

## DESTRUIÇÃO DE NEURÔNIOS MOTORES NA MEDULA ESPINAL DE RATOS NA FASE AGUDA DA MOLÉSTIA DE CHAGAS

Fábio Leite Vichi

### RESUMO

O Autor realiza um estudo comparativo do número de neurônios encontrados no corno anterior da medula espinal nos níveis cervical, torácico e lombar em lotes de ratos normais e mortos durante a fase aguda da moléstia de Chagas.

Obteve diminuição estatisticamente significativa nos níveis torácico e lombar no lote de animais infectados.

Relaciona êsses resultados com o maior parasitismo encontrado também nêsses níveis e com o achado clínico de paralisias de trem posterior, com grande freqüência observadas durante a fase aguda da moléstia de Chagas em ratos.

### INTRODUÇÃO

Grande número de sinais neurológicos são encontrados na fase aguda da moléstia de Chagas experimental. Ressaltam-se pela freqüência as paralisias, e em especial, aquelas do trem posterior. Êste sinal clínico é observado em vários tipos de animais e foi descrito por inúmeros autores, entre os quais VIANNA<sup>5</sup>, VILLELA<sup>6</sup>, VILLELA & TORRES<sup>7</sup>, CAMPOS<sup>1</sup>, KÖBERLE<sup>3</sup>.

O quadro histopatológico do sistema nervoso central, na fase aguda da moléstia, define-se pelo encontro de numerosos pseudocistos leishmanióticos, focos inflamatórios com infiltrados celulares e pequenas hemorragias, granulomas gliais, edema e lesões degenerativas de neurônios.

Na fase crônica encontrou-se quantitativamente em ratos uma diminuição dos neurônios do corno anterior da medula espinal (SCHWARTZBURD & KÖBERLE<sup>4</sup>).

Em trabalho anterior, estudando o parasitismo, determinamos a densidade parasitária existente em três diferentes níveis da medula espinal de ratos que morreram na fase aguda da moléstia de Chagas. Referimos

também uma possível correlação entre o maior parasitismo encontrado no nível lombar da medula e as paralisias de trem posterior, tão freqüentemente notadas<sup>8</sup>.

Visando agora esclarecer uma possível relação entre essas paralisias e a destruição neuronal, e uma melhor caracterização quantitativa dessas destruições na fase aguda da moléstia de Chagas, em ratos, realizamos o presente trabalho.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 20 ratos Wistar, pesando 33-50 g com 30 dias de idade, separados em 2 lotes:

*Lote I* — 10 animais infectados com *Trypanosoma cruzi*. A inoculação foi efetuada por injeção intraperitoneal de 0,15 ml de sangue extraído por punção intracardiaca de ratos que apresentavam parasitemia evidente (15-25 tripanosomas por campo microscópico: objetiva 40×, ocular 8×).

Êsses animais morreram em fase aguda da doença, entre o 16.º e 22.º dias após a infecção. Imediatamente após a morte, a co-

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo. Departamento de Anatomia e Fisiologia Patológica (Prof. Fritz Köberle).

luna vertebral foi dissecada e fixada em solução de formalina a 10%.

*Lote II* — 10 animais, usados como controle e sacrificados com éter. Logo após a morte, a coluna foi dissecada e tratada como no lote I.

Nos dois lotes os seguintes níveis da coluna foram cuidadosamente seccionados e escolhidos para estudo de medula:

1 — Nível cervical — correspondente às vértebras C5-C6; local em que se situa a intumescência cervical.

2 — Nível torácico — correspondente às vértebras T5-T6.

3 — Nível lombar — correspondente às vértebras L1-L2; local em que se situa a intumescência lombar.

Em cada nível de cada animal foram feitos 150 cortes seriados, com espessura de 7 micra por corte. Assim cortou-se em cada nível cerca de 1,05 mm de espessura da medula espinal. Empregou-se como coloração hematoxilina e eosina.

Foram escolhidos para a contagem dos neurônios os dois campos mais laterais, dentro do corno anterior da medula. Tais campos oferecem fácil localização pelo reparo feito pelo limite com a substância branca.

Em 450 neurônios, equitativamente divididos entre os três níveis e os dois lotes animais, procedeu-se à medida do seu maior diâmetro. O diâmetro maior médio foi de 20,004 micra. Assim sendo, de cada 3 cortes era efetuada a contagem no primeiro e os outros dois rejeitados, e assim sucessivamente. Com isso, muito provavelmente, evitou-se a contagem de um mesmo neurônio duas vezes. Para cada nível foram contados um total de 50 cortes, correspondendo a 100 campos.

No lote chagásico contaram-se todos os neurônios, mesmo os grandemente lesados.

Foram calculadas as médias e os desvios padrões para cada nível de cada lote. Na análise estatística dos resultados empregou-se o teste do "chorrilho" e o teste "t". Para este, havendo heterogeneidade nas variân-

cias, os graus de liberdade foram corrigidos<sup>2</sup>.

## RESULTADOS

Os resultados estão expostos nos quadros I e II.

Ambos os testes empregados revelaram uma diminuição significativa no número de neurônios nos níveis torácicos (de  $675,3 \pm 72,4$  para  $468,9 \pm 162,4$ ) e lombar (de  $832,1 \pm 134,9$  para  $501,8 \pm 165,8$ ). A diminuição neuronal encontrada no nível cervical do lote chagásico (de  $617 \pm 39,8$  para  $497,5 \pm 182,8$ ) não foi estatisticamente significativa.

Houve concordância entre os resultados das análises estatísticas feitas pelo teste "t" e teste do chorrilho.

A figura 1 representa os resultados obtidos na experiência.

## DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Constatou-se uma destruição acentuada dos neurônios motores da medula espinal de ratos que morreram durante a fase aguda da moléstia de Chagas. A experiência mostrou ainda que a destruição parece ocorrer preferentemente nos níveis inferiores da medula espinal.

Em alguns animais a diminuição neuronal foi muito grande. As figuras 2 e 3 ilustram o grau de diminuição que pode atingir o rato chagásico.

A destruição observada deve ser um dos fatores a provocar o aparecimento das paralisias. Além da denervação a própria condição de mielite com infiltrados e edema intersticial deve contribuir para a ocorrência das paralisias.

Considere-se finalmente que o achado da destruição neuronal predominante nas regiões torácicas e lombar da medula, corre em paralelo com a maior densidade parasitária encontrada nessas regiões e com a maior incidência de paralisias do trem posterior, observada durante a fase aguda da moléstia de Chagas experimental, em ratos.

QUADRO I

Resultados da contagem de neurônios na medula espinal de ratos normais e de ratos mortos em fase aguda da doença de Chagas. Contados 100 campos (50 cortes) por nível, de cada animal.

Ratos normais				Ratos chagásicos			
Animal n.º	N.º de neurônios nos níveis			Animal n.º	N.º de neurônios nos níveis		
	cervical	torácico	lombar		cervical	torácico	lombar
1	662	773	972	1	626	373	524
2	637	752	927	2	424	424	397
3	611	600	781	3	590	452	345
4	654	723	648	4	529	892	560
5	600	629	757	5	466	463	497
6	611	714	1095	6	241	296	311
7	656	718	880	7	867	499	659
8	631	676	798	8	475	469	479
9	539	556	720	9	242	343	377
10	569	612	743	10	515	478	869
Média	617	675,3	832,1		497,5	468,9	501,8
Desvio padrão	± 39,8	± 72,4	± 134,9		± 182,8	± 162,4	± 165,8

QUADRO II

Teste "t" — Comparação das médias, nível a nível.

Nível	Lote normal	Lote chagásico	Valor de "t"	Graus liberdade	Soma das áreas fora do intervalo - "t" + "t"	Significativo
Cervical	617 ± 39,8	497,5 ± 182,8	2,02	10,04	> 5%	não
Torácico	675,3 ± 72,4	468,9 ± 162,4	3,67	13,21	< 1% > 0,1%	sim
Lombar	832,1 ± 134,9	501,8 ± 165,8	4,89	19,13	< 0,1%	sim

Teste do "Chorrilho" — Comparação dos resultados, nível a nível.

Nível	Ordem crescente dos resultados dos 2 lotes	Agrupamentos	Valor	Significativo
Cervical	C C C C C C C N N C N N N N C N N N N N C	7	5%	não
Torácico	C C C C C C C C C N N N N N N N N N N N C	3	0%	sim
Lombar	C C C C C C C C N C N N N N N C N N N N	6	2%	sim

N = Resultado da contagem de neurônios no animal normal.  
 C = Resultado da contagem de neurônios no animal chagásico.

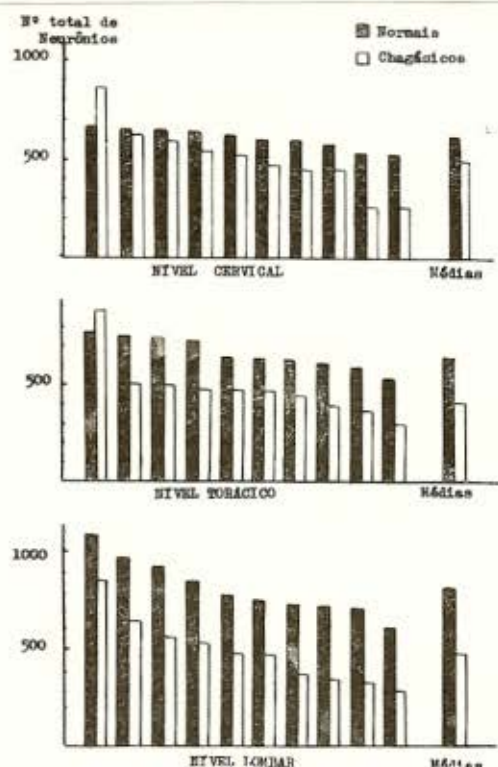


Fig. 1 — Representação gráfica dos resultados.

SUMMARY

*Motor neuron destruction, in the spinal cord - of rats, during acute Chagas disease.*

The determination of the number of neurons of the anterior horn at cervical, thoracic and lumbar levels of the spinal cord has shown differences between normal and infected rats during acute phase of Chagas' disease.

Infected animals presented a significant decrease in the number of neurons at the thoracic and lumbar regions when compared to normal ones, but not at the cervical level.

These differences are thought to be due to the greater parasitism found at the thoracic and lumbar levels of the spinal cord what may also be responsible for the hind-limbs paralysis frequently observed in the acute phase of experimental Chagas' disease in rats.

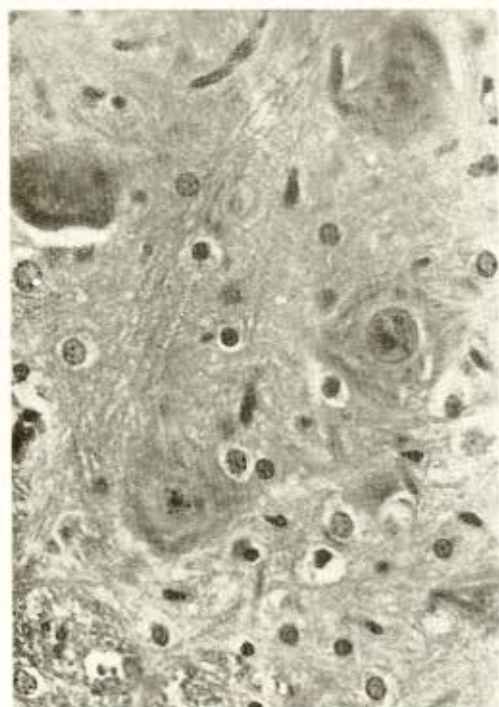


Fig. 2 — Corno anterior de medula espinal de rato normal; nível lombar. H.E. 240×.

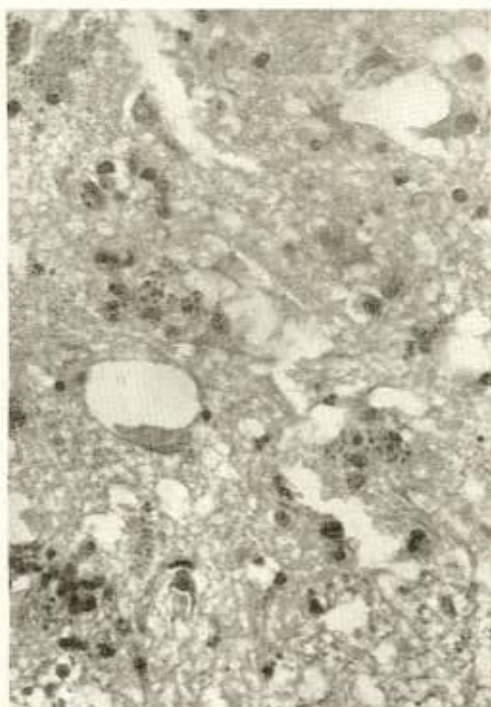


Fig. 3 — Corno anterior de medula espinal de rato chagásico; nível lombar. Notam-se vários neurônios motores em destruição. H.E. 240×.

REFERÊNCIAS

1. CAMPOS, E. Souza — Sur la paraplegie des animaux infectés expérimentalement par le *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). *Compt. Rend. Soc. Biol.* 91:984, 1924.
2. DIXON & MASSEY — *Introduction to statistical analysis* — 124, Second Edition, 1957.
3. KÖBERLE, F. — El mal de Chagas, enfermedad del sistema nervioso. *Rev. Med. de Córdoba* 47:2, 1959.
4. SCHWARTZBURD, H. & KÖBERLE, F. — Chagas-Myelopathie. *Zschr. Tropenmed. u. Parasitol.* 10:309-314, 1959.
5. VIANNA, G. — Contribuição para o estudo da anatomia patológica da Moléstia de Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 3:276-294, 1911.
6. VILLELA, E. — Paralyse expérimentale chez le chien par le *Trypanosoma cruzi*. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 91:979-983, 1924.
7. VILLELA, E. & TORRES, M. B. — Lésion histopathologiques dans la paralysie expérimentale à *Schizotrypanum cruzi* chez le chien; nature des cellules contenant le parasite dans le système nerveuse central. *Compt. Rend. Soc. Biol.* 93:133, 1925.
8. VICHI, F. L. — Estudo do parasitismo na medula espinal de ratos na fase aguda da moléstia de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 3:37-42, 1961.

Recebido para publicação em 13 janeiro 1964.