

MOLÉSTIA DE CHAGAS AGUDA EXPERIMENTAL: PARASITISMO DO HIPOTÁLAMO

EDYMAR JARDIM *

Vários trabalhos realizados no sentido de testar algumas funções orgânicas em chagásicos crônicos, vieram evidenciar a ocorrência de certas disfunções que dependem de uma agressão ao sistema nervoso central ou periférico. Assim, Lomônaco¹⁵ assinalou grande labilidade da homeostase tireoidiana, em dosagens de iôdo ligado a proteína; Reis¹⁷, observando as curvas glicêmicas, notou grandes discrepâncias nos resultados, quando comparados aos de grupo contrôle; Jardim¹⁰, verificando a sudação provocada por estímulo térmico, notou considerável diminuição relativamente aos indivíduos não chagásicos; Vieira, Mazzoncini e Lomônaco¹⁹ constataram hiperpotassemia num grande grupo de chagásicos crônicos, com vários tipos de alterações orgânicas.

Tais observações de caráter funcional não tiveram, até o momento, fundamentos de natureza anatômica para justificá-las, sendo esta uma das razões para a presente pesquisa. Mediante estudo histopatológico do hipotálamo na fase aguda da doença de Chagas no rato, procuramos verificar as eventuais alterações, tentando extrapolá-las para a patologia humana.

MATERIAL E MÉTODOS

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

A parasitemia dos animais inoculados foi verificada a partir do primeiro dia da inoculação, em gôta espessa de sangue colhido da ponta da cauda do animal, colocada entre lâmina e laminula, e os tripanosomas foram 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

Trabalho do Departamento de Neuropsiquiatria e Psicologia Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Prêto da Universidade de São Paulo: * Docente.

dia da experimentação, por degola, com a finalidade de obter morte rápida e melhor fixação do material. O encéfalo dos animais foi incluído em parafina 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 Groot⁸, que apresenta secções coronais do encéfalo de rato para estudos de estereotaxia, o qual se mostrou bastante satisfatório para localização dos vários núcleos hipotalâmicos. Para melhor estudo das alterações causadas pela parasitose, subdividimos o hipotálamo nas suas porções anterior, média e posterior, segundo a maneira clássica e estudamos três núcleos de cada região. O hipotálamo anterior fica limitado rostralmente pela borda anterior do quiasma óptico e, caudalmente, pela borda posterior do quiasma; neste compartimento verificamos o parasitismo nos núcleos supraóptico, paraventricular e da área hipotalâmica anterior. O hipotálamo médio tem como limite rostral a borda posterior do quiasma óptico e, como limite caudal, o desaparecimento dos núcleos arqueados; nesta região estudamos os núcleos dorso-mediais, ventromediais e os arqueados. O hipotálamo posterior é identificado anteriormente pela presença dos núcleos pré-mamílares e, caudalmente, pela presença dos núcleos mamílares laterais; aqui estudamos os núcleos pré-mamílares dorsais, mamílares medais e mamílares laterais.

Pretendendo complementar as observações histopatológicas nas várias regiões hipotalâmicas, além da observação do parasitismo, fizemos contagens neuronais em cada um dos níveis considerados. Assim, no hipotálamo anterior contamos neurônios no núcleo supraóptico; no hipotálamo médio, no núcleo ventromedial; no hipotálamo posterior, no núcleo mamilar lateral. Utilizamos uma ocular microscópica dotada de um retículo de 5 mm de lado, e contamos todas 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.

Para a análise estatística desses resultados foi utilizado o método não paramétrico preconizado por White²⁰, 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

No estudo histopatológico observamos que, dos 11 animais inoculados, 10 apresentaram parasitismo encefálico, correspondendo a 90,9%; apenas o animal R-22 não apresentou parasitas na região encefálica (9,1%).

Dentre os 10 animais com parasitismo encefálico, em 7 encontramos formas de leishmanias do *T. cruzi*, na região do hipotálamo, perfazendo a elevada percentagem de 70% de agressão parasitária a esta zona cerebral (Tabela 1).

A distribuição do parasitismo em relação aos níveis hipotalâmicos anterior, médio e posterior, mostrou predomínio das porções anterior e média, o que poderá ser atribuído a uma irrigação sanguínea mais pronunciada destas regiões (Tabela 2). Sete animais tinham parasitas na porção anterior, cinco nas porções anterior e média, e dois nas porções anterior, média e posterior.

O parasitismo quanto aos núcleos hipotalâmicos estudados separadamente, mostrou-se predominante na área hipotalâmica anterior, seguindo-se em ordem de frequência, os núcleos supraópticos, paraventriculares, dorsomediais e ventromediais. Os núcleos pré-mamílares, mamílares mediais, mamílares laterais e arqueados, foram as localizações com menor evidência de parasitismo. Nos núcleos arqueados notamos a presença de parasitas em apenas um animal (R-14), o qual, dentre todos os animais estudados, foi aquele que apresentou parasitismo mais acentuado em todas as regiões examinadas (Tabela 3).

Animais com parasitas no hipotálamo	Animais com parasitas no encéfalo e não no hipotálamo	Animal sem parasitas no encéfalo
R- 1	R- 8	R-22
R- 4	R-20	
R- 5	R-24	
R- 9		
R-10		
R-12		
R-14		

Tabela 1 — Distribuição do parasitismo em relação ao encéfalo e à região hipotalâmica.

Região anterior	Região média	Região posterior
R- 1	R- 4	R-10
R- 4	R- 5	R-14
R- 5	R- 9	
R- 9	R-10	
R-10	R-14	
R-12		
R-14		

Tabela 2 — Distribuição do parasitismo em relação às regiões hipotalâmicas.

Animal	AHA	SO	PV	DM	VM	AR	PM	MM	ML
R- 1	+	+	+						
R- 4	+		+	+	+				
R- 5	+	+		+	+				
R- 9	+		+	+	+				
R-10	+	+	+	+	+				
R-12		+					+	+	+
R-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabela 3 — Distribuição do parasitismo em relação aos núcleos hipotalâmicos. AHA = Área hipotalâmica anterior; SO = núcleo supraóptico; PV = núcleo paraventricular; DM = núcleo dorsomedial; VM = núcleo ventromedial; AR = núcleo arqueado; PM = núcleo pré-mamilar dorsal; MM = núcleo mamilar medial; ML = núcleo mamilar lateral.

O comprometimento do hipotálamo, como vimos de constatar, não é encontrado em todos os casos, pois os animais R-8, R-20 e R-24 apesar de possuírem parasitas no encéfalo não os apresentaram especificamente naquela região.

As formas em leishmania encontradas mostraram-se esparsas ou agrupadas em pseudocistos, sendo muito mais freqüente 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, tigrônise central, plenos nuclear, tumefação da oligodendroglia, proliferação do endotélio dos pequenos vasos e infiltrados inflamatórios perivasculares moderados.

A comparação das médias neuronais encontradas nos grupos controle e chagásico, utilizando-se o método não paramétrico de estatística de ordem (White²⁰), veio mostrar que a diferença entre os grupos, foi estatisticamente significativa ao nível de 5% para os núcleos supraópticos e ventromediais, não acontecendo o mesmo para os núcleos mamilares laterais. A redução do número de neurônios ao nível dos núcleos supraópticos e ventromediais nos animais chagásicos é concordante com a maior intensidade do parasitismo encontrado no hipotálamo anterior e médio. Ao nível da região hipotalâmica posterior, representada nas contagens, pelos núcleos mamilares laterais, a comparação das médias neuronais não se mostrou estatisticamente significativa, concordando dessa maneira com o discreto parasitismo verificado nessa região (Tabelas 4 e 5).

Animal	Núcleo supraóptico	Núcleo ventromedial	Núcleo mamilar lateral
C-1	111 *	126	88
C-2	133	131	96
C-3	141	142	106
C-4	103	112	102
C-5	118	139	99
Médias	121,2	130,0	98,2

Tabela 4 — Contagem de neurônios nos animais controle. * número correspondente à média de neurônios contados em 20 cortes.

Animal	Núcleo supraóptico	Núcleo ventromedial	Núcleo mamilar lateral
R- 1	108 *	82	94
R- 4	92	105	98
R- 5	95	89	98
R- 9	76	114	86
R-10	90	85	85
R-12	107	90	102
R-14	87	79	96
Médias	93,6	92,0	94,1

Tabela 5 — Contagem de neurônios nos animais chagásicos: * número correspondente à média de neurônios contados em 20 cortes.

COMENTÁRIOS

Segundo Köberle e Alcântara¹², as alterações neuronais são subseqüentes ao parasitismo tecidual pelo *T. cruzi*, representado pelas formas em leishmania. As lesões neuronais seriam, na concepção desses autores, decorrentes de uma substância tóxica liberada pela desintegração dos parasitas. Esta circunstância, suspeitada por Chagas⁵ e por Crowell⁷, foi também admitida mais recentemente por Torres¹⁸ 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 protéica 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 protéica. 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.

Admite-se que tôdas as funções do organismo sejam influenciadas, direta ou indiretamente, pelo hipotálamo sendo que, ao nível dessa estrutura, não existe uma separação nítida entre funções neurovegetativas e somáticas, como acontece periféricamente. Da estimulação de determinada região podem resultar manifestações de um tipo ou de outro, como demonstraram Hess⁹ e outros pesquisadores. O papel do hipotálamo é de grande importância, pois o organismo tem necessidade de manter dentro de limites bastante precisos, a composição de seus líquidos circulantes, no interior dos quais vivem as células. Na regulação deste meio adequado à vida celular, que irá condicionar o bom funcionamento dos vários sistemas, entra em jôgo um grande número de fatores de ordem nervosa e humoral, que são, na sua maior parte, influenciados por centros nervosos situados na região hipotalâmica. Dai, poderemos concluir que lesões neuronais nesta região poderão levar à perturbações do funcionamento dos sistemas dela dependentes. Para exemplificar, diremos que já se demonstrou que o hipotálamo pode modificar diretamente, por uma ação primária neurogênica, a ingestão de sódio (Antunes-Rodrigues^{3,4}); Anderson e col.² demonstraram que lesões mesencefálicas em cães traziam graves alterações endócrinas e metabólicas, entre as quais a perda de sódio e potássio. Por outro lado, os principais elementos destinados à regulação da temperatura corporal, estão também localizados na região hipotalâmica.

Podemos inferir do exposto que as alterações funcionais relativas à homeostase tireoidiana e glicídica, à sudação e à regulação da potassemia, sejam

decorrentes de uma agressão ao hipotálamo na fase aguda da doença, pois, como afirmou Köberle ¹¹, o destino do chagásico decide-se na fase aguda. As alterações encontradas representariam seqüelas desta fase “que consistiriam numa redução numérica mais ou menos acentuada dos neurônios, decorrente de uma destruição neuronal em tórno dos pseudocistos rôtos” (Köberle ¹⁴).

Para Chagas ⁵, agressão ao sistema nervoso central poderia fazer-se também em época muito posterior à fase aguda da infecção, quando ausentes todos os sinais do período agudo”, num surto de reativação da doença. O teor das alterações funcionais dependeria em última análise, da intensidade e da localização de agressão, levando-se em conta, todavia, que “a substância nervosa não constitui de modo constante, ou pelo menos com a constância do miocárdio, séde da multiplicação do tripanosoma” (Chagas ⁶).

Nossa experiência com os exames neurológicos de numerosos chagásicos crônicos apresentando ou não, patologias circulatórias ou digestivas, mostra que as alterações semiológicas mais encontradas são as hipo ou arreflexias tendinosas profundas; mais raramente são observados comprometimento de nervos cranianos e síndromes de cordão posterior, síndromes cerebelares, oligofrenias, distúrbios da motricidade voluntária. Esses casos são rotulados como de origem chagásica, quando não se consegue evidenciar patologias de outra natureza, mórmente quando resulta positiva a reação de Machado Guerreiro.

Entretanto, a maior parte dos pacientes chagásicos crônicos nada apresenta ao exame neurológico realizado nos moldes da semiologia clássica. Nestes casos, a aplicação de provas funcionais como a do iôdo ligado à proteína, das curvas de tolerância à glicose, da sudação por estímulo térmico e da dosagem do potássio sanguíneo, permitiriam evidenciar comprometimento do sistema nervoso central, que não poderia ser demonstrado pela semiologia tradicional. Tais dados sugerem que novas avaliações devam ser feitas em relação a outros tipos de testes paraclínicos em pacientes chagásicos crônicos, pois sômente assim poderemos encontrar, gradativamente, novos subsídios para o diagnóstico clínico das formas nervosas crônicas da moléstia de Chagas.

R E S U M O

O autor procurou relações entre alterações funcionais atribuídas ao hipotálamo e lesões orgânicas do mesmo, na vigência da moléstia de Chagas. Usou em seu trabalho ratos inoculados com *T. cruzi* por via intraperitoneal. Realizou estudo histopatológico e quantitativo neuronal das várias regiões hipotalâmicas, em cortes seriados corados com a hematoxilina-eosina. Encontrou considerável percentagem de parasitismo hipotalâmico (70%), sendo que a região anterior é mais parasitada que a média ou a posterior. A destruição neuronal foi também mais evidente na região anterior. Sugere que as alterações do metabolismo glicídico, tireoidiano, da sudação e da potassemia, devam ser consideradas como seqüelas destas lesões.

S U M M A R Y

Experimental acute Chagas disease in the rat: parasitism of hypothalamus

This work search relations between functional impairments imputed to hypothalamus and organic lesions in Chagas' disease. The author used rats with *T. cruzi* inoculation by intraperitoneal way. Histopathologic and quantitative neuronal studies were done by serial sections of hypothalamus. It was demonstrated that the anterior hypothalamic region is more parasited than others, with greater neuronal destruction also. The author suggests that impairments of glycidic and thyroidian metabolism, of sweating and potassium blood level, must be considered as sequels of these lesions.

R E F E R Ê N C I A S

1. ALVARENGA, R. J. — Histopatologia da fase aguda da moléstia de Chagas em camundongos. An. Congr. Intern. Mol. Chagas, Rio de Janeiro, 1959.
2. ANDERSON, E.; BATES, R. W.; HAWTORNE, E.; HAYMAKER, W.; KNOWLTON, R.; RIOCH, D. Mc K.; SPENCE, W. T. & WILSON, H. — The effects of midbrain and spinal cord transection on endocrine and metabolic functions with postulation of hypothalamic-pituitary activating system. Recent Progr. Hormone Res. 38:22, 1957.
3. ANTUNES-RODRIGUES, J. — Contrôles hipotalâmico da ingestão seletiva de água e cloreto de sódio. Tese de doutoramento, Fac. Medicina de Ribeirão Preto, 1962.
4. ANTUNES-RODRIGUES, J. — Estudos sobre a influência do hipotálamo na ingestão de sódio. Tese de docência, Fac. Medicina de Ribeirão Preto, 1968.
5. CHAGAS, C. — Processos patogênicos da tripanosomíase americana. Mem. Inst. O. Cruz 8:5, 1916.
6. CHAGAS, C. — Tripanosomíase americana. Forma aguda da moléstia. Mem. Inst. O. Cruz 8:37, 1916.
7. CROWELL, B. C. — The acute form of american trypanosomiasis. Notes on its pathology, with autopsy report and observations on trypanosomiasis in animals. Am. J. trop. Med. 3:425, 1923.
8. GROOT, J. — The rat forebrain in stereotaxic coordinates. Trans. Royal Neth. Acad. Sci. 52:11, 1959.
9. HESS, W. R. — Diencephalon. Autonomic and Extrapiramidal Functions. Grune & Stratton, New York, 1954.
10. JARDIM, E. — Sudorese em pacientes com a moléstia de Chagas crônica. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 25:214, 1957.
11. KÖBERLE, F. — Patogenia da moléstia de Chagas. Estudo dos órgãos musculares ócos. Rev. Goiana Med. 3:155, 1957.
12. KÖBERLE, F. & ALCANTARA, F. G. — Mecanismo da destruição neuronal do sistema nervoso na moléstia de Chagas. Hospital 57:173, 1960.
13. KÖBERLE, F. — Patologia da moléstia de Chagas. Medicina CARL, Centro Acadêmico Rocha Lima da FMRP 1:73, 1962.
14. KÖBERLE, F. — Aspectos neurológicos da moléstia de Chagas. Arq. Neuro-Psiquiat. (São Paulo) 25:159, 1967.
15. LOMONACO, D. A. — Estudo da função tireoidiana na forma crônica da moléstia de Chagas. Tese de Docência, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1962.

16. PRATES-CAMPOS, J. C. — Radioautographic 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, 1969.
17. REIS, L. C. F. — Estudo sobre anormalidades observadas em curvas glicêmicas na moléstia de Chagas. Tese de doutoramento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1963.
18. TORRES, C. M. — Sobre a anatomia patológica da moléstia de Chagas. *Mem. Inst. O. Cruz* 36:391, 1941.
19. VIEIRA, C. B.; MAZZONCINI, M. & LOMONACO D. A. — Variações da potassemia na forma crônica da moléstia de Chagas. *Rev. paul. Med.* 66:239, 1965.
20. WHITE, C. — The use of ranks in a test of significance for comparing two treatments. *Biometrics* 8:33, 1952.

Departamento de Neuropsiquiatria e Psicologia Médica — Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo — Ribeirão Preto, SP — Brasil.