

LESÕES DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO DO CAMUNDONGO ALBINO NA FASE CRÔNICA DA TRIPANOSOMÍASE CRUZI EXPERIMENTAL

W. L. TAFURI e Z. BRENER

RESUMO

Os Autores estudaram as lesões do sistema nervoso autônomo em 70 camundongos albinos inoculados com *Trypanosoma cruzi* das amostras "ABC" e "PNM", na fase crônica. Demonstraram que as lesões encontradas nos gânglios celiacos, nos simpáticos lombares e nos do plexo cardíaco superficial, em diferentes dias (90 a 510) de infecção, são irregulares, imprevisíveis, encontrando-se gânglios intensamente alterados ao lado de outros pouco lesados ou morfológicamente normais.

O quadro anátomo-patológico observado foi, em linhas gerais, idêntico ao da fase aguda, diferindo apenas pela frequência do parasitismo e a intensidade dos fenômenos flogísticos. Na fase crônica foi extremamente raro o encontro de leishmânias, ao contrário do que acontece na fase aguda onde é relativamente frequente, tanto nas células nervosas quanto nos tecidos adjacentes.

INTRODUÇÃO

A maioria dos trabalhos até agora publicados sobre a tripanosomíase *cruzi* experimental, em camundongos, se referem à fase aguda da doença quando a parasitemia é elevada e o desfecho da infecção é, no geral, fatal. Nós mesmos (TAFURI & col.^{15, 16}) estudamos as alterações do sistema nervoso autônomo (S.N.A.) do camundongo albino inoculado com *Trypanosoma cruzi* das cepas Y (PEREIRA DA SILVA¹³), "Berenice" e "ABC" (BRENER & col.⁶), na fase aguda.

Desejosos de estudar as lesões do S.N.A. em camundongos nos quais se pudesse induzir a fase crônica da doença de Chagas, escolhemos agora as cepas "ABC" e "PNM", isoladas de casos humanos, portadores de megacólon (BRENER & col.⁶). Estas cepas têm a peculiaridade de não determinarem a morte precoce dos animais, passando os mesmos para a fase crônica, com sobrevi-

vência de até 2 anos após a inoculação, sem qualquer tratamento.

Este trabalho tem as seguintes finalidades: 1) estudar as lesões produzidas pelo *T. cruzi* no S.N.A. na fase crônica e compará-las com aquelas da fase aguda; 2) verificar se a distribuição das lesões é irregular, saltuada como na fase aguda e 3) verificar a frequência do parasitismo celular em relação à intensidade dos fenômenos inflamatórios e regressivos dos gânglios nervosos e dos tecidos adjacentes.

MATERIAL E METODOS

Utilizaram-se 70 camundongos albinos, machos, pesando 18 a 20 g, inoculados por via intraperitoneal, com 4.000 tripanosomas (formas sanguíneas) por g de peso. A con-

tagem dos tripanosomas foi realizada de acordo com a técnica adotada por BRENER². Dos 70 camundongos, 21 foram inoculados com tripanosomas da amostra "ABC" e 49 com a amostra "PNM". Os primeiros foram sacrificados com 120, 240, 300, 330, 365, 395, 425, 455, 505, e os segundos com 90, 120, 150, 210, 240, 270, 300, 365, 420, 480 e 510 dias de infecção, respectivamente.

Como controle, utilizaram-se 6 camundongos normais de mais de um ano. Após abertura da cavidade abdominal e torácica e retirada de todo o intestino, os animais foram fixados "in totum", em formol a 10%.

Para o estudo do S.N.A. utilizaram-se os gânglios celiacos, os da cadeia lombar e dos plexos cardíacos superficial. O coração foi seccionado de acordo com técnica de ALENCAR³ para se localizar os gânglios nervosos. Incluiu-se o material em parafina e fizeram-se cortes com 6 μ , corados pelas seguintes técnicas: H.E., Azul de toluidina, Giemsa lento e, às vezes, o van Gieson para o conjuntivo.

RESULTADOS

O aspecto macroscópico do coração, do intestino e dos demais órgãos, em todos os camundongos, era normal.

As alterações microscópicas do S.N.A., no geral, não diferiam nos diversos animais examinados. Por esta razão, faremos uma síntese das alterações dos gânglios da cadeia lombar, do plexo solar e do plexo cardíaco superficial encontradas nos animais sacrificados entre 120 a 510 dias de infecção, chamando a atenção para aspectos especiais, que mereçam ser ressaltados.

Amostra "ABC"

Gânglios celiacos e lombares — Dos 21 camundongos examinados, somente em 5 (23,8%) observaram-se lesões nesses gânglios. Dos 5, 3 apresentavam periganglionite ou ganglionite focais, discretas, com exsudação linfo-plasmo-histiocitária e alterações regressivas (hipercromasia, picnose nuclear, vacuolização, esfacêlo) das células nervosas em relação com os focos inflamatórios. Dos 2 restantes, um (Cd 3) apresentava alterações regressivas saltuadas, das células nervosas, não acompanhadas de inflamação e o

outro (Cd 16), periganglionite difusa, sem lesões regressivas dos neurônios.

Em todos os 5 camundongos havia inflamação crônica, focal, mais ou menos intensa, com exsudação linfo-plasmo-histiocitária do tecido gorduroso retro-peritoneal e da musculatura estriada junto dos gânglios.

A pesquisa de leishmânias foi negativa, tanto nos gânglios como nos tecidos circunvizinhos.



Fig. 1 — Amostra "ABC", Cd 9 — Cardite crônica difusa. Vê-se pequeno ninho de leishmânias (seta) na espessura de uma fibrocélula cardíaca. Coloração: H.E., 250 \times

Gânglios do plexo cardíaco superficial — Somente 5 camundongos (23,8%) apresentaram alterações. Estas eram representadas por periganglionite e ganglionite focais, com alterações regressivas discretas dos neurônios em 3 animais (Cd 5, 12 e 16). No Cd 16 um gânglio apresentava-se pobre em células e com acentuada fibrose. Não raro foi o achado de infiltrado inflamatório ao longo da bainha dos nervos cardíacos superficiais, com hipotrofia e encarquilhamento dos mesmos.

Em 12 camundongos (57,14%) havia cardite difusa, ora mais, ora menos intensa, nem sempre relacionada com as alterações ganglionares observadas. Nas fibrocélulas

cardíacas havia raros ninhos de leishmânias (Fig. 1). Nos gânglios, a pesquisa de leishmânias foi sempre negativa.

Amostra "PNM"

Gânglios celiacos e lombares — Em 26 camundongos (53,06%) havia periganglionite (15 Cd ou 30,61%) e ganglionite (11 ou 22,22%) associadas ou não a fenômenos regressivos. A intensidade da inflamação era variável, focal ou difusa, acompanhada ou não de fenômenos regressivos graves dos neurônios (Fig. 2). Em 10 Cd (20,04%), as alterações eram apenas de índole regressiva, sem qualquer reação inflamatória. Estes gânglios (Figs. 2 e 3), quando comparados com os do grupo controle (Fig. 4) mostravam, além das alterações regressivas das células nervosas (hipercromasia, picnose nuclear, vacuolização do cito-



Fig. 2 — Amostra "PNM". Cd 16 — Gânglio celiaco. Periganglionite crônica focal, com exsudação predominantemente linfocitária. Alterações regressivas (hipercromasia, picnose nuclear e esfacêlo) de vários neurônios. Coloração: Azul de toluidina, 250 ×

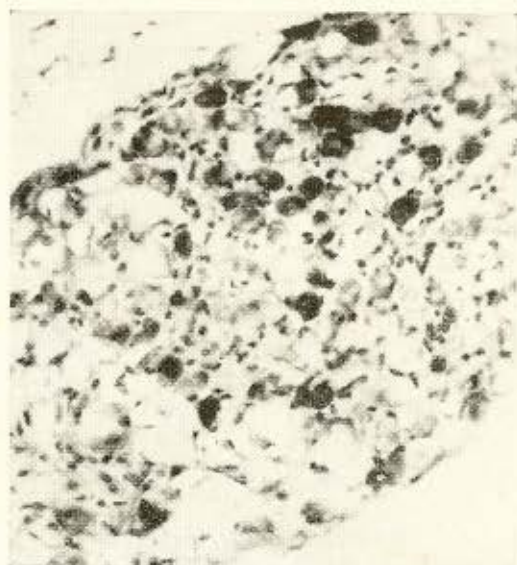


Fig. 3 — Amostra "PNM". Cd 44 — Gânglio da cadeia lombar. Vê-se, além das alterações regressivas graves das células nervosas, enorme pobreza de neurônios. Coloração: Azul de toluidina, 250 ×

plasma, encarquilhamento, esfacêlo, etc.), enorme pobreza dos neurônios, indicando, possivelmente, destruição dos mesmos devido à infecção. Cumpre salientar, no entanto, que tal achado foi bastante irregular e saltuado, pois no mesmo animal havia gânglios de aparência normal, ao lado de outros alterados.

Em 26 camundongos (53,06%) havia inflamação crônica, focal ou difusa, relacionada ou não com as alterações ganglionares, do tecido gorduroso e da musculatura retroperitoneal da região lombar. Tanto nos gânglios quanto nos tecidos adjacentes foi negativa a pesquisa de leishmânias, em todos os animais deste grupo.

Gânglios do plexo cardíaco superficial — Havia ganglionite e periganglionite focais ou difusas, mais ou menos intensas, variando de caso para caso em 24 Cd (48,9%) (Fig. 5). Dêstes, 12 (24,45%) apresentaram lesões regressivas (hipercromasia do citoplasma, picnose nuclear, vacuolização do citoplasma, encarquilhamento, neuronofagia, esfacêlo, etc.) das células nervosas. Tais lesões estavam relacionadas sempre com a ganglionite e a periganglionite.

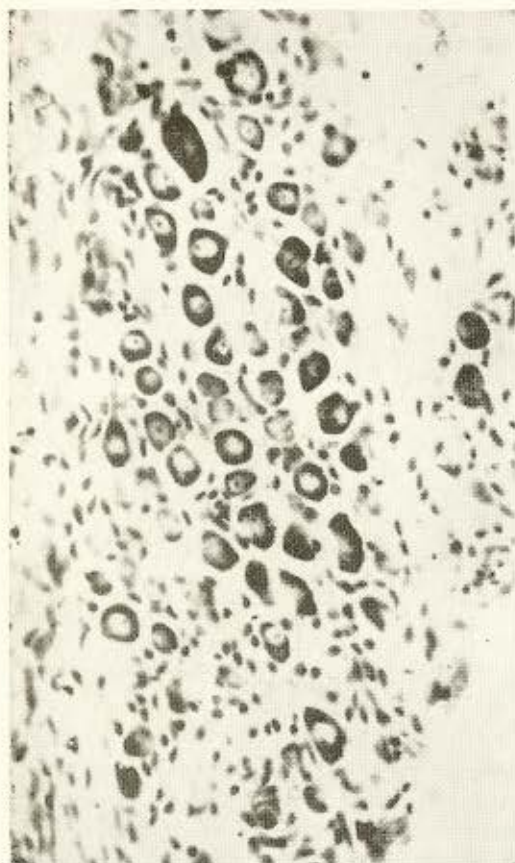


Fig. 4 — Grupo controle. Cd 1 — Gânglio da cadeia lombar morfologicamente normal. Coloração: Azul de toluidina, 250 \times .



Fig. 5 — Amostra "PNM". Cd 14 — Gânglio do plexo cardíaco superficial. Periganglionite e ganglionite intensas, com lesões regressivas graves dos neurônios. Notar ainda a cardite intensa da parede auricular. Coloração: H.E., 100 \times

Em geral, a cardite era bastante intensa, em quase todos os camundongos, especialmente nas paredes auriculares (Fig. 5). Todavia, no Cd 2 (510 dias de infecção) apesar de não haver inflamação nas paredes auriculares, o gânglio aí localizado, apresentava-se intensamente inflamado (Fig. 6).

Ninhos de leishmânias foram encontrados, esporadicamente, nas fibrocélulas cardíacas, mas nunca no sistema nervoso intramural.

DISCUSSÃO

Verifica-se que a cepa "ABC" é menos patogênica do que a "PNM". De fato, as lesões do miocárdio, do S.N.A. e dos tecidos circunvizinhos são mais discretas naquela do que nesta. Todavia, as lesões do S.N.A., produzidas pelos tripanosomas de am-

bas as cepas são irregulares, imprevisíveis quanto à intensidade e à localização, pois em animais inoculados com a mesma amostra e, às vezes, sacrificados com os mesmos dias de infecção, observaram-se, em alguns, lesões de intensidade diversa e, em outros, ausência de alterações. Deve-se salientar, ainda, o encontro, no mesmo animal, de gânglios morfologicamente normais, ao lado de outros alterados.

Ao que parece, a distribuição e a intensidade dos fenômenos inflamatórios e regressivos no S.N.A. e dos tecidos circunvizinhos, na fase crônica, são, em linhas gerais, idênticos aos observados na fase aguda; diferem apenas pela freqüência do parasitismo e a intensidade dos fenômenos flogísticos. Na fase crônica, é extremamente raro o encontro de leishmânias; na aguda, é re-

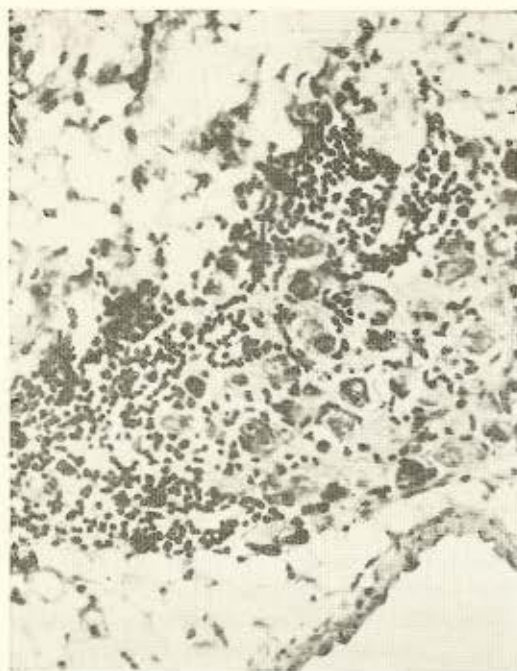


Fig. 6 — Amostra "PNM". Cd 2 — Gânglio do plexo cardíaco superficial. Periganglionite e ganglionite difusas, com alterações regressivas discretas dos neurônios. Não havia inflamação nas paredes auriculares. Coloração: H.E., 250×

lativamente freqüente, tanto nas células nervosas quanto nos tecidos adjacentes (TAFURI & col.^{15, 16}). Apesar da ausência aparente de leishmânias, os fenômenos inflamatórios são acentuados, ora focais, em íntima relação com os gânglios, ora difusos, mais acentuados no tecido gorduroso junto dos gânglios. Cumpre salientar que não observamos ganglionite aguda necrosante, como foi vista na fase aguda tanto na amostra Y quanto na "Berenice" (TAFURI & col.^{15, 16}).

Comparando-se a freqüência das lesões produzidas nos gânglios pelos tripanosomas da amostra "ABC" na fase crônica e na aguda, observa-se que na última, os gânglios celiacos e os lombares foram mais intensamente atingidos (45%) do que na primeira (23,8%). O contrário ocorreu nos gânglios cardíacos superficiais. Na fase aguda, foram atingidos apenas 15% e na fase crônica, 23% dos camundongos. Baseados na imprevisibilidade e irregularidade das lesões e na constituição genética da linhagem dos camundongos utilizados (um dos fatores res-

ponsáveis pela resposta imunológica variável), as diferenças acima referidas são apenas relativas e não absolutas. Comparando-se os resultados obtidos nos animais inoculados com as amostras "ABC" e "PNM", com aqueles dos camundongos inoculados com a cepa Y (TAFURI & col.^{15, 16}), verifica-se que a última é mais patogênica, em relação à intensidade das lesões. De fato, nunca deparamos com o esfacelo completo dos gânglios como foi observado em camundongos inoculados com a amostra Y. Por esta razão, no presente material, foi raríssimo o achado de gânglios destruídos, parcial ou totalmente fibrosados. Na maioria das vezes, a inflamação era focal e não difusa; o mesmo aconteceu em relação aos fenômenos regressivos dos neurônios.

Desde 1937 vêm-se estudando as alterações dos gânglios intracardíacos na doença de Chagas e em portadores de megaesôfago e megacôlon acompanhados de distúrbios cardíacos. VASCONCELOS & col.¹⁸ e RAMOS & col.¹⁴ demonstraram alterações irreversíveis dos gânglios nervosos do coração com desaparecimento, às vezes total, das células nervosas e sua substituição pelas células de SCHWANN. KÖBERLE^{9, 10} contando os neurônios em corações, verificou que a uma média de 4.523 neurônios no coração normal corresponde outra de 1.175 na cardiopatia chagásica crônica. Diante dos resultados obtidos, afirmou o Autor que a cardiopatia chagásica é neurogênica, ou seja, uma cardiopatia parasimpático-priva. Afirma ainda o Autor que os neurônios são destruídos quase que eletivamente na fase aguda da moléstia por substância tóxica liberada das leishmânias desintegradas nos interstícios. A miocardite, segundo êle, não seria a responsável pelas lesões neuronais; funcionaria apenas como fator agravante mas nunca determinante. ALCÂNTARA^{1, 2}, em ratos inoculados com *Trypanosoma cruzi* da cepa Y, verificou despopulação dos plexos nervosos cardíacos; êste achado não foi confirmado, no camundongo, por ALENCAR³. Por outro lado, em casos humanos de miocardite crônica chagásica estudados por MAGARINOS TÔRRES & col.¹² e por ANDRADE⁴, não foram verificadas alterações regressivas dos neurônios intracardíacos. Cumpre dizer, todavia, que nem MAGARINOS TÔRRES nem

ANDRADE estudaram o sistema nervoso autônomo do coração de modo sistemático, como o fizeram KÖBERLE¹⁰ e LOPES¹¹. Já este último¹¹, confirmando os achados de KÖBERLE¹⁰, encontra alterações regressivas dos neurônios cardíacos em casos humanos da doença de Chagas e forte redução numérica dos mesmos; houve casos em que a contagem dos neurônios foi zero.

O presente trabalho vem demonstrar que as lesões são irregulares quanto à sua distribuição. Ao lado de gânglios intensamente alterados, há outros morfológicamente íntegros. É perfeitamente cabível, portanto, a possibilidade de achados positivos ou negativos, conforme se encontra na literatura. Admitimos, no entanto, que se o estudo fôr bem conduzido, utilizando-se cortes seriados no coração, sempre se encontrará lesões dos neurônios na doença de Chagas.

A destruição do S.N.A., principalmente na fase aguda, por substância tóxica que agiria eletivamente sobre os neurônios, como quer KÖBERLE, parece não ter ocorrido em nosso material. Se assim fôsse, não teríamos observado, na fase crônica, alterações ganglionares semelhantes às vistas na fase aguda (TAFURI^{15, 16}). O processo inflamatório, sem a presença de leishmânias, encontrado sempre no tecido gorduroso periganglionar, no da musculatura lombar e, principalmente, no do pericárdio e do miocárdio, que atinge, por contigüidade, os gânglios, deve ter, também, papel preponderante no mecanismo das alterações neuronais, pois o que mais freqüentemente se observou foram os fenômenos regressivos dos neurônios, acompanhados de inflamação do que alterações regressivas sem qualquer reação flogística em torno dos gânglios.

O aspecto dos gânglios cardíacos, dos celiacos e dos lombares dos camundongos na fase aguda e crônica da doença de Chagas é semelhante àquele observado no homem, isto é, ao lado de gânglios morfológicamente normais, encontram-se outros alterados ou parcialmente destruídos. Este fato, segundo nosso pensamento, pode ter grande importância prática, se transportado para a patologia da doença de Chagas humana. A compreensão de certos distúrbios, verificados em chagásicos e decorrentes, exclusivamente, das alterações do S.N.A., torna-se difícil,

pois as lesões ganglionares não são sistematizadas. Como já comentamos em trabalho anterior (TAFURI & col.¹⁵), pode-se supor também que, embora determinado número de gânglios se apresente normal à microscopia de luz, este fato não implica que o funcionamento dos mesmos não esteja alterado. É possível que a microscopia electrónica venha demonstrar, nesses gânglios aparentemente normais, alterações especialmente no que diz respeito ao componente vesicular (HAGER & col.^{7, 8}, TAFURI & col.¹⁷), sede provável de síntese, armazenamento e liberação de aminas biogênicas. Parece ter sido demonstrado (TAFURI & col.¹⁷) a presença de 5 hidroxi-triptamina (5 HT) no S.N.A. do intestino da cobaia. No S.N.A. do coração é de se esperar, também, sua presença. Como se sabe, a 5 HT tem importância fundamental no mecanismo de contração das células musculares. É possível, portanto, que futuramente, na doença de Chagas venham a ser demonstradas alterações funcionais do S.N.V.P., especialmente no que diz respeito à síntese e à liberação de 5 HT. Tal fato, se comprovado, poderia explicar, por exemplo, o distúrbio da peristalse intestinal e os distúrbios de condução do coração naquela doença (TAFURI & col.¹⁵).

SUMMARY

Lesions of the autonomic nervous system of the albino mice in the chronic phase of experimental Chagas' disease

The lesions of the autonomic nervous system in 70 albino mice with chronic experimental Chagas' disease was studied. The animals, inoculated with "ABC" and "PNM" *Trypanosoma cruzi* strains, were killed in different periods from 90 up to 510 days of infection; the celiac, lumbar sympathetic and superficial cardiac plexus ganglia were studied through histological sections. Ganglia affected by neuronal degeneration and inflammatory process were found irregularly and unpredictably distributed among morphologically normal or slightly altered ganglia.

The histo-pathologic aspects were, in general, similar to those found in the acute experimental Chagas' disease, but the cellular parasitism was scarce and the inflammatory reaction less intense.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALCANTARA, F. G. — Experimentelle Chagas Kardiopathie (Quantitative Untersuchungen des intrakardialen Nervensystems). *Z. Tropenmed. Parasit.* 10:296-303, 1959.
2. ALCANTARA, F. G. — Sistema neurovegetativo do coração na moléstia de Chagas experimental. *Rev. Goiana Med.* 7:114-126, 1961.
3. ALENCAR, A. — O sistema nervoso autônomo do coração na infestação experimental do camundongo albino pelo *Schizotrypanum cruzi*. *Arq. Brasil. Med.* 50:95-102, 1960.
4. ANDRADE, A. Z. — Anatomia patológica da doença de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 4: 103-119, 1958.
5. BRENER, Z. — Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:389-396, 1962.
6. BRENER, Z. & CHIARI, E. — Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:220-224, 1963.
7. HAGER, H. & TAFURI, W. L. — Elektronenoptischer Nachweis Sogenannter neurosekretorischer Elementargranula in Marlosen Nervenfasern des Plexus myentericus (Auerbach) des Menschweinchens. *Naturwissenschaften* 46:333-334, 1959a.
8. HAGER, H. & TAFURI, W. L. — Elektronenoptische Untersuchungen über die Feinstruktur des Plexus myentericus (Auerbach) in Colon des Menschweinchens (Cavia, Cobaya). *Arch. Psychiat. Nervenkr.* 199:437-471, 1959a.
9. KÖBERLE, F. — Die Chagaskrankheit ihre Pathogenese und ihre Bedeutung als Volksseuche. *Z. Tropenmed. Parasit.* 10:236-266, 1959a.
10. KÖBERLE, F. — Cardiopatia parasymphatico-privata. *München Med. Wschr.* 101:1308-1310, 1959b.
11. LOPES, E. — *Contribuição ao estudo dos gânglios cardíacos (sistema nervoso autônomo) em chagásicos crônicos*. Tese de doutoramento. Faculdade de Medicina, Uberaba, 1965.
12. MAGARINOS TÓRRES, C. & MELO, R. P. de — Sistema nervoso autônomo do coração em casos de doença de Chagas não associados ao megaesôfago. *Hospital (Rio)* 54: 71-78, 1958.
13. PEREIRA DA SILVA, L. H. & NUSSEN-ZWEIG, V. — Sobre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Clin. Biol. (São Paulo)* 20:191-208, 1953.
14. RAMOS, J. & ORIA, J. — Clínica e histopatologia do coração em portadores de megacólon e megaesôfago. *Arq. Cir. Clin. Exp.* 4:363-442, 1940.
15. TAFURI, W. L. & RASO, P. — Lesões do sistema nervoso autônomo do camundongo albino na tripanosomíase. *Hospital (Rio)* 62:199-216, 1962.
16. TAFURI, W. L. & BRENER, Z. — Lesões do sistema nervoso autônomo do camundongo albino na tripanosomíase *cruzi* experimental na fase aguda. *Hospital (Rio)*. (Em publicação).
17. TAFURI, W. L. & RAICK, A. — Presence of 5-Hydroxytryptamine in the intramural nervous system of guinea-pig's intestine. *Z. Naturforsch.* 19:1126-1128, 1964.
18. VASCONCELOS, E. & BOTELHO, G. — *Cirurgia do megaesôfago*. São Paulo, Editora Nacional, 1937.

Recebido para publicação em 16/2/1966.