

ESTUDO DO PARASITISMO NA MEDULA ESPINAL DE RATOS NA FASE AGUDA DA MOLÉSTIA DE CHAGAS

Fábio Leite VICHÍ

RESUMO

O Autor faz um estudo quantitativo dos pseudocistos leishmanióticos, encontrados nos níveis cervical, torácico e lombar da medula de ratos que morreram em fase aguda de moléstia de Chagas.

Determina o número de pseudocistos separadamente para a substância branca e cinzenta e a densidade parasitária encontrada nos três níveis da medula.

O parasitismo, que em alguns animais foi muito intenso, mostrou-se maior na substância cinzenta que na branca. Constatou-se também ser o nível lombar da medula mais parasitado que os outros. Êste último dado pode ser relacionado com a grande incidência de paralisia do trem posterior, verificada em ratos na fase aguda da moléstia de Chagas.

INTRODUÇÃO

A forma nervosa da moléstia de Chagas, no homem, foi magistralmente descrita por CARLOS CHAGAS², em 1913. Para esclarecer o quadro patogenético dessa forma da moléstia êle havia sugerido um trabalho experimental a GASPARI VIANNA que, em 1911, pôde observar, em gatos, paralisia do trem posterior⁴.

VILLELA e SOUZA CAMPOS, posteriormente, em trabalhos distintos, referem a ocorrência de paralisia do trem posterior em cães^{1, 5}.

KÖBERLE nota a paralisia do trem posterior de ratos chagásicos como um dos sintomas neurológicos mais freqüentes³.

São encontrados no sistema nervoso central, durante a fase aguda da moléstia, numerosos pseudocistos leishmanióticos. Observa-se, quando do rompimento dêsses ni-

nhos de parasitos, a existência de reação inflamatória e lesões degenerativas dos neurônios. Tais fatos explicariam então a paralisia.

Havendo preferência de paralisia para o trem posterior, deveria haver na região da medula em que se origina o plexo lombar — intumescência lombar —, um parasitismo mais acentuado.

Em função de demonstrar a possibilidade acima aventada, realizou-se o presente trabalho.

Para efeito de comparação, o parasitismo do nível lombar da medula do rato foi confrontado com aquêles obtidos nos níveis cervical e torácico, cujas células nervosas não emitem prolongamentos nervosos que inervem os membros posteriores.

Fac. Med. de Ribeirão Preto, Univ. São Paulo — Dep. de Patologia (Prof. F. Köberle).

Trabalho feito com auxílio do Convênio entre o Ministério da Saúde (DNERu) e a Secretaria de Saúde Pública e Assist. Social do Estado de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 10 ratos Winstar, pesando 35-50 g, injetados com *Trypanosoma cruzi* por via intraperitoneal. A inoculação foi efetuada com 0,15 ml de sangue extraído por punção intracardiaca de ratos que apresentaram parasitemia evidente (15-25 tripanosomas por campo microscópico; objetiva 40x, ocular 8x). Os ratos assim inoculados morreram em fase aguda de moléstia entre o 16.º e o 22.º dia após a infecção. Imediatamente após a morte a coluna vertebral foi dissecada e fixada em solução de formalina a 10%. Os seguintes níveis da coluna foram cuidadosamente seccionados e escolhidos para o estudo da medula:

- 1 — Nível correspondente às vértebras C₅-C₆, local em que se situa a intumescência cervical-nível cervical.
- 2 — Nível correspondente às vértebras T₅-T₆, nível torácico.
- 3 — Nível correspondente às vértebras L₁-L₂, local onde se situa a intumescência lombar-nível lombar.

Os segmentos medulares dessas regiões foram incluídos em parafina. Em cada nível e para cada animal foram feitos 110 cortes seriados, com espessura de 7 micras cada um. A coloração usada foi hematoxilina e eosina.

Admitindo-se como dimensão máxima para um pseudocisto cerca de 70 micras, de cada 11 cortes seriados, um deles foi escolhido e a contagem dos pseudocistos efetuada. Com isso evitou-se muito provavelmente a contagem de um mesmo pseudocisto por duas vezes.

Usou-se o seguinte critério de reconhecimento de pseudocistos leishmanióticos: células parasitadas por leishmânias com a membrana íntegra ou rôta, ou agrupamentos de leishmânias no espaço intersticial.

Em cada corte dois campos microscópicos (objetiva 40x e ocular 8x) de substância branca e dois de substância cinzenta, situados no eixo transversal da medula e simè-

tricamente opostos, foram examinados (fig. 1). Procurando-se padronizar o exame em todos os cortes, eram examinados na substância branca os dois campos mais internos e na substância cinzenta os dois campos mais externos situados no referido eixo. Entre os dois campos, sempre era deixada uma pequena faixa de difícil caracterização histológica, conforme poderá ser observado no esquema abaixo. Em cada corte foram somados os resultados obtidos para a substância branca e para a substância cinzenta.

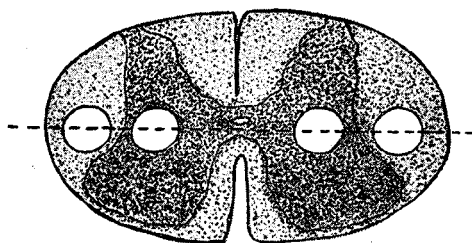


Fig. 1 — Esquema representando os campos microscópicos da substância branca e cinzenta escolhidos para contagem de pseudocistos.

Além disso foram contados também em cada corte o número total de pseudocistos encontrados em toda extensão da medula.

Com a finalidade de obter-se a densidade parasitária nos três níveis medulares escolhidos, determinou-se a área total dos cortes examinados. Para tal foram êles projetados sobre papel especial, do qual 1 mg de pêso corresponde a 100 cm² de área. As áreas projetadas foram recortadas. Determinou-se a área total dos cortes projetados para cada nível. Conhecida a área de projeção de uma superfície unitária a área total dos cortes projetados foi revertida para a área total real dos cortes examinados.

O número médio de pseudocistos por corte de cada nível foi dividido pela área média de cada nível. Obteve-se assim a densidade parasitária nos três níveis da medula.

RESULTADOS

Os resultados estão expostos nos Quadros I, II e III, bem como nas figuras.

QUADRO I

Número de pseudocistos na medula espinal em 20 campos/animal.

| Nº do animal * | Substância branca | | | Substância cinzenta | | |
|----------------|-------------------|----------------|--------------|---------------------|----------------|--------------|
| | Nível cervical | Nível torácico | Nível lombar | Nível cervical | Nível torácico | Nível lombar |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 1 | 3 | 1 | 0 | 47 | 29 |
| 3 | 11 | 1 | 3 | 48 | 17 | 45 |
| 4 | 2 | 2 | 10 | 11 | 50 | 106 |
| 5 | 4 | 3 | 11 | 48 | 17 | 45 |
| 6 | 4 | 7 | 14 | 24 | 16 | 66 |
| 7 | 7 | 8 | 26 | 67 | 40 | 197 |
| 8 | 22 | 7 | 26 | 94 | 38 | 128 |
| 9 | 1 | 1 | 46 | 65 | 83 | 173 |
| 10 | 19 | 62 | 71 | 129 | 355 | 352 |
| Total | 71 | 91 | 208 | 481 | 665 | 1.107 |

* Os animais foram numerados pela ordem crescente do parasitismo na substância branca, no nível lombar.

QUADRO II

Número total de pseudocistos em três diferentes níveis da medula espinal; examinados 10 cortes por nível de cada animal.

| Nº do animal | Número de pseudocistos contados em 10 cortes | | |
|--------------|--|----------------|--------------|
| | Nível cervical | Nível torácico | Nível lombar |
| 1 | 41 | 13 | 18 |
| 2 | 34 | 234 | 194 |
| 3 | 495 | 178 | 586 |
| 4 | 154 | 415 | 1.089 |
| 5 | 288 | 131 | 379 |
| 6 | 333 | 142 | 548 |
| 7 | 634 | 345 | 2.615 |
| 8 | 1.639 | 325 | 1.792 |
| 9 | 550 | 523 | 1.777 |
| 10 | 1.839 | 2.261 | 3.320 |
| Totais | 6.007 | 4.567 | 12.318 |

QUADRO III

Densidade parasitária em três diferentes níveis da medula espinal de ratos, em fase aguda da moléstia de Chagas.

| Nível da medula | Área média da superfície de corte (mm ²) | Média de pseudocistos por corte | Densidade parasitária (nº de pseudocistos por mm ²) |
|-----------------|--|---------------------------------|---|
| Cervical | 3,1956 | 60,07 | 18,8 |
| Torácica | 1,9040 | 45,67 | 23,9 |
| Lombar | 2,4801 | 123,18 | 49,6 |

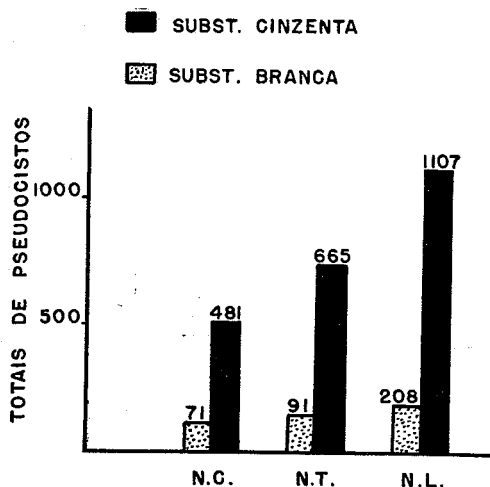


Fig. 2 — Parasitismo pelo *T. cruzi* (número total de pseudocistos) na substância branca e na cinzenta, em três diferentes níveis da medula espinal: N.C. — nível cervical; N.T. — nível torácico; N.L. — nível lombar.

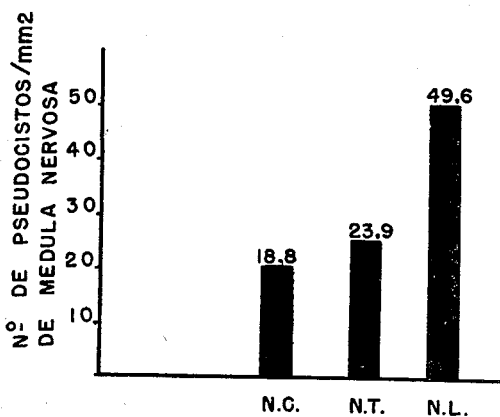


Fig. 3 — Densidade parasitária (número de pseudocistos por mm²) em três níveis diferentes da medula espinal, em fase aguda da moléstia de Chagas.

Revelam que a densidade parasitária no nível lombar é maior que a dos níveis torácico e cervical. Há sugestão ainda de que o parasitismo diminui à medida que ascende-se na medula.

Os resultados obtidos da contagem dos pseudocistos em áreas iguais da substância branca e da substância cinzenta, mostram igualmente o maior parasitismo no nível lombar. Mostram também ser maior o número de ninhos de parasitos na substância cinzenta que na branca.

INTERPRETAÇÃO E DISCUSSÃO

Relacionando-se a disseminação dos tripanosomas com a via hematogena, a maior densidade parasitária, existente no nível lombar da medula, poderia correr por conta de um fluxo arterial maior neste nível.

Tal possibilidade, entretanto, não pode ser corroborada, por falta de dados a respeito na literatura.

O maior parasitismo encontrado na substância cinzenta em relação à substância branca pode ser explicado pelo fluxo arterial maior existente na substância cinzenta. O metabolismo mais elevado da substância cinzenta, além do mais, propicia um meio mais compatível à vida dos parasitos. Outro fator a se considerar é a existência, na substância cinzenta, de um maior número de células gliais, o que possibilita maior fixação dos parasitos nessa substância.

Como se pode verificar pelo Quadro II, existem grandes variações do parasitismo da medula dos animais usados na experiência.

Em alguns dêses o parasitismo foi acentuadíssimo. O animal n.º 10, animal mais parasitado do lote, apresentou a média de 125,7 pseudocistos/mm² no nível lombar e de 123,2 pseudocistos/mm² de área de medula do nível torácico. Igualmente grande foi a densidade parasitária média, obtida no nível lombar do animal n.º 7 (102 pseudocistos/mm² de tecido). A microfotografia (Fig. 4) dá uma idéia do alto grau de parasitismo que ocorreu na medula de um dêses dois animais. É de se notar que ambos os animais citados apresentaram paralisia completa do trem posterior.

CONCLUSÕES

Na fase aguda da moléstia de Chagas em ratos, evidencia-se:

- 1 — maior densidade parasitária no nível lombar da medula;
- 2 — maior parasitismo na substância cinzenta que na branca;
- 3 — possível correlação dêses dados com a paralisia do trem posterior, tão frequentemente observada.

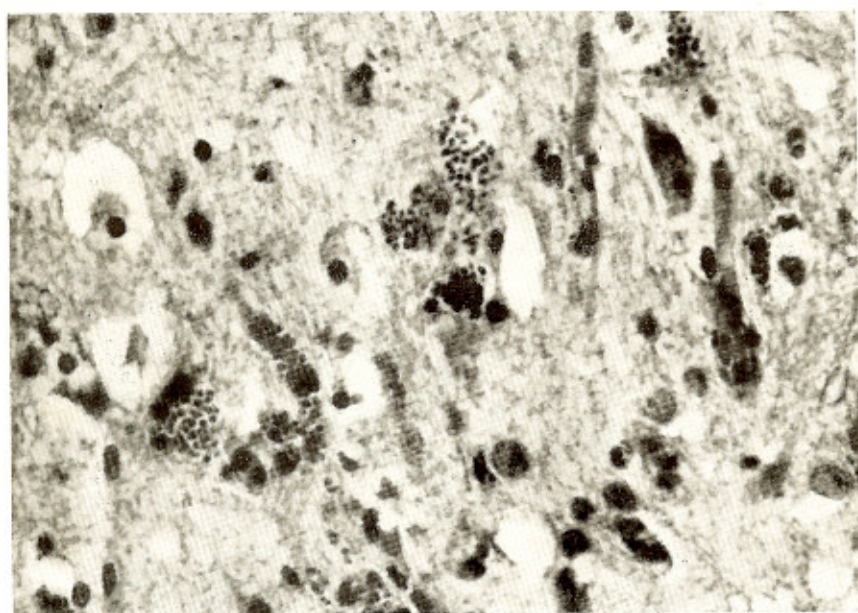


Fig. 4 — Corte da medula de rato em fase aguda da moléstia de Chagas, mostrando intenso parasitismo.

Após a presente experimentação pode ajuntar-se paralelamente ao sintoma de paralisia do trem posterior a existência de maior densidade parasitária na região de origem dos nervos que se dirigem aos membros posteriores do rato. Outros trabalhos, demonstrando agora alterações neuronais da medula em ratos na fase aguda da moléstia de Chagas, poderão melhor esclarecer o assunto.

SUMMARY

Study of parasitism in the spinal cord of rats at acute stage of Chagas' disease.

The Author presents a quantitative analysis of leishmaniotic pseudocysts found at the cervical, dorsal and lumbar levels of the spinal cord of rats dying at the acute stage of Chagas' disease.

The number of pseudocysts was counted in the white and the gray substance, at three

levels of the spinal cord. The lumbar level of the spinal cord was the most intensely parasitized. These data could be closely related to the greater incidence of posterior limb paralysis described in the animals at the acute stage of Chagas' disease.

The parasitism, which was found to be intense in animals, had the peculiar characteristic of being greater in the gray than in the white substance.

REFERÊNCIAS

1. CAMPOS, E. S. — Sur la paraplégie des animaux infectés expérimentalement par le *Trypanosome cruzi* (Chagas 1909). Compt. rend. Soc. Biol. 91:984, 1924.
2. CHAGAS, C. — Les formes nerveuses d'une nouvelle Trypanosomiase. Nouv. Iconogr. Salpêtrière 26:1, 1913.
3. KOBERLE, F. — El mal de Chagas, enfermedad del sistema nervioso. Rev. Med. de Córdoba 47:2, 1959.
4. VIANNA, G. — Contribuição para o estudo da anatomia patológica da moléstia de Carlos Chagas. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 3: 276-294, 1911.
5. VILLELA, E. — Paralyse expérimentale chez le chien par le *Trypanosoma cruzi*. Compt. Rend. Soc. Biol. 91:979-983, 1924.

Recebido para publicação em 14 novembro 1960.