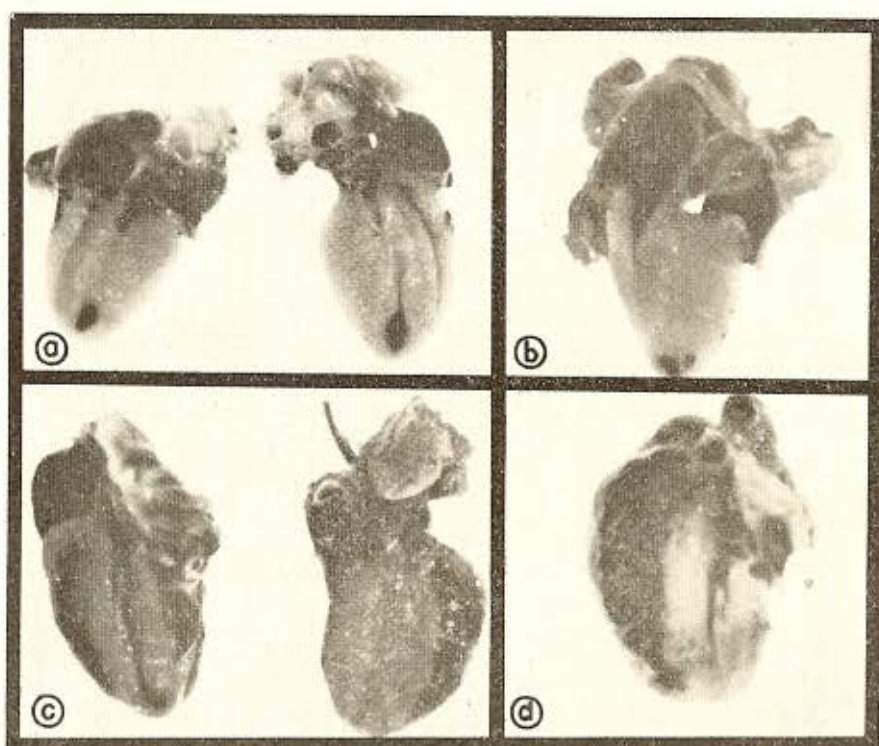


Fig. 1 — Vários aspectos das lesões cardíacas observadas nos animais com infecção crônica pelo *T. cruzi*: a e b — dilatação da ponta do ventrículo esquerdo; c e d — nitida dilatação das cavidades direitas.

fibrose do miocárdio (Figs. 4, 6), miocardite crônica e presença de formas amastigotas do *T. cruzi* no miocárdio. Além das lesões cardíacas havia também lesões de músculo esquelético caracterizadas por miosite crônica de intensidade variável com lesões de arteriolite necrosante e parasitismo de fibras musculares (Figs. 9, 10). A intensidade das lesões inflamatórias foi nitidamente menor nos animais submetidos a tratamento em relação aos não-tratados, tanto no miocárdio como em músculo esquelético. O infiltrado inflamatório nos animais tratados era constituído por focos contendo pequeno número de mononucleares, em geral periarteriolares e nos animais não-tratados havia um difuso processo de miosite e de miocardite

com envolvimento das paredes arteriolares por um processo de arteriolite mais intenso e mais evidente do que nos animais tratados (Figs. 4, 5, 9). A fibrose do miocárdio era em geral fina, dissociando as fibras cardíacas principalmente ao nível da parede ventricular, por vezes atingindo acentuado grau. Nos animais tratados a fibrose era discreta e apareceu em porcentagem menor do que nos controles (Tabela II).

No animal em que foi confirmada a cura parasitológica as lesões histopatológicas eram praticamente ausentes.

Lesões ao nível do trato digestivo — Em 5 dos 19 animais com infecção prolongada

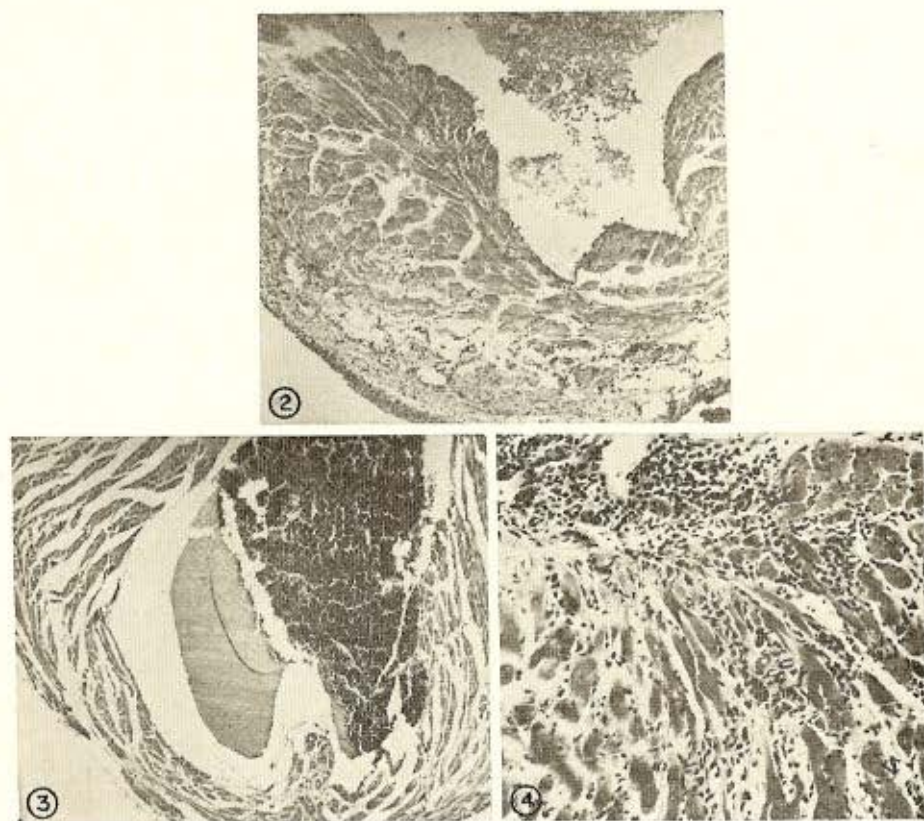


Fig. 2 — Miocárdio ao nível da ponta do ventrículo esquerdo mostrando destruição de fibras cardíacas e infiltrado inflamatório mononuclear difuso, com espessamento do epicárdio. H.E., 100 ×.

Fig. 3 — Dilatação aneurismática da ponta do ventrículo esquerdo. H.E., 100 ×.

Fig. 4 — Acentuada miocardite crônica e fibrose intersticial em animal controle. H.E., 150 ×.

havia acentuada dilatação do duodeno e do colédoco (Fig. 8), cujas paredes eram finas, distendidas e em cuja luz havia um acúmulo de platelmintos da classe dos cestódios identificados como *Hymenolepis diminuta*. Como mostra a Tabela II esta dilatação ocorreu em 3 de 8 animais controles e em 2 de 11 tratados. O exame histopatológico mostrou distensão das paredes musculares do órgão com achatamento das vilosidades da mucosa e atrofia do epitélio de revestimento. O exame dos plexos mioentéricos mostrou aparente diminuição de células ganglionares nervosas, sendo escassos os gânglios nervosos do plexo de Auerbach em relação ao diâmetro do órgão. Não foi feito estudo quantitativo.

COMENTÁRIOS

Os estudos que têm sido feitos até o momento sobre a terapêutica experimental da doença de Chagas têm utilizado em geral como modelo, a infecção aguda, desde que é muitas vezes difícil de se conseguir a fase crônica da doença em animais, sem o uso de drogas de efeito supressivo. Com o modelo experimental obtido na infecção prolongada pela cepa Colombiana do *T. cruzi*, foi possível estudar o resultado do tratamento por droga do grupo dos nitrofurânicos sobre as lesões avançadas da doença de Chagas no camundongo. Observou-se nos animais tratados uma regressão das lesões inflamatórias num prazo de 50 a 100 dias após

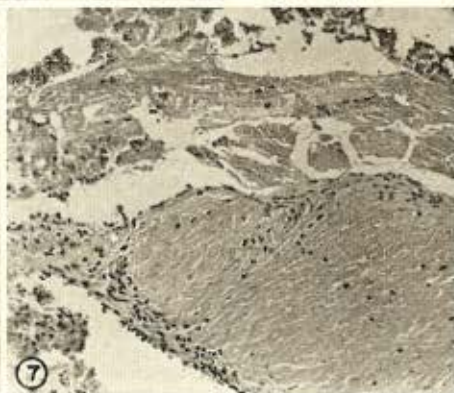
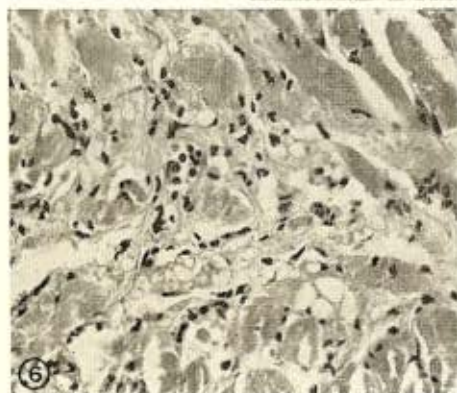
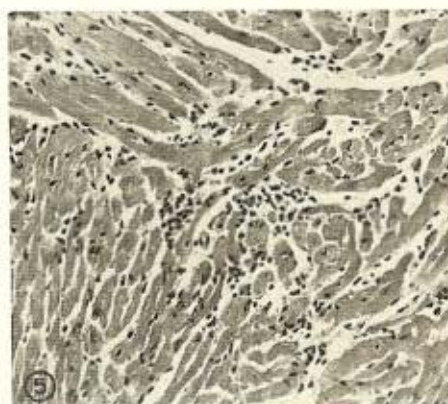


Fig. 5 — Aspecto do miocárdio em animal submetido a tratamento (não-curado) observando-se menor intensidade do processo inflamatório quando comparado ao anterior. H.E., 150 x.

Fig. 6 — Fibrose intersticial e difuso infiltrado inflamatório em animal controle. H.E., 200 x.

Fig. 7 — Trombose da ponta do ventrículo direito (animal não-tratado). H.E., 100 x.

o término do tratamento, uma menor incidência de trombos intra-cardíacos e de dilatação das cavidades e menor incidência de fibrose intersticial do miocárdio.

Como foi demonstrado em trabalho anterior³, a infecção pela cepa *Colombiana* mostra nítida resistência ao tratamento pelo Bay 2502, não se conseguindo cura parasitológica dos animais infectados com esta cepa. No presente estudo, embora empregando doses superiores, às prescritas por BOCK & col.⁴ como curativas, a porcentagem de cura foi mínima (comprovada em um animal apenas). Mesmo assim, a diminuição da carga parasitária, evidenciada pelo menor parasitismo dos tecidos, foi suficiente para diminuir a intensidade das lesões teciduais. Esta observação acentua a importância do fator patogênico representado pelo parasito, no desenvolvimento das lesões na fase crônica da infecção chagásica, uma vez que a droga empregada não parece ter *per se* um efeito anti-inflamatório.

A maioria dos testes terapêuticos em indivíduos humanos tem sido feita na fase aguda ou na fase crônica assintomática ou oligossintomática da infecção e o objetivo pri-

mordial visado tem sido a negatificação da parasitemia. Os achados do presente trabalho, que mostram uma melhoria das lesões histopatológicas crônicas nos animais tratados e com diminuição do parasitismo e o desaparecimento das lesões em um animal tratado e curado, sugerem a conveniência de se incluir portadores de miocardite crônica chagásica nos esquemas de tratamento específico.

Nos animais estudados foram registradas lesões de mega-duodeno e mega-colédoco, na presença de grande número de vermes (*Hymenolepis diminuta*) nestes segmentos. Embora considerando a presença de grande número de vermes no duodeno como fator de maior importância no desenvolvimento dos megas descritos, não se pode afastar a possibilidade de que, alterações de motilidade intestinal, tenham condicionado maior colonização dos vermes a este nível, e consequentemente dilatação. Trata-se portanto de uma ocorrência de mega do aparelho digestivo em camundongos com infecção prolongada, o que de certo modo ainda mais aproxima o modelo experimental do quadro geral da doença humana.

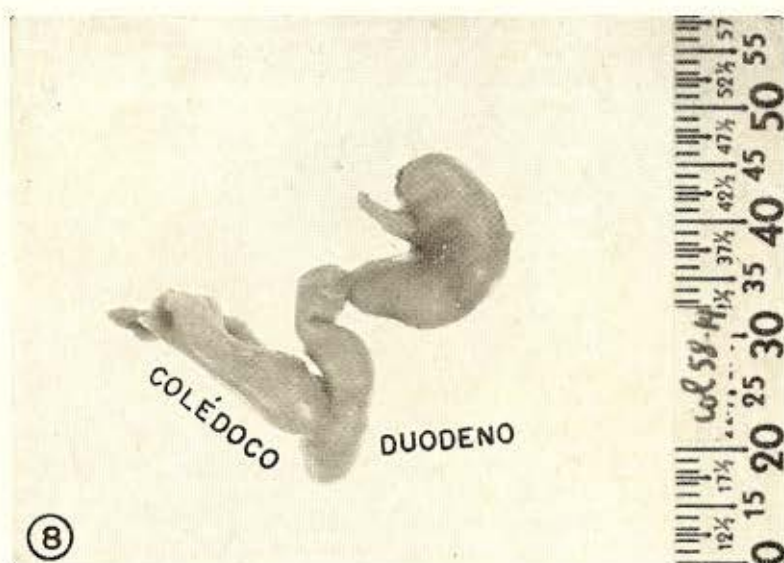


Fig. 8 — Dilatação do duodeno e do colédoco em animal com infecção prolongada pelo *T. cruzi*. O conteúdo era representado por *Hymenolepis diminuta*. Este aspecto foi visto em 5/19 animais.



Fig. 9 — Lesões musculares representativas observadas em animal controle (a) e em animal tratado (b), notando-se nítida diferença na intensidade das lesões. H.E., 120 × e 100 ×.

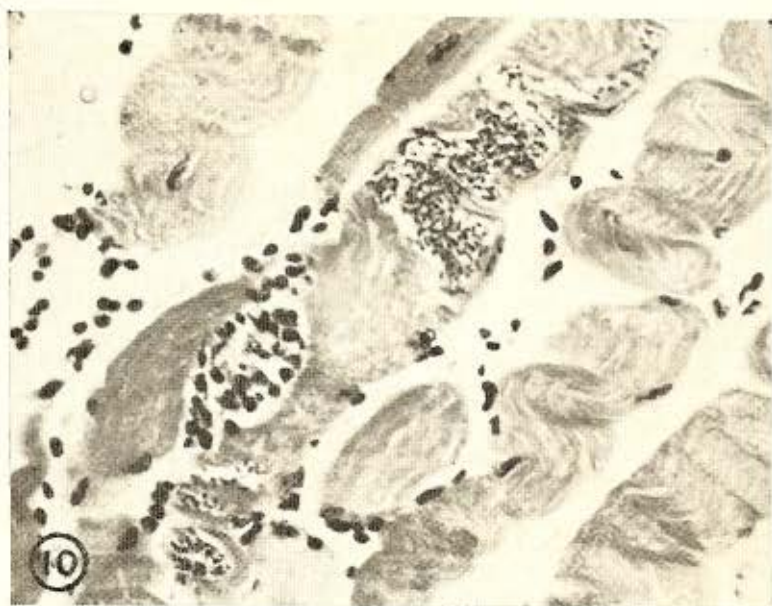


Fig. 10 — Presença de formas amastigotas do *T. cruzi* em animal com infecção prolongada não-tratado. Músculo esquelético. H.E., 200 ×.

S U M M A R Y

Anatomo-pathological aspects and therapeutic response in experimentally induced chronic chagasic infection

Pathological changes found in two groups of albino mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*, one treated with the drug Bay 2502 and the other untreated controls, were compared after treatment. Following higher dosage of the drug given in two periods of 10 days each (4 dosis of 200 mg/Kb.W/daily followed by 5 dosis of 50 mg/Kb.W/daily) with an interval of 25 days, the animals were sacrificed after 50 and 100 days of the last day of treatment. Pathological lesions observed in the two groups of animals were qualitatively similar and consisted of dilatation of cardiac chambers, dilatation of the apex of the left ventricle, chronic myocarditis with interstitial fibrosis and the presence of amastigote forms of *T. cruzi* in myocardial and striated muscle fibers. These lesions were however much less intense and frequent in the treated as compared with the untreated group and were absent in the only treated mouse which showed parasitological cure. These findings seems to indicate that diminution of parasitism produced by drug may influence the intensity of pathological changes. They also suggest a key role for the parasite in the pathogenesis of chronic disease due to *T. cruzi* infection.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, S.G. & ANDRADE, Z.A. — Patologia da doença de Chagas experimental de longa duração. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 10:180-187, 1968.
2. ANDRADE, S.G.; CARVALHO, M.L. & FIGUEIRA, R.M. — Caracterização morfológica e histopatológica de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. *Gaz. Med. Bahia* 70:32-42, 1970.
3. ANDRADE, S.G.; FIGUEIRA, R.M.; CARVALHO, M.L. & GORINI, D.F. — Influência da cepa do *Trypanosoma cruzi* na resposta à terapêutica pelo Bay 2502. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*. (No prelo).
4. BOCK, M.; GONNERT, R. & HABERKORN, A. — Studies with Bay 2502 on animals. *Bol. Chileno Parasitol.* 24:13-19, 1969.
5. FEDERICI, E.E.; ABELMANN, W.H. & NEVA, F.A. — Chronic and progressive myocarditis and myositis in C3H mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Amer. J. Trop. Med.* 13:272-280, 1964.
6. KUMAR, R.; KLINE, I.K. & ABELMANN, W. — Experimental *Trypanosoma cruzi* myocarditis. Relative effect upon the right and left ventricles. *Amer. J. Path.* 57:31-47, 1969.

Recebido para publicação em 12/6/1975.