

MOLÉSTIA DE CHAGAS EXPERIMENTAL NO RATO PARASITISMO DO NÚCLEO DO III PAR CRANIANO

Edymar JARDIM (1)

RESUMO

O Autor faz um estudo quantitativo neuronal e do parasitismo do núcleo do terceiro par craniano, na vigência da moléstia de Chagas experimental aguda no rato. Usou animais inoculados com *T. cruzi* por via intraperitoneal, fazendo posteriormente cortes seriados do tronco cerebral, corados pela hematoxilina-eosina. A sintomatologia clínica evidenciada foi a de ptose palpebral, tendo-se demonstrado o parasitismo e a redução do número de neurônios ao nível daquele núcleo.

INTRODUÇÃO

O comprometimento dos pares craniano oculomotores na fase aguda da moléstia de Chagas, foi referido pelo próprio CHAGAS⁵, que dizia na ocasião: "Perturbações paralíticas do aparelho oculomotor, afetando aí músculos isolados ou, mais vêzes diversos músculos, distribuídos dos domínios de um só par de nervos cranianos ou de diversos pares ao mesmo tempo perturbando daí, de modo variável, as funções oculomotores externas e internas ou as diversas modalidades de combinações entre aquelas funções, eis ainda freqüentes determinações da esquizotripanose para a motilidade voluntária ou reflexa".

Pela razão de termos encontrado várias vêzes no exame neurológico de pacientes chagásicos crônicos, comprometimento parcial dos pares cranianos oculomotores, decidimos empreender a atual pesquisa, na intenção de buscar eventuais alterações anatômicas na vigência da moléstia de Chagas aguda experimental.

MATERIAL E MÉTODOS

Nosso material consta de 16 ratos de linhagem Wistar, procedentes do biotério da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

Dêstes, 11 foram inoculados com a cepa Y do *T. cruzi*; os 5 animais restantes constituíram o grupo contrôle.

A inoculação foi feita por via intraperitoneal, usando-se 0,15 ml de sangue citratado obtido por punção cardíaca de outros ratos inoculados para a manutenção da cepa. O número de tripanosomas inoculados foi em média de 15 a 20 por campo de 400 x, verificado no momento da inoculação mediante exame de gôta espessa de sangue colocada entre lâmina e lamínula.

A parasitemia dos animais inoculados foi verificada a partir do 1.º dia da inoculação, em gôta espessa de sangue colhido da ponta da cauda do animal, colocada entre lâmina e lamínula, e os tripanosomas presentes foram sempre contados em campos de 400 x.

Para o estudo histopatológico, foram aproveitados exclusivamente aqueles animais cuja sintomatologia clínica final e morte foram presenciadas evitando-se, desta forma, que pela demora da fixação do material, pudesse ocorrer autólise do sistema nervoso central. Os animais do grupo contrôle foram sacrificados no 20.º dia da experimentação, por degola, com a finalidade de obter-se morte rápida e melhor fixação do material. O encefalo dos animais foi incluído em parafina

Trabalho do Departamento de Neuropsiquiatria e Psicologia Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil

(1) Professor Livre Docente

e cortado em série na espessura de oito micra. O sentido dos cortes foi coronal, iniciando-se sempre pelo polo frontal. Na fixação do material foi utilizado o formol a 10%. Para a coloração usamos a hematoxilina-eosina.

Para o estudo anatômico, tomamos como referência o trabalho de J. DE GROOT¹², que apresenta secções coronais do encéfalo de rato para estudos de estereotaxia, o qual se mostrou bastante satisfatório para a identificação dos vários núcleos do tronco cerebral. Para a localização do núcleo do terceiro par craniano, temos como referências anatômicas, na parte superior o aqueduto de Sylvius, na parte inferior a decussação de Forel, e, lateralmente, o fascículo longitudinal medial e o núcleo rubro.

Além da verificação do parasitismo nas regiões consideradas, procuramos complementar nossas observações realizando contagens neuronais. Para tanto, utilizamos uma ocular microscópica dotada de um retículo de 5 mm de lado, e contamos tôdas as células contidas no interior do retículo, mesmo aquelas que apresentavam alterações estruturais evidentes. Foram contados neurônios em 20 cortes diferentes de cada núcleo, em cada animal, obtendo-se, assim, médias parciais e finais para cada núcleo.

TABELA I

Relação entre ptose palpebral e parasitismo nuclear

Animais com ptose	Animais sem ptose	Animais c/ ptose e parasitas	Animais c/ ptose sem parasitas
R — 1	R — 8	R — 1	R — 12
R — 4	R — 9	R — 4	R — 20
R — 5	R — 22	R — 5	R — 24
R — 10		R — 10	
R — 12		R — 14	
R — 14			
R — 20			
R — 24			

Para a análise estatística desses resultados foi utilizado o método não paramétrico de WHITE²¹, comparando-se as médias pela estatística de ordem.

Os animais do grupo controle são representados no texto pela letra C e, os inoculados, por R.

RESULTADOS

O comprometimento do terceiro par craniano foi evidenciado através da ptose pal-

TABELA II

Contagem de neurônios nos animais controles

Animal	Núcleo III par
C — 1	75 +
C — 2	84
C — 3	76
C — 4	87
C — 5	81
Média	80,6

+ n.º correspondente à média de neurônios contados em 20 cortes

TABELA III

Contagem de neurônios nos animais chagásicos

Animal	Núcleo III par
R — 1	38 +
R — 4	49
R — 5	69
R — 10	61
R — 14	34
Média	50,2

+ n.º correspondente à média de neurônios contados em 20 cortes

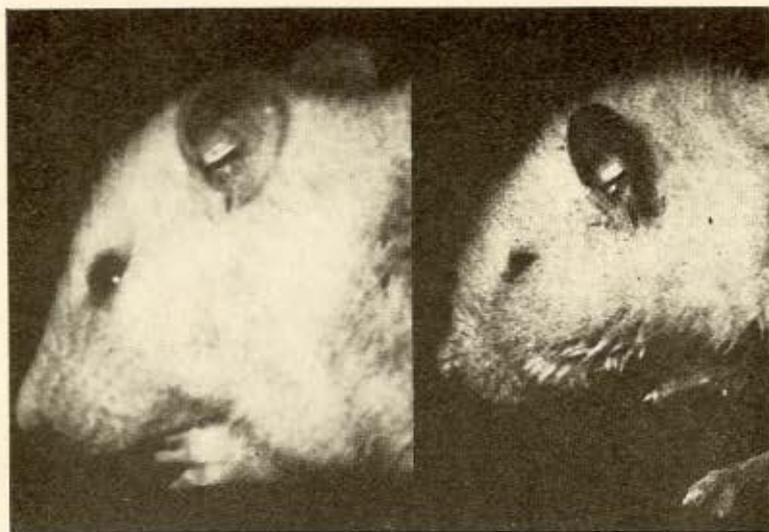


Fig. 1 — Animal controle e chagásico, com ptose palpebral

pebral, sintoma único, que ocorreu em oito dos animais estudados, correspondendo a 72,7% de incidência. Foi sempre parcial, bilateral, instalando-se entre o 11.º e o 20.º dias da inoculação.

A ptose palpebral foi observada em 8 animais: R-1, R-4, R-5, R-10, R-12, R-14, R-20 e R-24.

O estudo do núcleo do 3.º par craniano nos 11 animais, mostrou que haviam parasitas em cinco deles (R-1, R-4, R-5, R-10 e R-14), ao passo que em três (R-12, R-20 e R-24) apesar de evidenciarem sintomatologia clínica, não mostraram parasitismo nuclear. Nestes últimos animais, ao nível do núcleo do 3.º par, notamos grandes alterações teciduais, que impediram o reconhecimento das estruturas nervosas.

As formas em leishmânia encontradas mostraram-se esparsas ou agrupadas em pseudocistos, sendo muito mais freqüentes a última eventualidade.

Apesar das preparações histológicas não representarem a técnica de eleição para a observação de alterações celulares, pois tal elemento não é o objetivo deste trabalho, foi possível verificar, com freqüência, áreas de evidente pobreza neuronal, neurônios e glia astrocitária com alterações isquêmicas, tigrólise central, picnose nuclear, tumefação da

oligodendroglia, proliferação do endotélio dos pequenos vasos e infiltrados inflamatórios perivascularares moderados.



Fig. 2 — Aspecto do parasitismo no núcleo do III par craniano

As contagens neuronais praticadas nos grupos controle e chagásico, constam das Tabelas II e III, cujos valores analisados pelo método não paramétrico de estatística de ordem preconizado por WHITE²¹, demonstraram que houve uma diferença estatisticamente significativa, ao nível de 5%; ou seja, redução expressiva do número de neurônios nos animais chagásicos.

COMENTÁRIOS

Em nosso material pudemos anotar o comprometimento do 3.º par craniano, traduzido apenas pela ptose palpebral. Apesar disso, julgamos oportuno fazer um breve relato a respeito da agressão aos pares cranianos de uma maneira geral, na vigência da moléstia de Chagas.

As lesões ao nível do tronco cerebral, localização necessária para a instalação de lesões na maioria dos pares cranianos, foram referidas por CHAGAS em trabalhos nos anos de 1913, 1916 e 1921.

VIANNA²⁰, referindo-se ao comprometimento do sistema nervoso central na fase aguda da moléstia de Chagas, apontava a presença de "focos inflamatórios espalhados em toda a substância nervosa, quer branca, quer parda, e destacáveis ao mais superficial exame microscópico".

CHAGAS⁶, relatando um caso clínico da moléstia, assinalou alterações acentuadas da motricidade da língua, com dificuldade muito evidente do paciente para movimentá-la no sentido lateral ou vertical. No mesmo paciente, chamou a atenção para perturbações profundas da mastigação e da deglutição; havia também nítido desvio da rima bucal.

CHAGAS⁸, abordando o tema do comprometimento dos pares cranianos oculomotores na fase aguda da doença, afirmava: "Para o lado dos olhos, as contraturas se manifestam em movimentos anômalos dos globos oculares, e, não raro, em estrabismo".

AUSTRECESILO², relatando a sintomatologia e a anatomia patológica das fases aguda e crônica da enfermidade, fez referências ao achado de aglomerados de leishmânias ao nível do tronco cerebral.

ROBERT¹⁸, referiu o caso de uma paciente, que iniciou a sintomatologia da forma ner-

vosa da moléstia de Chagas, por perda de visão, a qual foi sucedida por uma meningencefalite, tornando-se posteriormente quadripérgica, afásica e demenciada.

QUEIROZ & TAFURI¹⁷, em trabalho experimental com camundongos inoculados com *T. cruzi*, referiram o achado de numerosos ninhos de leishmânias na musculatura extrínseca dos olhos, e de elementos leishmaniformes na porção proximal do segmento orbitário do nervo óptico.

ELEJALDE¹¹, estudando o encéfalo de um caso agudo da moléstia de Chagas, fez referência no quadro que antecedeu ao óbito, de "desvios oculares". No exame histopatológico do sistema nervoso central, encontrou formações granulomatosas freqüentes, localizadas nas proximidades dos vasos, tanto na substância branca como na cinzenta.

CARDOSO⁴, em estudo histopatológico do encéfalo de quatro crianças falecidas durante a fase aguda da moléstia, apontou a região do tronco cerebral como de grande freqüência de lesões parasitárias.

A ptose palpebral poderia ser decorrência de alterações em três setôres: 1) Na musculatura palpebral, desde que o tropismo do parasita para o tecido muscular e as lesões da musculatura extrínseca dos olhos foram demonstrados; 2) No território do simpático cervical, se a pálpebra do rato tiver, como no homem, um componente de inervação simpática (não pudemos encontrar na literatura informações que viessem nos esclarecer). BRANDÃO³ em seu trabalho comparativo de lesões simpáticas e parassimpáticas no rato, refere que as alterações simpáticas não foram significativas. Supõe estarem os gânglios simpáticos protegidos da destruição neuronal, dada a sua situação topográfica, isto é, por não manterem relação íntima com tecidos sede de parasitismo preferencial. KÖBERLE¹⁴, apesar de não negar a existência de lesões no sistema simpático, referiu "que são tão discretas que não as levamos em consideração"; 3) A última eventualidade para justificar a presença de ptose palpebral seria a demonstração de lesões ao nível do núcleo do 3.º par craniano, trabalho que empreendemos.

Segundo KÖBERLE & ALCÂNTARA¹⁵, as alterações neuronais são subseqüentes ao parasitismo tecidual pelo *T. cruzi*, representado pelas formas em leishmânia. As lesões neu-

ronais seriam, na concepção desses Autores, decorrentes de uma substância tóxica liberada pela desintegração dos parasitas. Esta circunstância, suspeitada por CHAGAS⁷, por CROWELL¹⁰, foi também admitida mais recentemente por TORRES¹⁹ e ALVARENGA¹. Este último Autor, estudando camundongos inoculados com *T. cruzi*, sugeriu a existência de uma substância neurotóxica liberada ao nível dos tecidos parasitados, e “capaz de lesar qualquer tipo de tecido”.

Entretanto, até o momento, não foi possível isolar um princípio neurotóxico de origem parasitária ou tecidual, elemento que, na opinião de KÖBERLE¹³ não é de relêvo, pois “o fato fundamental reside na destruição neuronal”, sendo a causa desta destruição fator secundário.

PRATES CAMPOS¹⁶ em pesquisa de avaliação da síntese proteica das células de Purkinje do cerebelo de ratos inoculados com *T. cruzi*, mediante administração de DL-leucina, 4-5 T (leucina H₃) e utilizando a técnica radioautográfica, concluiu que na fase aguda da doença de Chagas existe uma disfunção metabólica da célula nervosa, traduzida por uma diminuição da síntese proteica. Esta disfunção ocorre paralelamente ao aumento do parasitismo local das células gliais, na ausência de infiltração inflamatória local e de parasitismo direto do neurônio. A lesão das células gliais parasitadas repercutiria sobre o metabolismo do neurônio assistido por essa glia.

SUMMARY

Experimental acute Chagas' disease in the rat parasitism of oculomotor nucleus

Histopathologic and quantitative neuronal study was done by serial sections of midbrain of rats inoculated with *T. cruzi*, by intraperitoneal way. The clinical symptom was eye-lid ptosis; it was demonstrated parasitism and neuronal destruction at the oculomotor nucleus.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALVARENGA, R. J. — Histopatologia da fase aguda da moléstia de Chagas em camundongos. *An. Cong. Intern. Moléstia de Chagas*, Rio de Janeiro, 1959.
2. AUSTREGESILLO, A. — Formes nerveuses de la maladie de Chagas. *Rev. Neurol.* 1:1-21, 1927.
3. BRANDÃO, H. J. S. — *Estudo quantitativo de neurônios simpáticos e parassimpáticos na moléstia de Chagas experimental, em ratos*. Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1961.
4. CARDOSO, R. — Lesões do sistema nervoso central em quatro casos infantis agudos de doença de Chagas. *Bol. Inst. Puer. Univ. Brasil* 17:101-110, 1960.
5. CHAGAS, C. — Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 3:219-275, 1911.
6. CHAGAS, C. — Les formes nerveuses d'une nouvelle trypanosomiase. *T. cruzi* inoculé par *Triatoma megista* (maladie de Chagas). *Nouv. Iconogr. Sapeyrienne* 26:1-9, 1913.
7. CHAGAS, C. — Processos patogênicos da tripanosomiase americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 8:5-36, 1916.
8. CHAGAS, C. — Tripanosomiase americana. Forma aguda da moléstia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 8:37-69, 1916.
9. CHAGAS, C. — American trypanosomiasis study of the parasite and of the transmitting insect. *Chicago Med. Rec.* 43:609-627, 1921.
10. CROWELL, B. C. — The acute form of American trypanosomiasis. Notes on its pathology, with autopsy and observations on trypanosomiasis in animals. *Amer. J. Trop. Med.* 3:425, 1923.
11. ELEJALDE, P. — Lesões cerebrais na doença de Chagas aguda. *An. Cong. Lat. Amer. Anat. Pat.*, São Paulo, Brasil, 1958.
12. GROOT, J. — The rat forebrain in stereotaxic coordinates. *Trans. Royal Neth. Acad. Sci.* 52:11-40, 1959.
13. KÖBERLE, F. — Patologia da moléstia de Chagas. *Medicina CARL* 1:73-98, 1962.
14. KÖBERLE, F. — Aspectos neurológicos da moléstia de Chagas. *Arq. Neuropsiquiat.* 25:159-174, 1967.
15. KÖBERLE, F. & ALCANTARA, F. G. — Mecanismo da destruição neuronal do sistema nervoso na moléstia de Chagas. *Hospital (Rio)* 57:173-178, 1960.
16. PRATES-CAMPOS, J. C. — Radioautográfica study of the protein synthesis in the Purkinje cells at the acute phase of the experimental trypanosomiasis *cruzi* in rats. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:25-33, 1969.

17. QUEIROZ, I. M. & TAFURI, W. L. — Lesões do globo ocular e anexos na esquizotripaníase experimental no camundongo albino. *Rev. A.M.B.* 3:256-262, 1957.
18. ROBERT, M. R. G. — South American trypanosomiasis of meningoencephalomyelitic type in New York. *J. Amer. Med. Ass.* 92: 25-29, 1930.
19. TORRES, C. M. — Sobre a anatomia patológica da moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 36:391-404, 1941.
20. VIANNA, G. — Contribuição para o estudo da anatomia patológica da moléstia de Chagas (esquizotripanose humana ou tireoidite parasitária). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 3: 276-293, 1911.
21. WHITE, C. — The use of ranks in a test of significance for comparing two treatments. *Biometrics* 8:33, 1952.

Recebido para publicação em 24/2/1971.