

ESTUDO QUANTITATIVO E QUALITATIVO DOS PLEXOS DE AUERBACH E MEISSNER DO ESÔFAGO DE CÃES INOCULADOS COM O *TRYPANOSOMA CRUZI*

Estela R.O. Caliari, Marcelo V. Caliari, Marta de Lana e
Washington L. Tafuri

Foi realizado um estudo quantitativo e qualitativo dos plexos de Auerbach e Meissner do esôfago de quatro cães chagásicos sacrificados na fase aguda da infecção. As ganglionites e periganglionites do plexo de Auerbach variaram de discretas a moderadas, induzindo lesões neuronais significativas, principalmente em dois animais. Os gânglios do plexo de Meissner foram observados em pequeno número, impossibilitando qualquer análise. Miosite discreta ou moderada foi observada principalmente no terço inferior do esôfago, raramente associada a nêmbos de amastigotas. A contagem de gânglios e neurônios não demonstrou desnervação. Apesar de em nenhum dos cães ter sido induzida a formação de megaesôfago, relatamos lesões do plexo de Auerbach e de miocélulas do esôfago de animais na fase aguda da infecção chagásica. Este parece ser o primeiro estudo quantitativo e qualitativo sistemático dos plexos de Auerbach e Meissner do esôfago na tripanosomíase cruzi experimental.

Palavras-chaves: Esôfago. Plexos de Auerbach e Meissner. *Trypanosoma cruzi*. Fase Aguda. Cão.

Andrade caracterizou bem a fase aguda e a forma indeterminada da cardiopatia chagásica no cão¹. Lana inoculando a cepa Be78 em cães caracterizou muito bem a cardiopatia chagásica crônica fibrosante, com quadro clínico e eletrocardiográfico muito semelhante a forma cardíaca humana². Pelo que sabemos, até o momento, não se documentou claramente a forma digestiva (megaesôfago e megacólon) experimental. Também não se tem notícias de estudos sistematizados dos neurônios dos plexos de Auerbach e Meissner do esôfago na tripanosomíase cruzi experimental. Por estas razões realizamos o presente trabalho, no pressuposto de encontrar prováveis lesões neuronais do esôfago na infecção chagásica experimental canina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados oito cães de 60 dias de idade, sendo 4 inoculados com 2000 tripomastigotas sanguíneos/kg de peso da cepa Be-78 pela via intraperitoneal e 4 controles. Os animais foram mantidos em canil apropriado com dieta *ad libitum* e observação diária. A parasitemia foi avaliada de acordo com Brener³.

Os animais foram sacrificados cerca de 30 dias após o inóculo sendo colhido o esôfago *in totum* de cada um deles. Foram cortados 3 anéis de 6mm de espessura: um anel foi cortado logo abaixo da cartilagem cricóide, correspondente ao terço superior (TS); outro foi cortado logo acima do cárdia, correspondente ao terço inferior (TI) e o último anel foi obtido na região mediana do esôfago, correspondente ao terço médio (TM). Os anéis foram incluídos em parafina, cortados semi-seriadamente (1:5) com 5µm de espessura até o esgotamento total do bloco e, corados pela HE e tricrômico de Gomori. Foram contados todos os gânglios e corpos de neurônios dos plexos de Meissner e Auerbach dos 250 cortes obtidos em média de cada anel. O número de corpos de neurônio/gânglio dos cães infectados foi comparado em relação aos controles através do teste "t" de Student. As ganglionites e periganglionites foram classificadas em discretas (+), moderadas (++)

Departamentos de Ciências Biológicas do Instituto de Ciências Exatas e Biológicas e de Análises Clínicas da Escola de Farmácia, Universidade Federal de Ouro Preto.

Departamento de Patologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais.

Financiado pelo CNPq e FAPEMIG.

Endereço para correspondência: Prof. Marcelo V. Caliari, Depto. Patologia Geral/ICB/UFMG, Av. Antônio Carlos 6627, Pampulha, 31270-010 Belo Horizonte, MG.

Fax (031) 441-1412.

Recebido para publicação em 04/05/95.

e intensas (+++) de acordo com a intensidade do infiltrado inflamatório.

Também foram colhidos fragmentos do miocárdio para detecção da miocardite chagásica e do parasitismo pelo *T. cruzi*.

RESULTADOS

Todos os animais infectados apresentaram miocardite aguda intensa como já demonstrada em trabalho anterior¹. Foram observadas variações anatômicas do esôfago dos animais estudados, inclusive nos cães controles. Uma análise macroscópica mais precisa necessitaria de uma maior amostragem.

Ganglionites e periganglionites do plexo de Auerbach foram observadas nas seguintes porcentagens: 18,3%, 29,2% e 26%, respectivamente nos terços superior, médio e inferior dos cães infectados (Figura 1a e Tabela 1). Encarquilhamento, tumefação, picnose, cariólise e tigrólise dos neurônios foram

esporadicamente observados em dois animais infectados e bem mais frequentes nos outros dois restantes (Figura 2), que também apresentaram fenômenos inflamatórios mais pronunciados. Não foram encontrados ninhos de amastigotas nos plexos nervosos.

Frequentemente foi observada miosite discreta ou moderada focal e/ou difusa, principalmente no TI. Raros ninhos de amastigotas foram encontrados nas fibras musculares (Figuras 1a e b).

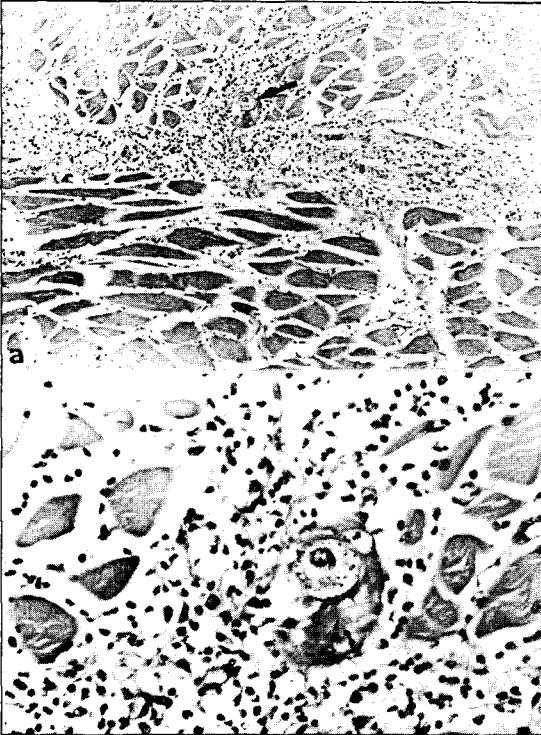


Figura 1 - Terço inferior de esôfago de cão inoculado com a cepa Be-78 e sacrificado na fase aguda da infecção: a) miosite, ganglionite e periganglionite do plexo de Auerbach com exsudato predominantemente de células mononucleadas. Miócito vacuolizado contendo formas amastigotas (seta); b) detalhe da figura anterior. HE (a) X200; (b) X360.

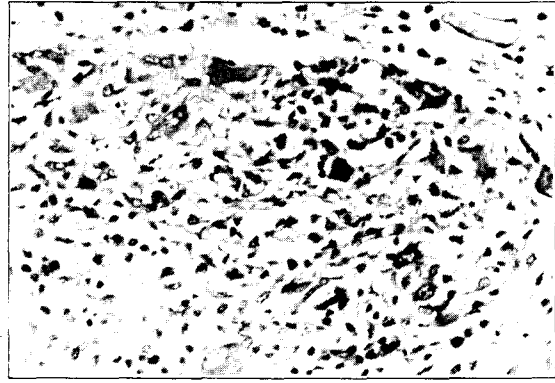


Figura 2 - Terço inferior de esôfago de cão inoculado com a cepa Be-78 e sacrificado na fase aguda da infecção. Ganglionite com infiltrado predominantemente de células mononucleadas e fenômenos regressivos dos neurônios (Encarquilhamento, tumefação, picnose, cariólise e tigrólise). HE X360.

O número total de gânglios e neurônios dos plexos de Auerbach e Meissner de cada animal está contido nas Tabelas 2 e 3. A média do número de corpos de neurônio/gânglio do plexo de Auerbach nos cães infectados foi de $2,9 \pm 0,71$, $3,4 \pm 0,95$ e $4,7 \pm 1,49$ nos TS, TM e TI, respectivamente. Nos cães controles, tais médias nas mesmas regiões foram de $3,3 \pm 0,91$, $3,2 \pm 1,1$ e $3,8 \pm 1,2$. A análise pelo teste "t" de Student não mostrou variação significativa (TS: $t = -0,7$, $p > 0,05$; TM: $t = 0,16$, $p > 0,05$; TI: $t = 0,88$, $p > 0,05$), indicando não haver redução numérica dos neurônios. Em apenas um único cão foram encontrados gânglios do plexo de Meissner, não sendo possível fazer a análise estatística.

DISCUSSÃO

Okumura e col documentaram lesões do plexo de Auerbach em camundongos inoculados com a cepa Y e afirmaram ter obtido megacólon em alguns destes animais, detectado clinicamente através de estudo radiográfico². Também com relação ao

Tabela 1 - Intensidade da inflamação e número dos gânglios inflamados do plexo de Auerbach do esôfago de cães infectados com o T. cruzi.

Cão	Intensidade da inflamação	Número dos gânglios inflamados do plexo de Auerbach		
		Terço superior	Terço médio	Terço inferior
1	+	0	40	80
	++	0	0	40
	+++	0	0	0
2	+	1	23	31
	++	0	0	0
	+++	0	0	0
3	+	22	30	17
	++	0	2	0
	+++	0	0	0
4	+	61	53	311
	++	2	7	36
	+++	0	0	4

+ discreto; ++ moderado; +++ intenso.

Tabela 2 - Resultados da avaliação quantitativa dos plexos de Auerbach e Meissner do esôfago de cães controles.

Cão		Terço superior		Terço médio		Terço inferior	
		Plexo de Auerbach	Plexo de Meissner	Plexo de Auerbach	Plexo de Meissner	Plexo de Auerbach	Plexo de Meissner
1	Neurônios	475	0	421	0	1002	0
	Gânglios	132	0	98	0	297	0
2	Neurônios	687	0	370	0	4930	0
	Gânglios	213	0	231	0	920	0
3	Neurônios	627	11	377	0	2092	25
	Gânglios	144	7	111	0	495	7
4	Neurônios	420	0	540	0	1110	0
	Gânglios	195	0	150	0	465	0

Tabela 3 - Resultados da avaliação quantitativa dos plexos de Auerbach e Meissner do esôfago de cães infectados com o T. cruzi.

Cão		Terço superior		Terço médio		Terço inferior	
		Plexo de Auerbach	Plexo de Meissner	Plexo de Auerbach	Plexo de Meissner	Plexo de Auerbach	Plexo de Meissner
1	Neurônios	280	0	250	0	1560	0
	Gânglios	130	0	130	0	430	0
2	Neurônios	197	0	226	0	2491	0
	Gânglios	74	0	71	0	627	0
3	Neurônios	323	0	701	0	1843	0
	Gânglios	107	0	199	0	420	0
4	Neurônios	623	0	546	0	3556	0
	Gânglios	158	0	130	0	515	0

esôfago, parece não haver relato seguro na literatura no que se refere à indução de mega. Foi relatado megaesôfago em cães inoculados com a cepa Y, porém os resultados e a documentação fotográfica se restringem somente à macroscopia, deixando dúvidas sobre a causa real da dilatação que também não foi analisada quantitativa e estatisticamente¹⁰. Marsden e col também afirmam terem obtido megaesôfago em um macaco inoculado com a cepa Peru, mas no trabalho não há qualquer documentação fotográfica à respeito da lesão⁸. Lesões e infiltrado inflamatório no plexo mioentérico do

esôfago foram demonstrados na fase crônica da infecção em coelhos inoculados com a cepa Ernestina e com antígenos de *T. cruzi*¹². Guimaraes e Miranda afirmam ter encontrado megaesôfago em macaco rhesus após 10 anos de infecção. Todavia, quer nos parecer que lhes faltaram muitos parâmetros para chegarem a esta conclusão. A tuberculose parece ter sido a maior causa das lesões do esôfago e a presença do parasito neste órgão poderia ser secundária a mecanismos de imunossupressão⁶.

Até o momento tem-se demonstrado que as cepas Be-62 e Be-78 são mais miotrópicas

do que neurotrópicas e, em relação ao tecido muscular, elas parasitam e lesam mais intensamente as miocélulas estriadas cardíacas^{5,15}. Talvez por esta razão, sendo mais discreta a miosite do esôfago dos cães estudados neste experimento, os plexos nervosos intramurais indiretamente sejam menos atingidos. Este fato não acontece como no coração, pois como já demonstrado anteriormente, o sistema nervoso autônomo intracardíaco é bem mais atingido principalmente via periganglionite e ganglionite secundárias à epicardite focal e/ou difusa do átrio⁵.

Temos 17 cães no biotério inoculados com as cepas Be-62, Be-78 e Colombiana que sobreviveram a fase aguda e estão com mais de 8 anos de infecção comprovada pelo xenodiagnóstico e ELISA. Até o momento não se verificou megaesôfago e nem megacólon em 11 cães já sacrificados na fase crônica.

A cepa Be-78 inoculada em cães não foi capaz de produzir lesões significativas nos plexos nervosos intramurais do esôfago à ponto de induzir a formação de um mega. Porém, os fenômenos inflamatórios e as lesões observadas neste experimento talvez possam ser semelhantes às lesões básicas iniciais de esôfagos humanos na fase aguda da infecção¹¹.

SUMMARY

A quantitative and qualitative study was conducted on the Auerbach and Meissner plexuses of the esophagus of four chagasic dogs sacrificed during the acute phase of infection. Ganglionitis and periganglionitis of the Auerbach plexus ranged from mild to moderate and induced significant neuronal lesions, especially in two animals. The ganglions of the Meissner plexus were observed in small number which did not permit any analysis. Mild or moderate myositis was observed mainly in the lower third of the esophagus and was rarely associated with amastigote nests. Ganglion and neuron counts did not demonstrate denervation. Although the formation of megaesophagus was not induced in any dog, lesions of the Auerbach plexus and myocells of the esophagus were observed during the acute phase of chagasic infection. To our knowledge, this is the first systematic quantitative and qualitative study of the Auerbach and Meissner plexuses of the esophagus in experimental trypanosomiasis cruzi.

Key-words: Esophagus. Auerbach and Meissner plexuses. Trypanosoma cruzi. Acute phase. Dog.

AGRADECIMENTOS

A Maria Chaves pelo auxílio técnico prestado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Andrade ZA. The canine model of Chagas' disease. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 79:77-83, 1984.
2. Brener Z. Therapeutic activity and criterion of cure in mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 4:389-396, 1962.
3. Caliari MV, Lana M, Leite VHR, Tafuri WL. Morphological and morphometric study of atrial specific granules and other secretory components in experimentally infected dogs with *Trypanosoma cruzi*. International Journal of Experimental Pathology 76:299-307, 1995.
4. Caliari MV, Lana M, Oliveira ER, Barbosa AJA, Tafuri WL. Immunocytochemical study of tissue parasitism of dog adrenal glands in experimental Chagas' disease. Parasite 1:397-400, 1994.
5. Caliari MV, Lana M, Caliari ERO, Tafuri WL. Cardiac plexus of dogs experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*: inflammatory lesions and quantitative studies. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 28:7-11, 1995.
6. Guimarães JP, Miranda A. Megaesôfago em macaco Rhesus com 10 anos de infecção chagásica. In: Congresso Internacional sobre Doença de Chagas 2:657-671, 1959.
7. Lana M, Chiari E, Tafuri WL. Experimental Chagas' disease in dogs. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 87:59-71, 1992.
8. Marsden PD, Seah SKK, Draper CC, Pettitt LE, Miles MA, Voller A. Experimental *Trypanosoma cruzi* infections in rhesus monkeys. II. The early chronic phase. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 70:247-251, 1976.
9. Okumura M. Contribuição para o estudo das lesões dos neurônios do plexo mioentérico do colo na moléstia de Chagas experimental no camundongo branco (*Mus musculus*). Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo 22:192-203, 1967.
10. Okumura M, Neto AC. Produção experimental de "megas" em animais inoculados com *Trypanosoma cruzi*. Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo 16:338-341, 1961.
11. Tafuri WL, Lopes E, Numan B. Doença de Chagas congênita. Estudo clínico-patológico de um caso com sobrevida de seis meses. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 15:322-330, 1973.
12. Teixeira ARL, Teixeira ML, Santos-Buch CA. The immunology of experimental Chagas' disease. IV. Production of lesions in rabbits similar to those of Chronic Chagas' disease in man. American Journal of Pathology 80:163-180, 1975.