

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

Valdelice Oliveira Burgos

ANÁLISE BIOQUÍMICA E HISTOPATOLÓGICA DO FÍGADO E
PÂNCREAS EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE CAMUNDONGOS
BALB/C MACHOS E FÊMEAS INFECTADOS PELA CEPA RAL E RC DE
TRYPANOSOMA CRUZI.

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia da UNICAMP para obtenção
do título de Doutor em Parasitologia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque

CAMPINAS
2007

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP**

B915a	Burgos, Valdelice Oliveira Análise bioquímica e histopatológica do fígado e pâncreas em modelos experimentais de camundongos BALB/c machos e fêmeas infectados pela cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i>/ Valdelice Oliveira Burgos. – Campinas, SP: [s.n.], 2007. Orientador: Sérgio de Albuquerque. Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia. 1. <i>Trypanosoma cruzi</i>. 2. Pâncreas. 3. Fígado. 4. Bioquímica - Avaliação. I. Albuquerque, Sérgio de. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.
--------------	---

Título em inglês: Biochemical and histopathological analysis from liver and pancreas in guinea pigs (male and female BALB/c mice) infected by RAL and RC strains from *Trypanosoma cruzi*.

Palavras-chave em inglês: *Trypanosoma cruzi*; Pancreas; Liver; Evaluation biochemistry.

Área de concentração: Parasitologia.

Titulação: Doutora em Parasitologia.

Banca examinadora: Sérgio de Albuquerque, Urara Kawazoe, Selma Giorgio, Ana Amélia Carraro Abrahão, Carmen Cinira Santos Martin.

Data da defesa: 12/07/07.

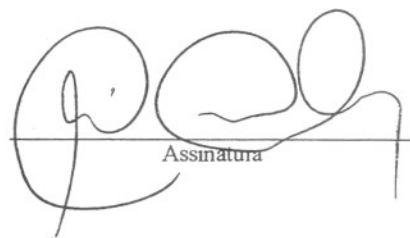
Programa de Pós-Graduação: Parasitologia.

Campinas, 12 de julho de 2007

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque

(Orientador)



Assinatura

Profa. Dra Urara Kawazoe



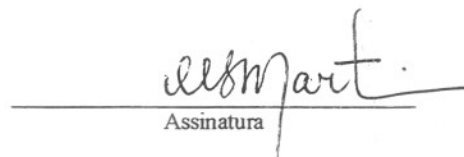
Assinatura

Profa. Dra Selma Giorgio



Assinatura

Profa. Dra Carmen Cinira Santos Martin



Assinatura

Profa. Dra Ana Amélia Carraro Abrahão



Assinatura

200751806

Meu Senhor Deus quero te agradecer por me dar
força quando preciso, por estar comigo em minha
caminhada, te dou Graças por Tudo.

Manoel Britto Burgos, meu Pai querido, que tanto me ajuda, e me socorre quando preciso, só posso te dizer muito Obrigada, e que Deus esteja sempre a seu lado.

Natália Débora Oliveira Burgos, minha Mãe, querida, que me ouve, dá conselhos, e me ampara em todos os momentos; uma Mulher Iluminada por Deus.

Meus Irmãos Manoel e Débora Burgos, obrigada
por suas orações e amor.

Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque, obrigada por me ajudar em minha caminhada desde a graduação até hoje, e espero que sempre possa contar com você.

A UNIGRAN, Instituição a qual trabalho, por me ajudar nesse momento tão importante profissionalmente e pessoalmente, por compreender minhas ausências sempre que foi preciso.

Profa. Dra. Urara Kawazoe, Coordenadora do curso de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Biologia-UNICAMP, obrigada por sempre colaborar comigo, e me ajudar com palavras sábias.

A Profa Dr. Terezinha Bazé, profissional admirável, sempre compartilhando momentos de dificuldades e felicidades comigo, espero que em toda minha vida tenha a sua presença.

Aos meus amigos Wanderlei Schimitz e Fabio Leite, pela amizade profunda.

Aos Meus Colegas Professores e Professoras do curso de Biomedicina da UNIGRAN, obrigada pela amizade e carinho.

Aos alunos do curso de Biomedicina, minha luta e força será sempre compartilhado com vocês, obrigada, pelas palavras de carinho e compreensão nos meus momentos de ausência.

A Colete Fonseca, obrigada por me ajudar, que Deus esteja sempre te protegendo.

A Carla Domingues, muito obrigada por me ajudar, peço a Deus que ilumine você e sua Família.

Aos meus colegas de Pós-graduação perto e longe de mim, que me acompanharam nessa jornada, obrigada.

Aos Técnicos do Departamento de Parasitologia da FCFRP-USP, Miriam, Toninha e Georgius, meu muito obrigada por colaborarem comigo sempre que foi pedido, e por me acompanhar no meu crescimento profissional.

Aos Docentes e Funcionários do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia-UNICAMP, meu muito obrigada por sempre serem solícitos e atenciosos, agradeço em especial ao Prof. Dr. Nelso Cordeiro da Silva, meu amigo que nunca esquecerei, que me recebeu muito prontamente no Departamento de Parasitologia.

Aos secretários da UNICAMP Marcos e Andréia, sempre muito gentis comigo.

Aos animais que utilizei para meu experimento, sem eles não o realizaria.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	01
1. OBJETIVO.....	18
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
3. RESULTADOS.....	24
3.1 Parasitemia.....	24
3.2 Variação de Peso.....	26
3.3 Glicemia.....	27
3.4 Análises Bioquímicas.....	29
3.4.1 Fosfatase Alcalina.....	29
3.4.2 Albumina.....	33
3.4.3 Proteínas Totais.....	37
3.4.4 Uréia.....	41
3.4.5 Creatinina.....	45
3.4.6 Aspartato Transaminase (AST).....	50
3.4.7 Colesterol.....	53
3.4.8. Triglicérides.....	57
3.5 Análises Histopatológicas.....	61
3.5.1 Fígado: Grupo Fêmea Infectada com a Cepa RC.....	61
3.5.2 Morfometria dos Hepatócitos.....	65
3.5.3 Pâncreas: Grupo Fêmea Infectado com a Cepa RC.....	66
3.5.4 Morfometria dos Ácinos.....	70
3.5.5 Fígado: Grupo Fêmea Infectado com a Cepa RAL.....	70
3.5.6 Morfometria dos Hepatócitos.....	75
3.5.7 Pâncreas: Grupo Fêmea Infectada com a Cepa RAL	76
3.5.8 Morfometria dos Ácinos.....	79
3.5.9 Fígado: Grupo Macho Infectado com a Cepa RC.....	80
	83

3.5.10 Morfometria dos Hepatócitos.....	84
3.5.11. Pâncreas: Grupo Macho Infectado com a Cepa RC.....	87
3.5.12 Morfometria dos Ácinos.....	88
3.5.13 Fígado: Grupo Macho Infectado com a Cepa RAL.....	91
3.5.14 Morfometria dos Hepatócitos.....	92
3.5.15 Pâncreas: Grupo Macho Infectado com a Cepa RAL.....	95
3.5.16. Morfometria dos Ácinos.....	
4. DISCUSSÃO	96
4.1 Parasitemia.....	96
4.2 Peso.....	98
4.3 Glicemia.....	100
4.4 Análise Bioquímica: Fosfatase Alcalina, Albumina, Proteínas Totais, Uréia, Creatinina, Aspartato Transaminase (AST), Colesterol e Triglicérides.....	101
4.4.1 Fosfatase Alcalina.....	102
4.4.2 Albumina.....	103
4.4.3 Proteínas Totais.....	105
4.4.4 Uréia.....	106
4.4.5 Creatina.....	106
4.4.6 Aspartato Transaminase (AST).....	107
4.4.7 Colesterol e Triglicérides.....	108
4.5 Histopatologia.....	109
CONCLUSÃO.....	112
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	115

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Parasitemia de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i>	24
Gráfico 2. Parasitemia de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i>	25
Gráfico 3. Peso de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i>	26
Gráfico 4. Peso de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i>	27
Gráfico 5. Glicemia entre camundongos machos e fêmeas, dos grupos controles e infectados pela 2×10^4 formas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i>	28
Gráfico 6. Glicemia entre camundongos machos e fêmeas, dos grupos controles e infectados pela 2×10^4 formas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i>	29
Gráfico 7. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos fêmeas relativos aos grupos de animais controle, sem infecção, e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ***p<0,001 CF vs. IF-RAL **p<0,01 ***p<0,001 CF vs. IF-RC.....	30
Gráfico 8. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos machos dos grupos de animais controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . **p<0,01***p<0,001 CM vs. IMRAL ***p<0,001 CM vs. IMRC.....	31
Gráfico 9. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IF-RAL vs. IM-RAL.....	32
Gráfico 10. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos fêmeas e machos dos grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . *p<0,05 IF-RC vs. IM-RC.....	33
Gráfico 11. Níveis de albumina sérica em camundongos fêmeas controle e infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . *p<0,05 **p<0,01 CF vs. IFRAL ***p<0,001 CF vs. IFRC.....	34
Gráfico 12. Níveis de albumina sérica em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . **p<0,01 CF vs. IFRAL **p<0,01 ***p<0,001 CF vs. IFRC.....	35
Gráfico 13. Níveis de albumina sérica em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i>	36
Gráfico 14. Níveis de albumina sérica em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i>	37
Gráfico 15. Níveis de proteínas totais em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma</i>	

<i>cruzi</i> .***p<0,001 CF vs. IFRAL ***p<0,001 CF vs. IFRC.....	38
Gráfico 16. Níveis de proteínas totais em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . **p<0,01 ***p<0,001 CM vs. IMRAL ***p<0,001 CM vs. IMRC.....	39
Gráfico 17. Níveis de proteínas totais em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRAL vs. IMRAL **p<0,01 IFRAL vs. IMRAL.....	40
Gráfico 18. Níveis de proteínas totais em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRC vs. IMRC.....	41
Gráfico 19. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 CF vs IFRAL ***p<0,001 CF vs. IFRC.....	42
Gráfico 20. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 CM vs IMRAL ***p<0,001 CM vs. IMRC.....	43
Gráfico 21. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRAL IMRAL.....	44
Gráfico 22. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRC vs. IMRC.....	45
Gráfico 23. Níveis de creatinina em camundongos fêmeas controle e infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 CF vs. IFRAL ***p<0,001 CF vs. IFRC.....	46
Gráfico 24. Níveis de creatinina em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 CM vs. IMRAL ***p<0,001 CM vs. IMRC.....	47
Gráfico 25. Níveis de creatinina em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRAL vs. IMRAL.....	48
Gráfico 26. Níveis de creatinina em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRC vs. IMRC.....	49
Gráfico 27. Níveis de aspartato transaminase em camundongos fêmeas controle e infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 CF vs. IFRAL ***p<0,001 CF vs. IFRC.....	50
Gráfico 28. Níveis de aspartato transaminase em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 CM vs. IMRAL ***p<0,001 CM vs. IMRC.....	51
Gráfico 29. Níveis de aspartato transaminase em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRAL vs. IMRAL.....	52
Gráfico 30. Níveis de aspartato transaminase em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> .***p<0,001 IFRC vs. IMRC.....	53
Gráfico 31. Níveis de colesterol em colesterol de camundongos fêmeas controle e	

infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . **p<0,01 ***p<0,001 CF vs. IFRAL **p<0,01 ***p<0,001 CF vs. IFRC.....	54
Gráfico 32. Níveis de colesterol em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ***p<0,001 CM vs. IMRAL **p<0,001 CM vs. IMRC.....	55
Gráfico 33. Níveis de colesterol em colesterol de camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ***p<0,001 IFRAL vs. IMRAL.....	56
Gráfico 34. Níveis de colesterol em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ****p<0,001 IFRC vs. IMRC.....	57
Gráfico 35. Níveis de triglicérides em camundongos fêmeas controle e infectadas. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . *p<0,001 CF vs. IFRAL **p<0,05 CF vs. IFRC *** p<0,001 CF vs. IFRC.....	58
Gráfico 36. Níveis de triglicérides em camundongos machos controle e infectadas. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ***p<0,001 CM vs. IMRAL ***p<0,001 CM vs. IMRC.....	59
Gráfico 37. Níveis de triglicérides em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ***p<0,001 IFRAL vs. IMRAL.....	60
Gráfico 38. Níveis de triglicérides em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> . ***p<0,001 IFRC vs. IMRC.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Comparação dos parâmetros nucleares hepáticos entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	65
Tabela 2. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	70
Tabela 3. Comparação dos parâmetros nucleares dos hepatócitos, entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	75
Tabela 4. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	79
Tabela 5. Comparação dos parâmetros nucleares hepáticos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	83
Tabela 6. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RC de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	87
Tabela 7. Comparação dos parâmetros nucleares hepáticos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	91
Tabela 8. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RAL de <i>Trypanosoma cruzi</i> , de acordo com o curso da infecção.....	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo controle do 1.º dia sem alterações patológicas (hematoxilina-eosina – 250 X).....	63
Figura 2. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 6.º dia na reação inflamatória da cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000X).....	63
Figura 3. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 9.º dia presença de ninho de amastigota e na figura observa-se também uma maior necrose tecidual causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	64
Figura 4. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 12.º dia intensa reação inflamatória e ninho de amastigota causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	64
Figura 5. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 14.º dia com desorganização citoplasmática e migração linfática intensa causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 250 X).....	65
Figura 6. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 1.º dia sem alteração tecidual das células acinares pancreáticas causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 250 X).....	67
Figura 7. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 6.º dia células acinares pancreáticas iniciam a desorganização deixando suas formas piramidais causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 250 X).....	67
Figura 8. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 9.º dia ninho de amastigota (na seta), e observa-se na figura necrose e desorganização celular causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 250 X).....	68
Figura 9. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 12.º dia desorganização celular intensa causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	68
Figura 10. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14.º dia intensa necrose tecidual e desorganização celular com reação inflamatória causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	69
Figura 11. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 1.º dia: sem alterações patológicas (hematoxilina-eosina – 250 X).....	72
Figura 12. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 6.º dia: nas flechas apresentam linfócito entre as células do hepatócito, e parênquima hepático com arquitetura desarranjada e esteatose nuclear causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	73
Figura 13. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 9.º dia: na flecha infiltrado linfocitário entre as células do hepatócito causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).....	73
Figura 14. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo	

infectado do 12.º dia: nas flechas infiltrados linfocitários, com intensa vacuolização citoplasmática e células inflamatórias causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).....	74
Figura 15. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14.º dia: na flecha infiltração inflamatória, proliferação inflamatórias causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).....	74
Figura 16. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 1.º dia: sem alteração tecidual das células acinares pancreáticas causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).....	77
Figura 17. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado 6.º dia: ácinos desorganizados, os contornos celulares praticamente não são visíveis irregulares citoplasma exibindo vacuolizações causadas pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000X).....	77
Figura 18. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 9.º dia: ácinos desorganizados com presença de linfócitos com presença de ninho de amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina - 1000X).....	78
Figura 19. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 12.º dia: desorganização celular intensa causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	78
Figura 20. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14.º dia: citoarquitetura dos ácinos estão alterados com presença de formas amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina-1000X).....	79
Figura 21. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 1.º dia: sem alterações patológicas. (hematoxilina-eosina – 1000 X)...	81
Figura 22. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 6.º dia: após seis dias de infecção não houve aparecimento de formas amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).....	81
Figura 23. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 9.º dia: reação inflamatória com necrose tecidual, conseqüentemente uma alteração arquitetônica das células causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	82
Figura 24. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 12.º dia: reação inflamatória intensa causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).....	82
Figura 25. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 14.º dia: necrose tecidual e migração linfática intensa causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).....	83
Figura 26. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 1.º dia: sem alteração tecidual (hematoxilina-eosina – 250 X).....	85
Figura 27. Aspecto histológico das células acinares de camundongos machos do grupo infectado do 6.º dia: na flecha ácinos desorganizados com infiltrado inflamatório causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-250X).....	85
Figura 28. Aspecto histológico das células acinares de camundongos machos do grupo infectado do 9.º dia: granuloma é observado no interior dos ácinos causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-250X).....	86
Figura 29. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do	

grupo infectado do 12.º dia: ácinos desorganizados com presença de ninho amastigota causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-1000X).....	86
Figura 30. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14.º dia: desorganização celular causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-1000X).....	87
Figura 31. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 6.º dia: início das alterações histopatológicas. (hematoxilina-eosina – 250 X).....	89
Figura 32. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 9.º dia: início das alterações histopatológicas desorganização dos parênquimas hepáticos causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	89
Figura 33. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 12.º dia: invasões do infiltrado celular necrose celular e ninho de amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	90
Figura 34. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 14.º dia: desorganização dos hepatócitos e aparecimento de um infiltrado inflamatório agudo causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).....	90
Figura 35. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 1.º dia: sem alteração tecidual (hematoxilina-eosina – 250 X).....	93
Figura 36. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 6.º dia: início da desorganização tecidual causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).....	93
Figura 37. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 9.º dia: desorganização tecidual e infiltrado celular causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).....	94
Figura 38. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 12.º dia: desorganização celular causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).....	94
Figura 39. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 14.º dia: reação inflamatória causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).....	95

LISTA DE ABREVIATURAS

ALFAC	Álcool, formol e ácido acético
ALT	Alanina Aminotransferase
ALP	Fosfatase Alcalina
AST	Aspartato Aminotransferase
ATP	Adenosina tri-fosfato
CDC	Centro de Controle de Doenças e Prevenção
DCH	Doença de Chagas Humana
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
EUA	Estado Unidos da América
TGO	Transaminase Glutânico-oxalacética
IGF	Like Growth Factor
IMC	Índice de Massa Corpórea
L	Linhagens
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
RNAR	Ácido Ribonucléico Ribossomal
TGP	Transaminase Glutânico-piruvico
Z	Zimodemas

RESUMO

A avaliação fisiológica dos hospedeiros infectados pelo *Trypanosoma cruzi* sugere um desequilíbrio homeostático. A infecção pode estar relacionadas com a cepa, morfologia e inóculo do agente infectante ou mesmo fatores inerentes ao hospedeiro vertebrado, como características imunológicas, genéticas, nutricionais e ainda hormonais. Este trabalho teve como objetivo analisar duas cepas RAL e RC de *T. cruzi* verificando a patologia com a mesma linhagem genética o Linhagem 1. Os animais experimentais foram os camundongos Balb/c; infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas das duas cepas. A cepa RAL foi originalmente isolada de triatomíneo *Triatoma infestans*, proveniente de Santa Rosa do Viterbo – SP e a cepa RC isolada a partir da infecção natural do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous azarae*, capturado na cidade de Cássia dos Coqueiros, no Estado de São Paulo. Para a avaliação bioquímica e histopatológica foram inoculados o protozoário *T. cruzi* em camundongos fêmeas e machos coletando-se o sangue e retirando-se o pâncreas e fígado nos respectivos dias 1.º (grupo controle), 6.º, 9.º, 12.º e 14.º. Após a inoculação foram analisados: peso, parasitemia, glicose, fosfatase alcalina, proteínas totais, uréia, creatinina, aspartato-transaminase (AST ou TGO), colesterol e triglicerídeos. Houve diminuição do peso, variação da parasitemia de acordo com o dia, reduzida taxa de glicose sangüínea bem como de todos os outros parâmetros bioquímicos já mencionados, exceto uréia. Verificou-se que a cepa RAL foi mais virulenta que a cepa RC, machos mais susceptíveis à infecção, pois houve maior parasitemia nesse grupo de camundongo. Os dois grupos apresentaram acentuadas alterações bioquímicas e histológicas. Na análise histológica, os tecido hepático e pancreático estavam acentuadamente desorganizados, com aparecimento granulomatoso e infiltrados celulares e presença de formas amastigotas ou ninhos de amastigotas. Os resultados encontrados nos camundongos inoculados pelas cepas RAL e RC de *T. cruzi* mostraram alguns parâmetros similares, outros alterados mesmo sendo de semelhante linhagem genética.

Palavras Chaves: *Trypanosoma cruzi*, pâncrea, fígado, avaliação bioquímica.

ABSTRACT

The physiologic evaluations of infected hosts by *Trypanosoma cruzi* undergo a homeostatic imbalance, which may be related to the parasite strain factors as well as to the morphology and inoculation of the *T. cruzi* infective agent or also to the inherent factors of a vertebrate host such as immunologic, genetic, nutritional and hormonal characteristics. This work aimed to analyze two strains from *T. cruzi* - RAL and RC - checking this protozoan pathology with the same phylogenetic line (Zidodema 1). The guinea pigs were Balb/c mice infected with 2×10^4 forms from tripomastigotes of the two strains. Primarily, RAL strain was isolated from *Trachoma infestans* triatomineum, came from Santa Rosa do Viterbo /SP and RC strain was isolated from a bushdog natural infection -*Cerdocyon thous azarae*- caught in Cássia dos Coqueiros /SP. For a biochemical and histopathological evaluation *T. cruzi* was inoculated in female and male mice, collecting blood and removing their pancreas and livers at the 1st (control group) 6th, 9th, 12th and 14th days respectively. After the inoculation, weight, parasitic index, glucose, alkaline phosphatase, total proteins, urea, creatinine, aspartate-transaminase (AST or TGO), cholesterol and triglycerides were analyzed. There were weight reduction, parasitic index variation according to the specific day, blood glucose rate diminished as well as all the biochemical parameters already mentioned, except urea. It was verified that RAL strain was more virulent than RC one because the males were more susceptible to the infection, since there was a great parasitic index in this group, in both strains. Biochemical and histological changes were more emphatic in both groups. In histological evaluation, the hepatic and pancreatic tissues were stressed disorganized, appearing granulomatous formations, infiltrated cellular and the presence of amastigotes. The finding results in mice inoculated by RAL and RC strains from *T. cruzi* presented some parameters so similar and others were changed although the genetic line was the same.

Keywords: *Trypanosoma cruzi*, pancreas, liver, biochemistry evaluation

INTRODUÇÃO

A infecção chagásica se apresenta, desde a sua descoberta por Carlos Chagas em 1909, como uma doença difícil de ser combatida, devido a sua multiplicidade de características. Além de abranger quase toda a América Latina, é apontada como uma das principais doenças que causa morbidade entre as populações carentes. Estima-se que aproximadamente 15 a 20 milhões de indivíduos são infectados na América do Sul, causando a morte de 70.000 pessoas/ano, contaminando 400.000 pessoas/ano. Até o momento considera-se que quase 120 milhões de pessoas da América Latina, isto é, cerca de 25% dos habitantes correm risco de contaminação (SCHMUNIS, 1997; WHO, 2004; DUTHIE *et al.*, 2005).

Variações intraespecíficas das características estão relacionadas com as diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi* que vêm sendo demonstradas através de níveis: morfológico, bioquímico e genético (TIBAYRENC & AYALA, 1988). Essa heterogeneidade pode ser uma das razões que explique a variabilidade nas manifestações clínicas da doença de Chagas (DEVERA *et al.*, 2002).

A prevalência da infecção chagásica nas Américas é conhecida, com maior precisão no Cone Sul e Venezuela; por intermédio de inquéritos sorológicos mais extensos, os quais demonstraram a importância da doença como problema de saúde pública. Nesses países citados tem sido determinante a implementação de ações de controles para que estudos mais extensos sejam promovidos como condições para realização da fiscalização da doença. Por ser uma doença de evolução crônica é dificilmente diagnosticada na fase aguda (SILVEIRA, 2000). Por isso a doença de Chagas humana (DCH) apresenta mortalidade importante na fase aguda cerca de 10 a 40% dos indivíduos infectados (DIAS & COURA, 1997). Pesquisas realizadas sobre

as manifestações clínicas da doença mostram que a forma cardíaca é predominante, e também a mais amplamente estudada, diferentemente de outros órgãos que sofrem alterações devido ao *T. cruzi*.

Esse parasitismo acomete muitas espécies mamíferas. Diversas formas de contaminação ocorrem, e a maior ainda é apresentada por via vetorial, veiculado pelo hospedeiro invertebrado (triatomíneo), que hospeda as formas tripomastigotas metacíclicas. Essas formas metacíclicas são liberadas pelas fezes ou urina. Em contato com a pele ou mucosa penetram na corrente sangüínea. Além disso, há outras formas de contaminação: transfusão de sangue, transplante de órgão, via transplacentária e acidentais, entre outras (VINHAES & DIAS, 2000; MONTOYA, 2003).

Mesmo que o principal hospedeiro invertebrado da doença de Chagas seja o *Triatoma infestans*, embora tenha sido controlado em regiões endêmicas no Brasil, dados obtidos do programa de controle do vetor, sugerem a ocorrência de re-infestação por outros triatomíneos como o *Panstrongylus megitus* e *Triatoma sordida* (FLEMING-MORAN, 1992).

Nos últimos anos, novas pesquisas demonstram que a DCH no território da Amazônia Brasileira, vem chamando a atenção de diversos pesquisadores da área, por ser encontradas diferentes espécies de triatomíneos são encontrados em focos silvestres, ocasionando assim, uma considerável circulação de *T. cruzi* entre vetores e animais (COURA *et al.*, 2002).

Estudos realizados na cidade de Barcelos, na Amazônia, comprovam que há casos de indivíduos soropositivos para anticorpos contra *T. cruzi*, e tais indivíduos relataram a presença de triatomíneos em seus locais de trabalho (piaçabais),

mentionando também a ocorrência de hematofagia pelo vetor nas cabanas (VALENTE & VALENTE 1992; COURA *et al.*, 1999; DIAS *et al.*, 2002). Pesquisadores que trabalham na região consideram que um dos importantes desencadeadores da alteração no quadro atual da DCH na região amazônica é a enzootia silvestre, principalmente pelo fato de existir um crescente desmatamento da região (COURA *et al.*, 1999; DIAS 2002).

Até o momento foram encontradas 18 espécies de triatomíneos na região da Amazônia Brasileira: *Alberprosenia malheroi*, *Belminus laportei*, *Cavernicola lenti*, *C. pilosa*, *Eratyrus mucronatus*, *Microtriatoma trinidadensis*, *Panstrongylus geniculatus*, *P. lignarius*, *P. megistus*, *P. rufotuberculatus*, *Rhodnius amazonicus*, *R. brethesi*, *R. paraensis*, *R. pictipes*, *R. prolixus*, *R. robustus*, *Triatoma maculata* e *T. rubrofasciata*. Dentre as espécies relatadas, *R. brethesi* merece uma atenção especial, pela possibilidade de estar envolvido em um foco de transmissão silvestre da doença de Chagas em coletores de piaçaba na região do Alto Rio Negro, Amazonas (DIAS *et al.*, 2002; ROCHA *et al.*, 2004).

Além da região Amazônica a frequência de espécies secundárias vêm apresentando grande importância no intradomicílio de várias regiões do Brasil, e tem ocorrido em grande escala. O *Triatoma vitticeps* já foi descrito como foco de doença de Chagas em Arcádia, Estado do Rio de Janeiro (LOROSA, *et al.*, 2003).

A doença de Chagas está deixando de ser um problema de saúde pública apenas na América Latina, se alastra tanto na América do Norte quanto na Europa. Nos Estados Unidos da América (EUA) o Centro de Controle de Doenças e Prevenção (CDC), está em alerta devido ao aumento do número de norte-americanos chagásicos; no ano de 2001, especificamente no mês de abril, foram notificados três mulheres que

foram infectadas órgãos infectados com *T. cruzi*. Duas dessas mulheres morreram após 2 meses, durante o período da fase aguda, após o transplante de pâncreas e fígado. Todavia, a terceira paciente sobreviveu à fase aguda do parasito *T. cruzi*, após realização de transplante de rim. Na ocasião foi averiguado que os indivíduos doadores dos órgãos eram imigrantes originários da América Central, e que, provavelmente não foram submetidos a testes para detecção do parasito da doença de Chagas. A estimativa de indivíduos chagásicos provenientes da América Latina residentes nos EUA é de aproximadamente 25 a 100 mil (ZAYAS *et al.*, 2002).

A doença de Chagas se apresenta três diferentes fases clínicas: a aguda, indeterminada (ou crônica assintomática) e crônica (ou crônica sintomática). Na fase aguda os tripomastigotas circulam nos vasos sangüíneos e prolifera no interior do citoplasma celular do hospedeiro vertebrado, principalmente nas células do sistema fagocitário mononuclear, para diferenciarem-se em formas amastigotas, as quais provocam destruição celular e, concomitantemente, um processo potente de inflamação onde os amastigotas podem se alojar em vários órgãos (VIANNA, 1911; CHAGAS, 1916).

Após a fase aguda, o processo e os sintomas inflamatórios desaparecem. Assim, o parasito não é encontrado facilmente na circulação ou nos tecidos, fase caracterizada como indeterminada (COURA, 2003).

Na fase crônica, as formas amastigotas são encontradas basicamente nos tecidos e raras formas tripomastigotas circulantes. Observa-se nessa fase, intensa destruição celular, com presença de infiltrados inflamatórios e fibrose tecidual, processo patológico relacionado com o parasitismo no local da inflamação as formas amastigotas estão presentes (CORBETT *et al.*, 2002; DUTHIE *et al.*, 2005).

Köeberle & Nador (1955), pesquisaram e comprovaram a anatomopatologia do quadro clínico determinado por *T. cruzi*. As alterações causadas pelo *T. cruzi* é especialmente determinada por características próprias no hospedeiro contaminado que dificulta o organismo doente a manter a homeostase, altera regulação de suas funções: motora, secretora ou metabólica. No curso da infecção, os organismos hospedeiros infectados sofrem influências de diferentes fatores como: temperatura ambiente, idade, sexo, constituição genética, nutricional e imunológica do hospedeiro (BRENER, 1962).

Alcântara & Andrade (1964) ao estudarem o sistema digestório com *T. cruzi*, observaram parasitos no sistema muscular, no plexo de Auerbach (camadas musculares circunferencial interna e externa da parede muscular; controla, principalmente, os movimentos gastrintestinais) além de infiltrado linfocitário. Outros pesquisadores confirmaram, experimentalmente, a presença do parasito e a desnervação neurovegetativa, tanto na fase aguda como na fase crônica da infecção chagásica, sendo os processos de desnervação com intensidade variável e de maneira irregular, acometendo diferentes segmentos do tubo digestório (TAFURI & BRENER, 1966; OKUMURA, 1967; TAFURI *et al.*, 1971)

O esôfago e o cólon foram também pesquisados para a contagem das células nervosas em casos humanos de chagásicos autopsiados. Situação semelhante também foi observada em animais experimentais, ocorrendo de modo constante a redução dos neurônios, especialmente do plexo mioentérico de Auerbach, ao longo de todo o trato digestório (ROCHA *et al.*, 1998). O complexo mecanismo da homeostase orgânica, está relacionada com o sistema nervoso autônomo na fisiologia

do trato digestório, por ter a importância de controlar as funções da vida vegetativa e digestiva (REZENDE, 1993).

Estudos relacionando com o pâncreas e o intestino foram pesquisados de forma semelhante em relação à intensidade de desnervação causada pelo parasito *T. cruzi*, onde, freqüentemente, são encontrados poucos neurônios no intestino delgado de pacientes com doença de Chaga e ausência de neurônios intramurais foi verificada em caso clínico de megaduodeno (DE OLIVEIRA *et al.*, 1998). Rocha *et al.* (1998) realizaram também contagem de neurônios dos gânglios nervosos da cabeça, corpo e cauda do pâncreas em necropsia de 12 casos de chagásicos, onde constataram que 50% dos indivíduos chagásicos apresentaram um número total de neurônios menor em relação àqueles não chagásicos.

Uma das principais causas relacionadas à diversidade de alterações anatomopatológicas que o parasito promove no hospedeiro vertebrado está relacionada diretamente com as características morfológicas da cepa, principalmente às diferentes sub-populações existentes, que podem apresentar um tropismo tecidual diferenciado no hospedeiro vertebrado (FERRIOLLI-FILHO, 1975; ANDRADE & ANDRADE, 1976; BRENER, 1979; RIBEIRO, *et al.*, 1982; BELDA-NETO & RIBEIRO, 1989).

Segundo Andrade (1976) existem cepas que apresentam predominância de formas delgadas ou finas e que são mais adaptadas ao ciclo tecidual, promovendo alterações diferenciadas para células do sistema fagocitário mononuclear, parasitando em maior freqüência os esplenócitos, hepatócitos e medula óssea.

Melo & Brener (1978) constataram que as cepas de característica morfológica larga apresentam tropismo por células musculares. Isto se deve à

presença de receptores específicos para *T. cruzi* na membrana dessas células. Além disso, foi constatado que as formas largas de tripomastigotas estão mais adaptadas ao desenvolvimento no vetor, provavelmente pela interação entre o parasito e as enzimas produzidas no intestino do inseto.

Martini *et al.* (1986) verificaram em experimento que formas largas possuem um marcante tropismo para células musculares de natureza lisa, esquelética e cardíaca, como também tecido glandular, além de possuir uma maior resistência aos anticorpos circulantes, sugerindo que este fato pode estar relacionado com a conformação morfológica da cepa larga. Como consequência, permanece por mais tempo na corrente circulatória, determinando picos parasitêmicos tardios e infecções de duração mais prolongada. Essas características citadas conferem dois mecanismos estratégicos realizados pelas cepas largas para escapar do sistema imunológico: o primeiro é a sobrevivência aos anticorpos e o segundo é permanecer no interior dos macrófagos como mecanismo de escape, realizando o ciclo de vida, que é a transformação das formas tripomastigotas em amastigotas (EBRAHIM, 2004).

Deane (1979), aplicando os mesmos procedimentos descritos por Melo & Brener (1978), relatou em experiência o comportamento diferenciado de populações constituídas por tripomastigotas predominantemente finas e largas, obtidas pelo método de centrifugação diferencial das amostras “Y” e “F” de *T. cruzi*. Considerou que a grande maioria das formas tripomastigotas finas presentes no sangue de animais infectados não apresentaram a capacidade de evolução, e sim, de penetração celular. Em parte, as formas largas exibiram capacidade de iniciar a infecção no inseto hospedeiro, designando-se as populações obtidas de “célula dependente” e “vetor dependente”, respectivamente. Uma parcela dessas formas apresentaram uma

capacidade ambivalente e que poderia dar origem a ambas populações “célula ou vetor dependente”, designando-se “população indiferenciada”, correspondente às formas intermediárias do parasito.

Vários estudos básicos sobre a biologia do *T. cruzi* apontam para uma grande diversidade de comportamento. Análises genéticas de perfil isoenzimático por ácido desoxirribonucléico (DNA) polimórfico, aleatoriamente amplificado (RAPD), confirmaram a existência de três grupos principais ou zimodemas (Z). Dois conhecidos como Z1 e Z3, que predominam o ambiente silvestre. O terceiro deles, o Z2, é encontrado no ciclo doméstico (MILES *et al.*, 1978; SONGIN, 1989). Todavia, estudos baseados na amplificação pela reação de polimerase em cadeia (PCR) da seqüência de ácido ribonucleico ribossomal (RNAr) 24 S alfa, que é um fragmento do gene que aponta para um dimorfismo, permite a identificação de duas linhagens (L): a L1 relacionada ao ciclo doméstico e L2, relacionada ao ciclo silvestre (MACEDO *et al.*, 1992). Como descrito, pode-se observar que a morfologia das formas e as análises genéticas dos tripomastigotas são fatores determinantes na patologia da doença.

A importância da pesquisa do pâncreas é pelo fato que esse órgão possui duas funções: endócrina e exócrina. A parte exócrina produz suco pancreático e diversas enzimas importantes para a digestão de alimentos, e a endócrina produz hormônios fundamentais, como insulina e glucagon, as células responsáveis pela liberação desses hormônios estão localizadas nas ilhotas de Langerhans, enquanto as enzimas e suco pancreáticos são liberados pelas células acinares (SCHARP *et al.*, 1975).

Okumura *et al.* (1963) estudaram o pâncreas de camundongos infectados experimentalmente com *T. cruzi*, encontrando formas amastigotas nos ácinos e nas

ilhotas pancreáticas. Ribeiro *et al.* (1991), por sua vez, ao avaliar o pâncreas infectado pela cepa RC de *T. cruzi*, utilizando rato como animal experimental, verificaram atrofia nas ilhotas pancreáticas e presença de ácidos desorganizados. Entretanto, foram Albuquerque *et al.* (1991) que associaram as alterações bioquímicas com a histopatologia de ratos infectados com a cepa Y, comprovando um aumento dos níveis glicêmicos no 7.º dia da infecção e desorganização pancreática nos ácidos e nas ilhotas.

Estudos realizados em pacientes com doença de Chagas crônica sugerem que há uma mudança estrutural no pâncreas, pois *T. cruzi*, pode determinar alterações morfológicas e desnervação nas ilhotas pancreáticas. Para se obter tais resultados foram retirados fragmentos da cabeça, corpo e cauda do pâncreas de pacientes em óbitos com resultados positivos para doença de Chagas, e foi realizado um estudo comparativo em pacientes não chagásicos. Os resultados dos pacientes chagásicos apresentaram alterações morfométricas e morfológicas, sem presença de ninhos das formas amastigotas, com existência de um discreto infiltrado inflamatório nos gânglios e ilhotas pancreáticas (SALDANHA *et al.*, 2001).

Rocha *et al.* (1998) analisaram morfológicamente gânglios intrapancreáticos na fase crônica da doença de Chagas, para compreender se as lesões dos mesmos poderiam explicar, ao menos em parte, os distúrbios funcionais do pâncreas exócrino e endócrino. Os segmentos estudados foram os transversais da cabeça, corpo e cauda do pâncreas de doze chagásicos crônicos necropsiados, permitindo concluir que houve uma diminuição da população neuronal, estatisticamente significativa no grupo chagásico em relação ao controle, em cada segmento pancreático analisado, bem como no órgão como um todo.

Em camundongos inoculados intraperitonealmente com 100.000 formas tripomastigotas da cepa Y do parasito foram realizadas analises histopatológicas do pâncreas desses animais infectados, os quais exibiram uma pcreatite aguda com presença de pseudocistos intensamente parasitados, rompidos e com grandes espaços extracelulares, presença de necrose de células acinares e ductais, além de focos de esteatonecrose. O estudo demonstra as modificações que o parasito da doença de Chagas pode causar a um órgão de fundamental importância homeostática orgânica (FERRIOLLI FILHO, 1975; CORBETT *et al.*, 2002).

Os insulinomas do pâncreas são neoplasias das células beta das ilhotas pancreáticas, caracterizadas pela produção excessiva de insulina e manifestados por sintomas neurovegetativos e neuroglicopênicos secundários à hipoglicemia. São causas de hiperinsulinismo orgânico: o adenoma benigno das células beta do pâncreas, a microadenomatose difusa das ilhotas pancreáticas, a neoplasia maligna das ilhotas pancreáticas e a nesidioblastose (APODACA-TORREZ *et al.*, 2003).

Embora seja uma neoplasia rara, o insulinoma constitui o mais freqüente dos tumores neuroendócrinos do pâncreas (APODACA-TORREZ *et al.*, 2003). Estudo sobre as alterações bioquímicas e histopatológicas em pâncreas vem sendo difundido, tirando dúvidas de diversas pesquisas, esclarecendo que as alterações na citoarquitetura acinares do pâncreas podem comprometer também a distribuição irregular de outras células pancreática (SCHOSSLER *et al.*, 2004).

Chagas (1909); Sogayar *et al.*, (1993) e Cunha *et al.*, (1994), declaram ser imprescindível a análise bioquímica do indivíduo que possui comprometimento em órgão do sistema endócrino. Também, é reconhecida a necessidade de um estudo do

tecido por microscopia óptica, o qual pode demonstrar o comprometimento que *T. cruzi* causa aos órgãos vitais.

As ilhotas pancreáticas em indivíduos infectados pelo *T. cruzi* foram pesquisados, mas não houve a diferenciação das células que compõem as ilhotas de Langerhans, mas os estudos revelaram a densidade maior na região da cauda do pâncreas dos chagásicos apresentando quadros de “megas” quando comparados aos grupos controles. Encontraram também, infiltrados leucocitários e neoformações de tecido conjuntivo fibroso nos gânglios nervosos intrapancreáticos dos chagásicos (SALDANHA *et al.* 2001).

Outros protozoários também têm atraído pesquisadores para estudos das alterações pancreáticas, a exemplo do *Cryptosporidium* sp., um dos mais comuns protozoários humanos de infecção entérica, de ocorrência majoritária em crianças. Pesquisas de exames histológicos do pâncreas de crianças infectadas com *Cryptosporidium* sp. apresentaram inflamações teciduais pancreáticas intensa, como necrose enzimática (GOODWIN, 1991).

Cunha *et al.* (1994) revelaram que pacientes chagásicos com reação de fase aguda apresentam peso e altura (IMC - índice de massa corporal) inferior aos chagásicos sem reação durante a fase aguda. O maior comprometimento nutricional, foi observado nos chagásicos na reação aguda prolongada, o que está de acordo com a subnutrição global já observada por Carrico *et al.* (1986) e Deith (1993) que analisaram fenômenos comuns nesta situação, como febre, anorexia, lipólise, proteólise e aumento do gasto energético, que podem estar relacionado à subnutrição.

Em estudos para a determinação do comprometimento do esôfago, os quadros de “megas” se apresentam, em geral, nos pacientes com inflamações

teciduais e quadros de desnutrição, induzindo um emagrecimento lento nesses indivíduos (DEITH, 1993).

No mesmo sentido, Vaz *et al.* (1966) avaliaram a perda de peso em pacientes chagásicos e não chagásicos com megaesôfago, o resultado apresentado foi uma elevada perda de massa corporal para os indivíduos chagásicos. Além das manifestações de megaesôfago e megacólon, o envolvimento gastrointestinal na doença de Chagas pode resultar em uma desordem motora esofágica menos severa na forma clínica pouco associada ao envolvimento do estômago e intestino delgado (DE OLIVEIRA *et al.*, 1998; COSTA & ALCANTARA, 1965).

De igual forma o fígado cumpre uma enorme tarefa de manter o metabolismo corporal, processando aminoácidos, carboidratos, lipídios e vitaminas alimentares. Portanto, as doenças hepáticas têm conseqüências extensas e o comprometimento do fígado tem sido intensamente relacionado com a fase aguda da doença de Chagas, tanto em humanos como animais (LARANJA *et al.*, 1948).

O fígado é um órgão do corpo humano, localizado no hipocôndrio esquerdo do abdome. Funciona como glândula exócrina liberando secreções para quebra de moléculas, tanto em sistema de canais que se abrem numa superfície externa como interna ao órgão. Como glândula endócrina é ainda discutida por muitos autores, uma vez que libera no sangue ou nos vasos linfáticos a insulina *like growth factor* (IGF-1 e IGF-2), elemento tão indispensável ao organismo quanto o próprio oxigênio, pois promove a progressão do ciclo celular na fase da mitose, prevenindo a execução da morte celular (DECHIARA & ELIZABETH, 1991).

O fígado e o pâncreas possuem funções recíprocas como a conexão entre o canal que leva a bile ao intestino (colédoco) e o suco pancreático ao intestino (ducto

de Wirsung). Além do mais, o pâncreas secreta o hormônio insulina, essencial para o processo metabólico do açúcar no organismo, sendo que o açúcar em sua boa parte é armazenado no fígado. As lesões mais importantes que comprometem simultaneamente o fígado e o pâncreas são as que estão relacionados com a deficiência de dieta, particularmente de proteínas. O pâncreas necessita de quantidades de proteínas, para produção de enzimas digestivas. Ocorrendo carência de proteínas, o fígado é obrigado a armazenar gorduras como fonte de energia, chamado assim de "fígado gorduroso", e o acúmulo anormal de gordura no fígado, conseqüentemente nas células hepáticas os hepatócitos é chamado de esteatose. Esse processo pode evoluir e primeiro estágio é a doença crônica, que é a cirrose hepática (ANAND *et al.*, 1997).

Durante o metabolismo, complexas transformações ocorrem nas substâncias químicas no interior dos organismos vivos, em grego (*metábole* = mudança, troca + ismo), esse fenômeno se divide em duas partes ou fases: Anabolismo e Catabolismo. No anabolismo o organismo perde peso, com o decorrer do tempo a exemplos de períodos de jejum ou com doenças como de indivíduos chagásicos; mas o contrario ocorre no catabolismo, pois nessa fase o organismo cresce ganhando peso. Quando os processos estão em equilíbrio, o organismo se encontrará em equilíbrio dinâmico, a homeostasia (CUNHA *et al.* 1994; GELONEZE *et al.*, 2002).

Frações séricas e plasmáticas são determinadas e comparadas. A fosfatase alcalina é uma enzima presente em praticamente todos os tecidos do organismo, especialmente nas membranas das células dos túbulos renais, trato intestinal e fígado. Os níveis elevados de fosfatase alcalina podem ser encontrados em lesões hepáticas

ativas e nas infiltrativas com níveis mais moderados de elevação. Contudo os níveis diminuídos podem ser encontrados no hipotireoidismo, na anemia perniciosa, nas hipofosfatemias e no uso de drogas, isso demonstra a necessidade de dosar tal enzima (DEWOLF *et al.*, 1987).

A albumina é uma proteína também sintetizada pelo fígado e é a mais comum proteína plasmática utilizada para determinar parâmetros disponíveis na avaliação do estado nutricional. No entanto, existem vários fatores como idade, e perdas corpóreas que podem influenciar a diminuição das concentrações séricas de albumina. Além disso, durante a inflamação, o metabolismo da albumina pode encontrar-se alterado (DEWOLF *et al.*, 1987).

As proteínas totais plasmáticas são classificadas como proteínas de fase aguda, que apresentam sua síntese alterada pelas células parenquimais do fígado em resposta a uma variedade de reações do organismo tais como alterações infecciosas ou outras capazes de perturbar a homeostase. Os significados clínicos das proteínas totais apresentam-se aumentadas em casos de: desidratação, mieloma múltiplo, macroglobulinemia, lupus eritematoso sistêmico, cirrose hepática, linfogranuloma e leishmaniose visceral. Em contrapartida, ficam diminuídas em casos de: síndrome nefrótica, queimaduras severas, desnutrição, insuficiência renal, distúrbios da síntese protéica e na síndrome de má absorção (PALNAES-HANSEN *et al.*, 1991).

A uréia e creatinina têm sido classicamente recomendados e indicados para a avaliação da função renal, fornecendo subsídios tanto para o diagnóstico ou prognóstico de inúmeras nefropatias (COLES, 1986). A maior porção da uréia é sintetizada no fígado proveniente do catabolismo protéico e da absorção intestinal (DUNCAN & PRASSE, 1977; COLES, 1986). Uma menor fração é originária da

alimentação (DUNCAN & PRASSE, 1977). A creatinina sérica é uma substância formada a partir do metabolismo muscular da creatina e da fosfocreatina e sua diminuição significa perda muscular (REECE, *et al.*, 1996).

O Aspartato Aminotransferase (AST) ou Transaminase Glutâmico-Oxalacética (GOT ou TGO) é uma enzima encontrada em concentração muito alta no músculo cardíaco, no fígado, músculos esqueléticos e em menor concentração nos rins e pâncreas. Nas células hepáticas, a AST localiza-se no citoplasma (40%) e na mitocôndria (60%). Qualquer lesão tissular ou doença afetando o parênquima hepático liberará maior quantidade da enzima para a corrente sanguínea, elevando os níveis séricos da AST. Sempre que ocorrer uma lesão hepatocelular de qualquer etiologia haverá uma grande liberação da enzima AST para a corrente sanguínea, elevando seus níveis séricos (BERGMEYER *et al.*, 1978).

Outro órgão que pode ser lesado é o coração com o aumento de triglicerídeos e colesterol, são usados pelo organismo como forma de energia sendo produzido pelo fígado depois da quebra da dieta, que também converte alguns triglicerídeos em colesterol que além de ser uma substância gordurosa e complexa é metabolizado, também, pelo fígado. Fica, assim, caracterizado, a importância do fígado e do pâncreas na homeostasia do organismo humano. São órgãos que poderão alterar o equilíbrio orgânico ao serem lesados, quer seja por um vírus, bactéria e até mesmo um protozoário como *Trypanosoma cruzi* (PLENTZ *et al.*, 2006).

Chagas (1916) demonstrou hepatomegalia de DCH em 28 dentre 29 casos em forma aguda. Freitas *et al.* (1953) acrescentaram novas informações em casos de forma aguda de pacientes com hepatomegalia, com uma hipocolesterolemia e

hipoalbuminemia, comprovadas posteriormente por outros pesquisadores (CHATTAS *et al.*, 1958; AMATO-NETO, 1958).

Nunes *et al.* (1992), em trabalho experimental em camundongos, relataram que a intensidade do parasitismo hepático é maior com a cepa Y do que com a cepa Colombiana de *T. cruzi*, de características morfométricas e filogenéticas distintas.

Em pacientes chagásicos crônicos, a taxa de transaminase glutâmico-oxalacético (TGO) e de transaminase glutâmico-pirúvico (TGP) foram determinadas, apresentando um discreto aumento em seus índices (PINTO & FALCÃO, 1958; FERREIRA & ELEJALDE, 1960). Os índices de algumas proteínas hepáticas foram analisadas, encontrando-se um aumento de alfa-1, alfa-2 e gamaglobulinas, na infecção de camundongos por *T. cruzi*, em fase aguda (MÁRMOL LEÓN, 1971). Essas alterações bioquímicas revelam que o paciente chagásico sofre um comprometimento hepático. Dessa forma, as análises bioquímicas são necessárias para a avaliação do organismo (NELSON e COX, 2000; VOET *et al.*, 2000).

As características patogênicas de diversas amostras de *T. cruzi* vêm sendo correlacionadas com as constituições de seus respectivos tipos morfológicos e linhagens filogenéticas do parasito que promove perda de peso e um decréscimo significativo dos níveis plasmáticos de glicose, sendo observado durante a fase aguda da doença de Chagas experimental (BURGOS, 2002).

Os estudos de megaesôfagos em pacientes chagásicos demonstram eletrocardiograma anormal, sugerindo uma miocardite (PENHAVEL *et al.*, 2004). Alterações anatomopatológicas experimentais induzidas pela cepa Famema, determinam o miotropismo com envolvimento predominante de miocárdio. Em nove ratos examinados por Martins *et al.* (2003), no pico da fase aguda (até o 30º dia), sete

apresentaram presença de parasitismo em células musculares cardíacas. E dois ratos demonstraram parasitismo em músculo esquelético e um rato na musculatura lisa do cólon. No esôfago e fígado não foram observados parasitismo celular. Durante todo o curso da infecção, mas os autores observaram o predomínio das formas largas de tripomastigotas sangüíneos.

Cepas de *T. cruzi* isoladas de casos humanos, Y, Berenice e uma isolada de um triatomíneo silvestre, chamada Costalimai, foram inoculadas em *Calomys callosus*. A parasitemia durou de 14 a 16 dias nos animais inoculados com a cepa Y, 26 a 29 dias na cepa Berenice e 9 a 13 dias com a cepa Costalimai; foram realizados estudos histopatológicos hepáticos nos animais inoculados com as três cepas de *T. cruzi*, sendo observado espessamento e congestão dos septos intralveolares devido à presença de células mononucleares, com hemorragia intralveolar e infiltrado inflamatório, contudo, não foram detectados quaisquer alterações no material de cérebro, esôfago, baço, intestino delgado e grosso e rim (BORGES *et al.*, 1982).

Dessa forma, o trabalho em questão tenta demonstrar alterações causadas por duas cepas a RAL e RC *Trypanosoma cruzi* de mesma linhagem genética em análises bioquímicas e histológicas em camundongos Balb/c.

1. OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho:

- Analisar parasitemia, peso e dosagens bioquímicas séricas e plasmáticas de: glicose, fosfatase alcalina, proteínas totais, uréia, creatinina, aspartato-transaminase (AST ou TGO), colesterol e triglicerídeos, comparando os camundongos dos grupos controles e infectados.
- Avaliar morfológicamente, por microscopia de luz, as alterações histopatológicas das estruturas teciduais do pâncreas e fígado de camundongos Balb/c machos e fêmeas, infectados pela cepa RAL e RC de *T. cruzi*

2. MATERIAIS E MÉTODOS

a) Cepas de *Trypanosoma cruzi*

No presente trabalho, foram utilizadas duas cepas de *T. cruzi*:

- a) cepa RAL originalmente isolada do *Triatoma infestans*, proveniente de Santa Rosa do Viterbo - SP (RIBEIRO *et al.*, 1993).
- b) cepa RC isolada a partir da infecção natural do cachorro-do-mato *Cerdocyon thous azarae*, capturado na cidade de Cássia dos Coqueiros, interior do Estado de São Paulo (ALBUQUERQUE & BARRETO, 1968).

As cepas são mantidas em camundongos *Mus musculus*, por repiques realizados a cada 12 dias, por inoculação intraperitoneal no Biotério do Laboratório de Parasitologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP de Ribeirão Preto. As características genotípicas das cepas são pertencentes ao grupo *Trypanosoma cruzi* "linhagem I" (DOST *et al.*, 2002).

b) Animais

Foram utilizados cento e cinquenta camundongos BALB/c, 75 machos e 75 fêmeas, com um mês de vida, para o experimento com as cepas RAL e RC de *T. cruzi*. Os animais pesavam aproximadamente 20 gramas, os quais foram divididos em dois grupos:

I-Grupo controle - 15 animais machos e 15 fêmeas, livres de infecção, mantidos nas mesmas condições ambientais dos infectados com *T. cruzi*.

II-Grupo infectado - 30 animais machos e 30 fêmeas inoculados intraperitonealmente com 2×10^4 formas tripomastigotas sanguíneas, para cada cepa.

Todos os animais receberam ração comercial e água “ad libitum”. Nos respectivos dias: 1.º dia (data do inoculo), 6.º, 9.º, 12.º e 14.º do experimento, foram efetuadas avaliações dos aspectos nutricionais nos animais sacrificados por deslocamento da coluna cervical e coletados sangue e órgãos: pâncreas e fígado. Os camundongos são geralmente usados como modelo por apresentarem características similares à infecção humana da doença de Chagas, incluindo as pancreatites, hepatomegalias e os megacólos.

O presente experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Experimentação Animal da Universidade de São Paulo - Campus de Ribeirão Preto, Protocolo nº02.1.1209.53.5.

c) Inóculo e Parasitemia

O inóculo foi realizado da seguinte forma: Primeiramente foi realizado a coleta de sangue por punção cardíaca de camundongos infectados pela cepa RAL e RC. O sangue heparinizado foi diluído em solução fisiológica até a obtenção de 2×10^5 formas de tripomastigotas por mL. Foi inoculado 0,1ml dessa solução, contendo 2×10^4 formas tripomastigotas, pela via intraperitoneal, em cada animal do grupo infectado.

A contagem das formas sangüíneas foi efetuada utilizando o mesmo método da contagem de parasitos no sangue, o acompanhamento parasitêmico foi realizado pelo método descrito por Brener, em 1962, nos respectivos dias: 6.º, 9.º, 12.º e 14.º dias, após a infecção.

A coleta de sangue foi realizada por punção cardíaca de camundongos infectados pelas cepas RAL e RC. A contagem das formas sangüíneas foi efetuada por 5µl de sangue colhido da punção cardíaca. O material colhido foi colocado entre lâmina e lamínula (22x22mm), e realizado a contagem do número de tripomastigotas em 50 campos, visualizado-os em aumento de 400 X.

A contagem de parasitos foi realizada a partir do 6º dia após o inóculo. A parasitemia teve como finalidade relacionar a infecção com a avaliação histológica e bioquímica.

d) Coleta das amostras e processamento histológico

Após a morte dos animais, realizados nos dias dos experimentos já citados, houve a abertura abdominal para serem coletadas amostras dos órgãos: pâncreas e fígado.

A fixação dessas amostras, para posterior análise em microscópica de luz, foi realizada durante 24 horas na solução ALFAC (etanol 85%, ácido acético e formol). Os órgãos foram desidratados, diafanizados e incluídos em parafina. Os cortes de 4 µm de espessura foram realizados e posteriormente corados pela hematoxilina-eosina (BEHMER *et al.*, 1975).

e) Cariometria

Os cortes realizados foram usados nas análises morfométricas. Desta maneira, cada corte foi focalizado em microscópio óptico (Jenaval – Carl Zeiss) com objetiva de imersão (100 X), munido de uma câmera para captura de imagem e vídeo.

As imagens de cento e cinquenta núcleos das células dos órgãos foram mensuradas por meio de um programa de computador (KS-100 – Carl Zeiss), onde foram verificados os seguintes parâmetros: diâmetro nuclear médio, perímetro nuclear, relação D/d, área nuclear, volume nuclear, relação área/volume, coeficiente de forma, índice de contorno nuclear e excentricidade.

f) Avaliação dos aspectos nutricionais e metabólicos

Na data da inoculação e nos dias, 6, 9, 12 e 14, foram analisados 5 animais machos e fêmeas de cada grupo controle e infectado com as cepas RAL e RC de *T. cruzi*. Após a morte desses animais o sangue foi coletado por punção cardíaca com anticoagulante (heparina sódica), centrifugado a 1.500 rpm durante 10 minutos, a 23°C para separação do plasma. Posteriormente, as amostras de plasma foram transferidas para novos microtubos e congeladas a -4°C, até o dia da leitura, para que fossem avaliados os parâmetros relativos à função hepática, pancreática e renal. Essas análises bioquímicas foram realizadas para uma comparação com a patologia do fígado e pâncreas causado pelo protozoário *T. cruzi*.

As determinações dos parâmetros bioquímicos foram realizadas no auto-analisador RA-XT da marca BAYER, por avaliação da turbodimetria, com técnicas adequadas a automação. Os parâmetros bioquímicos plasmáticos determinados foram: glicose, fosfatase alcalina, proteínas totais, uréia, creatinina, aspartato-transaminase (AST ou TGO), colesterol e triglicerídeos - pelo método enzimático-colorimétrico, por meio de reagentes da marca LABTEST com comprimento de ondas de acordo com a avaliação bioquímica.

g) Análise estatística

Para análise dos resultados deste trabalho, assim como para diversos cálculos matemáticos envolvidos nos estudos morfométricos dos dados, foram utilizados diversos programas, em linguagem BASIC AVANÇADO (BASICA) desenvolvidos no Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP pelo Prof. Dr. Geraldo Maia Campos e Prof. Dr. Miguel Angel Sala, visando o processamento dos dados experimentais. Para as determinações da cariometria dos tecidos foram utilizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney e da mediana (SIEGEL, 1975).

A avaliação estatística dos parâmetros nutricionais e metabólicos foi realizada por meio do teste de Two-way ANOVA, utilizando o *post test* de Bonferroni, para comparação de todos os grupos entre si durante todos os dias de experimento, considerando significativamente os resultados que apresentaram $p < 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1. Parasitemia

Os gráficos 1 e 2 representam os resultados obtidos na determinação da curva parasitêmica de camundongos fêmeas e machos infectados pela cepa RAL (gráfico 1) e RC (gráfico 2).

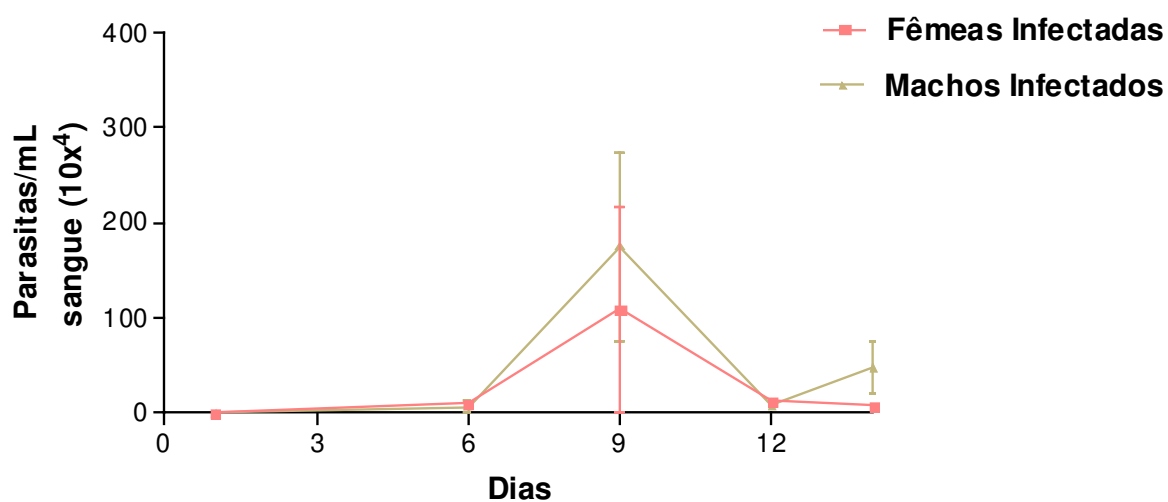


Gráfico 1. Parasitemia de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2 x 10⁴ formas de tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

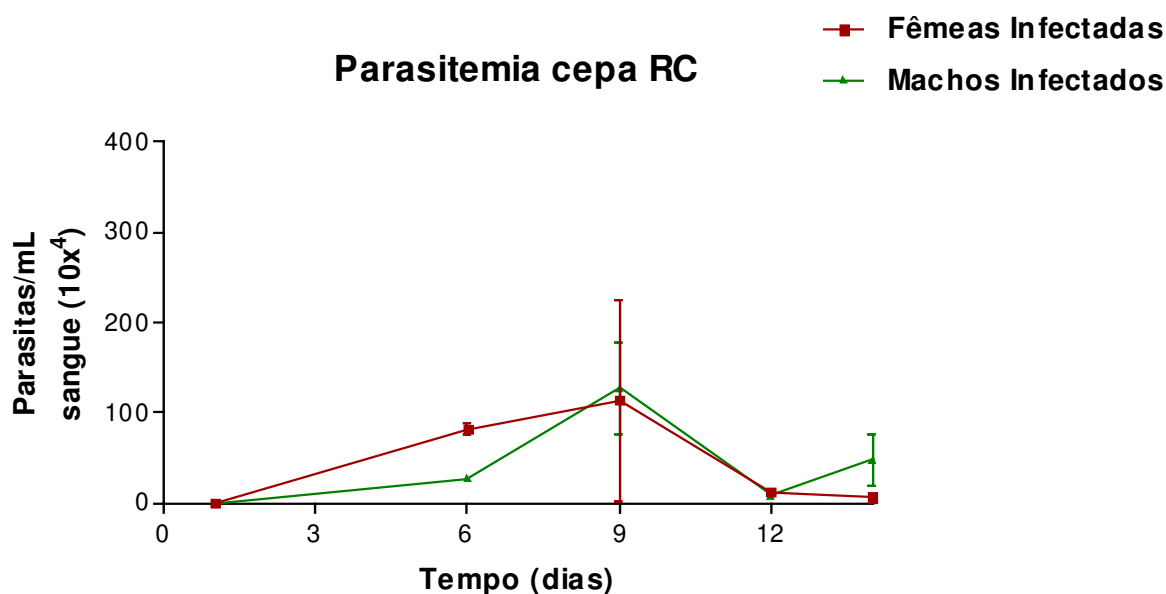


Gráfico 2. Parasitemia de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2×10^4 formas de tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.

A parasitemia foi analisada a partir do 6.^o dia até o 14.^o dia de infecção nos dois grupos, machos e fêmeas infectados. Para o grupos infectados pela cepa RAL e RC o pico parasitêmico foi no 9.^o dia. Para a cepa RAL do parasito, os níveis parasitêmicos foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$) quando comparados os grupos machos e fêmeas, tendo sido demonstrado que as fêmeas apresentam ligeira resistência em relação aos machos. Contudo, o parasitismo demonstrado pelas fêmeas infectadas pela cepa RC foi mais prevalente que dos machos no 6.^o dia, não apresentando diferenças significativas no pico parasitêmico ($p > 0,05$).

Ainda, no 14.^o dia para a cepa RAL e RC os machos infectados apresentaram maior quantidade de parasito/mL que as fêmeas infectadas, fato esse observado para ambas as cepas. Essas observações sugerem que o aumento de

parasitismo nos machos que nas fêmeas possa estar relacionado ao dimorfismo sexual.

3.2. Variação de Peso

Nos gráficos 3 e 4 notifica o efeito que a infecção causa sobre os pesos de camundongos machos e fêmeas infectados pela cepa RAL (gráfico 3) e RC (gráfico 4) de *T. cruzi*.

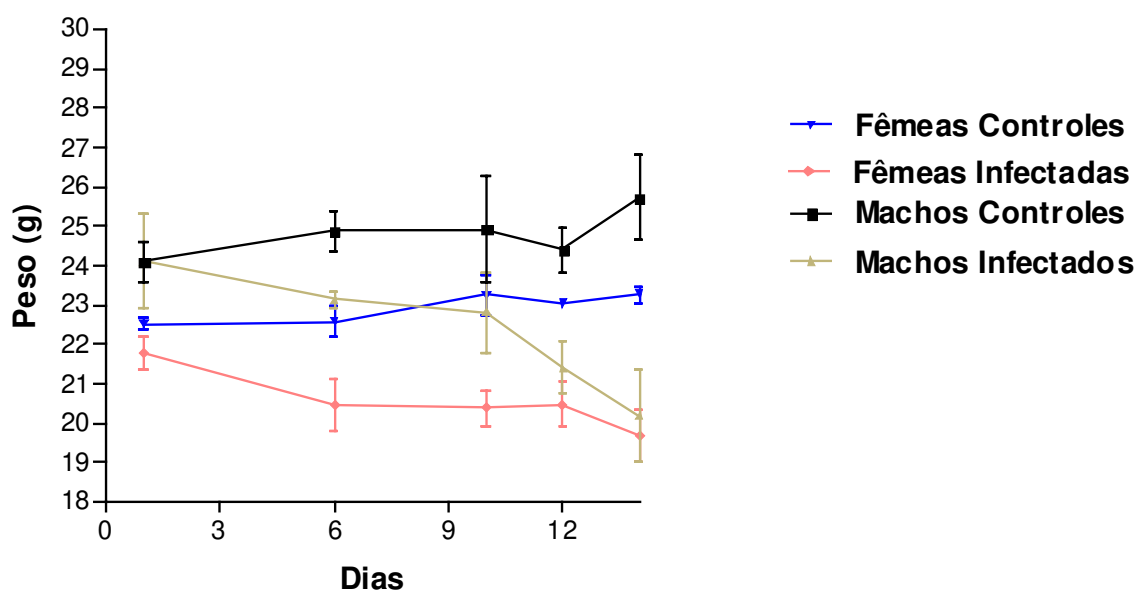


Gráfico 3. Peso de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2×10^4 formas de tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

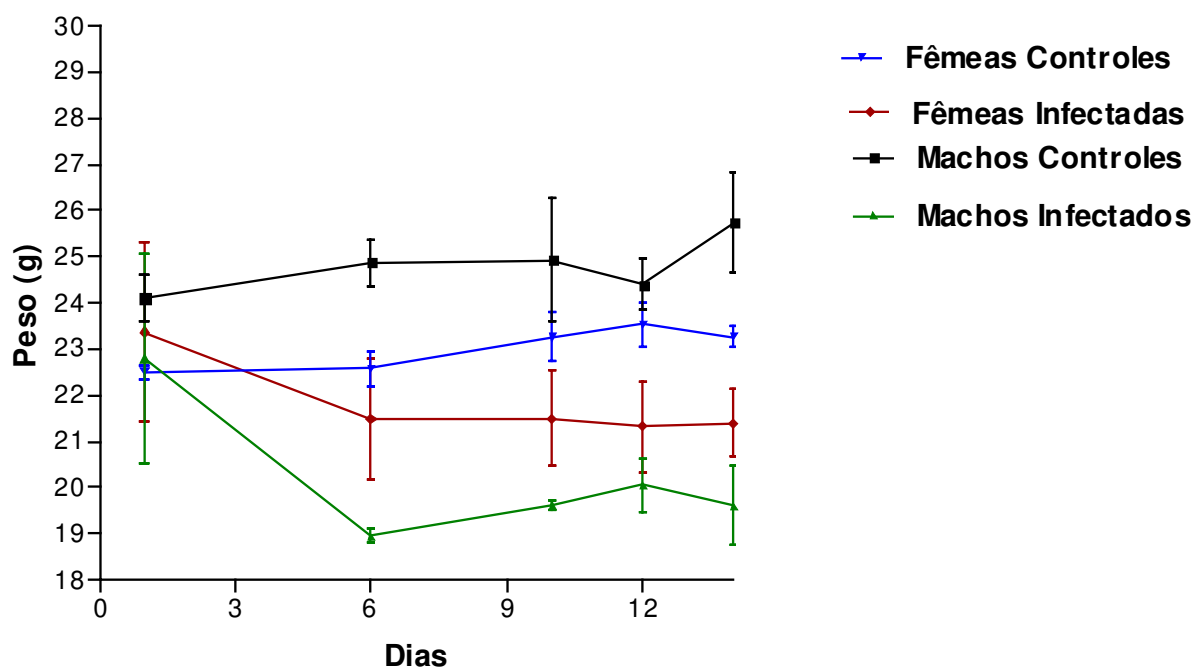


Gráfico 4. Peso de camundongos fêmeas e machos, infectados com 2×10^4 formas de tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.

Observando-se os gráficos 3 e 4 dos grupos infectados machos e fêmeas em relação ao controle de ambas as cepas RAL e RC, percebe-se que houve o início da perda significativa de peso a partir do 12.º dia.

3.3. Glicemia

Após análise comparativa entre os grupos controles e infectados da cepa RAL, observa-se que os grupos infectados, independentemente do sexo avaliado, apresentaram uma significativa redução dos níveis de glicose circulante, quando comparados aos grupos controle, sem infecção ($p < 0,01$) (gráfico 5).

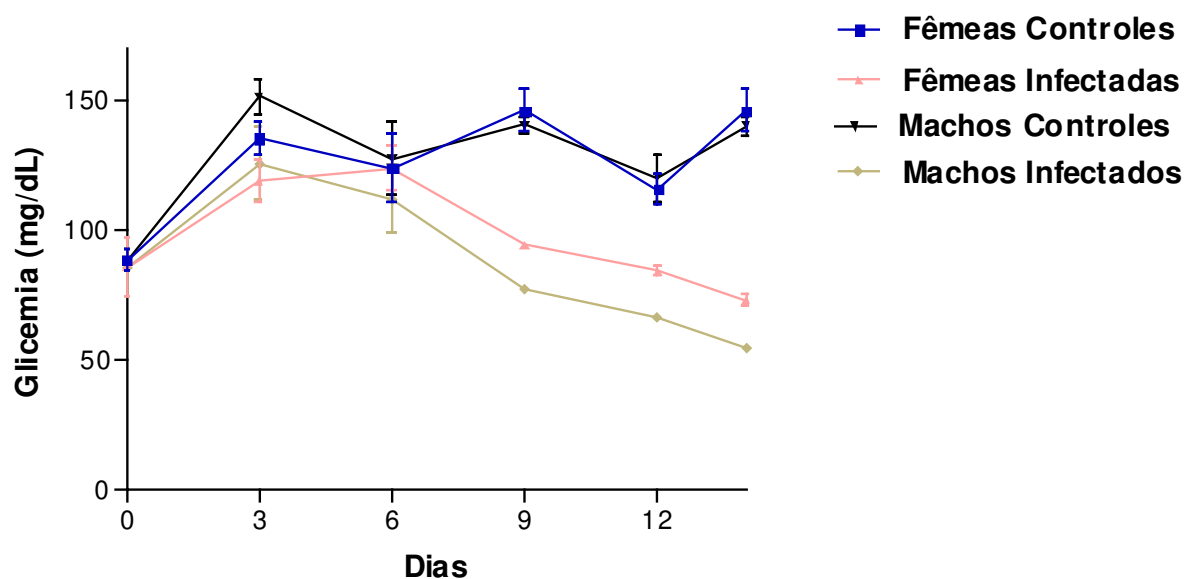


Gráfico 5. Glicemia entre camundongos machos e fêmeas, dos grupos controles e infectados pela 2×10^4 formas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

No gráfico 6, os grupos infectados com a cepa RC, independentemente do sexo avaliado, não apresentaram significativa redução dos níveis de glicose circulante, quando comparados aos grupos controles, sem infecção.

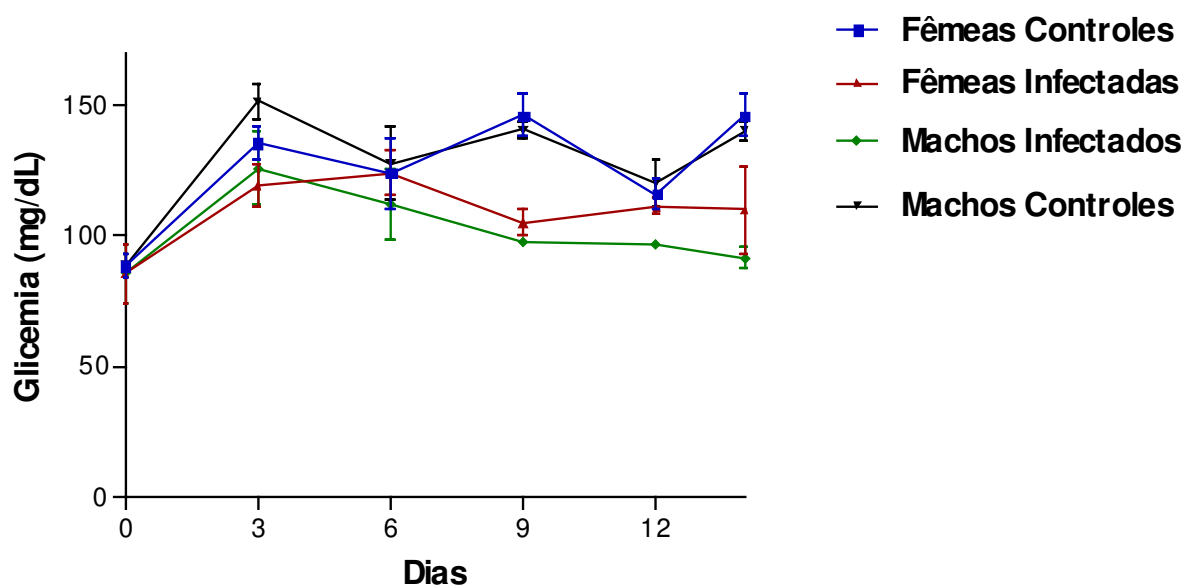


Gráfico 6. Glicemia entre camundongos machos e fêmeas, dos grupos controles e infectados pela 2×10^4 formas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.

3.4 Análises Bioquímicas

3.4.1 Fosfatase Alcalina

No gráfico 7 representa os resultados referentes aos níveis de fosfatase alcalina dos grupos fêmeas controles e infectadas pelas cepas RAL e RC. Verificar-se valor estatisticamente significativo para o 9.^o e 12.^o dias ($p < 0.001$) pós-infecção para o grupo infectado pela cepa RAL de *T. cruzi*. Ainda, analisando o mesmo gráfico, nota-se que houve uma variação nos níveis de fosfatase alcalina entre as fêmeas infectadas pela cepa RC no 9.^o e 14.^o ($p < 0.01$) e 12.^o dia ($p < 0.001$).

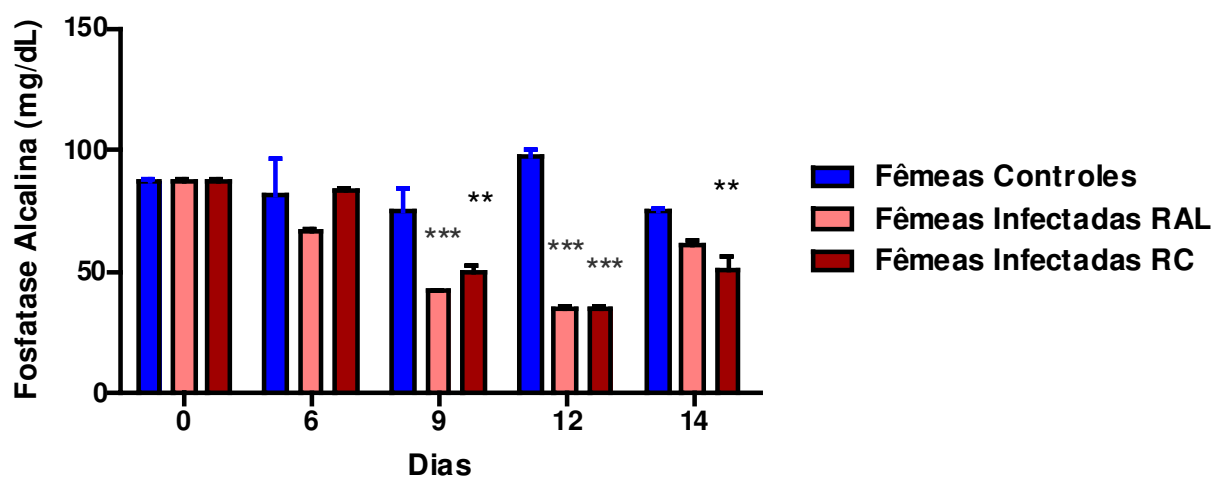


Gráfico 7. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos fêmeas relativos aos grupos de animais controle, sem infecção, e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. *** $p < 0.001$ CF vs. IF-RAL ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ CF vs. IF-RC.

Foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos fêmeas infectados RAL e RC, principalmente para os valores relacionados ao 12º. dia. Contudo valores apresentados para fosfatase alcalina para os grupos machos controle e infectados pelas cepas RAL e RC, no gráfico 8, demonstram uma diferença significativa entre os grupos no 6.º, 9.º e 14.º dia ($p < 0.001$) e 12.º dia ($p < 0.01$) cepa RAL relacionada com o grupo controle e como cepa RC nos 6.º, 9.º, 12.º e 14 (p<0.001).

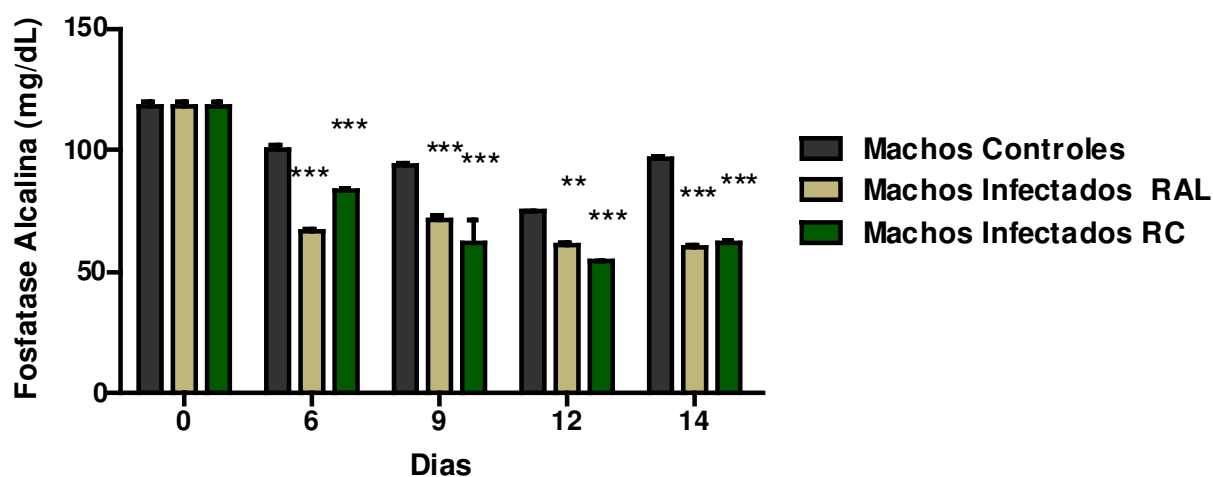


Gráfico 8. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos machos dos grupos de animais controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. **p<0.01***p<0.001 CM vs. IMRAL ***p<0.001 CM vs. IMRC

Ao avaliar os grupos fêmeas e machos controles e infectados pela cepa RAL (gráfico 9), no que se refere à dosagem de fosfatase alcalina, os valores revelam significância para os grupos infectados fêmeas, no 9.º e 12.º dia de infecção ($p<0.01$), quando comparado com os grupos infectados machos infectados pela mesma cepa. Todavia, no mesmo gráfico não se observa variabilidade significativa para os outros dias, o que indica que o fato de não ter havido variabilidade dessa enzima possa ser em virtude do dimorfismo sexual.

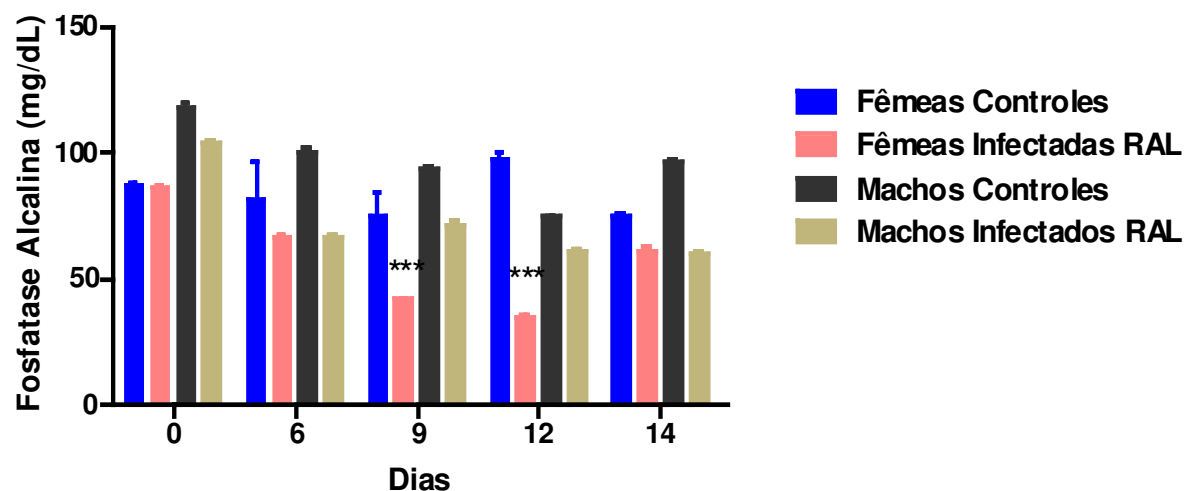


Gráfico 9. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ IF-RAL vs. IM-RAL

No gráfico 10 pode-se observar que houve variabilidade estatisticamente significativa entre os grupos avaliados infectados fêmeas RC e machos infectados com a mesma cepa no 9.^o, 12.^o e 14.^o dias ($p < 0.05$).

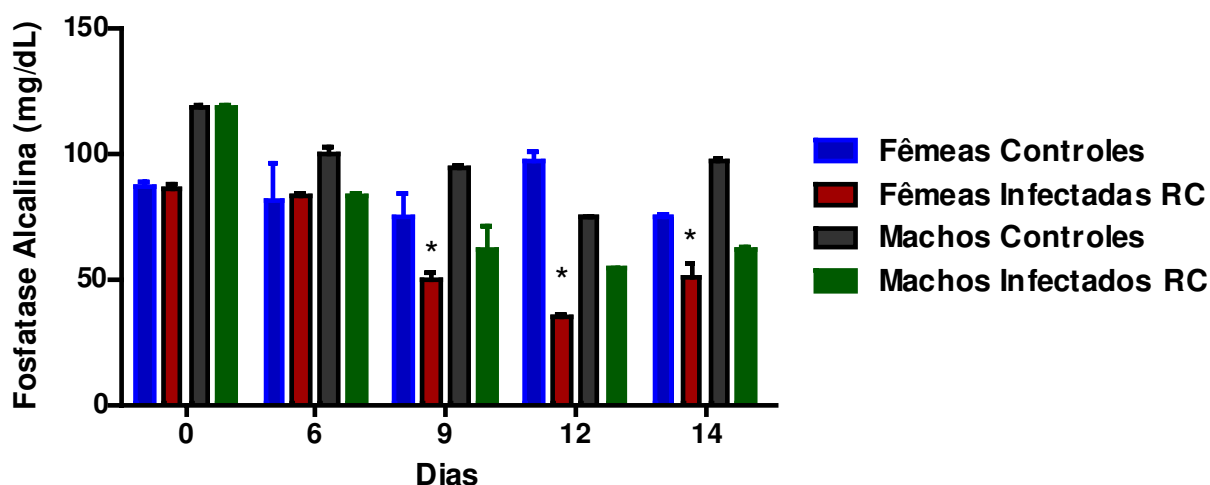


Gráfico 10. Níveis de fosfatase alcalina em camundongos fêmeas e machos dos grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*. * $p < 0.05$ IF-RC vs. IM-RC.

3.4.2 Albumina

Os valores da concentração de albumina determinado no soro dos camundongos fêmeas infectados com a cepa RAL quando comparados com o controle, as quais foram submetidas a análise durante o período de infecção, demonstram significância no 6º. ($p < 0.05$) e 9º.dia ($p < 0.01$). Entretanto, ao observar-se o mesmo gráfico para os valores obtidos para a cepa RC, verifica-se um importante aumento da concentração de albumina para esse grupo, quando comparado ao grupo controle, diferença essa estatisticamente significativa nos 12º. e 14º.dia ($p < 0.001$).

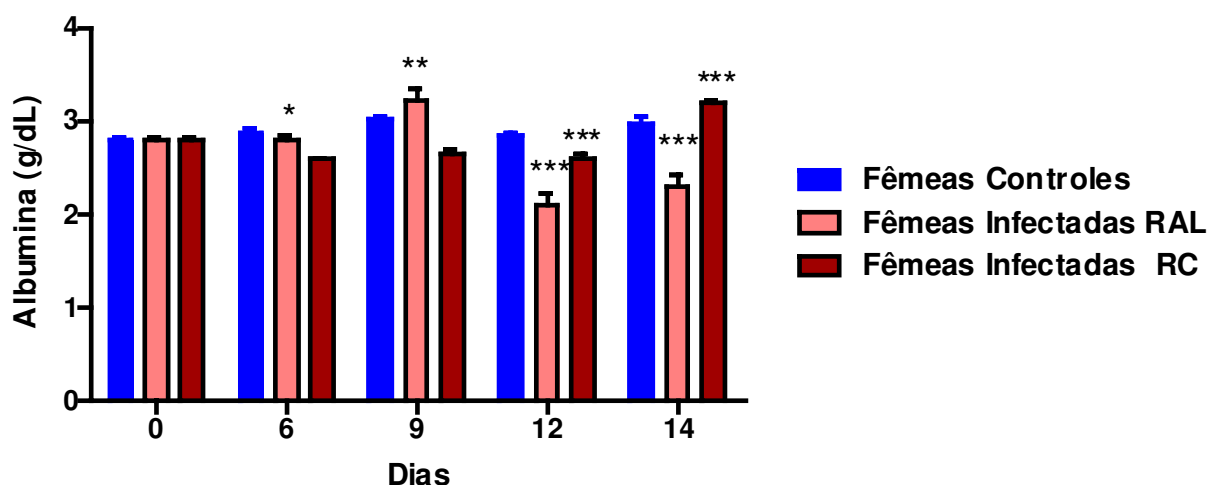


Gráfico 11. Níveis de albumina sérica em camundongos fêmeas controle e infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. * $p < 0.05$ ** $p < 0.01$ CF vs. IFRAL *** $p < 0.001$ CF vs. IFRC.

No gráfico 12, para os valores obtidos para a concentração de albumina nos camundongos machos, observa-se que o grupo infectado pela cepa RAL apresenta valores médios menores no 12º dia ($p < 0.01$). Contudo, no mesmo gráfico observa-se que a cepa RC apresentou o mesmo comportamento no 12.º dia ($p < 0.01$), e no 14.º dia a concentração de albumina teve um aumento significativo em relação aos outros grupos ($p < 0.001$).

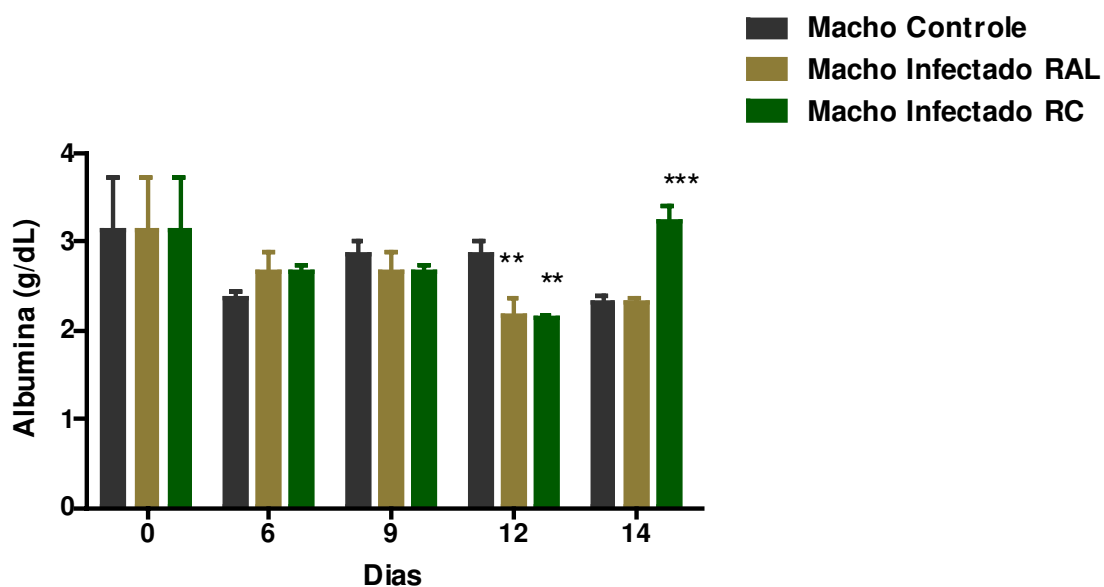


Gráfico 12. Níveis de albumina sérica em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. ** $p < 0.01$ CF vs. IFRAL ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ CF vs. IFRC.

Observando-se o gráfico 13 dos grupos fêmeas e machos controles e infectados pela cepa RAL, a dosagem de albumina, os valores não revelam diferenças estatisticamente significante para os grupos infectados machos RAL quando comparado com os grupos infectados fêmeas da mesma cepa e para os mesmos dias.

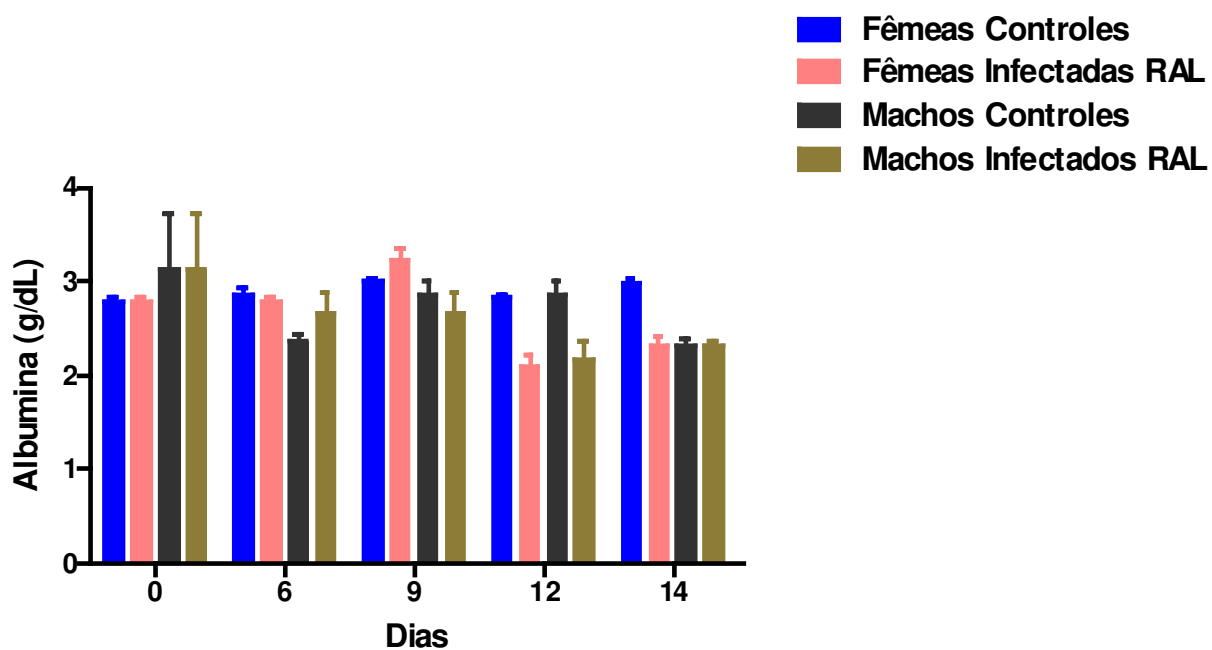


Gráfico 13. Níveis de albumina sérica em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

Por meio do gráfico 14 é possível observar que não houve uma variabilidade de valores médios da dosagem de albumina.

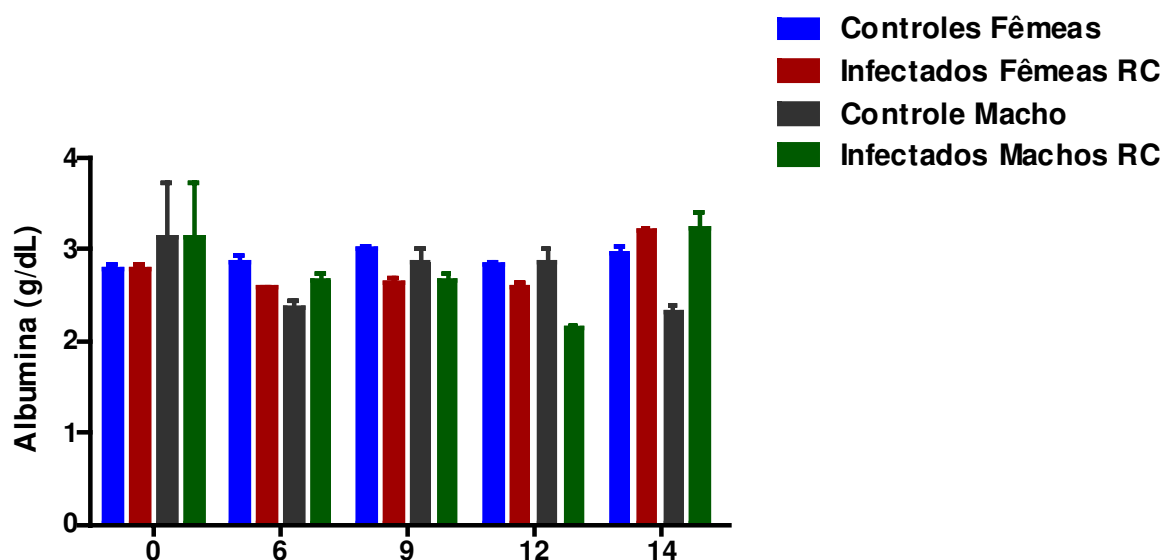


Gráfico14. Níveis de albumina sérica em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.

3.4.3 Proteínas Totais

Os soros dos animais pertencentes aos diferentes grupos experimentais foram submetidos à análise de proteína total plasmática para observar o comportamento relacionado a esse parâmetro referente à nutrição na evolução da doença de Chagas experimental. Dessa maneira, a observância dos gráficos abaixo demonstra que houve uma variação nesse parâmetro avaliado. Pelos dados apresentados no gráfico 15 é possível notar as variabilidades entre os grupos fêmeas controles e infectados. Para o grupo fêmea RAL, no 12.^o e 14.^o dias observando-se uma importante diferença significativa dos dados ($p < 0.001$). Nota-se que o grupo fêmea RC apresentou a mesma alteração nos dias 6.^o, 9.^o, 12.^o, significativa de $p < 0.001$.

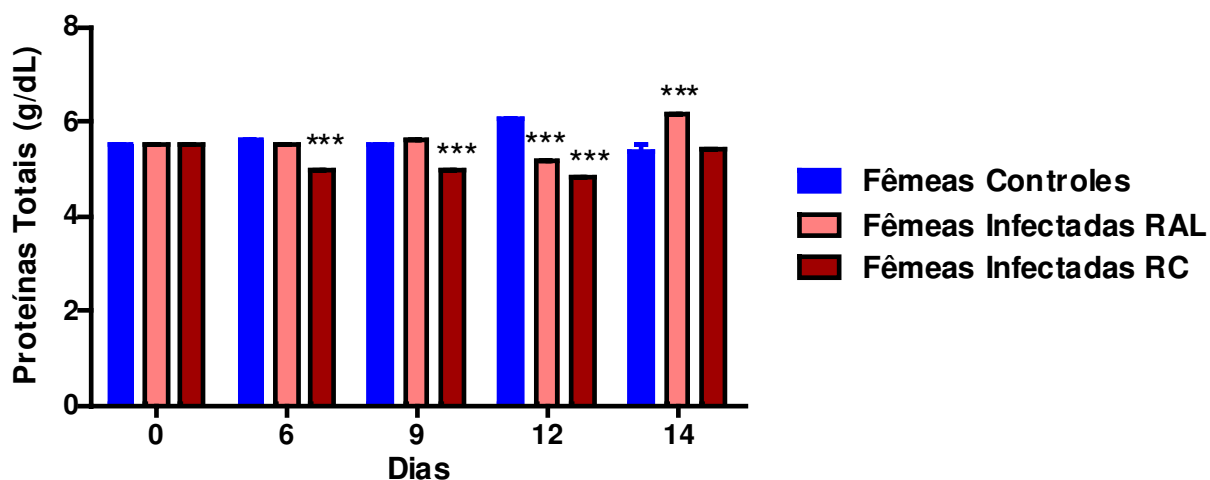


Gráfico 15. Níveis de proteínas totais em camundongos fêmeas e machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ CF vs. IFRAL *** $p < 0.001$ CF vs. IFRC.

Pelos valores observados durante o experimento para a dosagem de proteínas totais nos camundongos machos, nota-se que os grupos infectados pelas cepas RAL e RC apresentam valores médios menores do que os controles, conforme observado no gráfico 16. Para o grupo macho infectado pela cepa RAL essa diferença foi significativa no 6.º, 9.º e 14.º dia ($p < 0.001$) e 12.º ($p < 0.01$). O grupo infectado com a cepa RC teve variação significativa para o 6.º, 9.º e 12.º dia ($p < 0.001$).

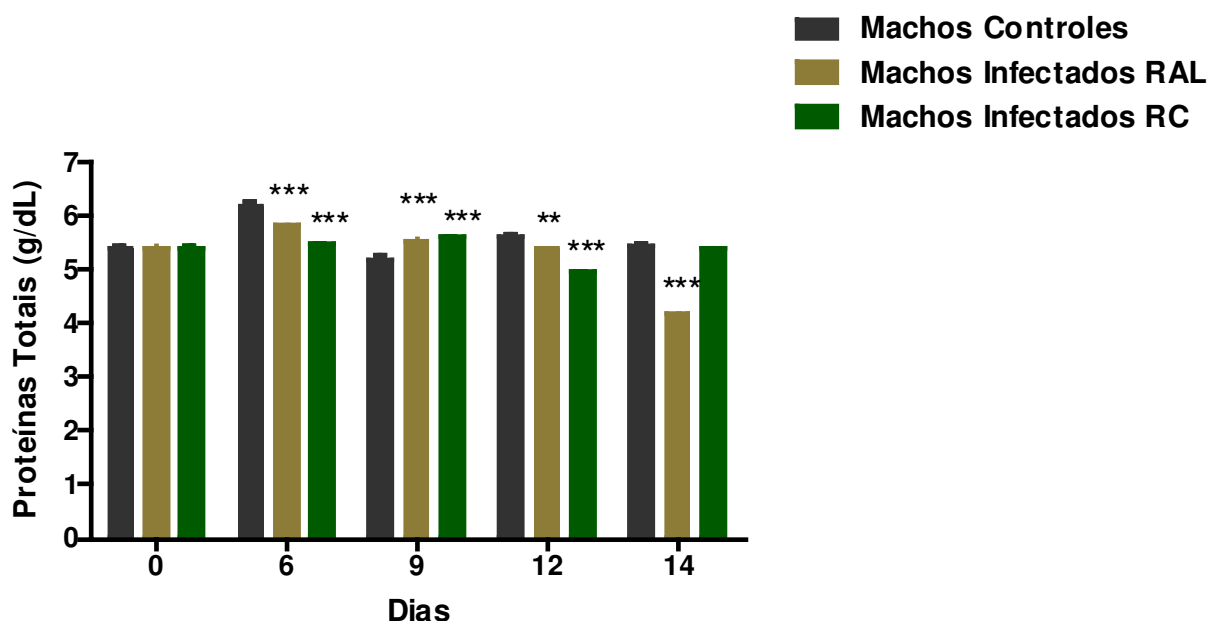


Gráfico 16. Níveis de proteínas totais em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. ** $p < 0.01$ *** $p < 0.001$ CM vs. IMRAL *** $p < 0.001$ CM vs. IMRC.

Pelos dados apresentados no gráfico 17 observa-se menor dosagem dos níveis de proteínas totais para os grupos infectados fêmeas RAL em relação aos machos contaminados pela mesma cepa, nos 6º e 14º dias ($p < 0.001$). Nota-se que no 12º dia houve diferença de níveis de proteínas totais ($p < 0.01$).

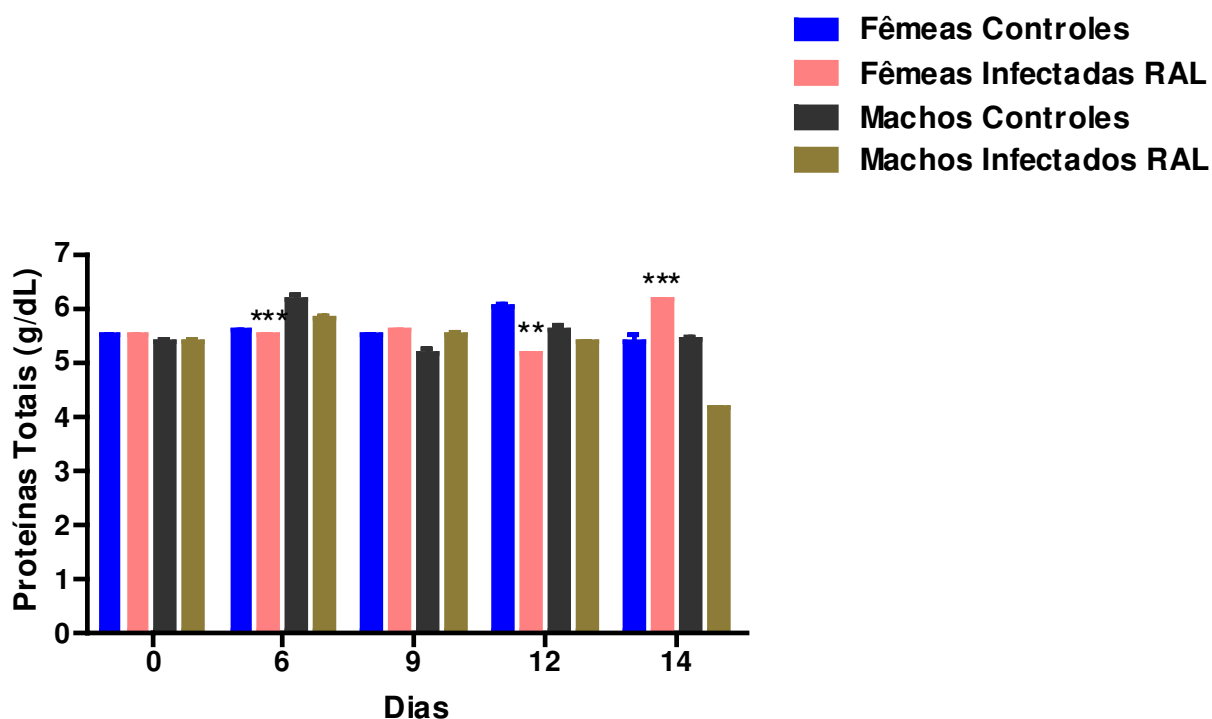


Gráfico 17. Níveis de proteínas totais em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ IFRAL vs. IMRAL ** $p < 0.01$ IFRAL vs. IMRAL.

No gráfico 18 é possível observar que houve uma diminuição dos níveis de proteínas totais nos grupos fêmeas infectadas nos 6.º e 9.º dia ($p < 0.001$), em relação aos grupos de machos infectados com a mesma cepa.

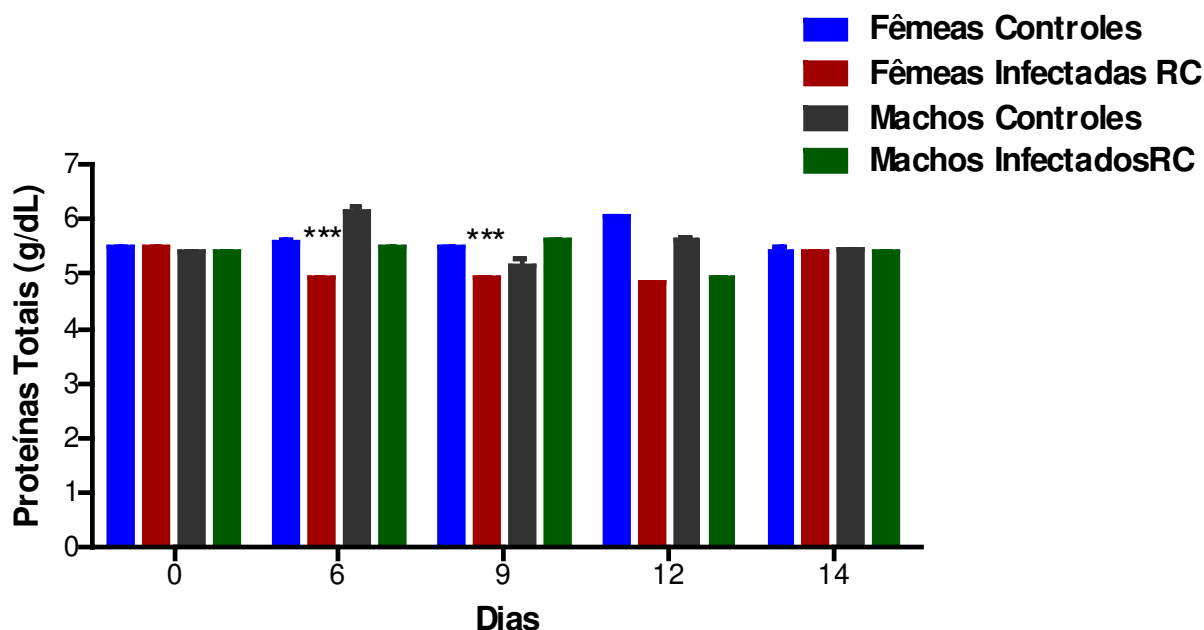


Gráfico 18. Níveis de proteínas totais em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ IFRC vs. IMRC.

3.4.4 Uréia

Observando-se os valores médios referentes à uréia, determinados para os animais fêmeas infectadas com a cepa RAL de *T. cruzi* (gráfico 19), verifica-se maiores níveis séricos de uréia em relação ao grupo controle nos 6.º, 9.º, 12.º e 14.º dias pós-infecção ($p < 0.001$). O mesmo fato ocorreu para as fêmeas infectadas com a cepa RC, prevalecendo nesse caso um aumento a partir do 6.º dia de infecção até o 14.º dia ($p < 0.001$).

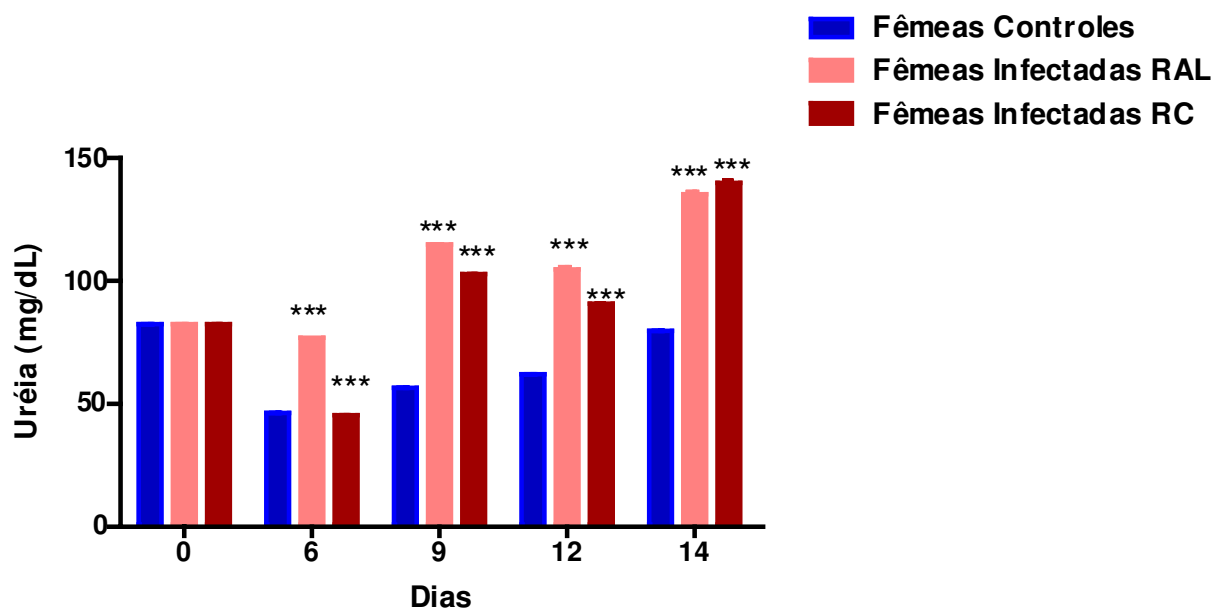


Gráfico 19. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*.***p<0.001 CF vs IFRAL ***p<0.001 CF vs. IFRC.

No gráfico 20 pode-se observar que os níveis da uréia dosada nos animais machos infectados com a cepa RAL apresentaram-se elevados, sendo que o mesmo ocorreu com os animais infectados com a cepa RC para os 6.^o, 9.^o, 12.^o e 14.^o dias de experimento(p<0.001).

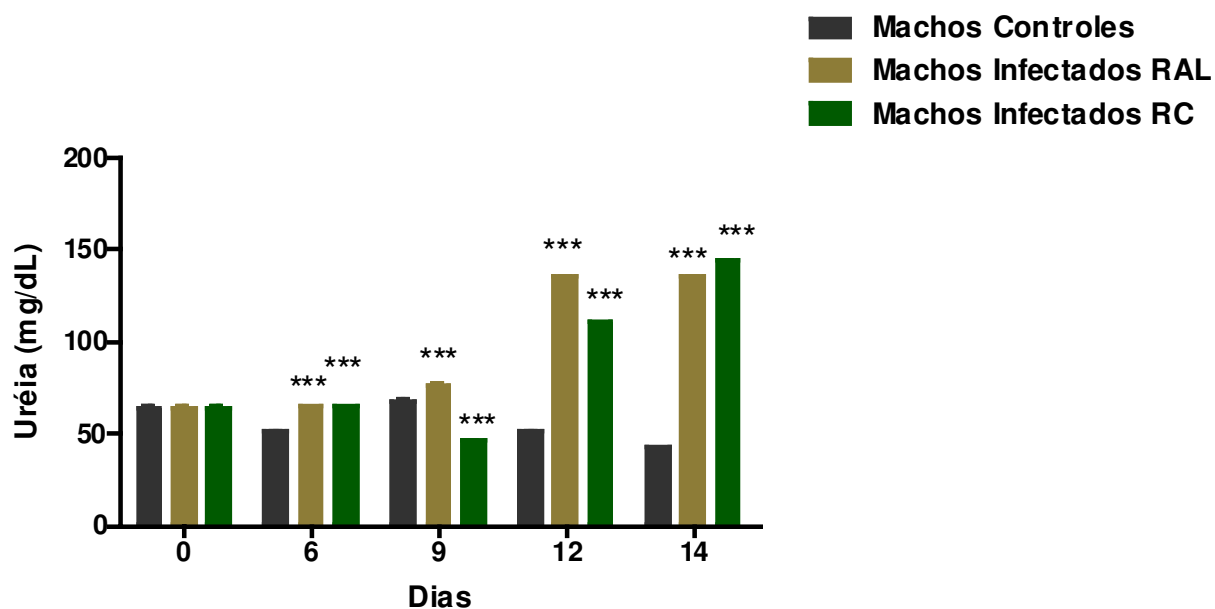


Gráfico 20. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ CM vs IMRAL *** $p < 0.001$ CM vs. IMRC.

A comparação entre os animais fêmeas e machos infectados com a cepa RAL e os machos infectados pela mesma cepa, nota-se que para os 6.^o, 9.^o e 12.^o dias ($p < 0.001$) os animais fêmeas apresentaram variados níveis de uréia (gráfico 21).

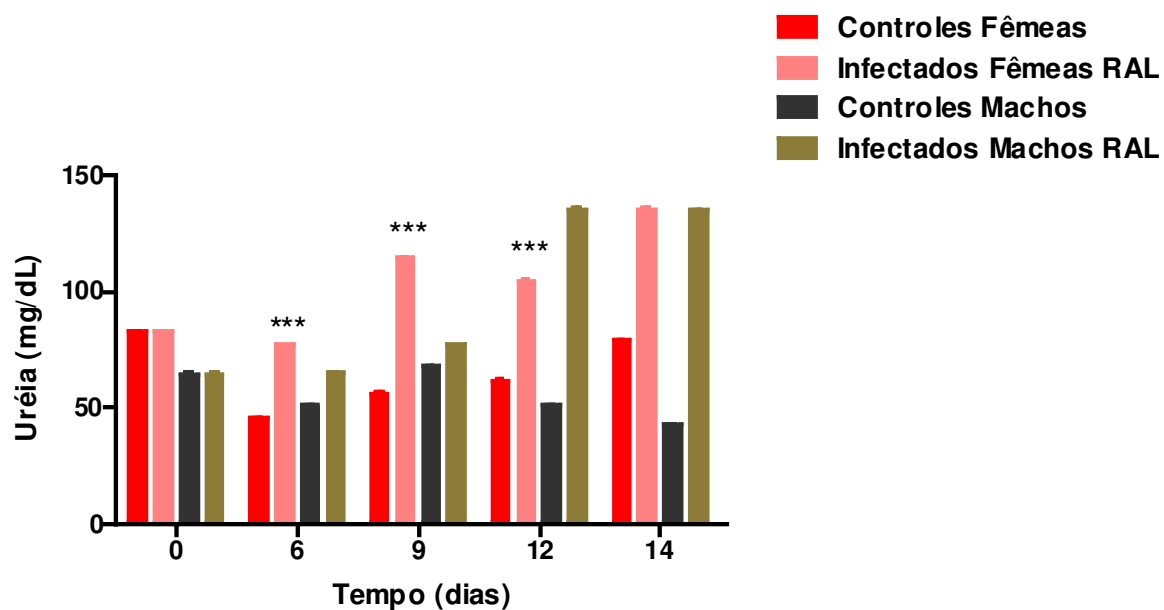


Gráfico 21. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*. *** $p < 0.001$ IFRAL vs. IMRAL.

A mesma situação anterior foi observada para o grupo de animais fêmeas e machos infectados com a cepa RC nos 6.º, 9.º, 12.º e 14.º dias após infecção ($p < 0.001$) (gráfico 22).

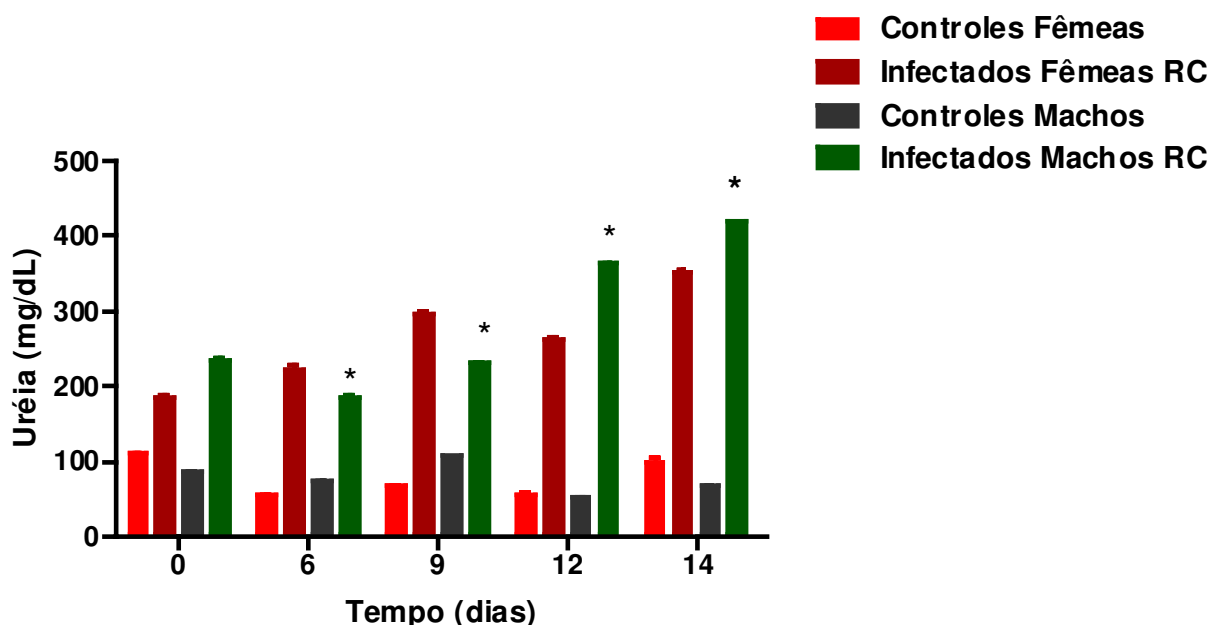


Gráfico 22. Níveis de uréia em camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ IFRC vs. IMRC.

3.4.5 Creatinina

A concentração de creatinina está relacionada ao volume muscular. A concentração sérica é praticamente constante, apresentando uma variação em relação ao sexo e ao volume de massa muscular. Este fato é observado nitidamente no gráfico 23, para os grupos infectados fêmeas das cepas RAL e RC de *T. cruzi*, no 9º dia de infecção para a cepa RAL, onde é demonstrado um menor nível de concentração ($p < 0.001$), e nos 6.º e 12.º dias para a cepa RAL maior nível de concentrado ($p < 0.001$). O mesmo ocorreu para as fêmes infectadas com a cepa RC, e ainda um aumento sérico no 14.º dia ($p < 0.001$).

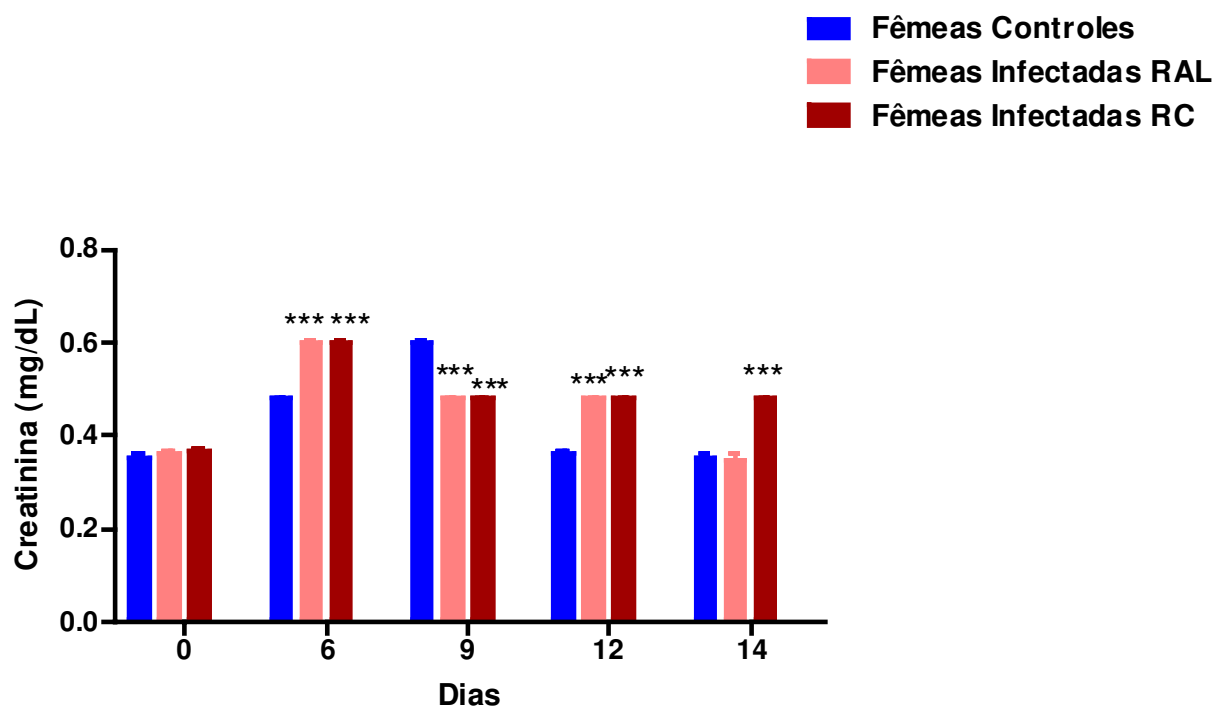


Gráfico 23. Níveis de creatinina em camundongos fêmeas controles e infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*.***p<0.001 CF vs. IFRAL ***p<0.001 CF vs. IFRC.

Para os animais machos infectados pelas diferentes cepas de *T. cruzi* foram determinados menores níveis de creatinina nos 9.º, 12.º e 14.º dias após a infecção, quando comparados aos grupos controles. Em relação à cepa RAL essa diminuição foi mais acentuada durante a evolução do parasitismo, quando comparada aos animais infectados pela cepa RC do parasito. Para todos os valores onde se observa a redução estatisticamente significativa a $p<0.001$ (gráfico 24).

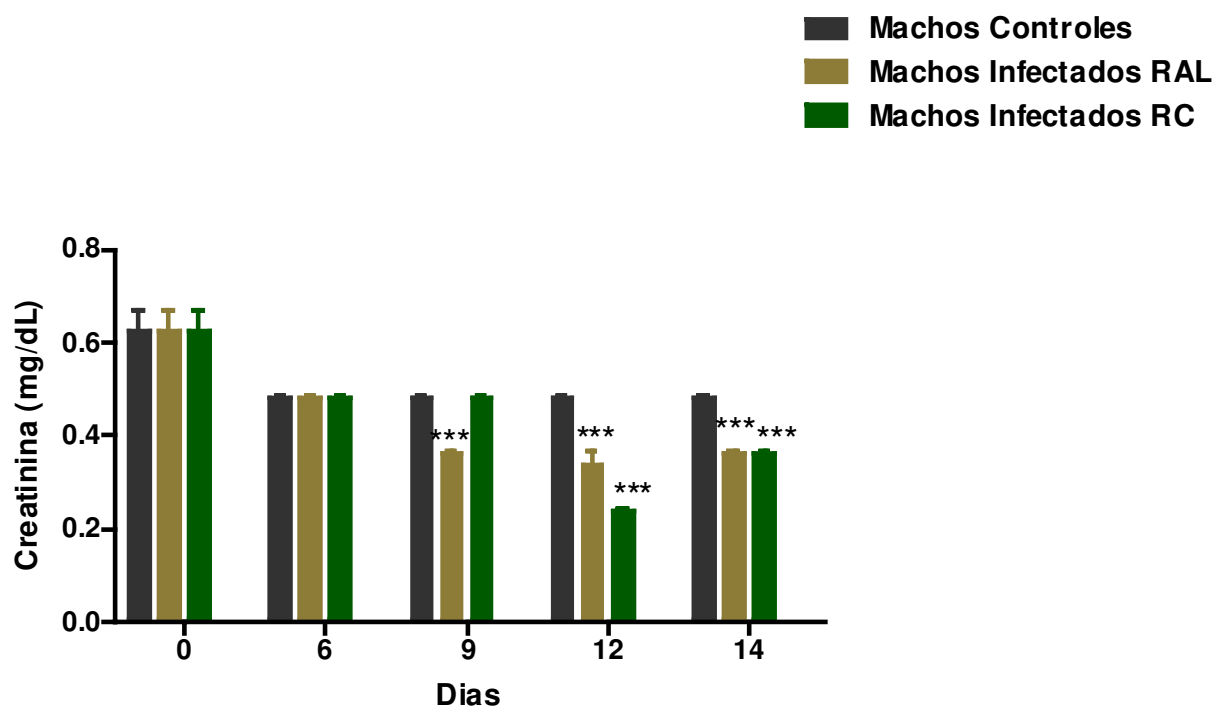


Gráfico 24. Níveis de creatinina em camundongos machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. * $p < 0.001$ CM vs. IMRAL ** $p < 0.001$ CM vs. IMRC.

Comparando-se os grupos fêmeas e machos inoculados com a cepa RAL verifica-se que a taxa de creatinina foi mais alta em relação ao grupo fêmea RAL nos 6.º, 9.º e 12.º dias ($p < 0.001$) (gráfico 25).

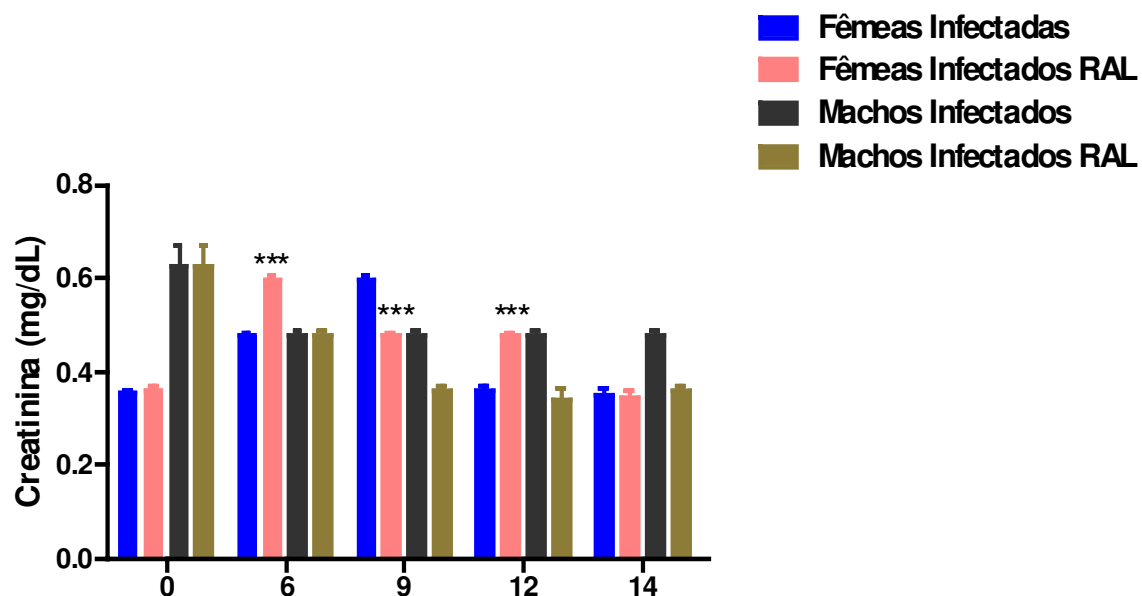


Gráfico 25. Níveis de creatinina em camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*. ***p<0.001 IFRAL vs. IMRAL.

Na avaliação comparativa entre os animais pertencentes aos grupos fêmeas e machos infectados pela cepa RC observou-se que os machos apresentam nível mais alto de creatinina nos 6.^o, 9.^o, 12.^o e 14.^o dias ($p < 0.001$) (gráfico 26).

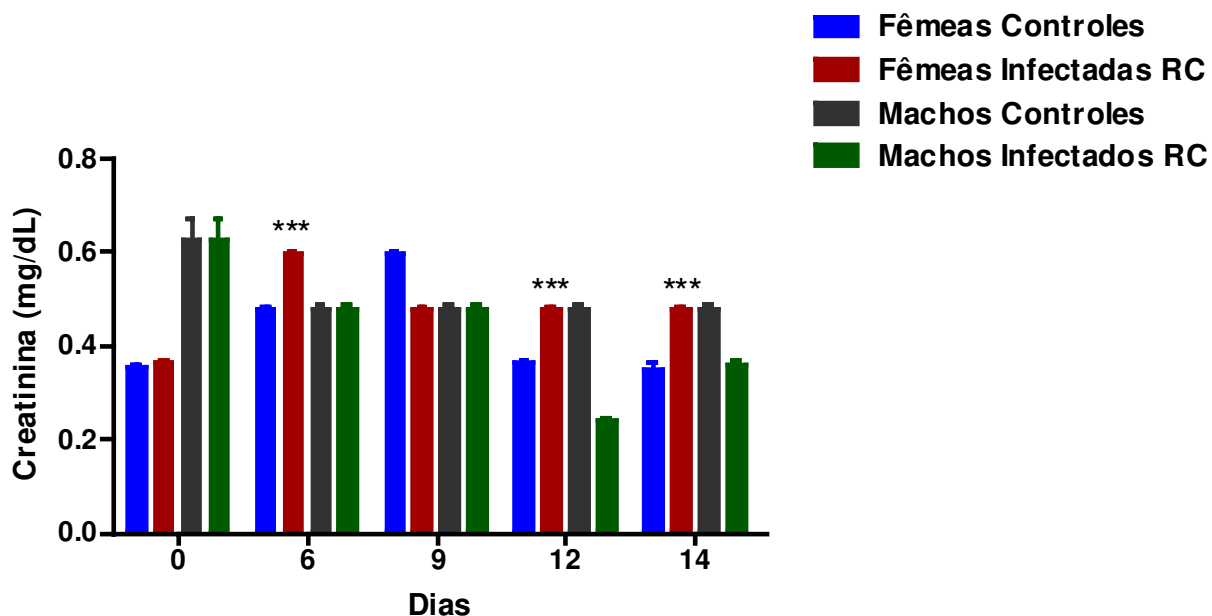


Gráfico 26. Níveis de creatinina em camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ IFRC vs. IMRC.

3.4.6 Aspartato Transaminase (AST)

Observando-se o gráfico 27 pode-se notar que os níveis enzimáticos de aspartato transaminase (AST) dos grupos de animais fêmeas infectadas da cepa RAL e RC estão mais elevado que aqueles referentes à cepa RAL ($p < 0.001$) em relação a cepa RC. Este fato pode estar relacionado à desorganização ocorrida no parênquima hepático, tecido este responsável pela liberação de maior quantidade da enzima para a corrente sanguínea, pois sempre que ocorre uma lesão hepatocelular, de qualquer etiologia, ocorre uma grande liberação da enzima AST para a corrente sanguínea, elevando seus níveis séricos.

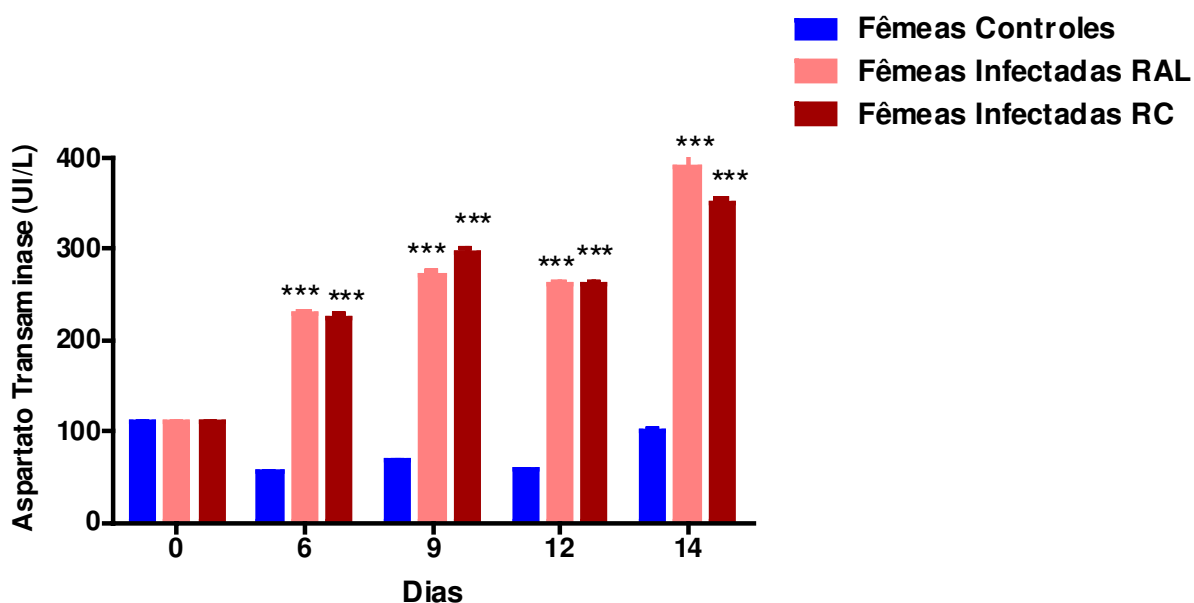


Gráfico 27. Níveis de aspartato transaminase em camundongos fêmeas controles e infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. * $p < 0.001$ CF vs. IFRAL ** $p < 0.001$ CF vs. IFRC.

Situação semelhante pode-se verificar com os grupos infectados machos das cepa RAL e RC. Neste caso, os níveis de AST também se encontram mais elevados que o dos grupos controles, conforme demonstrado no gráfico 28 nos dias 6, 9, 12 e 14 após a infecção ($p < 0.001$).

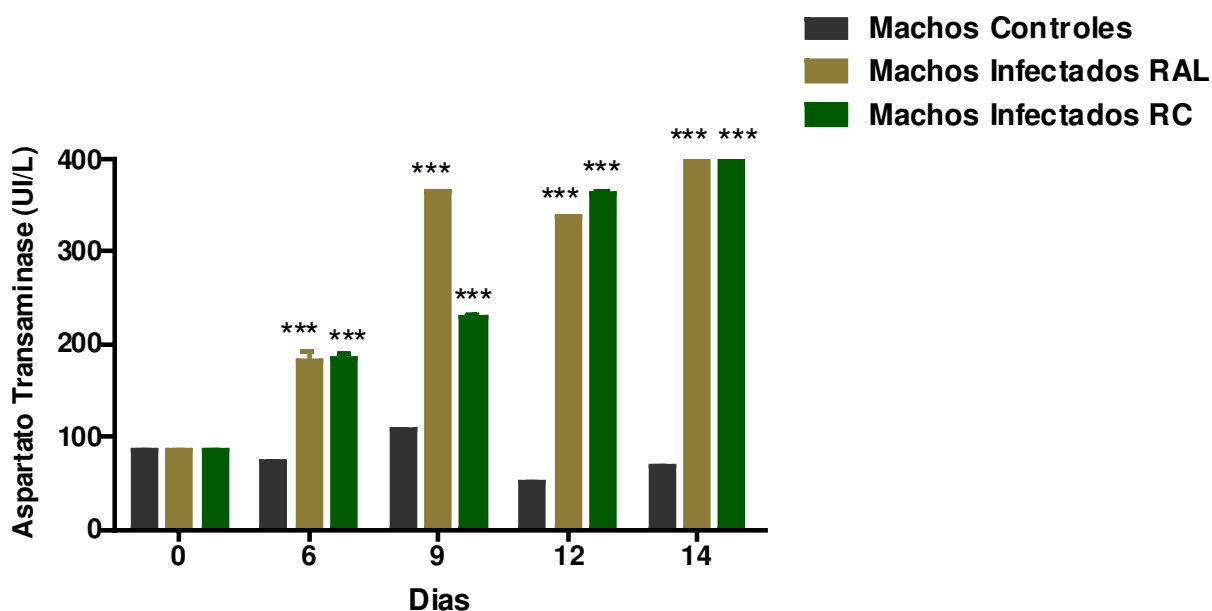


Gráfico 28. Níveis de aspartato transaminase em camundongos machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ CM vs. IMRAL*** $p < 0.001$ CM vs. IMRC.

Comparando-se os grupos fêmeas com os machos infectados com a cepa RAL, notou-se que os níveis enzimáticos dos animais fêmeas apresenta-se mais altos no 6.º dia em relação a concentração dos machos mais baixo nos 9.º, 12.º e 14.º, ($p < 0.001$) (gráfico 29). O mesmo ocorreu com o gráfico 30, em relação a cepa RC.

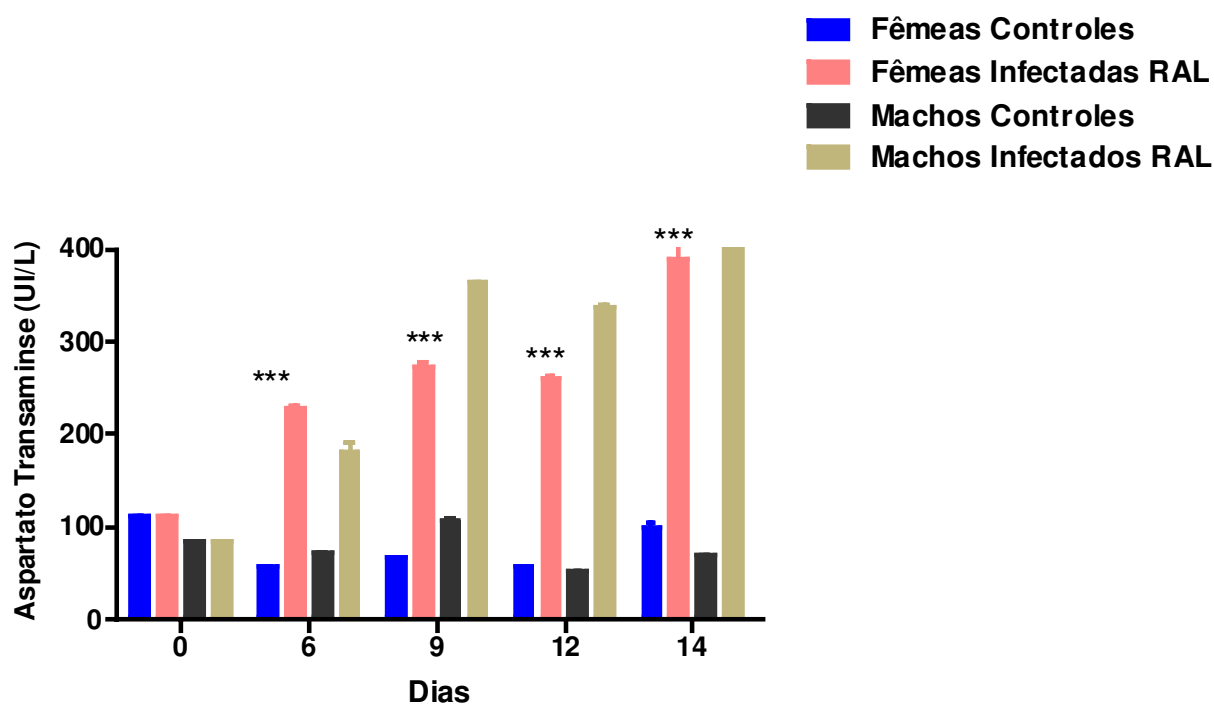


Gráfico 29. Níveis de aspartato transaminase em camundongos aspartato transaminase de camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*. *** $p < 0.001$ IFRAL vs. IMRAL.

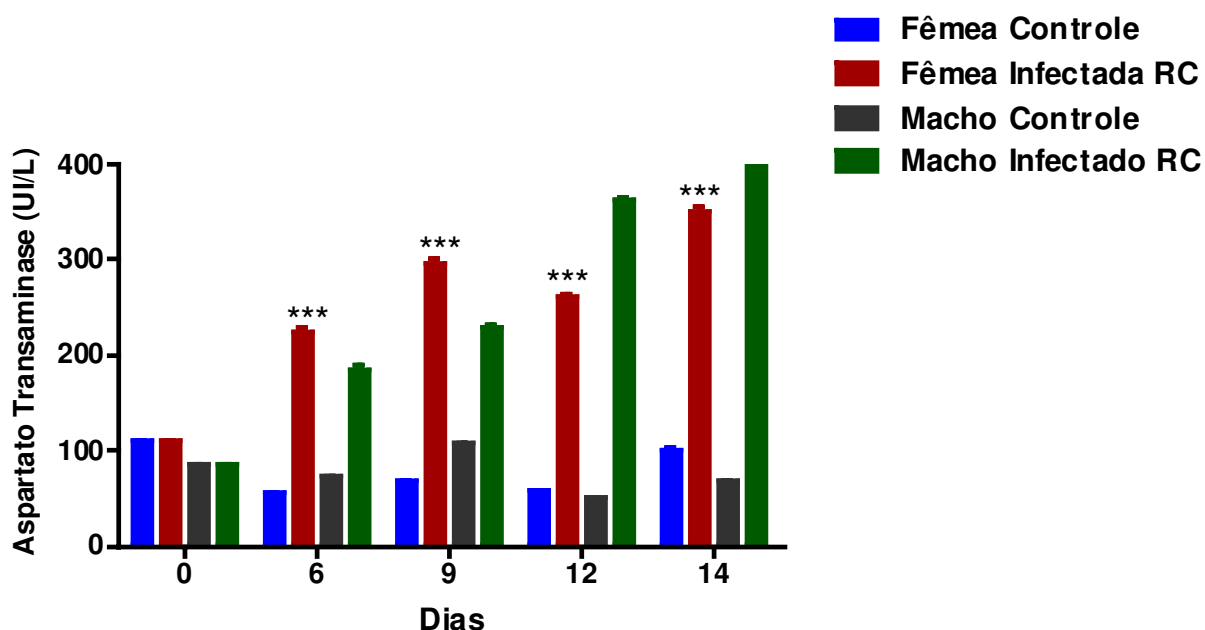


Gráfico 30. Níveis de aspartato transaminase em camundongos camundongos fêmeas e machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ IFRC vs. IMRC.

3.4.7 Colesterol

O colesterol total dosado para os grupos fêmeas e machos infectados pelas cepas RAL e RC, quando comparados aos grupos controle sem infecção, também apresentam alterações significativas. No gráfico 31 os valores relativos aos grupos de animais fêmeas infectados de ambas as cepas houve uma queda dos níveis de colesterol sérico, sendo que este fato pode estar relacionado a uma desnutrição crônica. Os valores são estatisticamente significantes para o grupo fêmea infectado

pela cepa RAL nos 9.^o ($p<0.01$), 12.^o e 14.^o dias de infecção ($p<0.001$) e no grupo fêmea infectado pela cepa RC nos 9.^o ($p<0.01$), 14.^o e 12.^o dia de infecção ($p<0.001$).

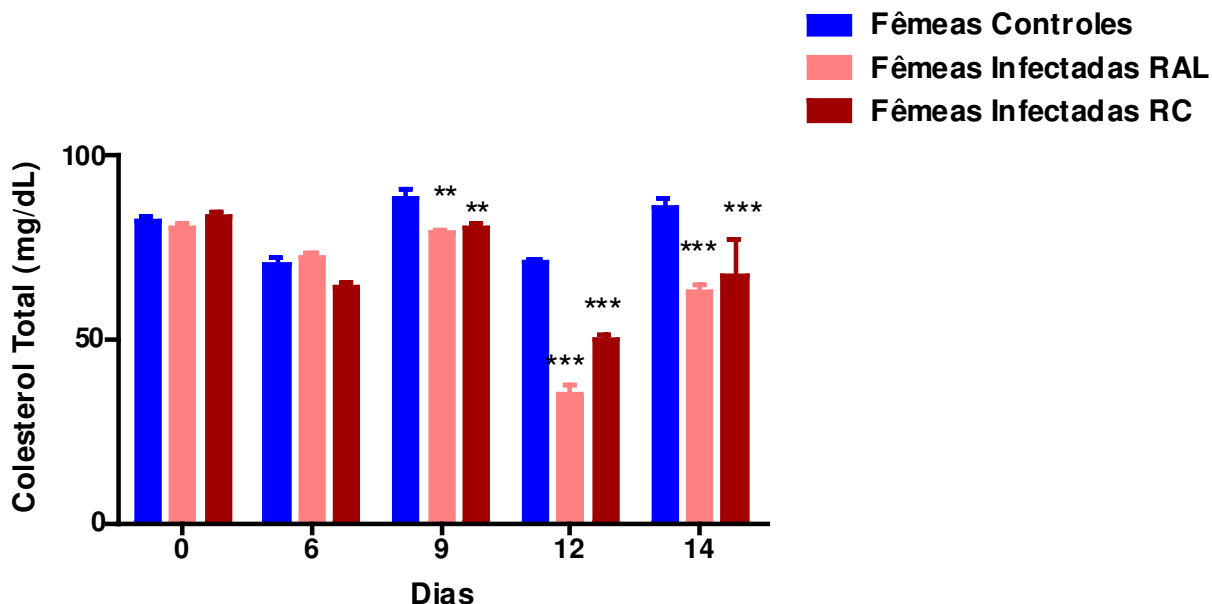


Gráfico 31. Níveis de colesterol em camundongos fêmeas controles e infectadas com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*. ** $p<0.01$ *** $p<0.001$ CF vs. IFRAL ** $p<0.01$ *** $p<0.001$ CF vs. IFRC.

Na comparação entre ambas as cepas (gráfico 32), observou-se para os grupos de animais machos infectados a ocorrência de uma redução significativa ($p<0.001$) dos valores obtidos para a dosagem de colesterol, em praticamente todos os dias de infecção, observando-se níveis significativos para $p<0.001$.

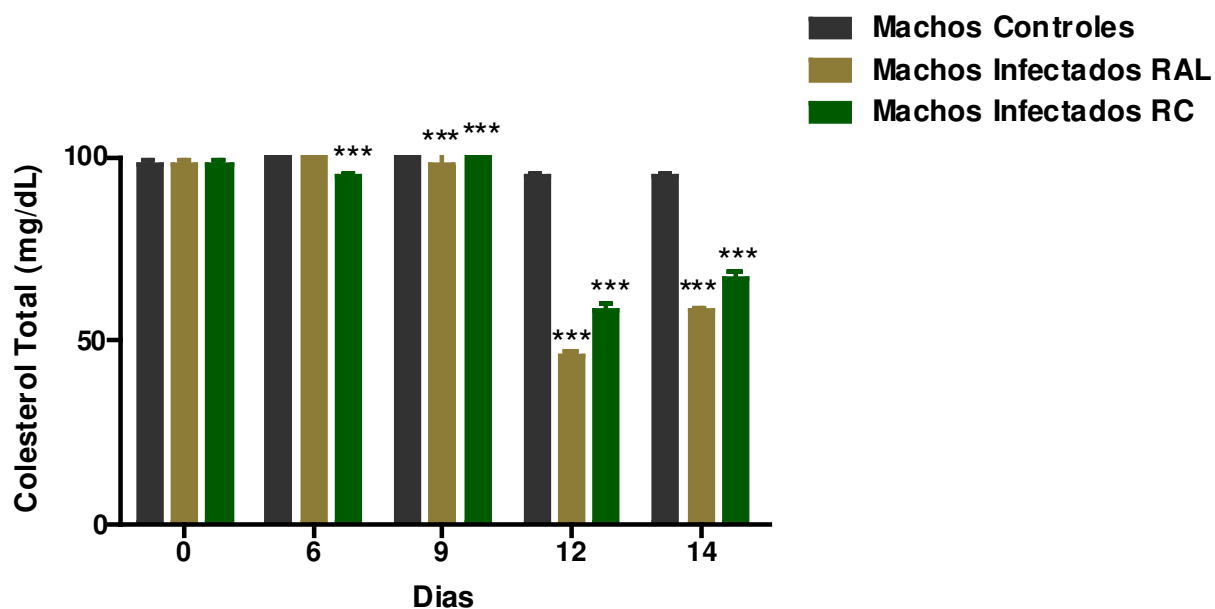


Tabela 32. Níveis de colesterol em camundongos machos controle e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. *** $p < 0.001$ CM vs. IMRAL ** $p < 0.001$ CM vs. IMRC.

Pelos dados apresentados no gráfico 33 observa-se que as fêmeas infectadas pela cepa RAL apresentam um nível de colesterol mais alto do que os machos da mesma cepa para os 6.^o, 9.^o e 12.^o dias ($p < 0.001$).

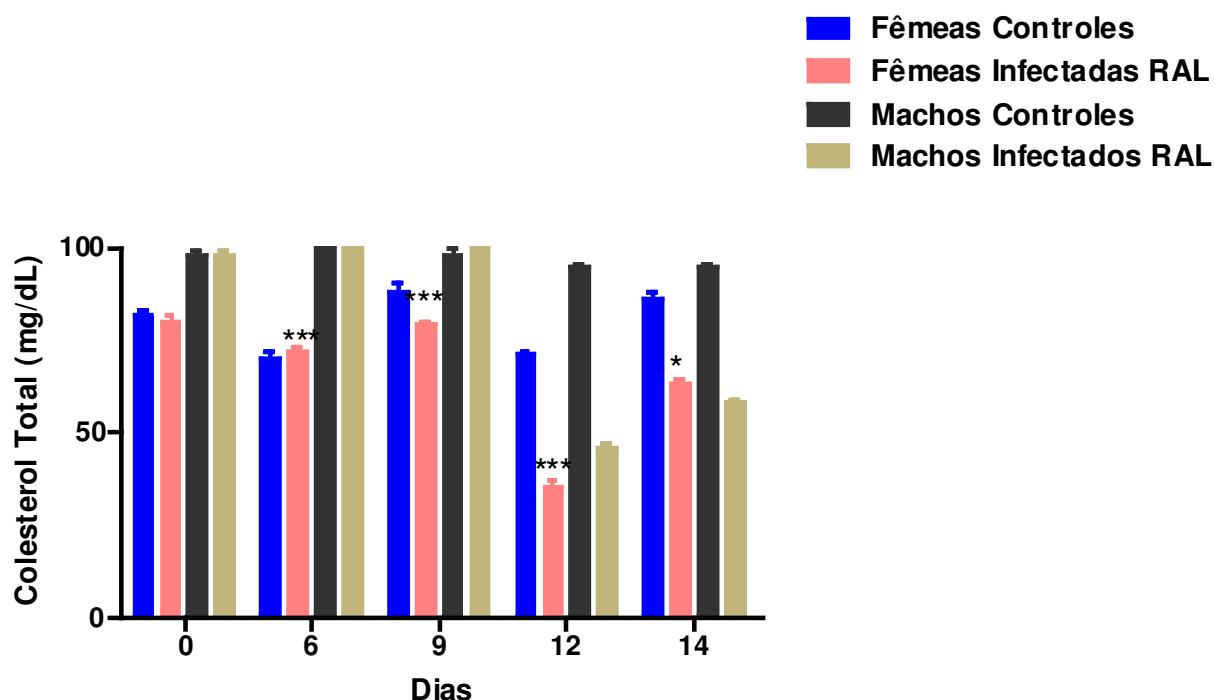


Gráfico 33. Níveis de colesterol em camundongos machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. *** $p < 0.001$ e * $p < 0.05$ IFRAL vs. IMRAL.

Para a cepa RC, as fêmeas infectadas apresentaram comportamento semelhante ao da cepa RAL nos 6.º, 9.º e 12.º dias, com menor dosagem de colesterol em relação aos machos infectados ($p < 0.001$ e $p < 0.01$), exceto no 14.º dia quando as fêmeas estavam com uma concentração mais elevada ($p < 0.001$) (gráfico 34).

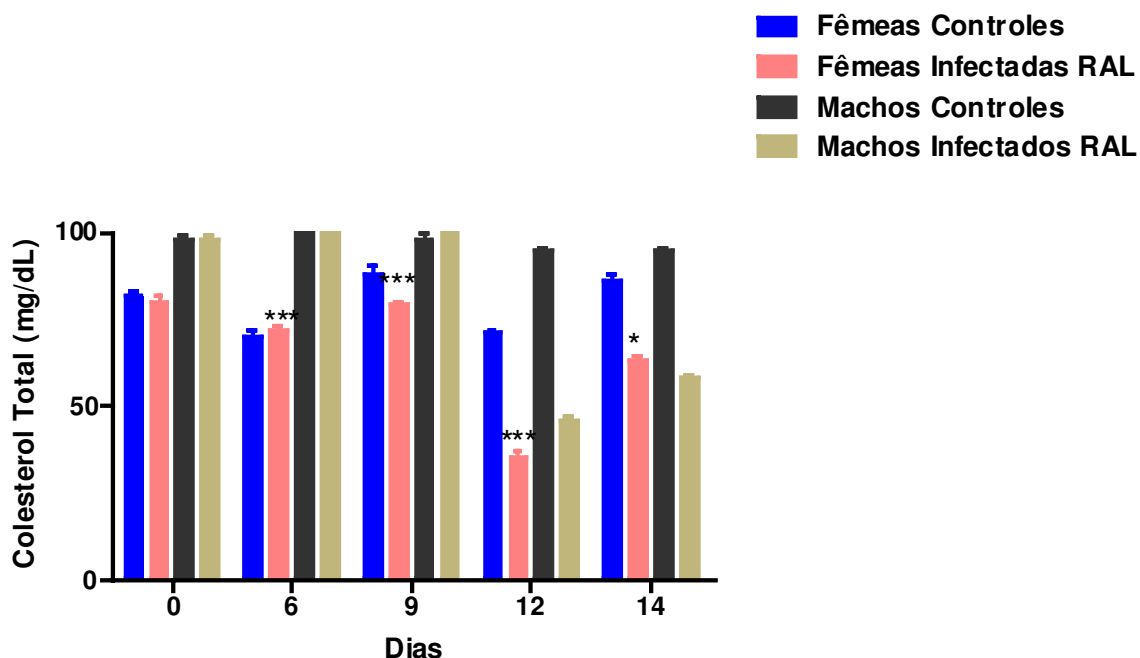


Gráfico 34. Níveis de colesterol em camundongos machos controles e infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*. *** $p < 0.001$ e * $p < 0.05$ IFRC vs. IMRC.

3.4.8. Triglicerídes

A concentração dos níveis de triglicérides das fêmeas infectadas pela cepa RAL e RC pelo *T. cruzi*, no gráfico 35, demonstra para o grupo fêmea infectada uma queda mais acentuadas nos 6.^o, 9.^o e 12.^o e 14.^o dias de infecção ($p < 0.001$).

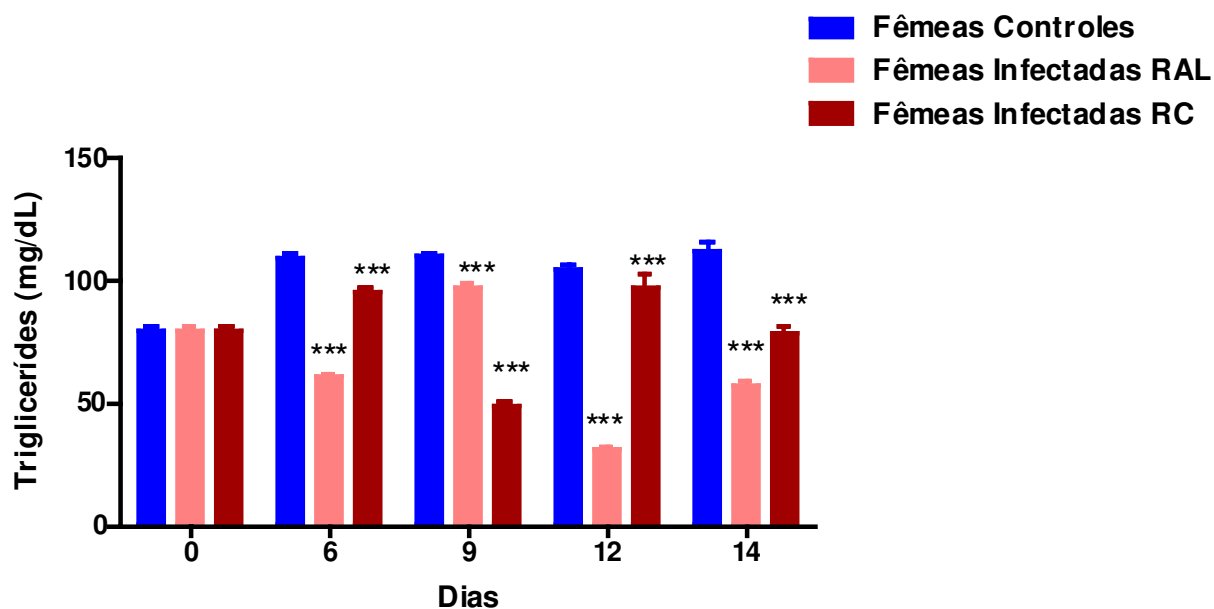


Gráfico 35. Níveis de triglicérides de camundongos fêmeas controles e infectadas. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ CF vs. IFRAL e CF vs. IFRC.

Quando comparados os animais machos infectados, de ambas as cepas, com o grupo controle, foi possível verificar diferenças de comportamento durante a infecção. Pelo gráfico 36 nota-se que o grupo infectado pela cepa RAL e RC apresentam um queda significativa nos níveis de triglicérides em todos os dias, após o dia da infecção ($p < 0.001$).

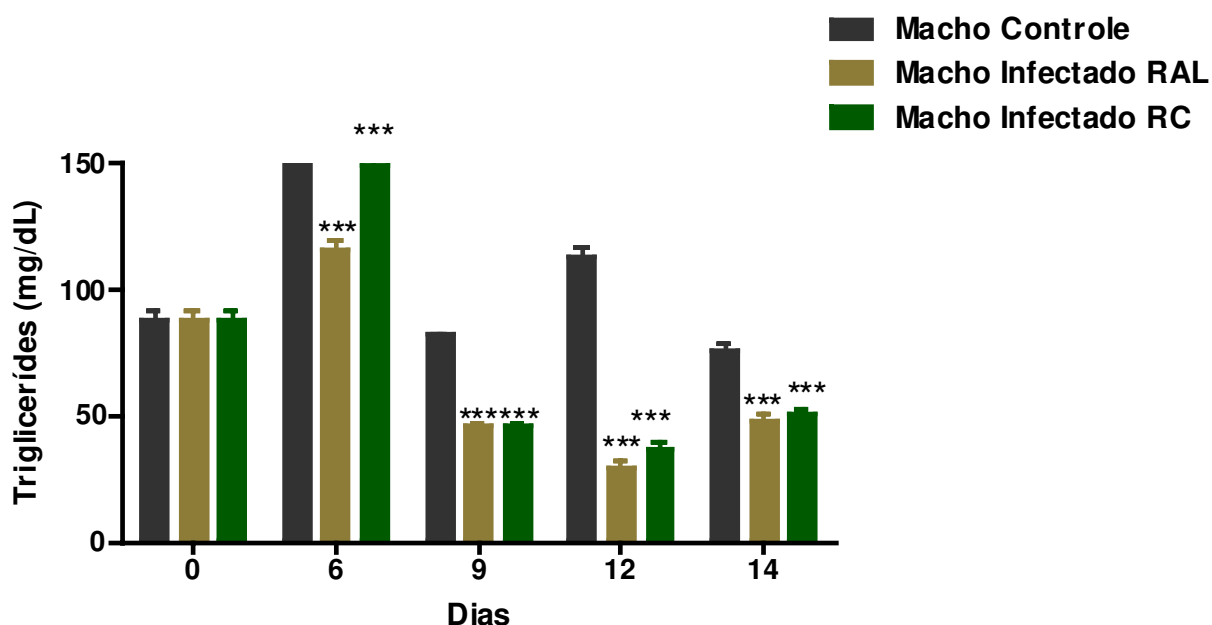


Gráfico 36. Níveis de triglicérides em camundongos machos controles e infectadas. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL e RC de *Trypanosoma cruzi*. *** $p < 0.001$ CM vs. IMRAL *** $p < 0.001$ CM vs. IMRC

Na comparação realizada entre fêmeas e machos infectados pela cepa RAL de *T. cruzi* é nítida a observação da determinação de níveis menores de triglicérides para os animais do grupo fêmeas em relação aos machos no 9.^o e 14.^o houve uma maior concentração ($p < 0.001$) (gráfico 37).

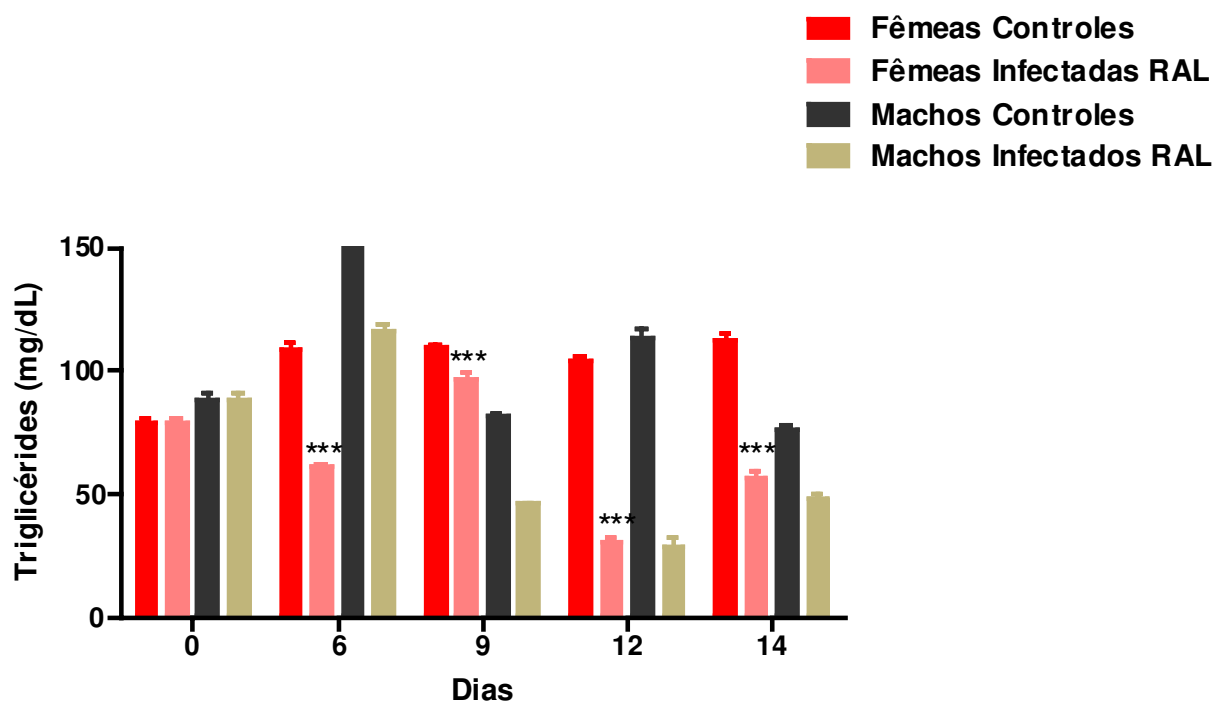


Gráfico 37. Níveis de triglicérides de camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.*** $p < 0.001$ IFRAL vs. IMRAL.

Observando-se o gráfico 38 pode-se perceber que os grupos fêmea da cepa RC apresentam variações mais significativa que machos, no 6.^o apresentaram uma menor concentração e nos 12.^o e 14.^o uma maior concentração.

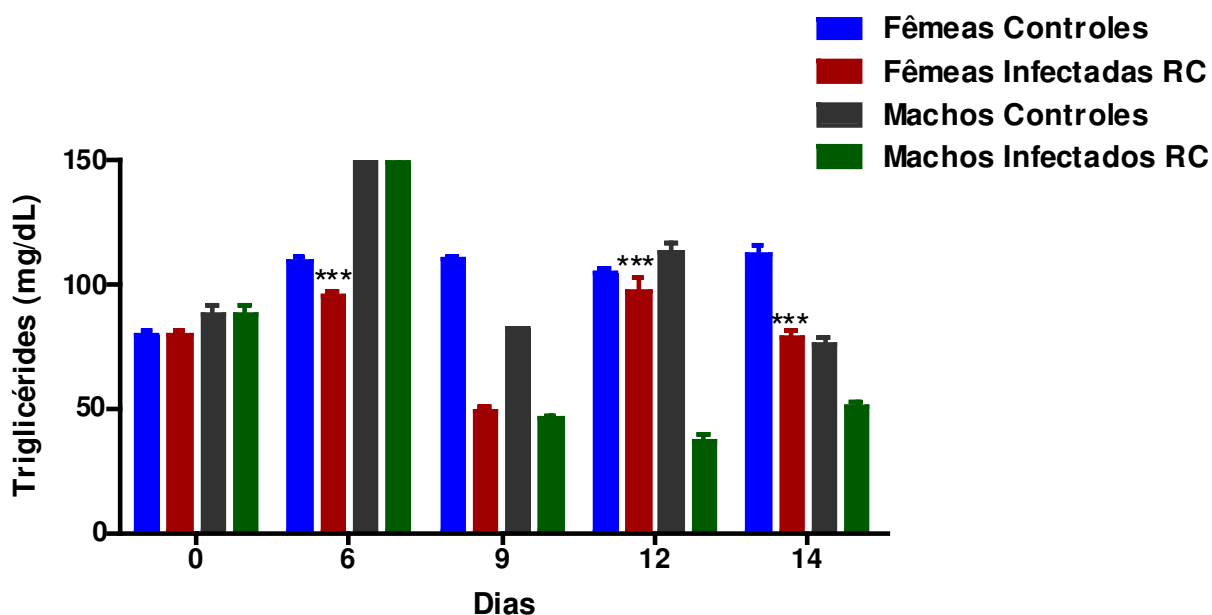


Gráfico 38. Níveis de triglicérides em camundongos fêmeas e machos de grupos controles e infectados. Camundongos infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RC de *Trypanosoma cruzi*. **** $p < 0.001$ IFRC vs. IMRC.

3.5. Análises Histopatológicas

3.5.1. Fígado: Grupo Fêmea Infectada com a Cepa RC

No grupo fêmeas infectadas pela cepa RC de *T. cruzi*, foram observados os cortes histológicos dos tecidos coletados nos dias 1.º ao 14.º de infecção.

No 1.º dia (figura 1) da infecção verificou-se que as estruturas dos lóbulos hepáticos estão sem alterações patológicas, o tecido conjuntivo está intacto, com

regularidade dos ductos e vasos; os hepatócitos estão dispostos em cordões celulares, com citoplasma granuloso e basófilo e núcleo central arredondado. A infecção chagásica começa a determinar alterações histopatológicas a partir do 6.º dia (figura 2), com o aparecimento de infiltrado celular, caracterizado principalmente pela presença de linfócito nos sinusóides e nos lóbulos hepáticos. No 9.º dia observa-se uma alteração da arquitetura dos lóbulos hepáticos e na disposição sinusoidal decorrente de necrose dos hepatócitos e presença de formas amastigota de *T. cruzi* (figura 3).

No 12.º dia de infecção (figura 4) observou-se uma desorganização celular acentuada, aparecimento de formações granulomatosas decorrente da presença dos ninhos de amastigotas, polimorfismo dos hepatócitos apresentando citoplasma com característica esponjosa e baloniforme.

Pela observação da figura 5 para o 14.º dia de infecção que além dos achados anteriores, acentuam-se as necroses focais, proliferação intrasinusoidais, polimorfismo nuclear, com evidencia dos nucléolos e hiperpigmentação da cromatina nuclear e desorganização citoplasmática e granuloma linfáticos.

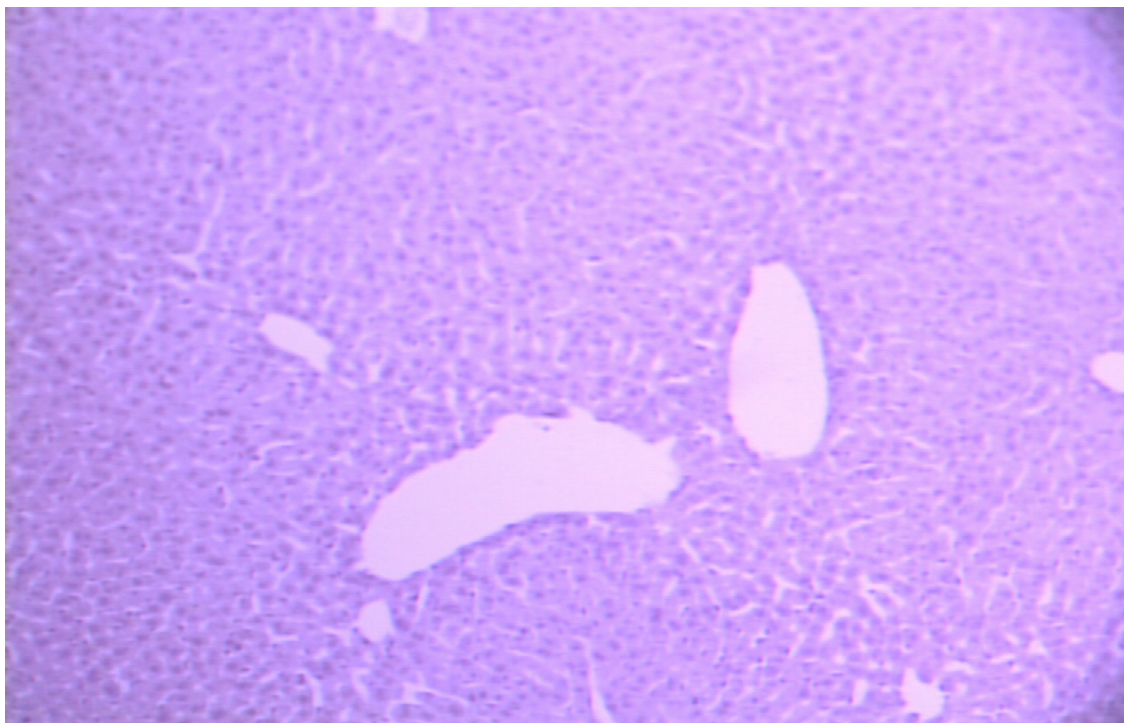


Figura 1. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo controle do 1.º dia sem alterações patológicas (hematoxilina-eosina – 250 X).

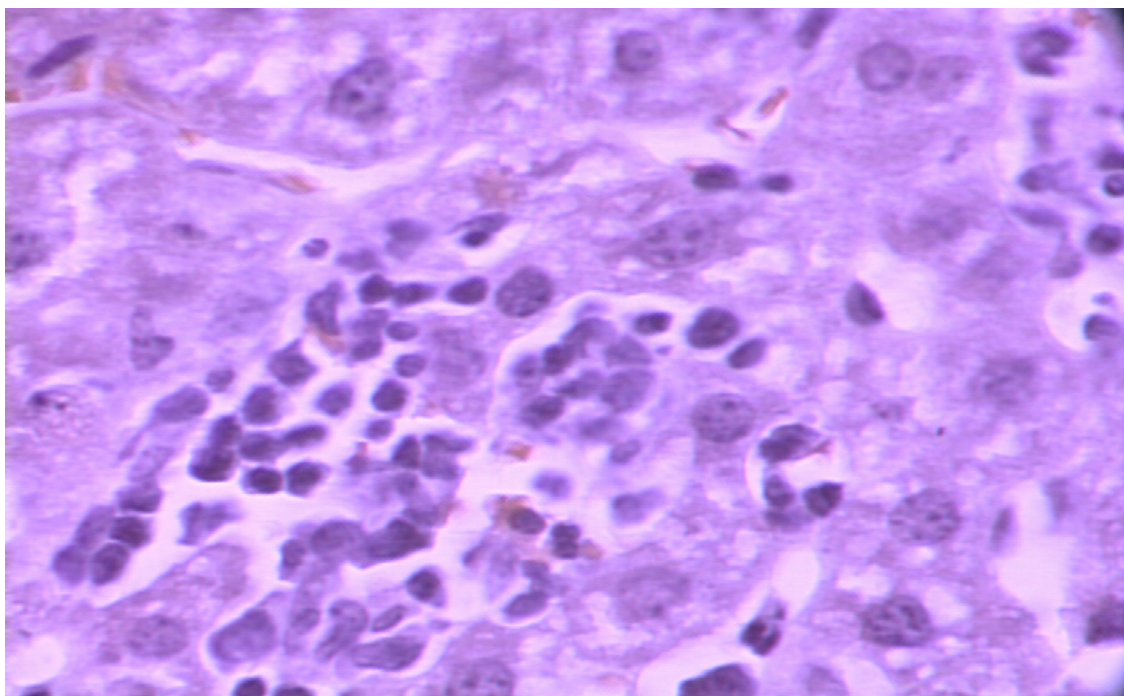


Figura 2. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 6.º dia na reação inflamatória da cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000X).

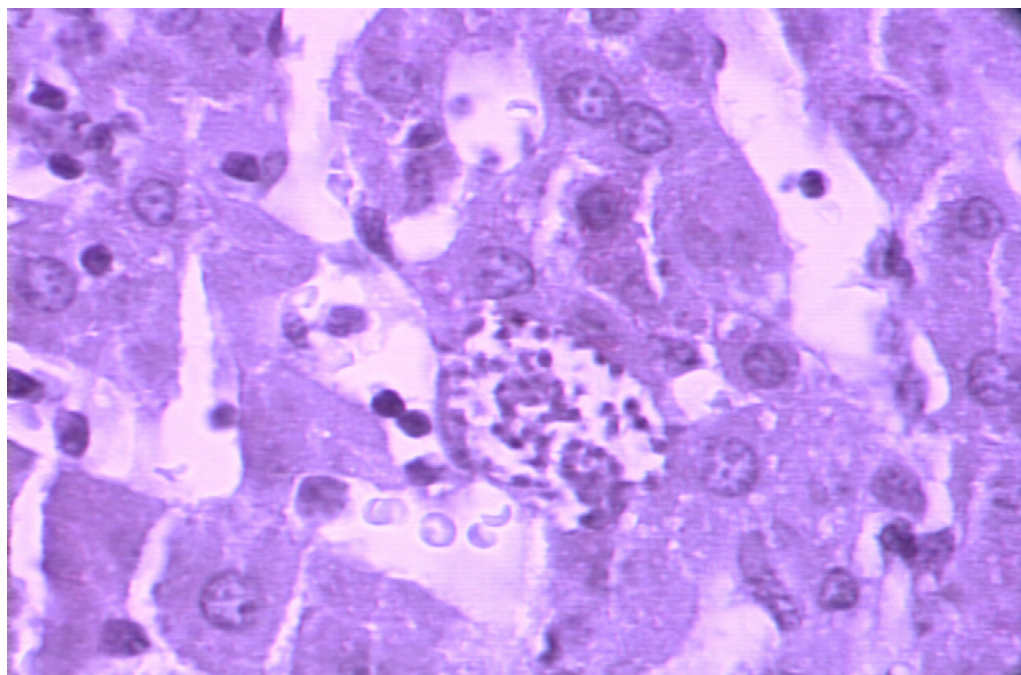


Figura 3. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 9.º dia presença de ninho de amastigota e na figura observa-se também uma maior necrose tecidual causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).

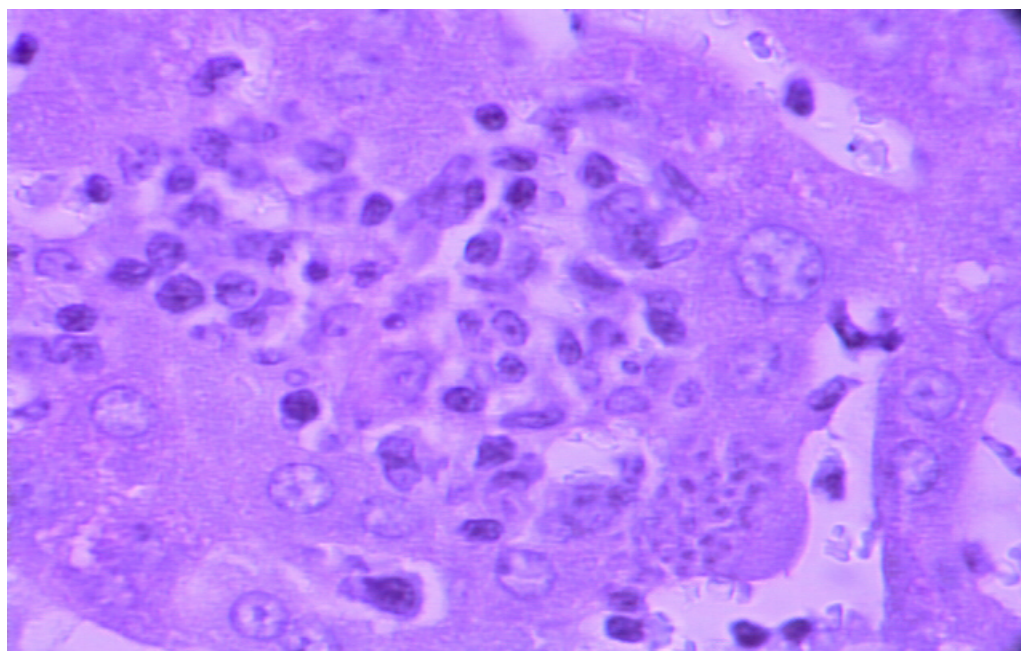


Figura 4. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 12.º dia intensa reação inflamatória e ninho de amastigota causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).

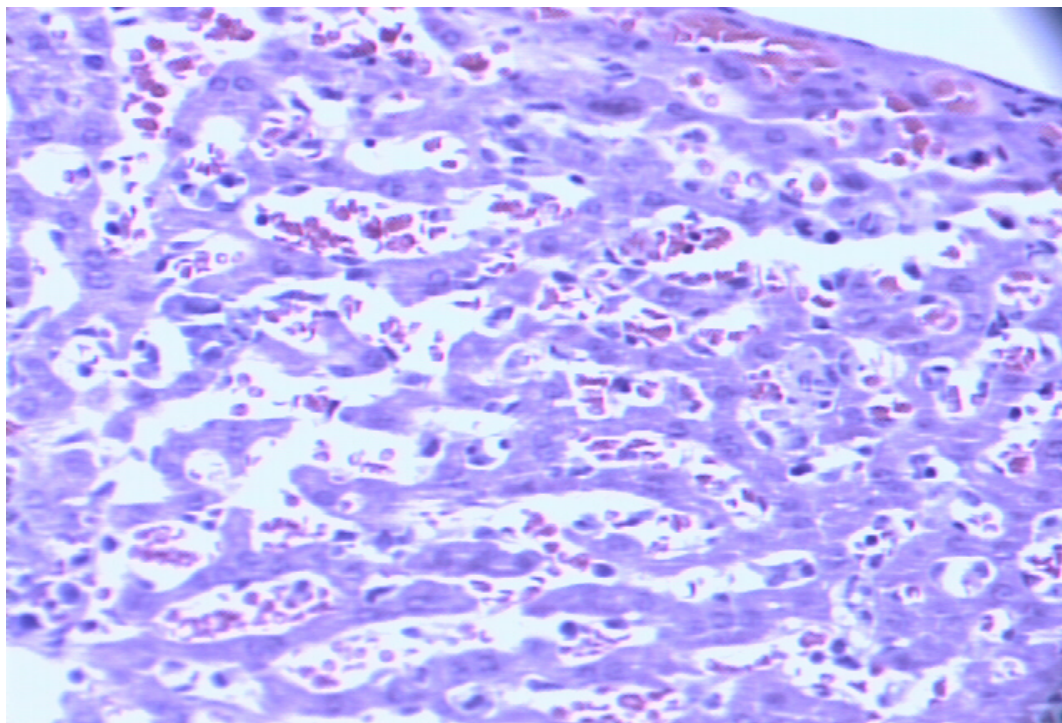


Figura 5. Aspecto histológico do fígado de camundongo fêmea do grupo infectado do 14.º dia com desorganização citoplasmática e migração linfática intensa causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 250 X).

3.5.2 Morfometria dos Hepatócitos

A Tabela 1 demonstra a evolução das alterações nucleares dos hepatócitos, em consequência do parasitismo por *T. cruzi*.

Tabela 1. Comparação dos parâmetros nucleares hepáticos entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RC de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	FÊMEA INFECTADA			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	142	185*	198*	200**	202**
Perímetro(μm)	20.07	22.26	22.66	22.59	22.75
Excentricidade	0.65	0.58	0.59	0.56	0.59
Índice de contorno	3.60	3.58	3.58	3.57	3.58
Área Nuclear(μm^2)	31.97	38.99*	40.59**	40.69**	41.04**
Coeficiente de forma	0.96	0.98	0.98	0.98	0.98

* significante $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

Observando-se a Tabela acima nota-se que houve hipertrofia nuclear quando comparados os hepatócitos ao grupo controle sem infecção. Os parâmetros comparados para obtenção desse resultado foram os volumes nucleares e a área nuclear por análises morfométricas. Acredita-se que a agressão hepática encontrada na análise apresentada deve-se à presença do *T. cruzi*.

3.5.3 Pâncreas: Grupo Fêmea Infectada com a Cepa RC

Na análise histopatológica realizada observa-se a porção exócrina da glândula pancreática do grupo infectado fêmea cepa RC de *T. cruzi*, durante o período correspondente ao 1.º até 14.º dia. De uma maneira geral podemos observar pelas figuras que houve inflamação do tecido pancreático.

No 1.º sem infecção nota-se o tecido pancreático sem alteração (figura 6) no 6.º dia (figura 7) nota-se uma necrose nas células acinares pancreáticas e desorganização piramidal das células. Para a cepa em avaliação notamos que a contínua infecção de camundongos fêmeas por *T. cruzi* promove a partir do 9.º dia (figura 8) a formação de granuloma inflamatório entre as células acinares pancreáticas. A intensidade de regiões necrosadas é observada com mais nitidez no 12.º dia, onde ocorre também o aparecimento de formas amastigotas do parasito (figura 9). Já no 14.º dia (figura 10) o tecido pancreático apresenta um intenso infiltrado inflamatório e necrose tecidual.

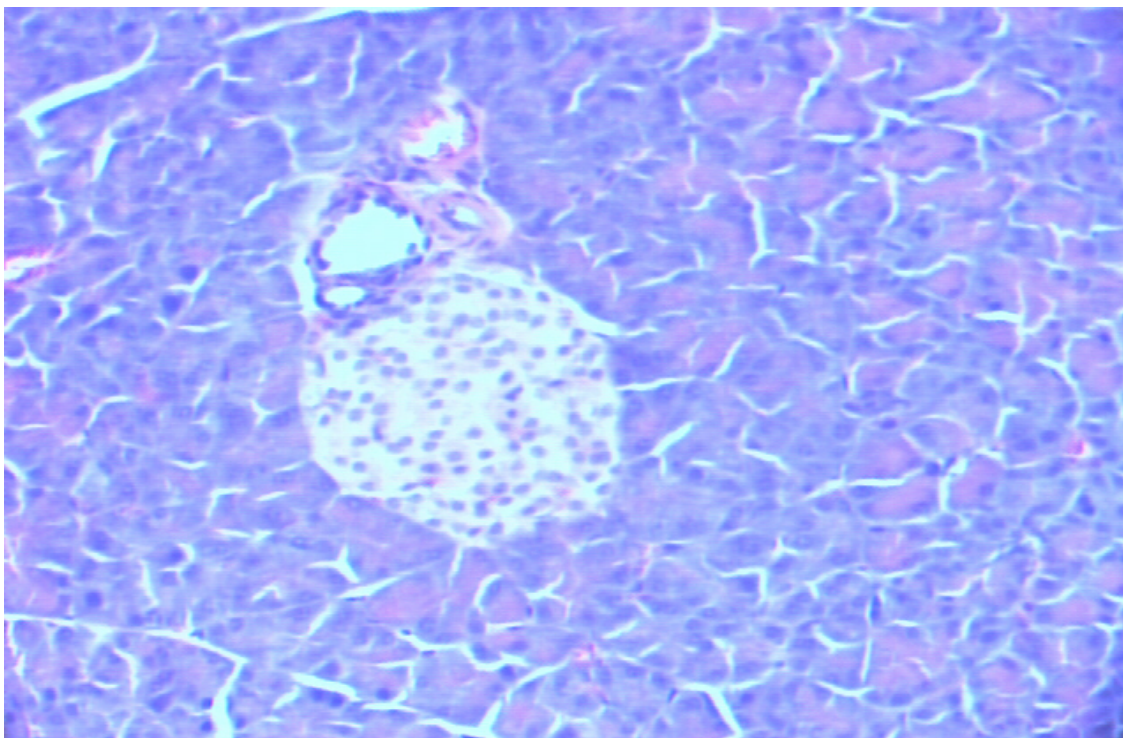


Figura 6. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 1.º dia sem alteração tecidual das células acinares pancreáticas causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina –250 X).

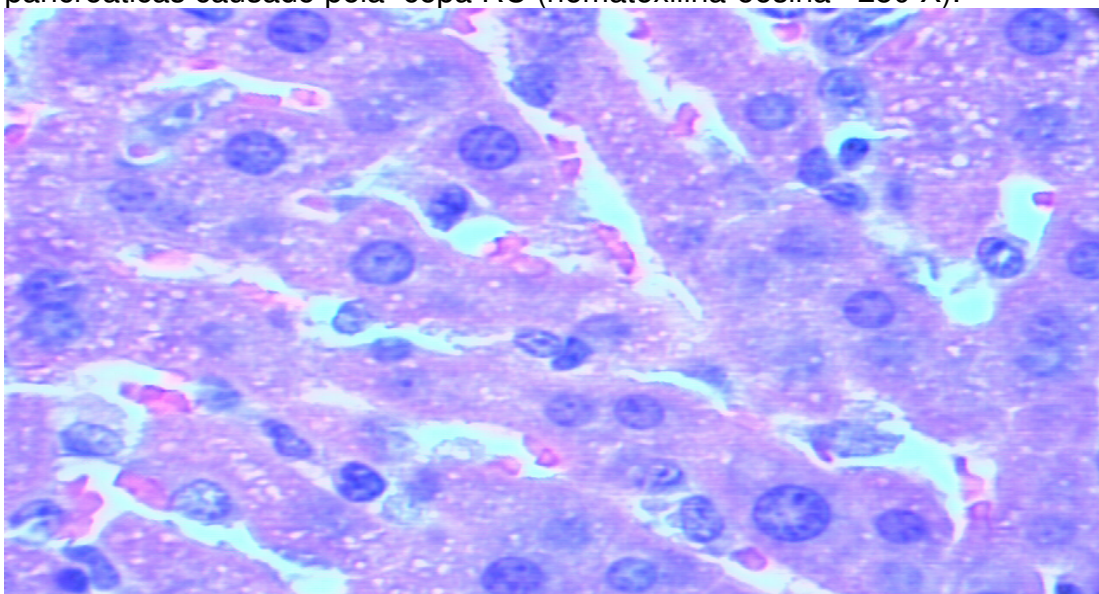


Figura 7. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 6.º dia células acinares pancreáticas iniciam a desorganização deixando suas formas piramidais causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 250 X).

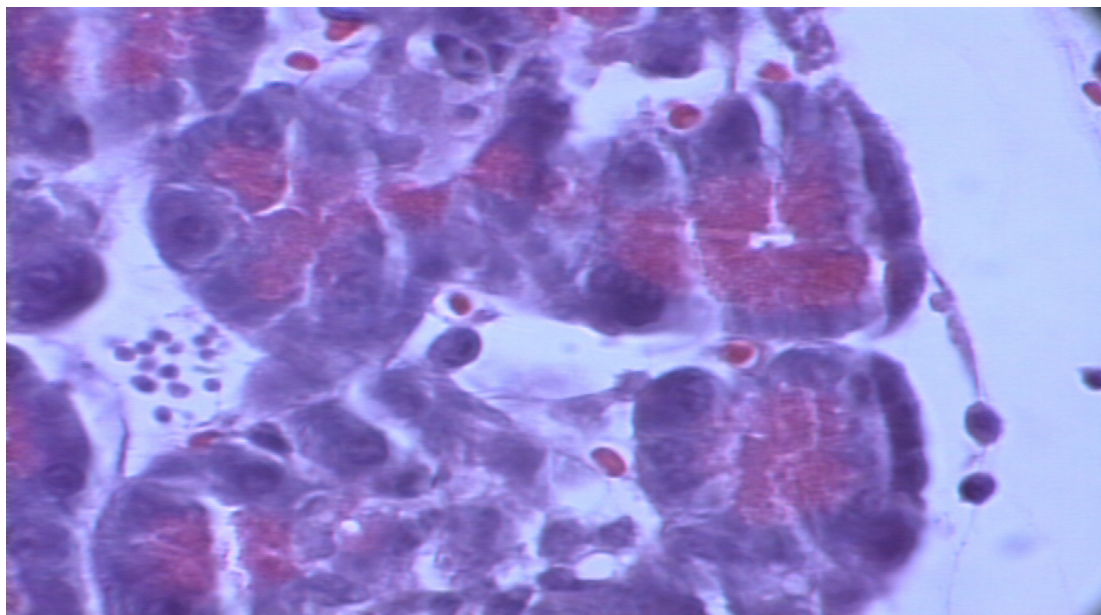


Figura 8. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 9.º dia nido de amastigota (na seta), e observa-se na figura necrose e desorganização celular causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 250 X).

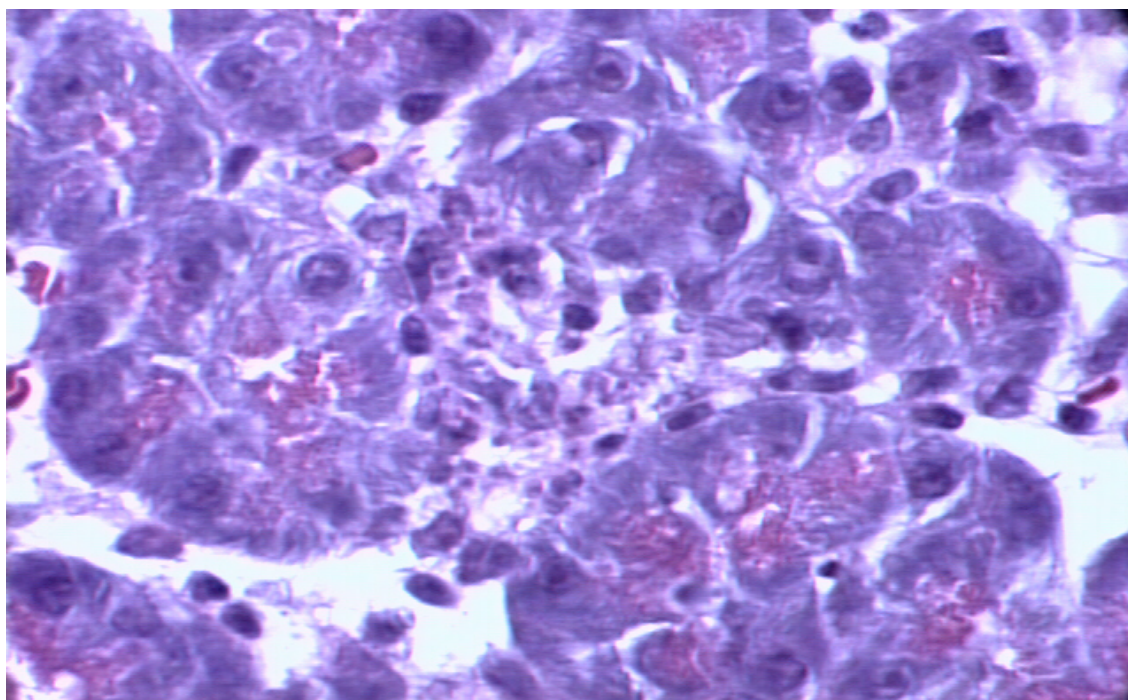


Figura 9. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 12.º dia desorganização celular intensa causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).

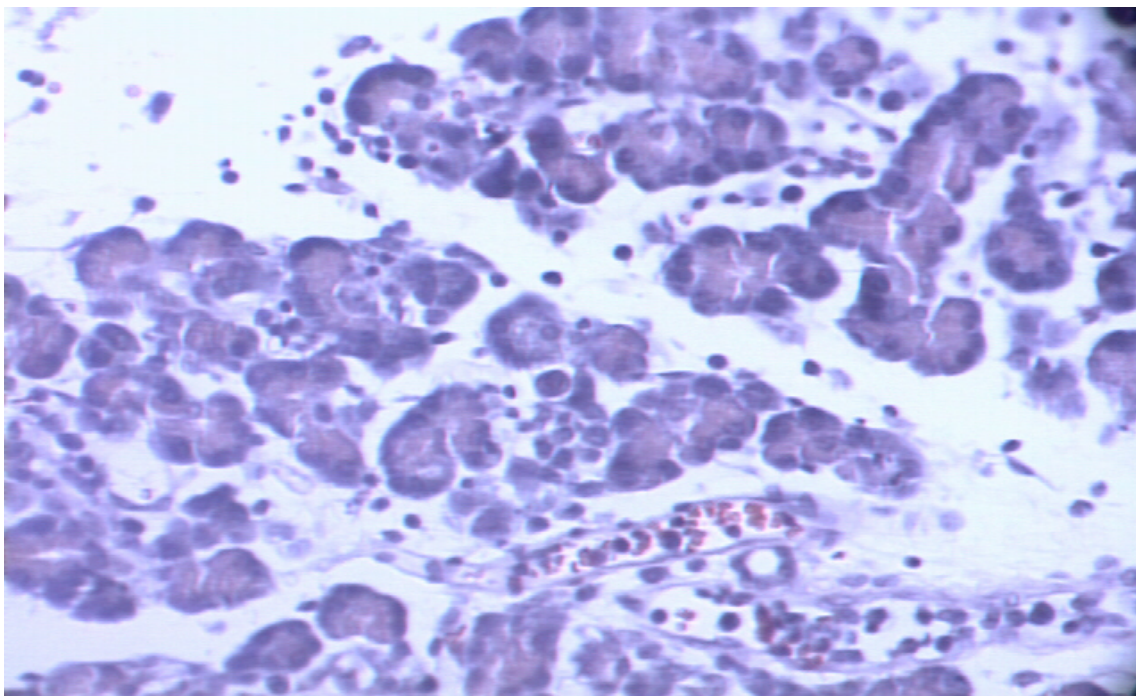


Figura 10. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14.º dia intensa necrose tecidual e desorganização celular com reação inflamatória causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina – 1000 X).

3.5.4. Morfometria dos Ácinos

A Tabela 2 demonstra as alterações acinares dos animais fêmeas infectados pela cepa RC de *T. cruzi*, de acordo com a evolução experimental.

Tabela 2. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RC de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	FÊMEA INFECTADA			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	61	76*	63**	71*	75*
Perímetro(μm)	13.22	16.52	15.55	15.93	16.11
Excentricidade	0.62	0.63	0.64	0.64	0.62
Índice de contorno	3.59	3.60*	3.61**	3.60*	3.63*
Área Nuclear(μm^2)	21.44	23.44*	22.87**	25.05*	23.32*
Coeficiente de forma	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97

* significante $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

Resultados obtidos as células acinares pancreáticas demonstram uma hipertrofia similar às alterações hepáticas. De maneira semelhante à análise hepática realizada. Acredita-se que essas alterações celulares podem ter ocorrido de maneira direta pela presença do agente infeccioso no tecido avaliado realizando a ação de depleção de nutriente ou substâncias necessárias para a manutenção da integridade do tecido.

3.5.5. Fígado: Grupo Infectado Fêmea com a Cepa RAL

Após análise realizada referente ao grupo dos animais infectados fêmeas pela cepa RAL de *T. cruzi*, foram observadas as lâminas dos órgãos coletados do 1.º ao 14.º dia de infecção.

O material coletado no início da infecção 1.º dia (figura 11) não foram observados alterações hepáticas, o agente chagásico começa a determinar alterações histopatológicas a partir do 6.º dia (figura 12) desorganização dos hepatócitos. O fígado infectado pelo protozoário, durante o processo de retirada do órgão do interior do animal experimental após morte foi notado edema. Durante a análise das lâminas nota-se que partes afetadas do tecido foram destruídas pela multiplicação do agente infeccioso e que o tecido apresentou infiltrados celulares caracterizadas principalmente pela presença de linfócito celular nos sinusóides e nos lóbulos hepáticos 9.º dia (figura 13). Também notou-se alterações da citoarquitetura dos lóbulos hepáticos e na disposição sinusoidal.

No 12.º dia de infecção (figura 14) observou-se uma formação granulomatosa inflamatório com presença de célula multinucleada, o polimorfismo dos hepatócitos, apresentando citoplasma com característica esponjosa e baloniforme, ocorre presença de lesões degenerativas e necróticas dos hepatócitos, com acúmulo de pigmento, possivelmente originado de restos não completamente digeridos dos hepatócitos mortos e fagocitados. Os fenômenos de degeneração hepática no tecido estudado durante o período da infecção há presença de espaços de intensidade variável, com sinais de agressão tecidual.

No 14.º dia (figura 15) de infecção além dos achados anteriores, acentuam-se as necroses focais, apoptose de hepatócitos, e observa-se formas amastigotas, os hepatócitos com polimorfismo nuclear e citoplasmático mais acentuado, com evidencia

dos nucléolos e hiperpigmentação da cromatina nuclear, o mesmo acontecendo no material coletado.

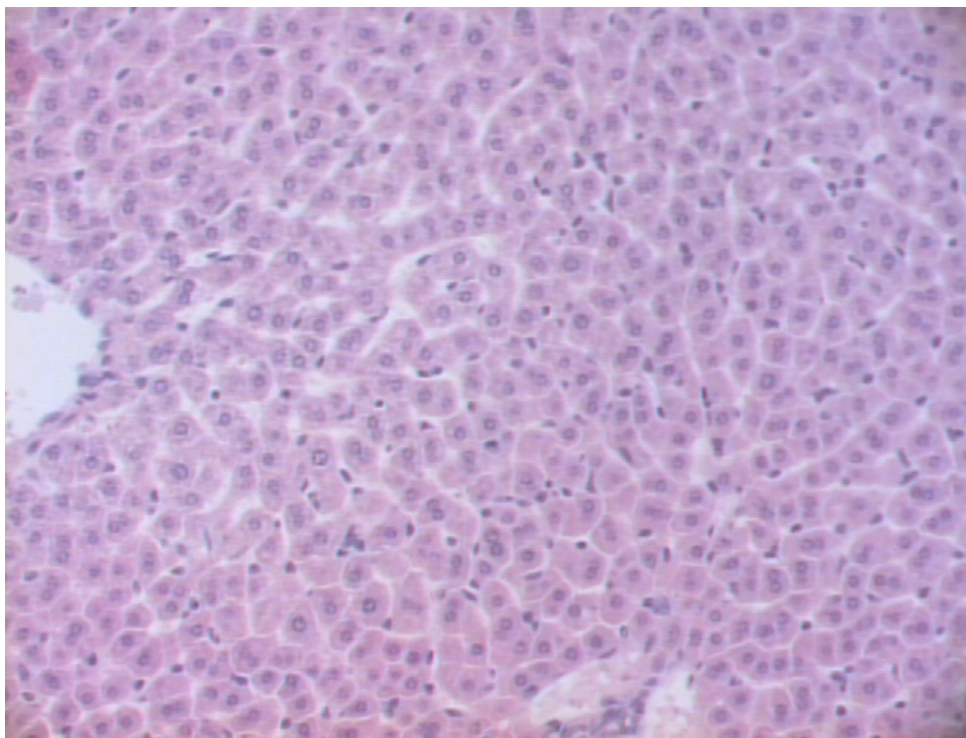


Figura 11. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 1.º dia: sem alterações patológicas (hematoxilina-eosina – 250 X).

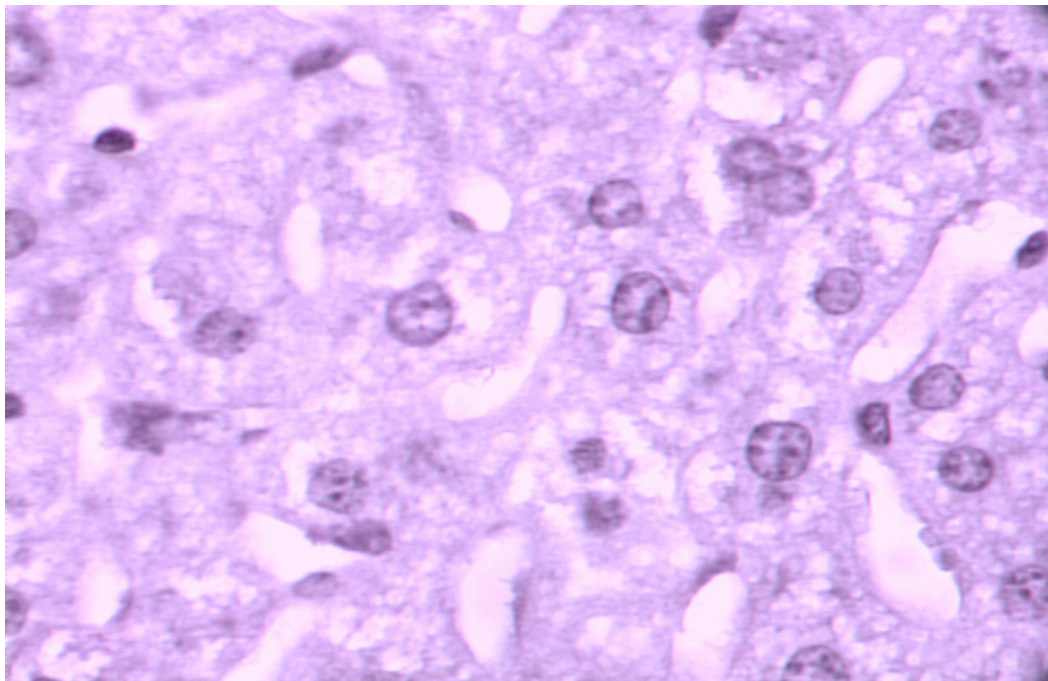


Figura 12. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 6.º dia: nas flechas apresentam linfócito entre as células do hepatócito, e parênquima hepático com arquitetura desarranjada e esteatose nuclear causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).

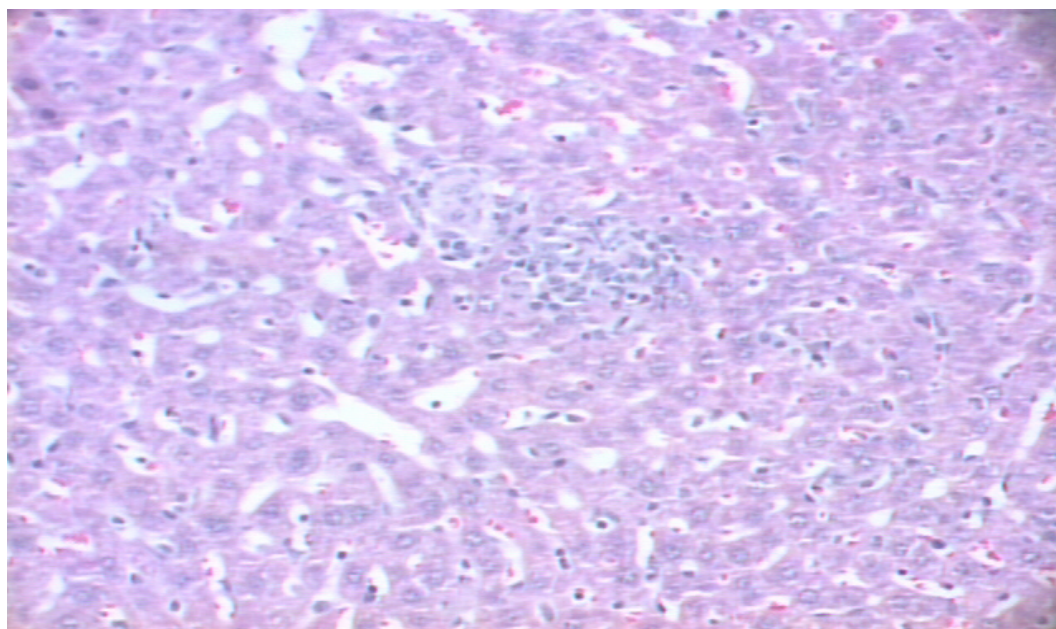


Figura 13. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 9.º dia: na flecha infiltrado linfocitário entre as células do hepatócito causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).

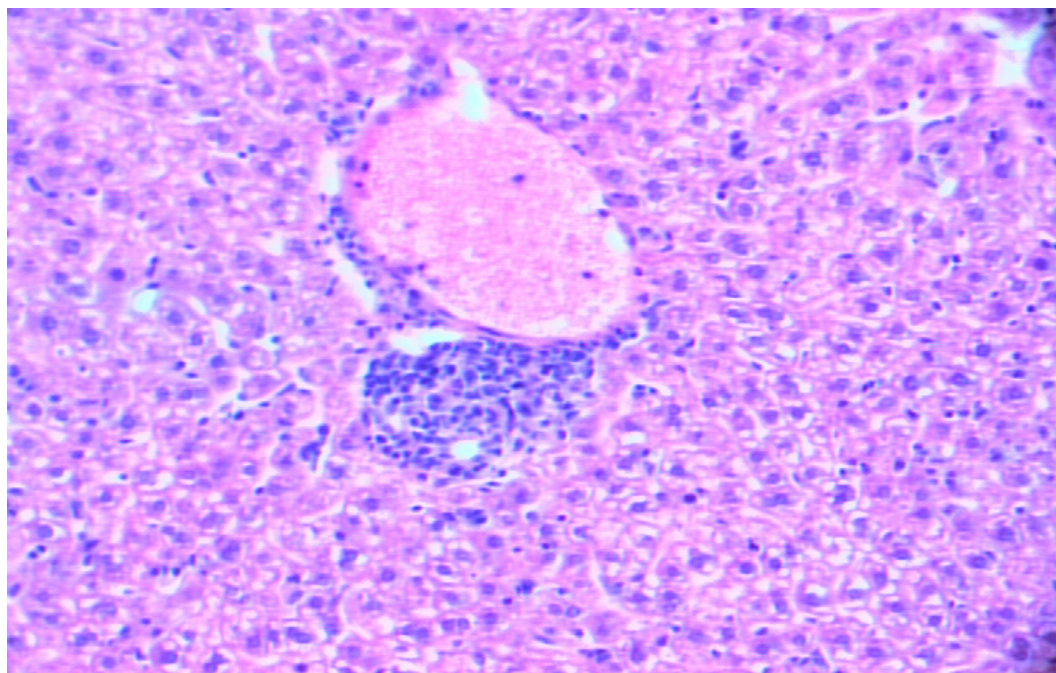


Figura 14. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 12º dia: nas flechas infiltrados linfocitários, com intensa vacualização citoplasmática e células inflamatórias causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).

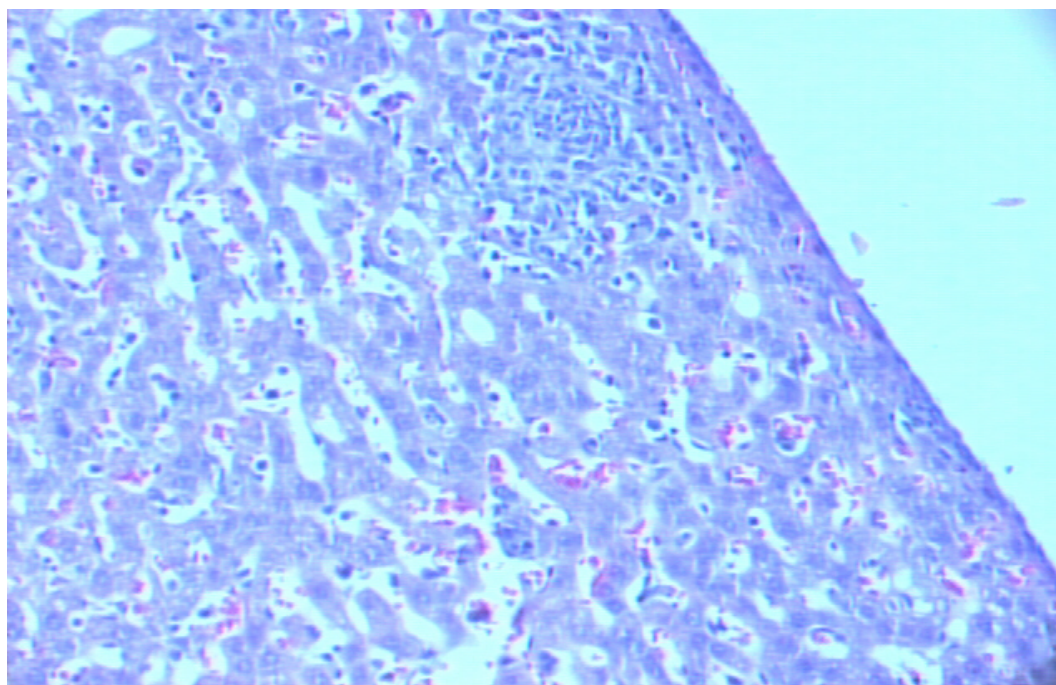


Figura 15. Aspecto histológico do fígado de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14.º dia: na flecha infiltração inflamatória, proliferação inflamatórias causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).

3.5.6. Morfometria dos Hepatócitos

O Tabela 3 demonstra as alterações dos hepatócitos dos animais fêmeas infectados pela cepa RAL de *T. cruzi*, de acordo com a evolução experimental.

Tabela 3. Comparação dos parâmetros nucleares dos hepatócitos, entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	FÊMEA INFECTADA			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	142	97	115**	131*	157*
Perímetro(μm)	20.07	17.84	18.80	20.69	21.01
Excentricidade	0.65	0.63	0.58	0.61	0.59
Ind. de contorno	3.60	3.59	3.58	3.59	3.59
Área Nuclear(μm^2)	31.97	25.13	26.10**	27.78*	34.78*
Coef. De forma	0.96	0.97	0.98	0.98	0.98

* significativa $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

Após as análises histopatológicas, foram realizado estudos de morfometria celular, foi observada durante o período de infecção uma hipertrofia (14. ºdia) e atrofia nuclear (6 ºdia, 9. ºdia e 12. ºdia) comparado com grupo do primeiro dia. Os parâmetros comparados para obter esse resultado foram os de volumes nucleares e a área nuclear. A variação pode estar ocorrendo conforme o mecanismo fisiológico e

imunológico de cada animal experimental que respondem de formas heterogênicas a ação do parasito.

3.5.7. Pâncreas: Grupo Fêmea Infectada com a Cepa RAL

No grupo infectado fêmea cepa RC de *T. cruzi*, durante o período correspondente ao 1.º (figura 16) até 14.º dia. De uma maneira geral pode-se observar pelas figuras que houve inflamação do tecido no decorrer da infecção.

No 6.º dia (figura 17) nota-se uma alteração na citoarquitetura das células acinares pancreáticas. A análise histopatológica do tecido pancreático, demonstra que a cepa RAL de *T. cruzi* apresenta ninhos de amastigotas nos camundongos fêmeas que aparecem a partir do 9.º dia (figura 18), contudo, os ninhos aumentam no 12.º dia (figura 19). A intensa desorganização foi observada no 14.º dia (figura 20) o tecido pancreático apresentou um intenso infiltrado inflamatório, e um maior aparecimento de ninhos de amastigotas.

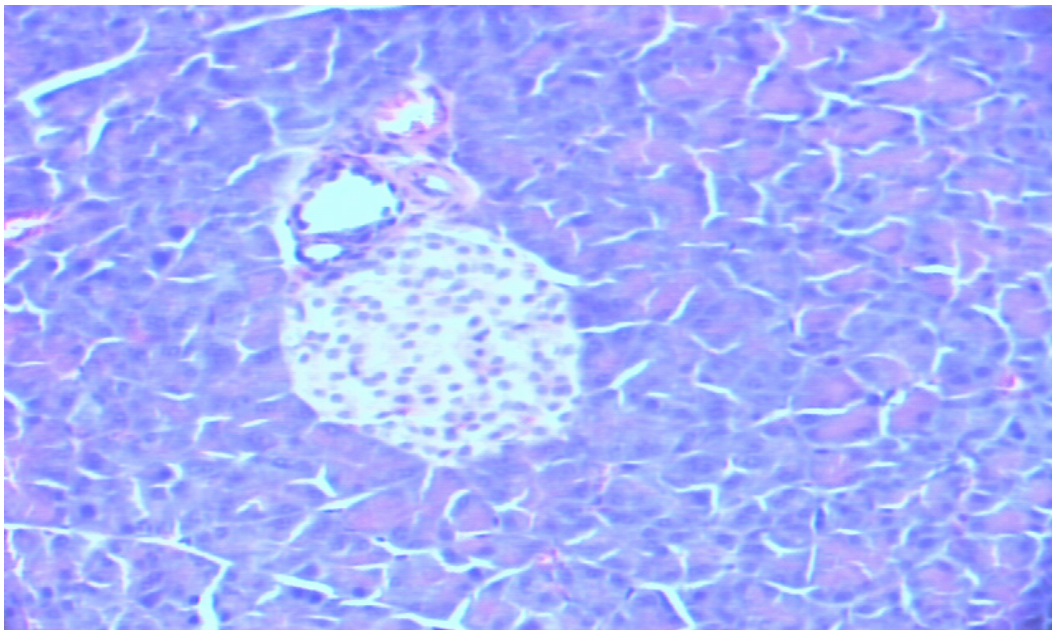


Figura 16. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 1.º dia: sem alteração tecidual das células acinares pancreáticas causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).

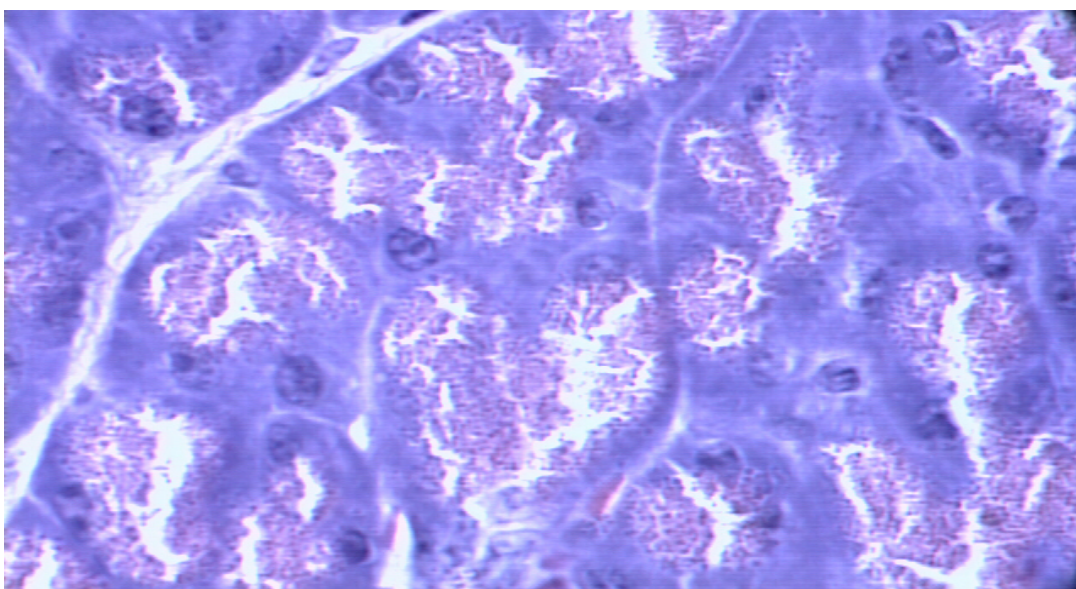


Figura 17. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado 6º dia: ácidos desorganizados, os contornos celulares praticamente não são visíveis irregulares citoplasma exibindo vacuolizações causadas pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000X).

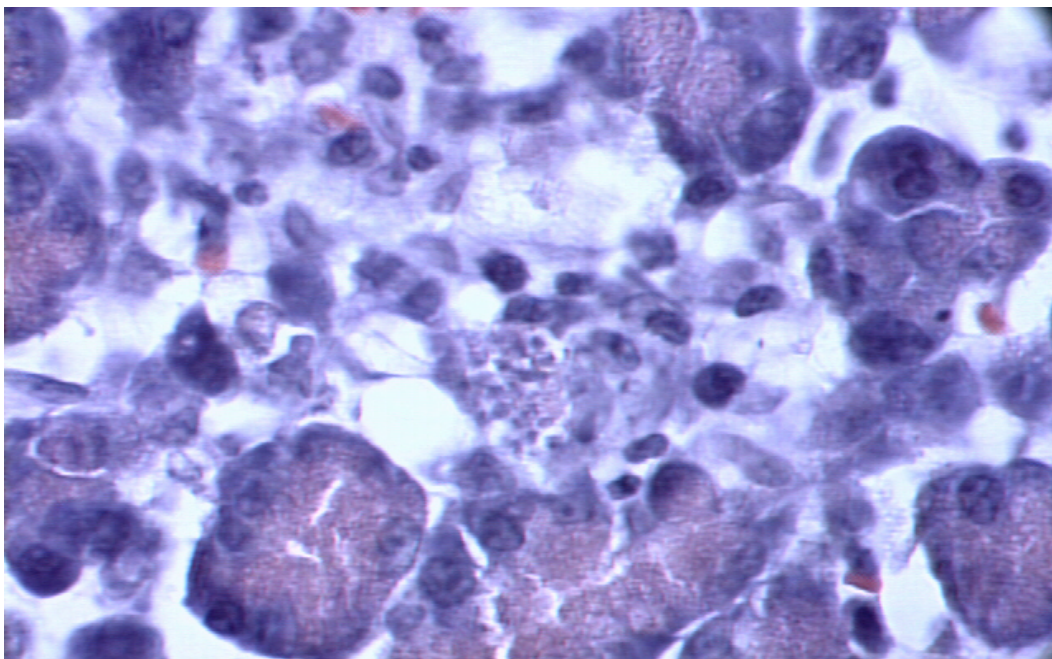


Figura 18. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 9º dia: ácidos desorganizados com presença de linfócitos com presença de ninho de amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina -1000X).

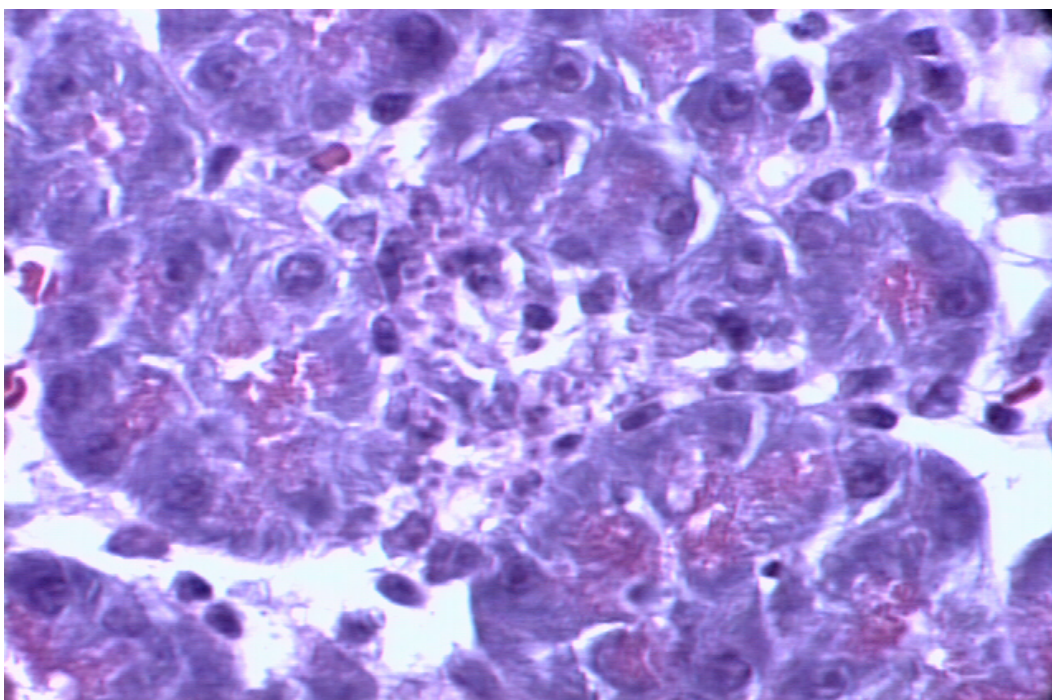


Figura 19. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 12.º dia: desorganização celular intensa causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).

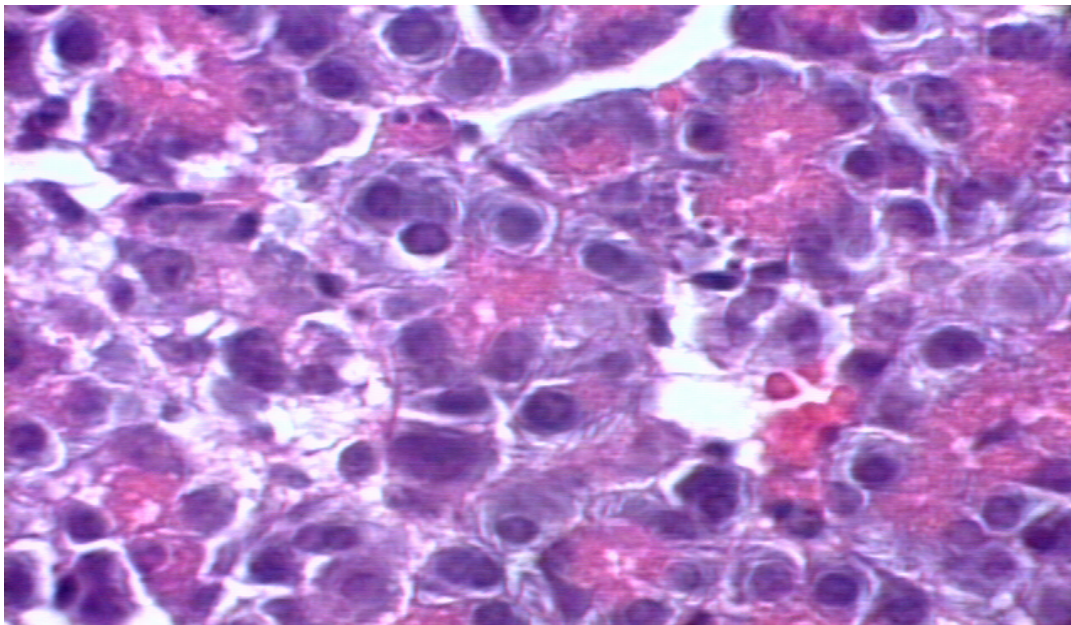


Figura 20. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14º dia: citoarquitetura dos ácinos estão alterados com presença de formas amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina-1000X).

3.5.8. Morfometria dos Ácinos

A Tabela 4 demonstra as alterações acinares dos animais fêmeas infectados pela cepa RAL de *T. cruzi*, de acordo com a evolução experimental.

Tabela 4. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais fêmeas do grupo infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	FÊMEA INFECTADA			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	61	60	64*	64*	62.10**
Perímetro(μm)	13.22	15.33	15.53	15.43	15.45
Excentricidade	0.62	0.62	0.64	0.64	0.63
Índice de contorno	3.59	3.60	3.60	3.60	3.60
Área Nuclear(μm^2)	21.44	20.38	27.96*	27.96*	22.71**
Coefficiente de forma	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97

* significante $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

Os camundongos fêmeas infectadas pela cepa RAL apresentaram resultados atrofia nas células acinares, quando comparados toda a evolução da infecção, a mesma resposta da cepa RC no grupo fêmea observou-se uma atrofia acinar, podendo estar relacionado ao parasito e linhagem.

3.5.9. Fígado: Grupo Macho Infectado com a Cepa RC

Animais infectados machos pela cepa RC de *T. cruzi*, foram observadas as lâminas dos órgãos coletados dos do 1.º ao 14.º dia de infecção.

Em relação ao material coletado no início da infecção 1º. dia (figura 21) verificamos que, no fígado, a infecção chagásica não determinou alterações histopatológicas no 6.º dia (figura 22), o aparecimento de infiltrado celular, foi caracterizado principalmente pela presença de linfócito celular nos sinusóides e nos lóbulos hepáticos foi no 9.º dia (figura 23), já no 12.º dia (figura 24) observou-se a mesma alteração, o 14.º dia (figura 25) a infecção que além dos achados anteriores, acentuam-se as necroses desorganização celular.

Não houve o aparecimento de ninhos de amastigota durante as análises histológicas, mesmo assim observou-se as degenerações celulares, infiltrados granulomatosos e necroses podem ser observados no material coletados do 9.º dia ao 14.º dia.

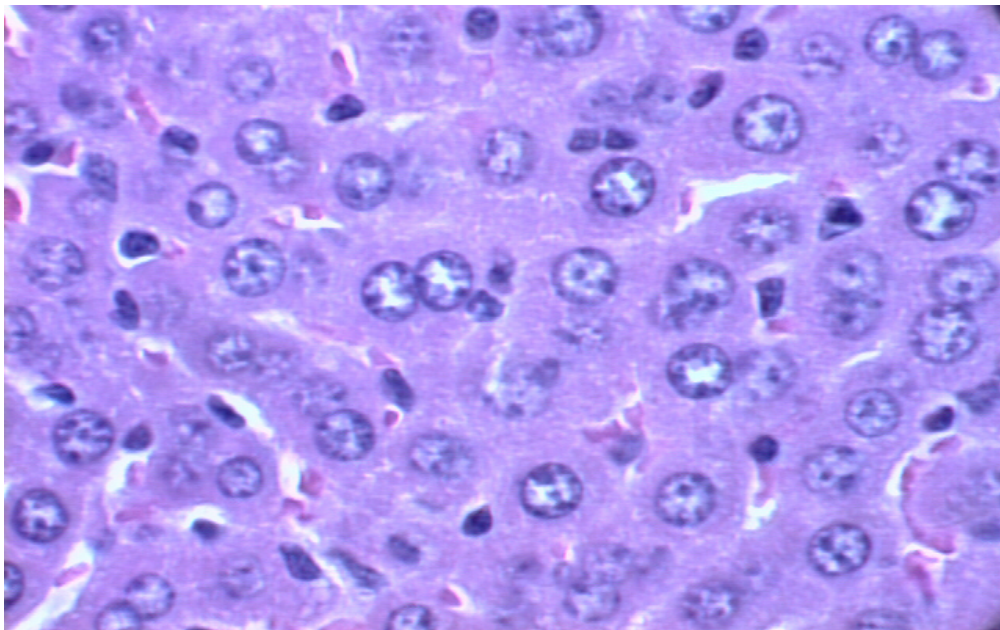


Figura 21. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 1.º dia: sem alterações patológicas. (hematoxilina-eosina – 1000 X).

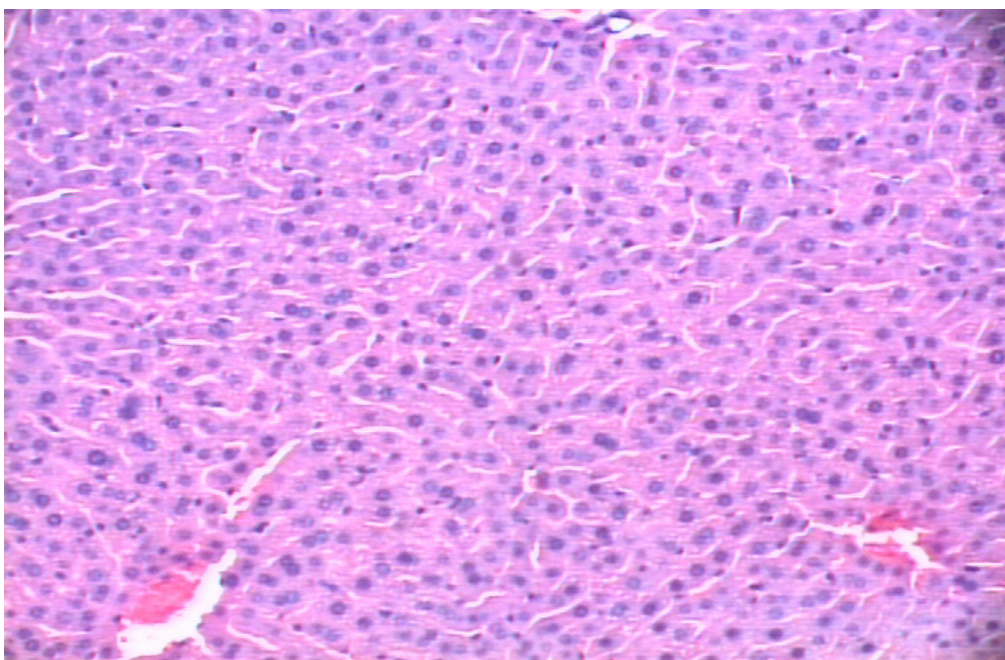


Figura 22. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 6.º dia: após seis dias de infecção não houve aparecimento de formas amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).

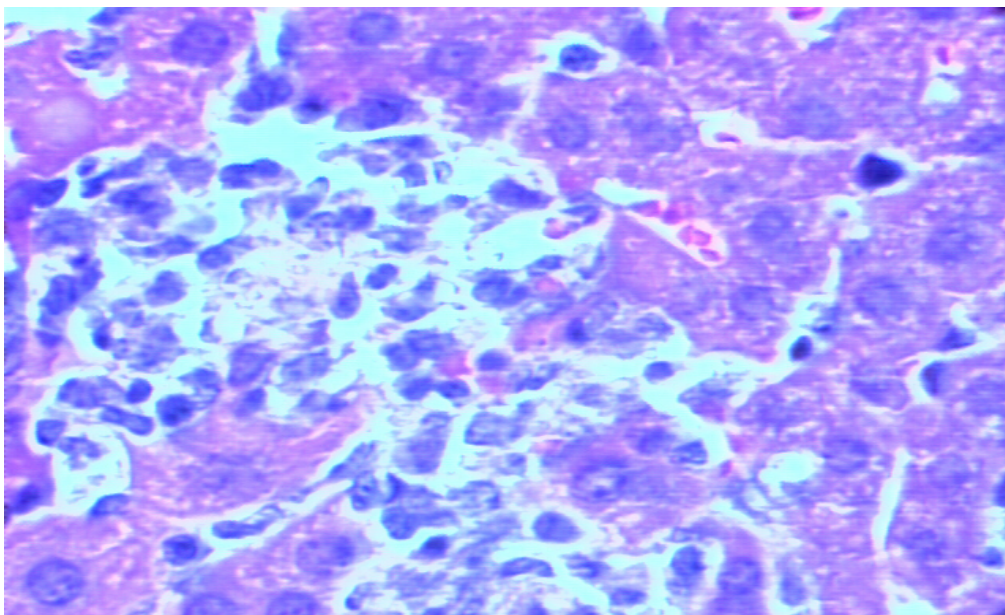


Figura 23. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 9.º dia: reação inflamatória com necrose tecidual, conseqüentemente uma alteração arquitetônica das células causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).

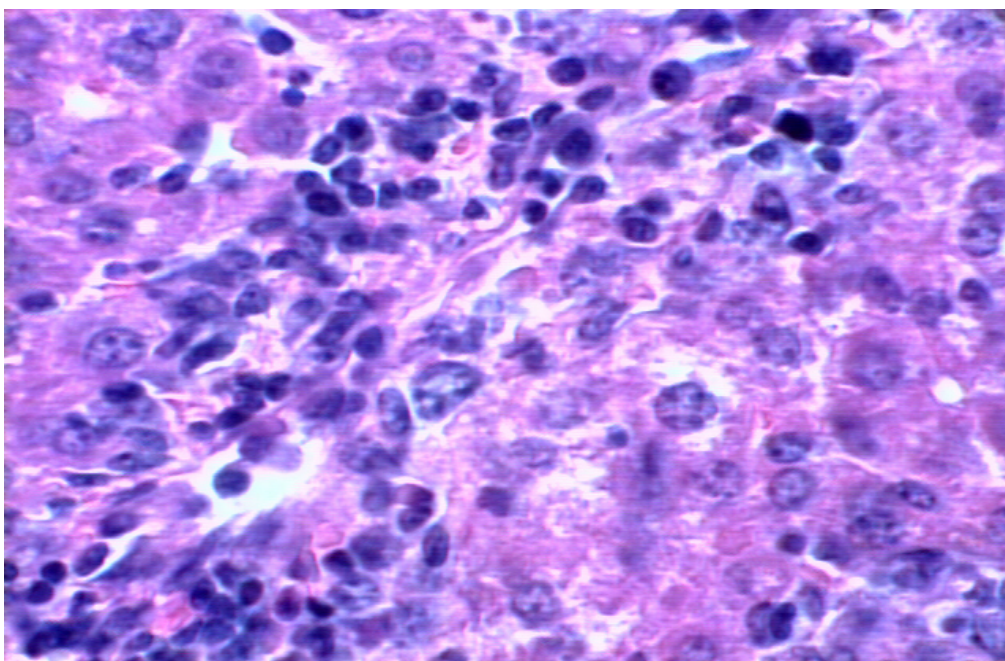


Figura 24. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 12.º dia: reação inflamatória intensa causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 450 X).

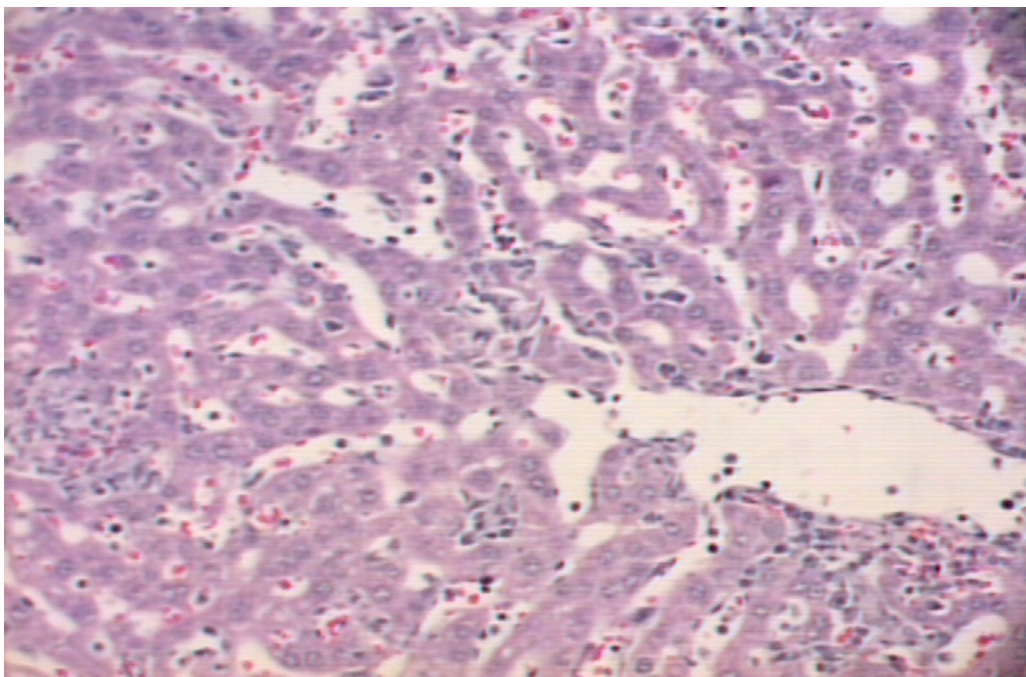


Figura 25. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 14.º dia: necrose tecidual e migração linfática intensa causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).

3.5.10. Morfometria dos Hepatócitos

A Tabela 5 demonstra as alterações dos hepatócitos, dos animais machos infectados pela cepa RC de *T. cruzi*, de acordo com a evolução experimental.

Tabela 5. Comparação dos parâmetros nucleares hepáticos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RC de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	MACHO INFECTADO			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	141	155	159**	172*	182*
Perímetro(μm)	21	20.85	21.05	22.35	21.14
Excentricidade	0.65	0.60	0.61	0.62	0.63
Índice de contorno	3.62	3.58	3.57	3.59	3.60
Área Nuclear(μm^2)	34.92	35.48	36.16**	39.54*	41.16*
Coeficiente de forma	0.96	0.98	0.97	0.97	0.97

* significante $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

Os camundongos machos infectados pela cepa RC foram avaliados a morfometria, e desta forma pode-se observar que o agente patológico revelou que durante o período de infecção, houve hipertrofia celular morfométrica.

3.5.11. Pâncreas: Grupo Macho Infectado com a Cepa RC

As análises histopatológicas mais importantes da pancreatite aguda na doença de Chagas experimental foram examinadas através de: pseudocistos intensamente parasitados, íntegros ou rompidos, parasitos no espaço extracelular, necrose de células acinares e ductais, além de focos de esteatonecrose.

Na análise pela coloração de hematoxilina-eosina observou-se a porção exócrina da glândula pancreática do grupo infectado macho pela cepa RC de *T. cruzi*, durante o período correspondente ao 1.º até 14.º dia.

1.º dia (figura 26) ausência de alteração do tecido pancreático. A partir do 6.º dia (figura 27) nota-se desorganização das células acinares pancreáticas e infiltrado inflamatório. Para a cepa em avaliação notou-se que a infecção de camundongos no 9.º dia (figura 28) houve formação de um granuloma inflamatório entre as células acinares pancreáticas. No 12.º dia ocorre o aparecimento de formas amastigotas do parasito (figura 29). Já no 14.º dia (figura 30) o tecido pancreático apresenta alteração na arquitetura dos ácinos, com presença de granuloma e infiltrado.

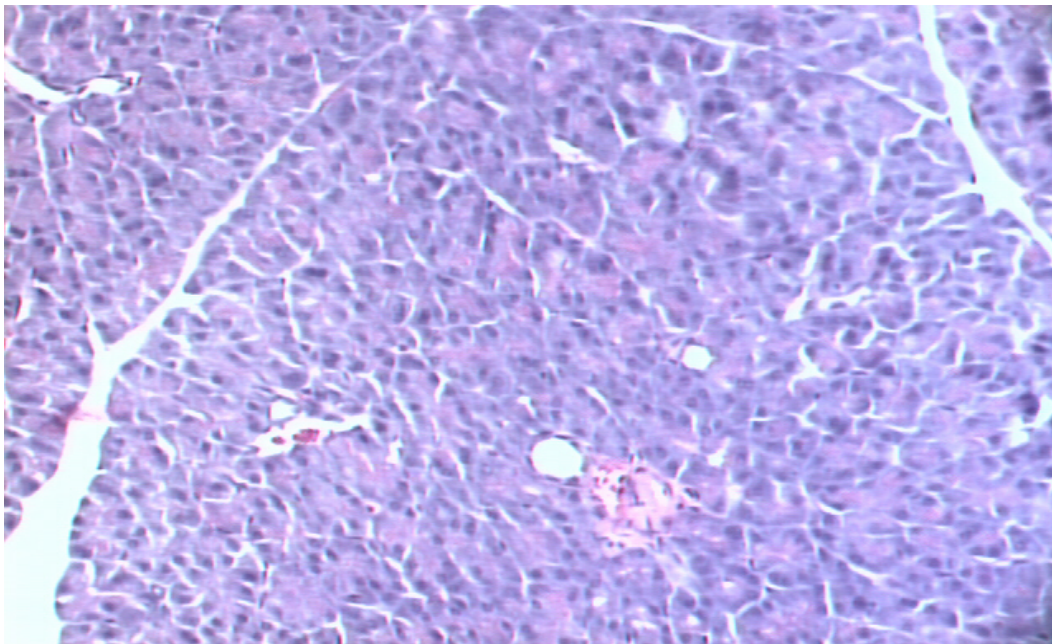


Figura 26. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 1.º dia: sem alteração tecidual (hematoxilina-eosina – 250 X).

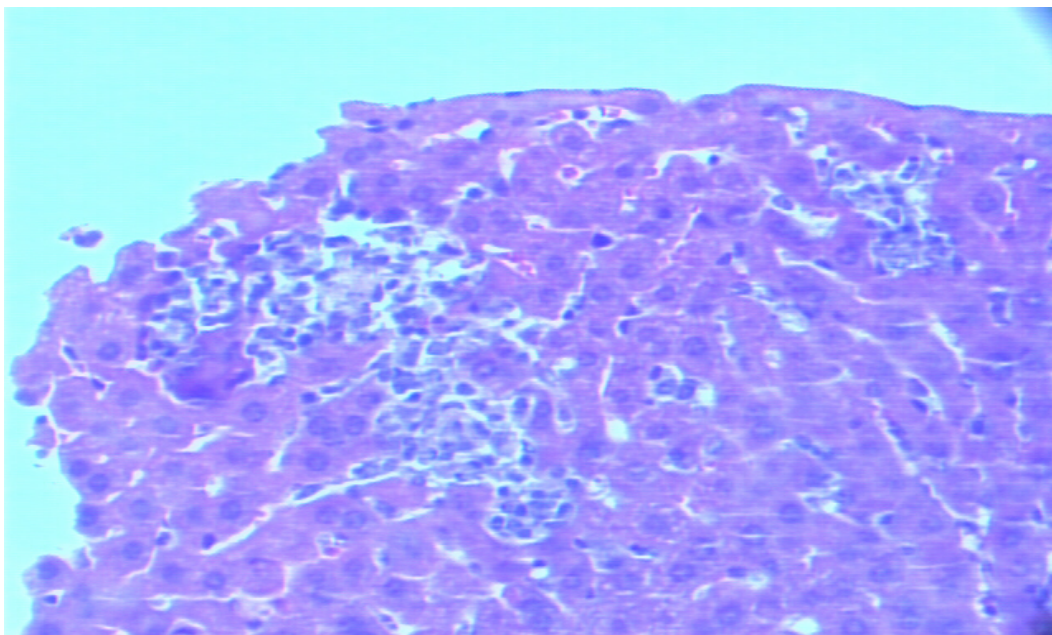


Figura 27. Aspecto histológico das células acinares de camundongos machos do grupo infectado do 6.º dia: na flecha ácinos desorganizados com infiltrado inflamatório causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-250X).

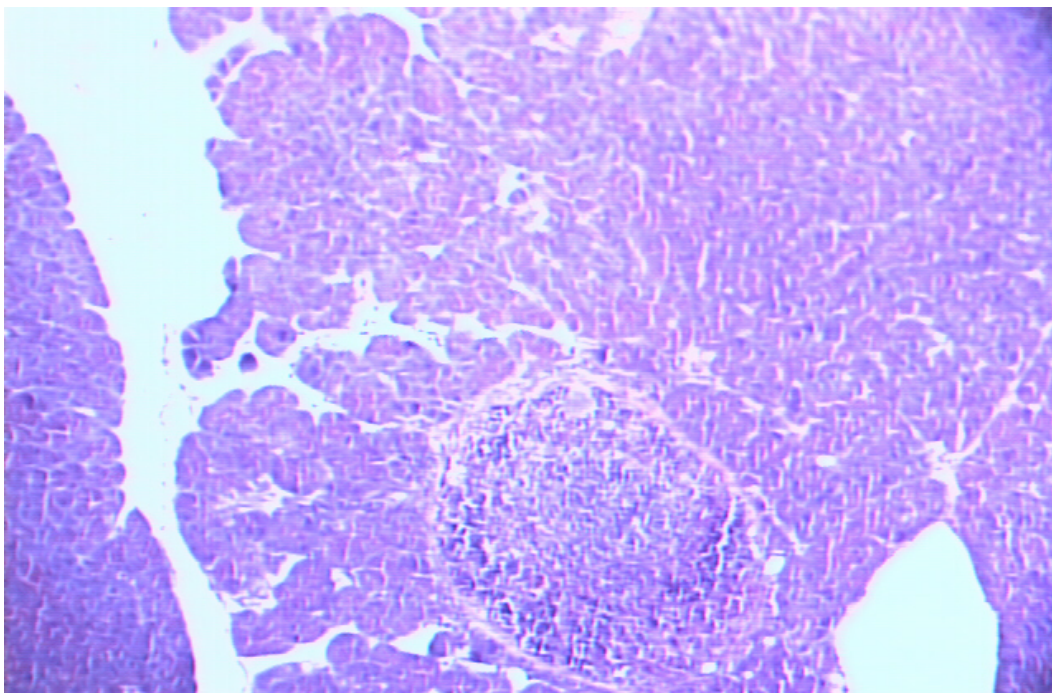


Figura 28. Aspecto histológico das células acinares de camundongos machos do grupo infectado do 9.º dia: granuloma é observado no interior dos ácinos causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-250X).

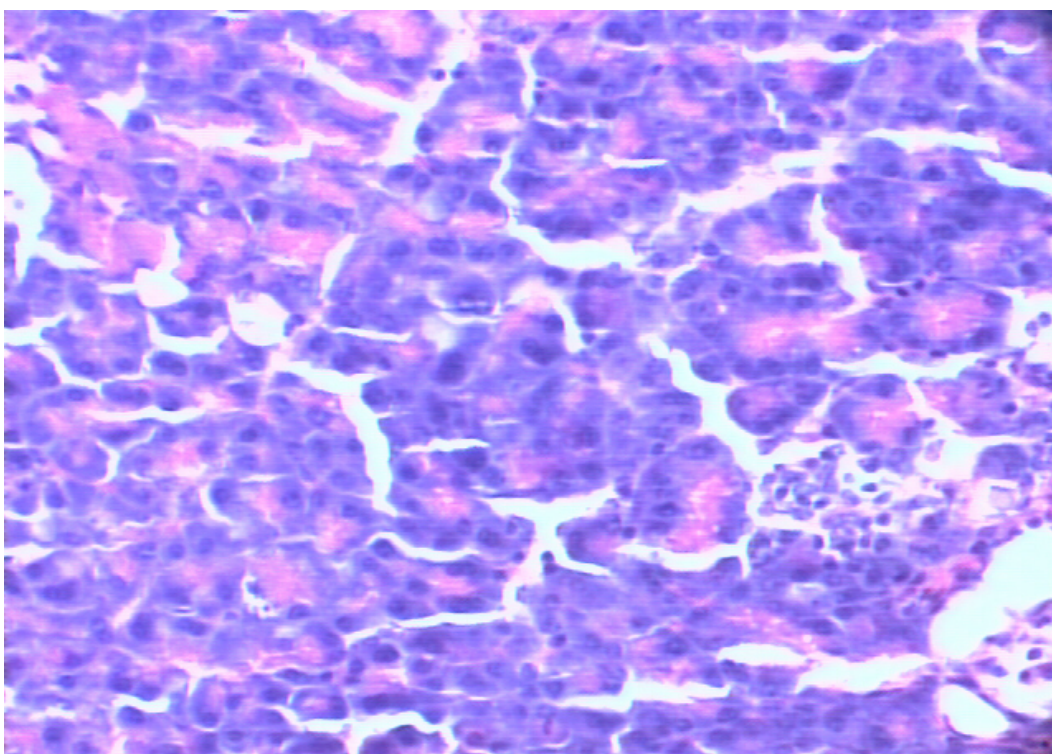


Figura 29. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 12.º dia: ácinos desorganizados com presença de ninho amastigota causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-1000X).

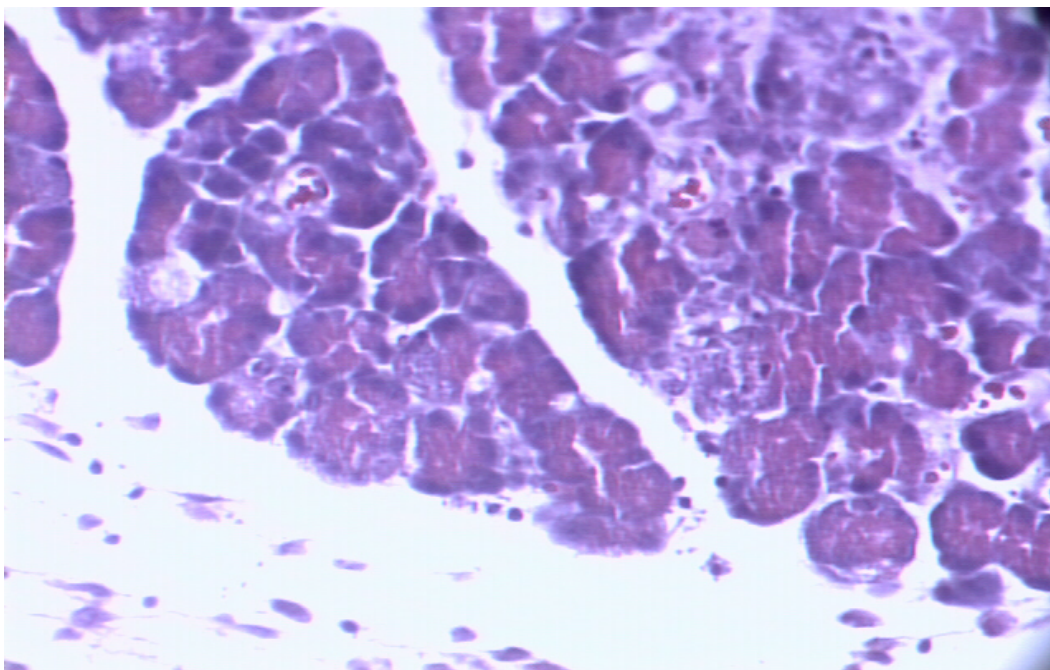


Figura 30. Aspecto histológico das células acinares de camundongos fêmeas do grupo infectado do 14.º dia: desorganização celular causado pela cepa RC (hematoxilina-eosina-1000X).

3.5.12 Morfometria dos Ácinos

A Tabela 6 demonstra as alterações acinares dos animais machos infectados pela cepa RAL de *T. cruzi*, de acordo com a evolução experimental.

Tabela 6. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RC de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	INFECTADO MACHO			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	85	67 **	63 **	61 **	54 *
Perímetro(μm)	17.26	15.81	15.43	15.43	14.75
Excentricidade	0.61	0.63	0.64	0.64	0.63
Índice de contorno	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60
Área Nuclear(μm^2)	23.25	19.64* *	17.59**	18.59**	17.08 *
Coefficiente de forma	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97

* significante $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

Os camundongos machos infectados pela cepa RC apresentaram resultados diferentes do ocorrido para as células hepáticas, pois houve uma atrofia constante, quando comparou-se toda a evolução da infecção desde o primeiro dia.

As mesmas análises foram realizadas para toda pesquisa realizada, e da semelhante forma comparou-se com o grupo fêmea infectado com a mesma cepa RC e notou-se não haver diferença, pois da mesma forma que do grupo macho infectado com a cepa RC o grupo fêmea foi notado a atrofia.

3.5.13. Fígado: Grupo Macho Infectado com a Cepa RAL

O grupo macho infectado pela cepa RAL de *T. cruzi*, foram analisados as lâminas o órgão coletado, nos dias 1.º ao 14.º.

No material coletado no início da infecção 1.º dia não houve alteração, o agente chagásico começa a determinar alterações histopatológicas a partir do 6.º dia (figura 31). A desorganização inicia-se no 9.º dia (figura 32). As invasões do infiltrado celular necrose celular e ninho de amastigota, pode ser notado na figura 33 do 12.º dia, é importante salientar que qualquer insulto significativo pode causar necrose nos hepatócitos e isso pode ser visto nessa figura, e com a presença do agente infeccioso o amastigota de *T. cruzi*. Na figura 34 pode-se perceber uma desorganização dos hepatócitos e aparecimento de um infiltrado inflamatório agudo 14.º dia.

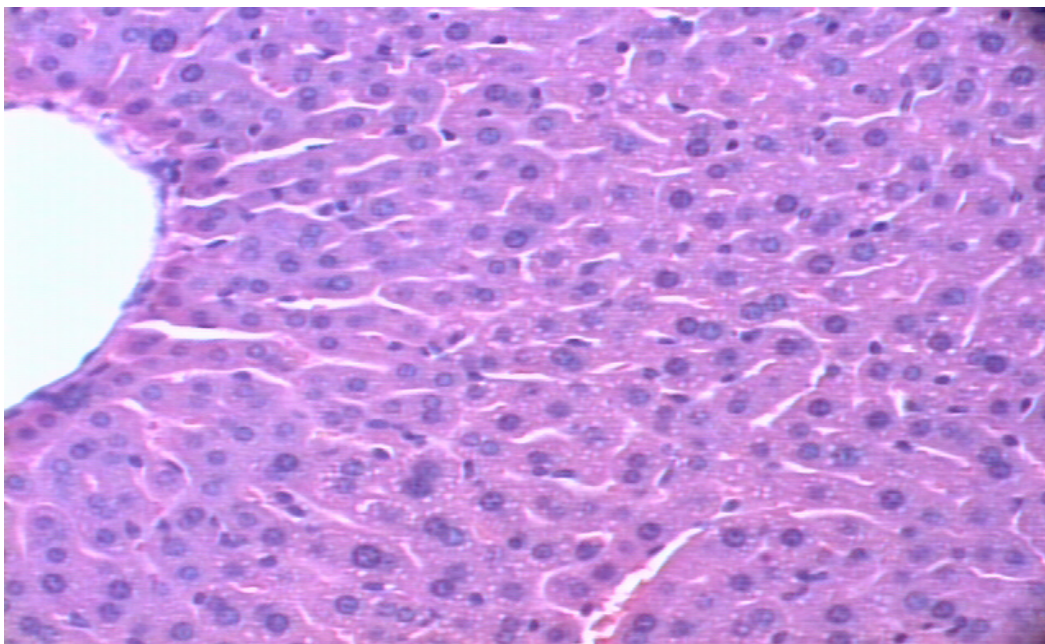


Figura 31. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 6.º dia: início das alterações histopatológicas. (hematoxilina-eosina – 250 X).

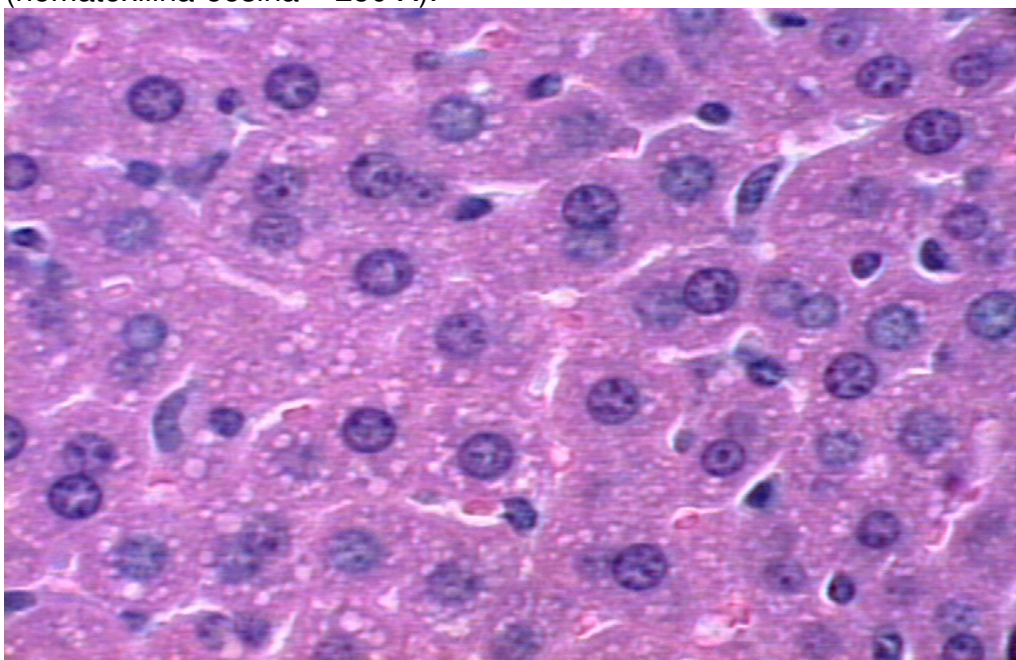


Figura 32. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 9.º dia: início das alterações histopatológicas desorganização dos parênquimas hepáticos causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).

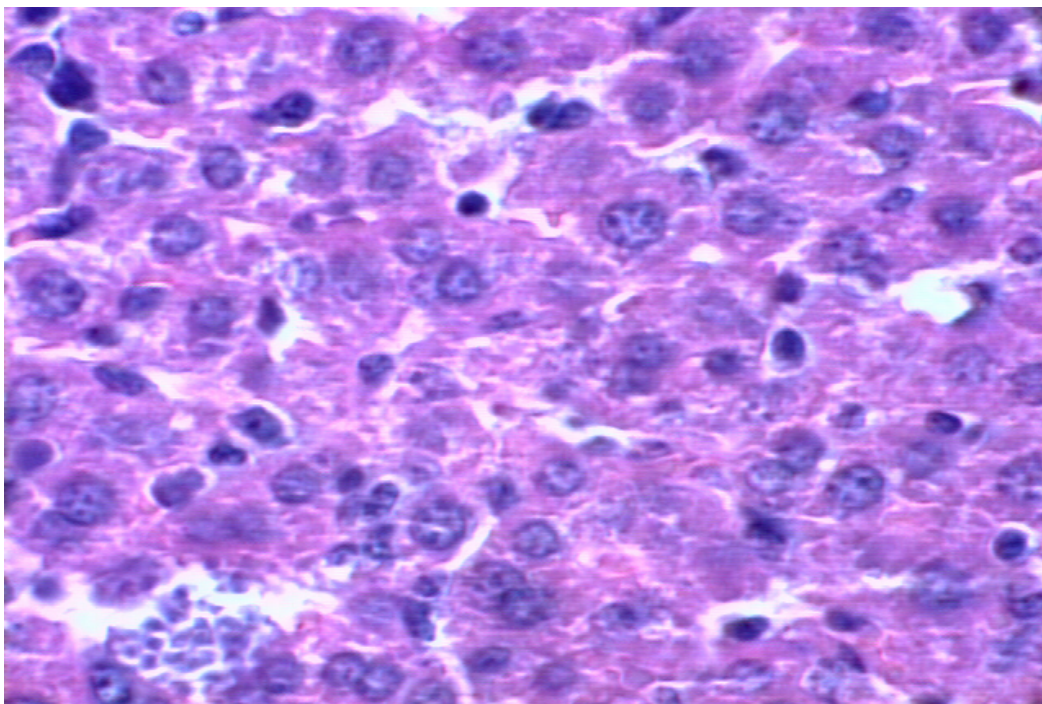


Figura 33. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 12.º dia: invasões do infiltrado celular necrose celular e ninho de amastigota causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).

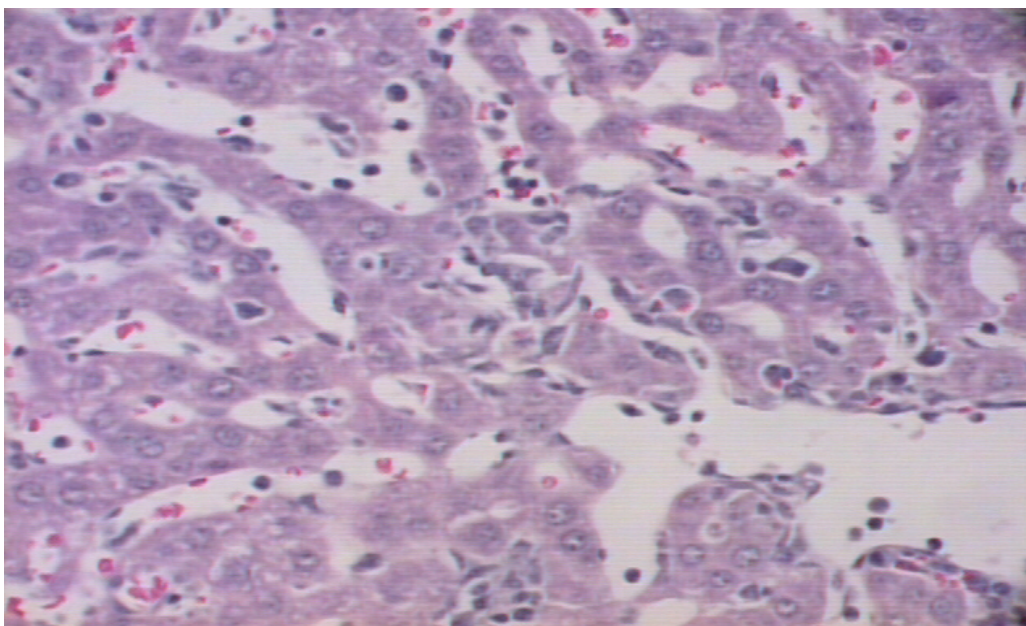


Figura 34. Aspecto histológico do fígado de camundongos machos do grupo infectado do 14.º dia: desorganização dos hepatócitos e aparecimento de um infiltrado inflamatório agudo causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 1000 X).

3.5.14. Morfometria dos Hepatócitos

A Tabela 7 demonstra as alterações dos hepatócitos, dos animais machos infectados pela cepa RAL de *T. cruzi*, de acordo com a evolução experimental.

Tabela 7. Comparação dos parâmetros nucleares hepáticos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	MACHO INFECTADO			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	141	147	158**	163*	175*
Perímetro(μm)	21	20.15	21.16	21.26	21.41
Excentricidade	0.65	0.60	0.62	0.62	0.62
Índice de contorno	3.62	3.58	3.57	3.59	3.60
Área Nuclear(μm^2)	34.92	35.49	37.26**	38.64*	39.28*
Coefficiente de forma	0.96	0.96	0.97	0.97	0.97

* significante $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

As análises histopatológicas nos camundongos machos infectados pela cepa RAL após avaliação morfométrica do tecido hepático revelou que durante o período de infecção, houve aumento no volume e área nuclear, haja vista no 6.º, 9.º e 14.º dia, quando observou-se hiperfetrofia. Isso pode estar relacionado com o agente infeccioso que causou inflamações teciduais e necrose celular. Com aparecimento leucócitos, demonstrando uma expansão no tecido parênquimal.

3.5.15. Pâncreas: Grupo Macho Infectado com a Cepa RAL

Durante a avaliação do pâncreas infectado pela cepa RAL houve uma pancreatite necrosante aguda, que pode ter afetado os tecidos acinares e ductais, bem como até as ilhotas de Langerhans.

Na análise pela coloração de hematoxilina-eosina observou-se a porção exócrina da glândula pancreática do grupo infectado macho pela cepa RAL de *T. cruzi*, durante o período de infecção do 1.º até 14.º dia.

No 1.º dia (figura 35) ausência de alteração do tecido pancreático. A partir do 6.º dia (figura 36) desorganização pancreática. Para o grupo macho infectado notou-se que a infecção de camundongos no 9.º dia (figura 37) houve formação de um granuloma inflamatório. No 12.º dia ocorre desorganização celular intensa (figura 38). Já no 14.º dia (figura 39) o tecido pancreático apresenta alteração na arquitetura dos ácinos, com presença de granuloma e infiltrado.

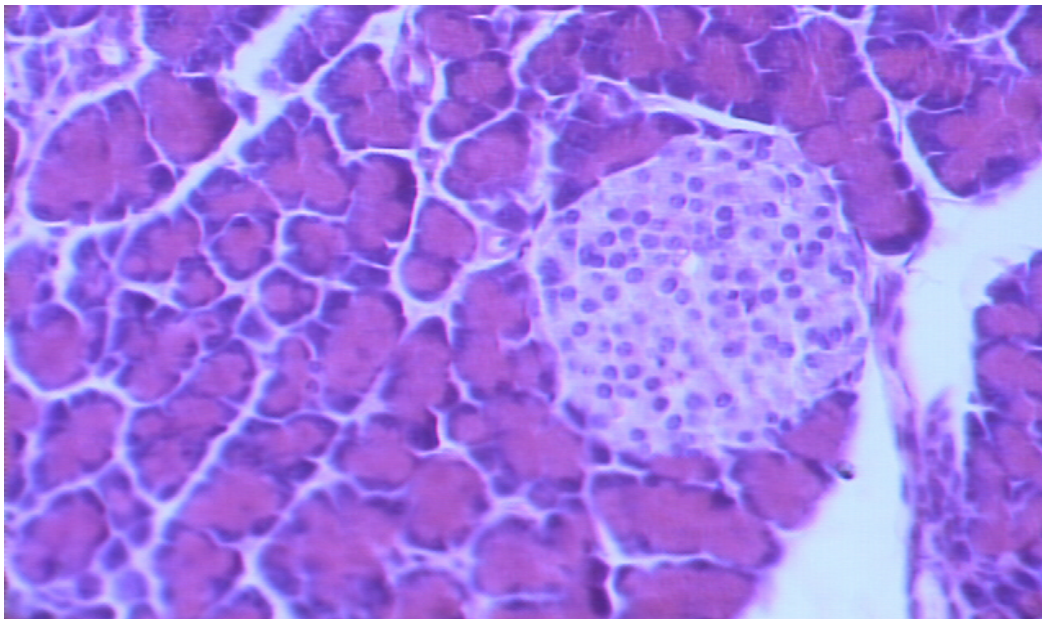


Figura 35. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 1.º dia: sem alteração tecidual (hematoxilina-eosina – 250 X).

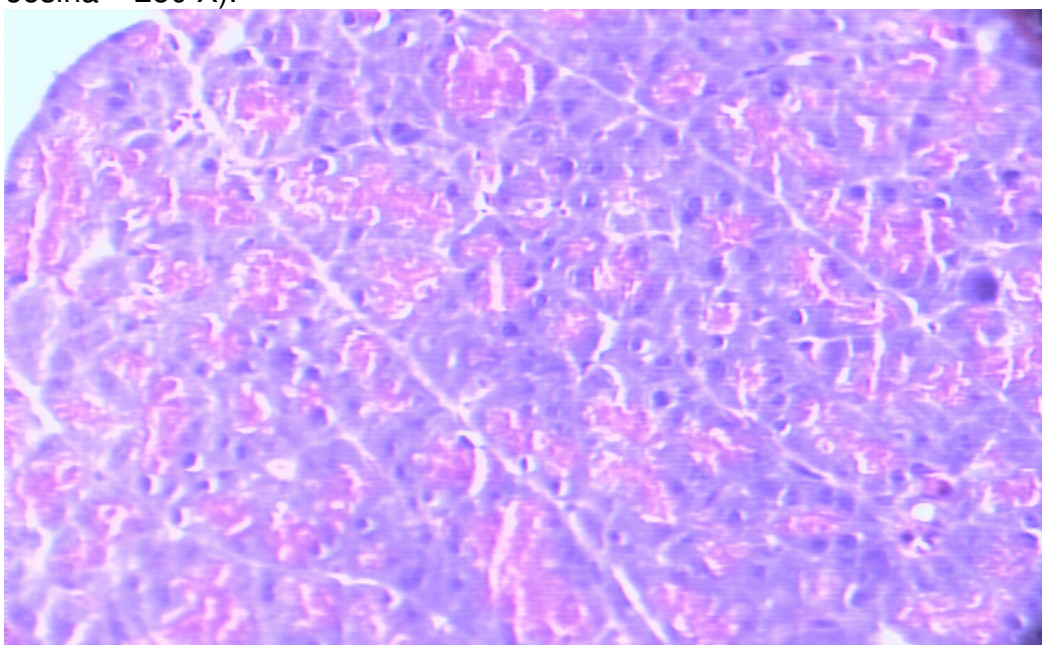


Figura 36. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 6.º dia: início da desorganização tecidual causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).

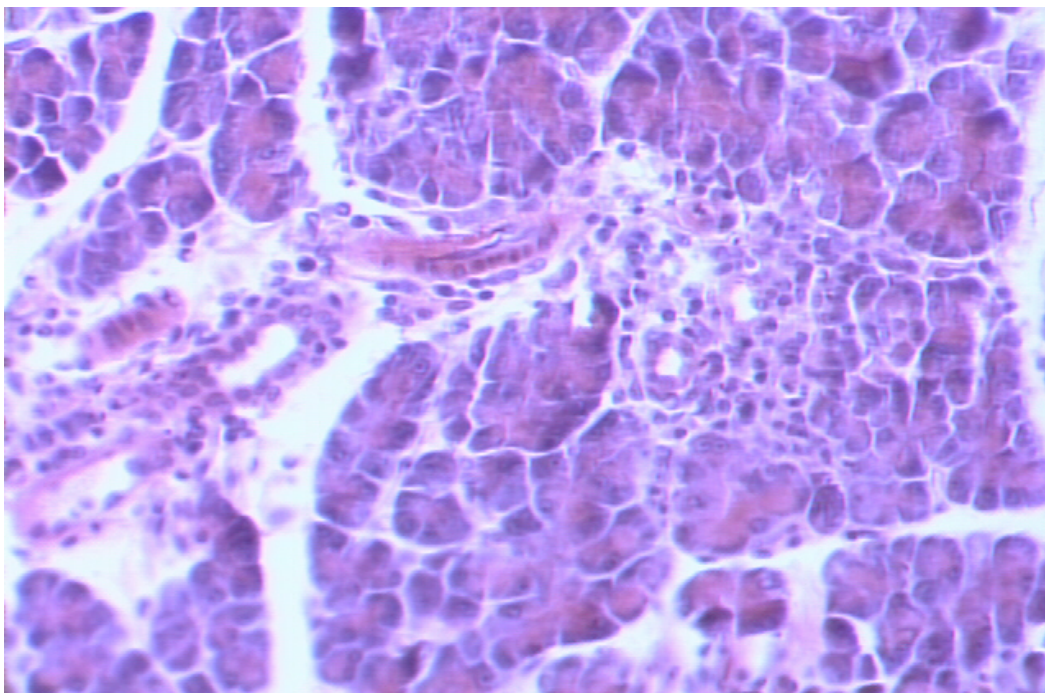


Figura 37. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 9.º dia: desorganização tecidual e infiltrado celular causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).

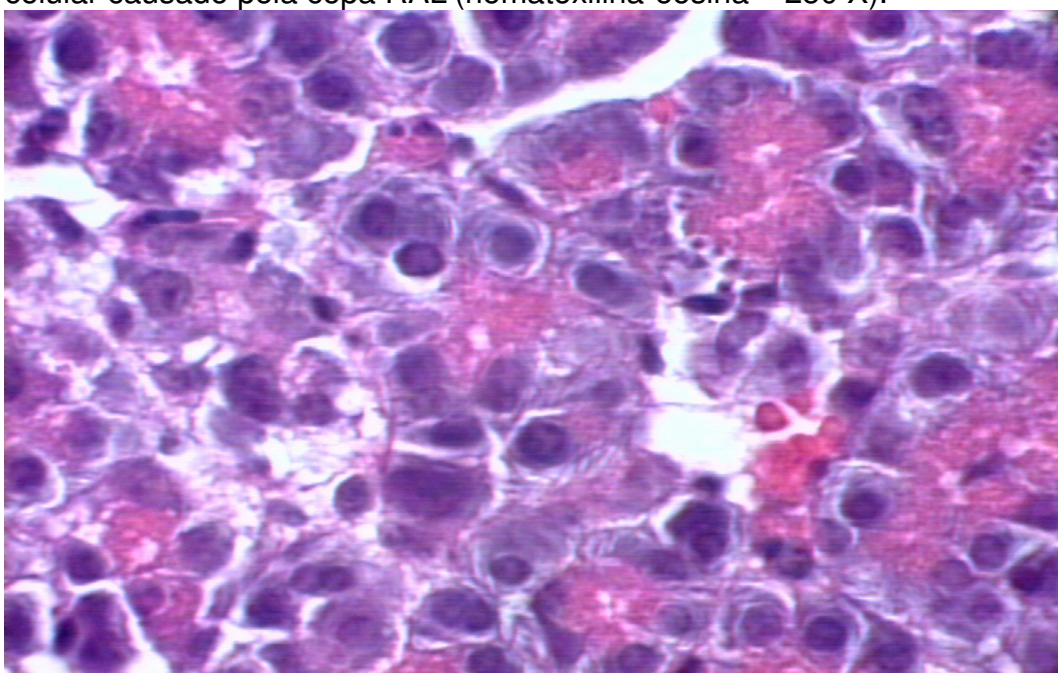


Figura 38. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 12.º dia: desorganização celular causada pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).

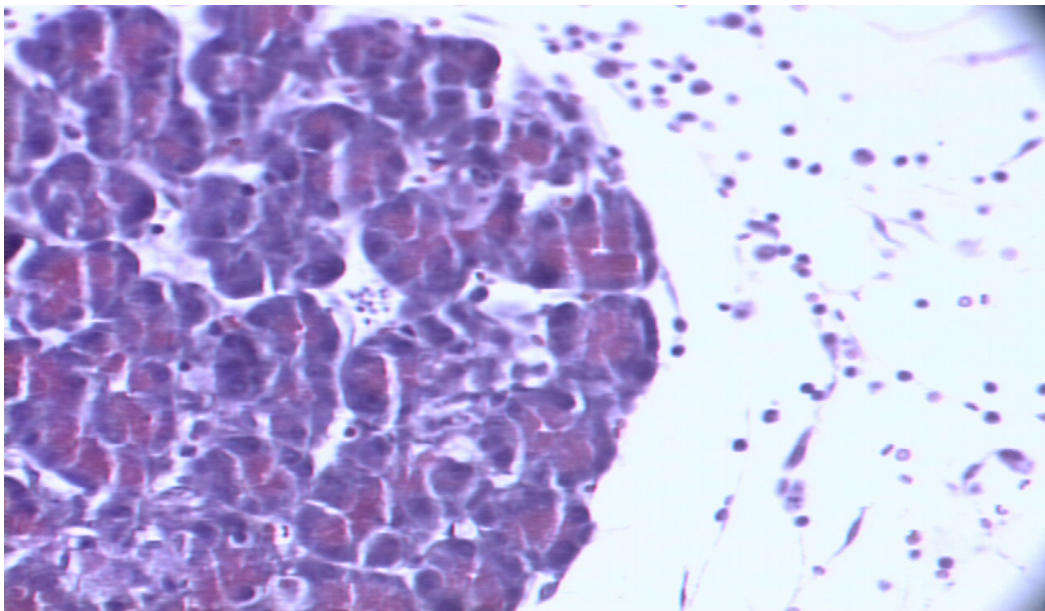


Figura 39. Aspecto histológico das células acinares de camundongos macho do grupo infectado do 14.º dia: reação inflamatória causado pela cepa RAL (hematoxilina-eosina – 250 X).

3.5.16. Morfometria dos Ácinos

O Tabela 8 demonstra as alterações acinares dos animais machos infectados pela cepa RAL de *T. cruzi*, de acordo com a evolução experimental.

Tabela 8. Comparação dos parâmetros nucleares dos ácinos entre os animais machos do grupo infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

GRUPO	CONTROLE	MACHO INFECTADO			
PARÂMETROS	Média	6.ºDia	9.ºDia	12.ºDia	14.ºDia
Volume Nuclear(μm^3)	85	67 **	63 **	61 **	54 *
Perímetro(μm)	17.26	15.81	15.43	15.43	14.75
Excentricidade	0.61	0.63	0.64	0.64	0.63
Índice de contorno	3.60	3.60	3.60	3.60	3.60
Área Nuclear(μm^2)	23.25	19.64**	17.59**	18.59**	17.08 *
Coefficiente de forma	0.97	0.97	0.97	0.97	0.97

* significante $p < 0.01$

**significante $p < 0.05$

A análise dos pâncreas infectados pela cepa RAL, foi avaliado a histopatologicamente e morfometria, e dessa forma pode-se observar que o agente patológico revelou alterações no período de infecção, houve diminuição ácinos, infiltrados celulares e vacúolos citoplasmático, ao observar-se os dias 6.º, 9.º, 12 e 14.º dia, nota-se atrofia, essa análise é realizada pelo volume e área nuclear, dessa forma, notou-se que a distribuição lobular das porções do pâncreas está gravemente lesado com desorganização celular, isso demonstra que as alterações histológicas, causadas pelo agente infeccioso podem causar alterações que resultem em uma alteração homeostática do organismo.

4. DISCUSSÃO

4.1 Parasitemia

A doença de Chagas tem se caracterizado por um grande número de estudos com diferentes modelos experimentais, por ser uma doença grave e de grande importância epidemiológica. O *Trypanosoma cruzi* possui características biológicas e genéticas, conforme a cepa, conforme já havia Chagas em 1909 relatado a presença de tripomastigotas sangüícolas com diferentes morfologias. Essas alterações morfológicas fazem parte de alterações parasitêmicas e histopatológicas envolvidos com a interação parasito e hospedeiro. Estudos realizados com diversas cepas de *T. cruzi*, mostraram que algumas populações que predominaram durante o decorrer da infecção experimental geralmente são as formas delgadas sendo que gradualmente podem ser substituídas por outras formas largas. Essas diferenças de

formas durante a infecção podem estar relacionadas com o comportamento do parasito nas modificações fisiológicas e orgânicas que ocorrem no hospedeiro vertebrado (BRENER, 1965; BRENER & CHIARI, 1963).

Acredita-se que formas tripomatigotas sangüíneas delgadas desaparecem rapidamente da circulação para cumprirem seu ciclo celular no interior do macrófago, ao passo que as formas largas continuam circulando por alguns dias sem serem fagocitadas (BRENER, 1969).

Em relação ao ciclo de evolução do parasito sabe-se que os macrófagos são freqüentemente parasitados por *T. cruzi*. Dessa forma, a parasitemia no sangue é um parâmetro imprescindível para o estudo da doença de Chagas, pois permite ao pesquisador avaliar a fase da doença, isto é, aguda, intermediária ou crônica, ou utilizar para estabelecer as diferenças de cepas de *T. cruzi* de acordo com a morfologia deste, podendo ser caracterizado como forma fina, intermediária ou larga (SOGAYAR *et al.*, 1993).

O exame realizado para observação do perfil parasitêmico é o exame direto, e a diminuição da parasitemia está relacionada a um aparente equilíbrio entre o parasito e o hospedeiro durante a fase crônica (OKUMURA *et al.*, 1990). Diferentes animais são utilizados como modelos experimentais, sendo os mais utilizados: camundongos (CHAGAS, 1909), ratos (CULBERTSON *et al.*, 1938), cães (PIFANO *et al.*, 1962), macacos (MARSDEN *et al.*, 1970) e coelho (TEXEIRA *et al.* 1978).

É importante ressaltar que a infecção chagásica é caracterizada por diversos fatores peculiares tanto ao hospedeiro quanto ao parasito *T. cruzi*. No hospedeiro vertebrado o curso da doença pode estar relacionada à temperatura ambiente, idade, sexo, constituição genética e nutricional do hospedeiro. Enquanto o

parasito pode estar caracterizado pelos fatores genéticos e morfologia da cepa infectante (BRENER, 1962).

Estudos de resistências demonstram que a suscetibilidade maior na infecção aguda por *T. cruzi* são machos quando comparados com as fêmeas de camundongos da linhagem CF-1 (CHAPMAN *et al.*, 1975). Prado Jr. *et al.*(1999), também relatam que em *Calomys callosus* as fêmeas infectadas com diferentes cepas de *T. cruzi* mostraram parasitemia menor que as dos grupos machos, demonstrando novamente a resistências das fêmeas.

O resultado do trabalho atual, demonstrou que os grupos das fêmeas infectadas são mais resistentes que os machos infectados nas duas cepas RAL e RC de *T. cruzi* (Figura 1 e Figura 2), observa-se que a parasitemia foi mais semelhante para os grupos infectados machos que as fêmeas, o que permitiu um estudo semelhante de outras pesquisas já mencionadas, que relatam a relação do parasitismo e o dimorfismo sexual.

4.2. Peso

A nutrição de um indivíduo pode estar relacionada com a imunologia e fisiologia, a doença causa no indivíduo distúrbios que levam a alterações, e um desequilíbrio orgânico leva muitas vezes a uma grave patologia.

São de grande importância pesquisas propostas sobre o estado nutricional de um paciente durante uma enfermidade, visto que pode contribuir para a análise de manifestações clínicas. É sempre importante relatar a relação da doença de Chagas

sobre a imunologia, fisiologia e patologia, pois dessa forma se demonstra a importância dos estudos do comportamento do *T. cruzi* no hospedeiro vertebrado.

E foi dessa maneira, que este trabalho realizou experimentos com as duas cepas de *T. cruzi*, a cepa RAL e RC (Figura 3 e 4), com fator de perda de massa corporal, que pode ter sido influenciado pela patologia da doença.

O presente experimento demonstrou perda de peso nos grupos infectados tanto da cepa RAL como da RC, mas os resultados não foram similares, em razão de que houve uma queda maior na massa corporal nos animais infectados com a cepa RAL do que com a cepa RC.

Chagas (1909) relata que a parasitemia influenciada pela virulência do agente infeccioso, está diretamente ligada à patogenia que o indivíduo pode vir a apresentar. AMATO-NETO (1958) relata a fase aguda da doença de Chagas pode se manifestar a partir de vários sintomas, um deles é a anorexia que leva a uma alteração homeostática.

O comprometimento nutricional está relacionado com a subnutrição que ele sofre no decorrer da doença (CARRICO *et al.*, 1986) que pode ser devido ao aumento do gasto energético, lipólise e proteólise (DEITH, 1993)

Pesquisas têm relacionado altura e índice de massa corporal (IMC) e demonstram que ocorre um menor peso em relação a altura dos doentes chagásicos em reação a fase aguda do que aqueles que não demonstram reação (CUNHA *et al.*, 1994). Ao comparar cepas diferentes existe uma perda maior peso de uma determinada cepa que da outra, mesmo sendo da mesma linhagem genética.

4.3. Glicemia

O metabolismo de carboidratos é de extrema importância para o organismo, pois tal processo irá produzir adenosina tri-fosfato (ATP), essa molécula é necessária para todas as células do organismo para que realizem suas funções normais no que se diz respeito à regulação orgânica.

Cazzulo (1978) diz que em um experimento com meio de cultura de *T. cruzi*, o parasito é capaz de degradar a glicose. A deterioração de hidratos de carbono em pesquisa de doenças de Chagas já foi descrita por Reisl *et al.* (1960) e muitos autores vêm confirmando tal atuação do parasito.

A hipoglicemia causada pelo aumento de insulina na fase crônica na doença de Chagas foi descrita por Vieira *et al.* (1967). Acredita-se que a desnervação do plexo neural do estomago diminua a produção gástrica e influencia na absorção de nutrientes para a produção de glicose (TRONCON *et al.*, 1985).

Albuquerque *et al.* (1991) relataram que ratos infectados pela cepa Y de *T. cruzi* aumentaram os níveis glicêmicos. Achados realizados em estudo com pâncreas infectados por *T. cruzi* em necropsia sem diferenciar cor, raça e idade utilizando apenas grupo de exclusão alcoólicos e indivíduos com diabetes mellitus, que pacientes chagásicos em fase crônica apresentaram uma despopulação neural significativa, apresentando lesões pancreáticas com alterações nos gânglios intrapancreáticos (ROCHA *et al.*, 1998).

Santos *et al.* (1998), avaliaram a glicemia de mulheres chagásicas e não chagásicas, ao compararem observaram que as chagásicas apresentavam uma hiperglicemia, mas não analisaram a cepa que as infectavam. Contudo é importante

salientar que recentes estudos vêm demonstrando hipoglicemia em animais experimentais com Tripanosomatídeos. Camundongos infectados com *T.evansi* apresentaram um quadro de hipoglicemia, como também cabras infectadas por *T.congolense* apresentaram glicemia baixa. Entretanto, desses estudos demonstrou a histopatologia do pâncreas ou de qualquer outro órgão (STRAUSS *et al.*, 2002; MENEZES *et al.*, 2004).

Com todos os fatos apresentados, pode-se acreditar que a hipoglicemia pode ser causada pelo consumo de glicose que o parasito absorve durante sua infecção. As Figuras 5 e 6, apresentaram uma hipoglicemia tanto para a cepa RAL como RC, de ambos grupos fêmeas e machos, contudo a cepa RC apresentou uma hipoglicemia menos acentuada que a cepa RAL, isso pode estar relacionado com a virulência e a quantidade de parasito sanguíneos presente nos camundongos Balb/c.

4.4. Análise Bioquímica: Fosfatase Alcalina, Albumina, Proteínas Totais, Uréia, Creatinina, Aspartato Transaminase (AST), Colesterol e Triglicérides

A distribuição dos nutrientes aos órgãos e a importância no metabolismo é fundamental, e o fígado é um órgão que desempenha um papel central. Para que os hepatócitos desempenhem funções quer sejam na produção ou metabolização de substratos, e ainda divisões celulares dependem essencialmente do equilíbrio metabólico do órgão em questão (YANG, *et al.*, 1994).

Durante a digestão nos vertebrados os nutrientes sofrem hidrólise, e essa quebra é necessária para que o intestino seja capaz de absorver as moléculas e assim iniciar a distribuição orgânica. Os hepatócitos do fígado captam através do sangue

essas moléculas hidrolisadas e inicia atividades metabólicas (YANG *et al.*, 1994). Por isso, qualquer injúria a órgãos importantes como o intestino, fígado, pâncreas, coração e outros, causando patologias graves, podem desequilibrar a via metabólica, dessa maneira o processo não é realizado prejudicando integração e regulação orgânica.

4.4.1. Fosfatase Alcalina

Enzima presente em todos os tecidos do organismo, principalmente em membranas das células dos túbulos renais, ossos (osteoblastos), trato intestinal e fígado, presente no soro. Ainda não é bem definida a função da fosfatase alcalina, podendo estar envolvida no transporte de lipídios do intestino, além de processos de calcificação óssea (KULKARNI *et al.*, 1983).

Na clínica é utilizada a dosagem de fosfatase alcalina (ALP) para avaliar doenças hepáticas e biliares, como ósseas. O aumento pode estar relacionado com carcinoma de cabeça de pâncreas, lesões hepáticas ativas e nas infiltrativas com níveis mais moderados de elevação e ainda com aparecimento de carcinomas hepáticos primários e secundários (KULKARNI *et al.*, 1983).

Contudo, níveis menores de ALP podem ter relação com o hipotireoidismo, a anemia e desnutrição. As Figuras 7, 8, 9 e 10 revela a relação da fosfatase alcalina em relação à infecção de *T. cruzi*, com as duas cepas e grupos machos e fêmeas. A Figura 7 pode-se notar que houve uma diminuição significativa de ALP no grupo fêmea no 12.^o dia para ambas as cepas RAL e RC, o mesmo ocorreu no grupo macho na Figura 8, mas o início da queda para o macho foi no 6.^o dia, e nas fêmeas no 9.^o, o que demonstra que a injúria no macho iniciou logo no começo da infecção.

A diminuição da ALP pode estar relacionada com a baixa absorção de nutrientes que os camundongos tenha realizado no período de infecção causado pela patologia do parasito. Podemos relacionar essa queda com a diminuição do peso corpóreo dos animais, já visto por Carrico *et al.* (1986), que relataram que pacientes chagásicos sofrem de um comprometimento nutricional, a subnutrição, que ele sofre no decorrer da doença e pode estar relacionado com um possível trauma que esteja sendo causado no fígado ou pâncreas. Mas nos resultados de ALP, a variação dos grupos demonstra a importância do dimorfismo sexual além da atuação diferente que cada cepa mesmo sendo da mesma linhagem pode causar no organismo.

4.4.2. Albumina

A albumina sérica é utilizada como marcador nutricional para prevalência de desnutrição, quer seja por uma infecção, ou patologias no fígado e rim. As propriedades fisiológicas da albumina foram descritas pela primeira vez por Ancell (1839-1840). Desde então, a complexidade da albumina vem sendo revelada, e mesmo com tantos estudos, ainda hoje não se sabe a resposta exata de seu papel (SANTOS *et al.*, 2004).

A albumina desempenha um papel de manutenção ácido-básico, conferindo uma função de tampão em situações de acidose metabólica, além de transportar moléculas lipossolúveis como ácido graxos de cadeia longa, hormônio como a tiroxina,

o cortisol e a aldosterona, e pequenos íons cálcio, cobre e zinco (SANTOS *et al.*, 2004).

A concentração de albumina é resultado de síntese e catabolismo, que são processos complexos e independentes. O fígado é o único órgão capaz de sintetizar a albumina sérica, é imprescindível salientar que a redução da ingestão alimentar reduz 50% de síntese hepática de albumina. Por isso a redução da síntese depende do tempo de oferta de proteínas, substratos de aminoácidos e outras moléculas. O catabolismo da albumina ocorre em muitos tecidos, especialmente os endoteliais, que lesam a albumina no processo de pinocitose, os aminoácidos liberados podem ser utilizados pelos tecidos periféricos (SANTOS *et al.*, 2004). A diminuição de albumina pode estar associada a acidose metabólica, ingesta de proteínas insuficientes e ainda a uma inflamação que pode estar sendo causada por um agente infectante.

Laranja *et al.* (1948) pesquisaram hipoalbuminemia em casos humanos agudos, Iversson *et al.* (1979) detectaram em um caso de Leishmaniose Visceral, e observaram uma diminuição mais ou menos acentuada da albumina.

O resultado da albumina do estudo em questão da cepa RAL e RC verificou-se nas figuras 11, 12 que houve uma hiperalbuminemia para as fêmeas pois poderá estar ocorrendo uma desidratação e hipoalbuminemia para os machos da cepa RAL e RC no 12.^o ao comparar com os grupos controles, pois poderá estar ocorrendo uma lesão acentuada no fígado, como já demonstrada nas figuras.

4.4.3. Proteínas Totais

As Figuras 15, 16, 17 e 18 representam avaliação realizada nos animais infectados pela cepa RAL e RC em relação às proteínas totais. Na Figura 15 pode-se ver diminuição de proteínas totais nas fêmeas para a cepa RC do 6.^o ao 12.^o dia, o mesmo ocorre na Figura 16 com os machos. Houve um aumento de proteínas totais nas fêmeas RAL do 14.^o dia, podendo estar havendo uma alta produção de anticorpos. As proteínas totais são uma análise realizada para avaliar o estado nutricional e também para acompanhar doenças renais, neoplasias, enfermidades hepáticas avançadas, casos de desidratação e diferentes processos patológicos (COCKAYNE & ANDERSON, 1993). A função das proteínas totais ou plasmáticas está relacionada com a imunidade humoral, coagulação sangüínea e tampão como a albumina (COCKAYNE & ANDERSON, 1993).

A hipoproteínemia desses animais pode estar relacionada no caso desses animais com a supressão de síntese de proteínas, à desnutrição, má absorção ou enfermidade hepática, que pode estar sendo causada pelo protozoário *T. cruzi* (COCKAYNE & ANDERSON, 1993). Em dois casos de fase aguda, foi constatado hipoproteínemia (FREITAS et al., 1953). Na fase da evolução crônica em estudo no grupo de 75 pacientes com esse problema, 39 deles (54%) eram chagásicos com megacólon, com comprometimento do estado geral, com queda da hemoglobina, diminuição das proteínas plasmáticas, aparecimento de edema, por causa da hipoproteínemia, anorexia, emagrecimento e febre (SANTOS, 1998).

4.4.4. Uréia

A uréia é proveniente do metabolismo de proteínas e aminoácidos realizados no interior do fígado, é disseminado através da maioria das membranas celulares, e a sua maior parte é excretada pela urina, sendo que pequenas quantidades podem ser excretadas pelo suor (LARA *et al.*, 1976). Os níveis séricos da uréia são alterados por diferentes formas de ação. O aumento dos níveis séricos pode estar relacionado com a insuficiência renal aguda (LARA *et al.*, 1976).

Estudos com dosagem de uréia vêm sendo realizados com o aumento da mesma, com camundongos infectados com *T. evansi* (MENEZES *et al.*, 2004). Outro estudo com infecção de *T. congolense* também houve um aumento da uréia (OSAER *et al.*, 2000). As concentrações séricas de uréia podem variar e dependem da ingestão de proteínas contidas nas dietas e do seu valor biológico (WOO & CANNON, 2000).

Quando analisados os grupos infectados com *T. cruzi*, de ambas as cepas RAL e RC, observou-se que a uréia está aumentada tanto nos grupos machos quanto nos grupo das fêmeas nas Figuras 19 e 20, pois houve uma degradação de proteína, uma hipermetabolização, e pode também ter ocorrido uma disfunção renal.

4.4.5. Creatinina

Creatinina são moléculas pequenas, são filtradas livremente pelos glomérulos, fornecendo uma avaliação fiel da taxa de filtração glomerular (LARA *et al.*, 1976).

A creatinina é escolhida para a avaliação da função renal. Além de avaliar a função renal, é útil para o acompanhamento da evolução da lesão renal e da

resposta a terapêuticas (LARA *et al.*, 1976). Estará diminuída a creatina sanguínea quando aproximadamente 50% dos néfrons estiverem lesados, indicando comprometimento da filtração glomerular (LARA *et al.*, 1976).

Neste estudo não foi realizada histopatologia do rim, mas a taxa de creatinina foi analisada por creatinina sérica, e observou-se um aumento na Figura 23 nas fêmeas pois poderá estar ocorrendo uma degradação renal, visto que o rim poderá não estar filtrando a creatina, e diminuída no grupo machos infectados (Figura 24), pode estar relacionado com o baixo peso muscular e caquexia, dessa forma pode-se concluir que os machos foram mais lesados que as fêmeas.

Diferentes estudos já realizados com Tripanosomatídeos, como o *T.congolense* e *T.evansi* mostraram que não houve alteração na creatina (OSAER *et al.*, 2000; MENEZES *et al.*, 2004).

4.4.6. Aspartato Transaminase (AST)

O aspartato aminotransferase (AST) é encontrada em diversos órgãos e tecidos, incluindo coração, fígado, músculo esquelético e eritrócitos. Está presente no citoplasma e nas mitocôndrias, sua elevação indica um comprometimento celular mais profundo no hepatócito, isso se revela por uma elevação por tempo mais prolongado no curso de uma provável infecção. Aumentos da AST no soro também são comumente encontrados no infarto agudo do miocárdio (STRYER, 2000).

As Figuras 27, 28, 29 e 30 demonstram que houve infecção no fígado, pois houve um aumento do AST, nos grupos machos infectados pela cepa RAL e RC, e do grupo fêmea apenas a RAL, o que demonstra que a cepa RAL apresenta-se mais

virulenta, ao observarmos as Figuras 27 e 28. Esse aumento foi analisado por Schossler (2004), que ao infectar coatis com *T.evansi*, os níveis de AST foram altos, mas com *T. cruzi* estudos associando a AST não foram encontrados, o que demonstra que nesse estudo a necrose hepática profunda, acometeu um aumento na AST.

4.4.7. Colesterol e Triglicerídes

O colesterol está presente em todas as células como um componente estrutural das membranas e das lipoproteínas (HDL, VLDL e principalmente, LDL). É também o precursor na formação dos hormônios esteróides pelas gônadas e córtex adrenal (ABBOTT, 1988).

Desempenham importantes funções fisiológicas, incluindo a síntese de ácidos biliares, vitamina D, hormônios esteróides e constituintes da dupla camada das membranas celulares (STRYER, 2000).

Nível aumentado de colesterol é encontrado: nefrose, hipotireoidismo, doenças colestáticas do fígado e nas hiperlipoproteinemias e níveis diminuídos: hipertireoidismo e desnutrição crônica (STRYER, 2000).

Os triglicérides são ésteres de ácidos graxos de glicerol, representam a maior quantidade de gordura no organismo. Sua função primária é armazenar e providenciar energia para as células. A concentração de triglicérides do plasma é dada pelo balanço entre as taxas de entrada e de eliminação dessas moléculas no organismo (STRYER, 2000).

As concentrações de triglicerídeos no plasma variam conforme a idade e o sexo. Aumentos moderados ocorrem durante o crescimento e o desenvolvimento. Dosagens de triglicérides são usadas para avaliar hiperlipidemias. Altas concentrações podem ocorrer com hipoparatiroidismo, síndrome nefrótica, doenças de depósitos de glicogênio e diabetes mellitus (STRYER, 2000).

Nas Figuras 31, 32 e 35, 36, observou-se que houve uma queda de colesterol e triglicérides em ambos os grupos, demonstrando que houve uma baixa síntese de colesterol no fígado, além de uma baixa reserva de ácido graxo e esteatose nuclear, já demonstrada nas figuras dos fígados infectados por *T. cruzi* tanto da cepa RAL como da RC. A hipocolesterolemia já foi encontrada em um caso chagásico em fase aguda mencionada por Freitas *et al.*(1953).

4.5 Histopatologia

Cada tecido e órgão do corpo humano possuem uma função especializada que é refletida na anatomia e atividade do metabolismo. O fígado desempenha um papel central no metabolismo, processando, distribuindo e fornecendo uma mistura de nutrientes para todos os outros órgãos e tecidos através da corrente sanguínea (YANG, 1994). Um outro órgão de importância para o pâncreas, uma glândula endócrina e exócrina, que juntamente com o fígado são essenciais para o metabolismo (FALKMER, 1995).

No interior do pâncreas há presença de ilhotas pancreáticas ou Langerhans, que estão espalhadas em toda a glândula, constituído de células produtoras de insulina, glucagon e somatostatina e as células acinares produzem

amilase e lipase (ANJA & STACK, 1999). No fígado os hepatócitos, possuem funções fundamentais no metabolismo e na produção de bile.

Neste trabalho foram estudados os pâncreas e os fígados infectados e grupo controle comparando aos infectados pelas cepas RAL e RC. Observou-se morfometricamente que os ácinos infectados pelas duas cepas estavam atrofiados, enquanto os hepatócitos hipertrofiados; é importante ressaltar que os hepatócitos também produzem interleucina (DEWOLF, 1987).

Na avaliação histopatológica pode-se observar necrose celular tanto do pâncreas como do fígado, e a necrose se caracteriza pela perda da integridade da membrana plasmática quanto a sua permeabilidade. Diferentes patologias como isquemia, hipoxia, hipertermia, irradiação e metabólitos tóxicos podem levar à perda abrupta da integridade da membrana plasmática (citólise) e à alteração de seus gradientes eletroquímicos. A liberação dos constituintes intracelulares para o meio extracelular estimula a resposta inflamatória e ampliam a lesão tecidual. O fenômeno de morte celular por necrose é facilmente reconhecido no tecido hepático porque os restos celulares permanecem por longo período antes de serem removidos pelas células inflamatórias. Em relação às lesões pancreáticas é possível explicar que em parte, distúrbios metabólicos estão relacionados com a função exócrina (DEWOLF, 1987).

Nas lâminas histológicas do fígado foi observado aparecimento de infiltrado celular, caracterizado principalmente pela presença de linfócito nos sinusóides e nos lóbulos hepáticos, alteração da arquitetura dos lóbulos hepáticos e na disposição sinusoidal decorrente de necrose de hepatócitos e visualização de formas amastigota de *T. cruzi*, uma desorganização celular acentuada, o aparecimento de formações

granulomatosas decorrente da presença dos ninhos de amastigotas, polimorfismo dos hepatócitos, apresentando citoplasma com característica esponjosa e baloniforme, situação que se observa também nas inclusões virais.

Vianna (1911) estudando a doença de Chagas observou uma degradação de gordura no fígado mais intensa, conforme a gravidade do caso. Outros estudos realizados demonstraram infiltrados gordurosos, hipertrofia das células, áreas necrosadas e infiltrados inflamatórios (PINHEIRO-CHAGAS, 1920). A intensidade da infecção do fígado parece depender da cepa de *T. cruzi*. Foi notado que na cepa Y ocorre maior parasitismo do que na cepa COLOMIANA (NUNES *et al.*, 1992).

No tecido pancreático os ácinos variam de estruturas arredondadas a túbulos curtos. Com alteração na citoarquitetura das células acinares pancreáticas do tecido pancreático, demonstra que as cepas de *T. cruzi* apresentaram ninhos de amastigotas demonstrando uma intensa desorganização com infiltrados inflamatórios.

Todas as alterações observadas no tecido pancreático e hepático, já foram observadas por outros autores como Albuquerque *et al.* (1991), infectando camundongos com a cepa Bolívia de *T. cruzi*, observaram uma desorganização pancreática. Em relação ao fígado e pâncreas até hoje vários estudos vêm sendo realizados, mas não associando a bioquímica, como o presente trabalho foi realizado, e notamos que mesmo com a infecção sendo de mesma linhagem as cepas demonstraram comportamento diferentes tanto nas bioquímicas quanto no tecido histológico do pâncreas e fígado.

CONCLUSÃO

Nas condições realizadas neste trabalho foi possível concluir que:

- A cepa de *Trypanosoma cruzi* RAL:

✓ Comportamento parasitêmico mais elevado nos machos que nas fêmeas e apresentou-se mais virulenta que a RC tanto nos grupos machos como nas fêmeas.

✓ Diminuição do peso corporal dos camundongos infectados machos e fêmeas e acentuada perda de peso corporal nos camundongos machos infectados que nas fêmeas, apresentando uma queda mais significativa para os camundongos infectados machos e fêmeas que a cepa RC.

✓ Hipoglicemia nos camundongos machos e fêmeas infectados e diminuição mais acentuada nos camundongos machos e fêmeas que na cepa RC de *T. cruzi*.

✓ Alteração da fosfatase alcalina (ALP) com uma diminuição significativa desde 9.^o dia para as fêmeas e 6.^o dia para os machos.

✓ Hipoalbumemia desde o 6.^o dia, para as fêmeas, mais houve um aumento apenas no 9.^o dia, voltando a queda no 12.^o dia, mas para os machos a queda se iniciou no 12.^o dia relevante ao que diz respeito às patologias causadas pelo *T. cruzi*.

✓ Variação bioquímica das proteínas totais da cepa RAL nas fêmeas se iniciou no 12.^o dia, para os machos 6.^o dia.

✓ Ao analisar a uréia observou-se um aumento tanto nos grupos fêmeas quanto nos machos.

✓ A taxa de creatinina foi verificada como aumentada nas fêmeas e diminuída no grupo infectados machos .

✓ O aspartato aminotransferase (AST) foi avaliado no soro dos camundongos machos e fêmeas infectados houve um aumento do AST.

- ✓ Menor quantidade de colesterol e triglicérides em ambos os grupos machos e fêmeas

- ✓ Histopatologia, foi encontrado formas amastigotas nos hepatócitos e no ácinos do pâncreas de fêmeas e machos infectados

- ✓ Na análise dos hepatócitos foi observada uma significativa hipertrofia menos acentuada que a cepa RC, esteatose, desorganização celular e infiltrados inflamatórios.

- ✓ A análise morfométrica para o tecido pancreático apresentou uma hipertrofia acinar em relação ao controle no grupo macho e fêmea infectado.

- ✓ Durante todo o experimento as fêmeas demonstraram mais resistência a infecção que os machos, tantos nos parâmetros parasitêmicos, pesagem, bioquímicos e alterações teciduais, o que pode estar sendo influenciado pelo dimorfismo sexual, com influencia do sistema imunológico e hormonal.

- A cepa de *Trypanosoma cruzi* RC:

- ✓ Comportamento parasitêmico mais elevado nos machos que nas fêmeas e apresentou-se menos virulência que a RAL tanto nos grupos machos como nas fêmeas.

- ✓ Diminuição do peso corporal dos camundongos infectados machos e fêmeas e acentuada perda de peso corporal nos camundongos machos infectados qem relação às fêmeas, apresentando uma queda menos significativa para os camundongos infectados machos e fêmeas que a cepa RAL.

- ✓ Hipoglicemia nos camundongo machos e fêmeas infectados e diminuição menos acentuada nos camundongos machos e fêmeas que na cepa RAL de *T. cruzi*.

✓ Alteração da fosfatase alcalina (ALP) houve uma diminuição significativa desde 9.^o dia para as fêmeas e 6.^o dia para os machos.

✓ Hipoalbumemia no 12.^o dia, tanto para as fêmeas como para os machos.

✓ Variação bioquímica das proteínas totais da cepa RAL nas fêmeas se iniciou no 6.^o dia, para os machos e fêmeas.

✓ Ao analisar a uréia observou-se um aumento tanto nos grupos fêmeas quanto nos machos a partir do 6.^o dia .

✓ A taxa de creatinina foi verificada como aumentada nas fêmeas nos 6.^o, 12.^o e 14.^o dias e diminuída no 9.^o dia no grupo infectados machos nos 12.^o e 14.^o dias .

✓ O aspartato aminotransferase (AST) foi avaliado no soro dos camundongos machos e fêmeas infectados houve um aumento do AST.

✓ Menor quantidade de colesterol e triglicérides em ambos os grupos machos e fêmeas.

✓ Histopatologia, foi encontrado formas amastigotas nos hepatócitos e no ácinos do pâncreas de fêmeas e machos infectados.

✓ Na análise dos hepatócitos foi observada uma -hipertrofia intensa.

✓ A análise morfométrica para o tecido pancreático apresentou uma atrofia nos grupos machos e fêmeas infectados .

✓ Durante todo o experimento as fêmeas demonstraram mais resistência a infecção que os machos, tanto nos parâmetros parasitêmicos, pesagem, bioquímicos e alterações teciduais, o que pode estar sendo influenciado pelo dimorfismo sexual, com influencia do sistema imunológico e hormonal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, R.D. High density lipoprotein cholesterol, total cholesterol screening and myocardial infarction. **Arteriosclerosis**, v. 8, p. 207-11, 1988.

ALBUQUERQUE, R.D. & BARRETTO, M.P. Studies on wild reservoirs and vectors of '*Trypanosoma cruzi*' XXX: natural infection of the bush dog, '*Cercopithecus thous azarae*' (Mild, 1924) by '*T. cruzi*'. **Rev. Bras. Biol.** v.28, suppl. 4, p. 457-68, 1968.

ALBUQUERQUE, S.; CARRARO, A.A.; RIBEIRO, R.D.; LOPES, R.A.; PETENUSCI, S.O. & PETENUSCI, N.C. Doença de Chagas experimental em ratos. Histopatologia do pâncreas e estudo de alguns constituintes metabólicos e fisiológicos. **Rev. Ciênc. Farm. São Paulo**, v.13, p.201, 1991.

ALCÂNTARA F.G. & ANDRADE Z.A. Doença de Chagas e alterações neuronais no plexo de Auerbach em ratos chagásicos na fase crônica. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.6, p.207-10, 1964.

AMATO-NETO, V. Contribuição ao conhecimento da forma aguda da doença de Chagas. Tese. **Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**, 1958.

ANAND AC, FERRAZ-NETO BH, NIGHTINGALE P, MIRZA DF, WHITE AC, MCMASTER P, NEUBERGER JM. Liver transplantation for alcoholic disease: evaluation of a selection protocol. **Hepatology** v.25, p.1478-84, 1997.

ANCELL, H. Course of lectures on the physiology and pathology of the blood and the other animal fluids. **Lancet** v. 1, p. 222-31, 1839-1840.

ANDRADE, S.G & ANDRADE Z. A. Doença de Chagas e alterações neuronais do plexo de Auerbach (estudo experimental em camundongos). **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.8, p.219-24, 1976.

ANDRADE, S.G. Tentative for grouping different *Trypanosoma cruzi* strain in some types. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.18, p.140-1, 1976.

ANJA, C.P.; STACK, J.M. Analysis of pancreatic development using cell lineage label. **Experimental Cell Research**. v. 247, p. 123-132, 1999.

APODACA-TORREZ, F. R.; TRIVIÑO, T.; LOBO, E. J.; GOLDENBERG, A.; FIGUEIRA, A. Insulinomas do pâncreas: diagnóstico e tratamento. **Arq. Gastroenterol.** Apr.-June v.40, suppl. 2, São Paulo 2003.

BEHMER, O.R; TOLOSA, E.M.C & FREITAS, A.G. Manual de Técnicas para Histologia Normal e Patologia. **Editora da Universidade de São Paulo**, 1975.

BELDA-NETO, F.M. & RIBEIRO, R.D. Estudo das características da infecção de camundongos por subamostras do *Trypanosoma cruzi*, após passagem em cultura e triatomíneo. **Rev. Ciênc. Farm. São Paulo**, v.11, p.11-3, 1989.

BERGMAYER, H.U.; SCHEIBE, P.; WAHLEFELD. A.W.; **Clin. Chem.**, v.24, p.58, 1978.

BORGES, M.M. DALVA, A. M. TEXEIRA, M.L.T. Infecção experimental de *Calomys callosus* (Rodentia Cricetidae) com *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Saúde Pública vol.16 no.4 São Paulo** Aug. 1982.

BRENER, Z. . Comparative studies of different strains of *Trypanosoma cruzi*. **Ann. Trop. Med. Parasit.**, v.59, p. 19-26, 1965.

BRENER, Z. Therapeutic activity an criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.4, p.389-96, 1962.

BRENER, Z. O parasito e as relações hospedeiro-parasito. In: BRENER, Z.; ANDRADE, Z. *Trypanosoma cruzi* e a doença de Chagas. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, p.1-41, 1979.

BRENER, Z. The behaviour of slender and stout forms of *Trypanosoma cruzi* in the blood-stream of normal and immune mice. **Ann. Trop. Med. Parasit.**, v.63, p. 215-20, 1969.

BRENER, Z., CHIARI, E. Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**. v. 5p220-224, 1963.

BUCKNER, F. S., WILSON, A. J., VAN VOORHIS, W. C. Detection of Live *Trypanosoma cruzi* in Tissues of Infected Mice by Using Histochemical Stain for beta - Galactosidase. **Infect. Immun.** v.67, p. 403-409, 1999.

BURGOS, V.O. Avaliação das alterações histológicas do pâncreas de camundongos infectados experimentalmente pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*. **Dissertação. Universidade Estadual de Campinas**. Campinas, 2002.

CARRICO, C.J.; MEAKINS, J.L.; MARSHALL, J.C.; FRY, D. & MAIER, R.V. Multiple-organ failure syndrome. **Arch. Surg.** v.121, p.196-207, 1986.

CAZZULO, J.J. La degradation aerobica de la glucose por *Trypanosoma cruzi*. **Medicina Buenos Aires.** v. 38, p.53-59, 1978.

CHAGAS, C. Nova tripanosomíase humana. Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiológico de uma nova entidade mórbida para o homem. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.1, p.159-218, 1909.

CHAGAS, C., Tripanosomíase americana. Forma aguda da moléstia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.1, p.159-218, 1916.

CHAPMAN, W.L.; HANSON, W.L.; WATTS, V.B. - The influence of gonadectomy of host on parasitemia and mortality of mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **J. Parasit.**, 61: 213-216, 1975.

CHATTAS, A; ZAMUR, R & MACHADO, H. Estudio electroforético de las proteínas del suero en niños afectados de enfermedad de Chagas. **Rev. Méd. Córdoba**, v. 46, p.293-7, 1958.

COCKAYNE, S; ANDERSON, S.C.: Clinical chemistry: concepts chemistry, 196-197, 1993.

COLES, E.H. Veterinary clinical pathology. **Philadelphia: Saunders**, p.139, 1986.

CORBETT, C.E.; SCREMIN, L.H.; LOMBARDI, R.A.; GAMA-RODRIGUES, J.J & OKUMURA, M. Pancreatic lesions in acute experimental Chagas' disease. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**. Mar-Apr, v.57, suppl.2, p.63-6, 2002.

COSTA, R. de B. & ALCANTARA, F. G. Gastropatia chagásica crônica. **Rev. Bras. Med.** v.22, p.667-71, 1965.

COURA JR, JUNQUEIRA AC, FERNANDES O, VALENTE AS, MILES MA. Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. **Trends in Parasitol.** v.18, p. 171-176, 2002.

COURA JR, JUNQUEIRA ACV, BOIA MN, FERNANDES O. Chagas disease: from bush to huts and houses. Is it the case of the Brazilian Amazon? **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 94, Suppl.1, p. 379-384, 1999.

COURA, J. R. Tripanosomose, doença de chagas. *Cienc. Cult.* vol.55 no.1 São Paulo Jan./Mar 2003.

CULBERTSON, J.T; KOLODNY, M.H., MAXWELL, H . Acquired immunity in rats against *Trypanosoma cruzi*. **J. Parasitol.** 24: 83-90, 1938.

CUNHA, D. F.;VIEIRA, C. de O.; de PAULA e SILVA, G.; ERIDIA, G.R. & TEXEIRA, V. de P. Acute-phase reaction and parasitism in the central adrenal vein in Chagas' disease patients. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** Apr-Jun; v. 27, supl. 2, p. 83-6, 1994.

DE OLIVEIRA, R. B.; TRONCON, L.E.; DANTAS R.O. & MENGHELLI, U.G. Gastrointestinal manifestations of Chagas' disease. **Am. J. Gastroenterol.** Jun, v. 93, suppl. 6, p. 884-9, 1998.

DEANE, M.P. Significance of polymorphism in *Trypanosoma cruzi*. In: CONGRESSO INTERNACIONAL SOBRE DOENÇA DE CHAGAS, Rio de Janeiro, 1979 - Anais/Abstracts, Rio de Janeiro, FIOCRUZ, p.A6-A7, 1979.

DECHIARA, T.M. & ELIZABETH, R.J. Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor II gene. **Cell.**, v. 64, p. 849-859, 1991.

DEITH, E.A. Multiple-organ failure syndrome. **Adv. Surg.** v.3, p.103E -105, 1993.

DEVERA, R.; ILLARRAMENDI, X.; MONTOYA-ARAÚJO, R. Biodemas de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas de humanos de três áreas endêmicas de Minas Gerais. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.35, p. 323-330,2002.

DEWOLF, A.M.; KANG, Y.G.; TOD, S.; KAM I, FRANCAVILLA, A.J.; POLIMENO, L.; LYNCH. S.; STARZL, T.E.. Glucose metabolism during liver transplantation in dogs. **Anesth. Analg.** v. 66, p. 76-80, 1987.

DIAS, J.C.P.; PRATA, A.; SCHOFIELD, J.C. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectiva de prevenção. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 35, p. 669-678, 2002.

DIAS, J.C.P.; COURA, J.R. Epidemiologia. In: DIAS, J.C.P.; COURA, J.R. (Org) Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Uma abordagem prática para o clínico geral, Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro, p. 33-66, 1997.

DOST, K.C; ALBUQUERQUE, S.; HEMLEBEN, V.; ENGELS, W.; PRADO, J.C.Jr. Molecular genetic characterization of different *Trypanosoma cruzi* strains and comparison of their development in *Mus musculus* and *Calomys callosus*. **Parasitol. Res.** v.88, p.609-616, 2002.

DUNCAN, J.R. & PRASSE, K.W. Veterinary laboratory medicine. Ames: Iowa State University Press, p. 217, 1977.

DUTHIE MS, KAHN M, WHITE M, KAPUR RP, KAHN SJ. Critical proinflammatory and anti-inflammatory functions of different subsets of CD1d-restricted natural killer T cells during *Trypanosoma cruzi* infection. **Infect. Immun.** v.73, suppl. 3, p. 181-92, 2005.

EBRAHIM, G. J. Eradication of American Trypanosomiasis (Chagas' Disease): An Achievable Goal?* *Journal of Tropical Pediatrics*, v. 50, n.6, Oxford University Press 2004.

FALKMER, S. Origin of the parenchymal cells on the endocrine pancreas: some phylogenic and ontogenetic aspects. **Front. Gastrointest. Res.** v. 23, p. 2, 1995.

FERREIRA, M. P. & ELEJALDE, P. Estudo eletroforético das proteínas séricas na forma crônica da doença de Chagas. **Brasil. Med.**, v.74, p 30-8, 1960.

FERRIOLLI FILHO, F. Estudo da morfologia e do comportamento em camundongos de amostras do *Trypanosoma cruzi* Chagas, 1909, mantidas em laboratório sob quatro modos diferentes. Ribeirão Preto. Tese (Livre-Docência). Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, 1975.

FLEMING-MORAN, MILLICENT. The initial success of the Chagas' Disease Control Program: factors contributing to Triatomine infestation. **Cad. Saúde Pública**, Dec, v.8, no.4, p.391-403, 1992.

FREITAS, J.P.L.; LION M.F.; TARTARI, J.T.A. Resultados de uma investigação sobre a moléstia de Chagas realizada no município de Marília e outros, com estudo clínico de dois casos agudos da Doença. **Rev. Hosp. Clin.**, v.8, p.81-92, 1953.

GELONEZE, B.; GELONEZE, S.R.; PICOLO, M.; REPETTO, E.M.; MURRO, A.L.; TAMBASCIA, M.A. Metabolic syndrome as a surgical condition. **Obes. Surg.**,v. 12, p. 459, 2002.

GOODWIN, T.A . Cryptosporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. A study of 15 autopsy cases. **Human Pathology** . v.22, p. 1215-1224, 1991.

KOEBERLE, F. & NADOR, E. Etiologia e patogenia do megaesôfago no Brasil. *Rev. Paul. Med.* 47:643-661, 1955.

KULKARNI, B.A.; TALVELKAR , B.A.; DESMUKH, B.T. Biochemical studies and cross-breed dairy cows. **Indian. Vet. J.**, v.60, n.1, p.17-22, 1983.

LARA, A.L.; SERAFIM , I.M.R.; RIEGEL, R.E. Alguns fatores de influência nos níveis fisiológicos de uréia e creatinina em ovinos e bovinos submetidos a regime extensivo de criação. **Rev. Centro Ciênc. Rurais**, v.6, n.6, p.223-229, 1976.

LARANJA, F.S., DIAS, E. NÓBREGA, G. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** v.46, p.473-499, 1948

LOPEZ-SANTAMARIA, M.; MIGLIAZZA, L.; GAMEZ, M.; MURCIA, J.; DIAZ-GONZALEZ, M.; CAMARENA, C.; HIERRO, L.; DE LA VEJA, A.; FRAUCA, E.; DIAZ, M.; JARA, P.; TOVAR, J. Liver transplantation in patients with homozygotic familial hypercholesterolemia previously treated by end-to-side portocaval shunt and ileal bypass. *J Pediatr Surg.* v.35, suppl.4, p.630-3, 2000.

LOROSA, E.S.; VALENTE, M.V.; CUNHA, V.; LENT, H.; JURBERG, J. Foco de doença de Chagas em Arcádia, estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz.** Oct. v.98, suppl. 7, p.885-7, 2003.

MACEDO, A.M.; MARTINS, S.M.; CHIARI, E.; PENA, S.D.J. DNA fingerprinting of *Trypanosoma cruzi*: a new tool for characterization of strains and clones. **Mol. Biochem. Parasitol.**, v.55, p.147-154, 1992.

MÁRMOL LEÓN, P. Electroforesis de las preteínas séricas en la fase aguda de la enfermedad de Chagas experimental en ratones blancos (*Mus musculus*), *Kasmera*, v.4, p.45-61, 1971.

MARSDEN, P.D; SEAH, S.K.; MOTT, K.E.; PRATA, A.; PLATT, H. Immunoglobulins in Chagas disease. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v. 73, p. 157-61, 1970.

MARTINI, A.S.; LOPES, R.A. UTRILLA, L.S.; RIBEIRO, R.D. & REIS, C.C.A. Morphologic and morphometric studies of changes in the alterations on young mouse parotid gland with subpatent Chagas disease. **Angew. Parasitol.** v.27, suppl.2, p.65-72, 1986.

MARTINS, L. P. A.; CASTANHO, R. E. P.; ROSA, J. A.. Biological and histopathological characterization together with nucleic acids analysis of a *Trypanosoma cruzi* strain from Marília, São Paulo State. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** vol.36, suppl.1, p.35-39, 2003.

MELO, R.C. & BRENER, Z. Tissue tropism of different *Trypanosoma cruzi* strains. **J. Parasitol.**, v.64, p.475-82, 1978.

MENEZES, V.T; QUEIROZ, A.O.; GOMES, M.A.M. *Trypanosoma evansi* in inbred and swiss-webster mice: distinct aspects of pathogenesis. **Parasitologic Res**, v.94, p. 193-200, 2004.

MILES, M.A.; SOUZA, A.A.; POVOA, M.; SHAW, J.J.; LAINSON, R.; TOYE, P.J. Isozymic heterogeneity of *Trypanosoma cruzi* in the first autochthonous patients with Chagas disease in Amazonian Brazil. **Nature**. v.272, p. 819-821, 1978.

MONTOYA, R.; DIAS, J.C.; COURA, J.R. Chagas disease in a community in southeast Brazil. I. A serologic follow-up study on a vector controlled area. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**. Sep-Oct, v.45, suppl. 5, p. 269-74, 2003.

NELSON, David L.; COX, Michael M. Lehninger. Principles of biochemistry. New York: **Third edition Worth Publishers**, 2000.

NUNES, M. P.; SOBRAL A.C. & COUTINHO, S.G. Quantification of *Trypanosoma cruzi* in heart, lymph nodes and liver of experimentally infected mice, using limiting diluting analysis. **Men. Inst. Oswaldo Cruz**. v. 87, p.503-9, 1992.

OKUMURA, M.; AMATO NETO, V.; KITAGAWA, M.M.; TAKAMATSU, N.K.; ISHIKAWA, P.S.; IIZUZA, F.H.; IRIYA, K. Atividade terapêutica do benzonidazol em camundongos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* e imunodeprimidos por associação de ciclosporina com prednisona. **Revista do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**. v.45p. 260-262, 1990.

OKUMURA, M. Contribuição para o estudo das lesões dos neurônios do plexo mesentérico do colo na moléstia de Chagas experimental no camundongo branco (*Mus musculus*). **Rev. Hosp. Clin.**, v.22, p.192-203, 1967.

OKUMURA, M.; FRANÇA L.C.M. & CORRÊA NETTO A. Comentários sobre a patogenia da moléstia de Chagas. Especial referência à infecção experimental em camundongos. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**. v.18, p.151-64, 1963.

OSAER, S; AKINBAMIJO, O.O.; GOOSSENS, B. Some biochemical changes following *Trypanosoma congolense* infection in Djallonké ewe lambs and breeding ewes fed levels of nutrition. **Acta Tropica**. v.75, p. 229-241, 2000.

PALNAES-HANSEN C, BOESBY S, KIRKEGAARD P. Glucose homeostasis after orthotopic liver transplantation in the pig. **Transplantation** v. 51, p. 587-9. 1991.

PENHABEL, F.A.; WAITZBERG, D.L.; TREVENZOL, H.P.; ALVES, L.; ZILBERSTEIN, B.; GAMA-RODRIGUES, J. Pre-and postoperative nutritional evaluation in patients with chagasic megaesophagus. **Nutr Hosp**, Mar-Apr, v.19, suppl.2, p. 89-94, 2004.

PIFANO, F.V. ANSELM, A; ALEMAN, C. SUAREZ, J.A; VASQUEZ, A.D. Miocardiopatia chagásica experimental. **Arch. Venezol. Med. Parasitol. Méd.** v.4, p. 37-62, 1962.

PINHEIRO-CHAGAS, C. Lesões hepáticas na moléstia de Chagas. Tese. Belo Horizonte: Faculdade de Medicina, 1920.

PINTO, C. & FALCÃO, P. Eletroforeses nas doenças de Chagas. **Rev. Bras. Med**, v.15, p.536-639, 1958.

PLENTZ, R.D.M.; IRIGOYEN, M.C; MULLER, A.S.; CASARINI, D.E.; RUBIRA, M.C; MORENO JUNIOR. H.; MADY, C.; IANNI, B.M.; KRIEGER, E.M.; CONSOLIM-COLOMBO, F. Disfunção endotelial venosa em pacientes com doença de Chagas sem insuficiência cardíaca. *Arq. Bras. Cardiol.* vol.86 no.6 São Paulo June 2006.

PRADO, J.R.; APARECIDA, A.M.; LEAL, M.P.; BERNARD, E.;KLOETZEL, J.K. Influence of male gonadal hormones on the parasitemia and humoral response of male *Calomys callosus* infected with the Y strain of *Trypanosoma cruzi*. **Parasitol. Res.** v.85, p.826-829, 1999.

REECE, W.O. Os rins. In: SWENSON, M.J. ;REECE, W.O. (Eds.). *Dukes fisiologia dos animais domésticos*. 11.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.521-548, 1996.

REIS, L.C.F.; OLIVEIRA, H.L.; VIEIRA, C. Curvas anormais observadas em pacientes com a forma crônica da moléstia de Chagas. **Rev. Goiana de Medicina**. v.6, suppl.2, p. 156-165, 1960.

REZENDE, J.M. de - Manifestações digestivas da Doença de Chagas, In Dani, R. ;Castro, L.P. *Gastroenterologia Clínica*, 3. ed., Rio de Janeiro, Guanabara Koogan,p. 1729-1755, 1993.

RIBEIRO, R. D.; ALBUQUERQUE, S.; CARRARO, A.A.; LOPES, A.A. & PRADO, JR.J.C.; GARCIA, T.A.R.; TOLDO, M.P.A. Uma nova cepa do *Trypanosoma cruzi* isolada do triatomíneo *Triatoma infestans*. *Anais da 45ª Reunião Anual da SBPC*, Recife, Jul., p.769-70, 1993.

RIBEIRO, R.D.; FERRIOLLI FILHO, F. & BELDA NETO, F.M. Comportamento de subamostras do *Trypanosoma cruzi* em hospedeiros vertebrados e invertebrados. **Rev. Bras. Biol.**, v.42, n.1, p.51-4, 1982.

RIBEIRO, R.D.; LOPES, R.A.; CARVALHO, T.L.L.; ALBUQUERQUE, S. & WATANABE, I. Tropismo tissular de diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. IV. Histopatologia do pâncreas de camundongos infectados com a cepa RC. **Rev. Esc. Farm. Odont.** Alfenas, v.13, p.77-82, 1991.

ROCHA, A.; OLIVEIRA, L.C.M.; ALVES, R.S.; LOPES, E.R. Despopulação neuronal pancreática em chagásicos crônicos. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.31 n.1 Uberaba jan./fev. 1998.

ROCHA, D.S.; SANTOS, C.M.; CUNHA, V.; JURBERG, J.; GALVÃO, C. Ciclo Biológico em Laboratório de *Rhodnius brethesi* Matta, 1919 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae), Potencial Vetor Silvestre da Doença de Chagas na Amazônia. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** v.99, suppl.6, p.591-95, 2004.

SALDANHA, J.C.; DOS SANTOS, V.M.; DOS REIS, M.A.; DA CUNHA D.F.; ANTUNES TEXEIRA, V.P. Morphologic and morphometric evaluation of pancreatic islets in chronic Chagas' disease. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São Paulo**. Sep-Oct. v.56, suppl. 5, p.131-8, 2001.

SANTOS, J.C.M. Colite Isquêmica. **Rev. Bras. Coloproctol.** v18, p.109-115,1998.

SANTOS, N.S.J; DRAIBE, S.A.; KAMIMURA, M.A; CUPPARI, L. Albumina sérica como marcador nutricional de pacientes em hemodiálise. **Nutr. Campinas**, v.17, suppl. 3, p. 339-349, 2004.

SARDINHA, L.R.; ELIAS, R.M.; MARINHO, M.R.L. Contribution of NK, NK T, $\gamma\delta$ T, and $\alpha\beta$ T Cells to the Gamma Interferon Response Required for Liver Protection against *Trypanosoma cruzi*. **Infection and Immunity**, v. 74, n. 4, April p. 2031-2042, 2006.

SCHARP, D.W.; MURPHY, J.J.; NEWTON, W.T.; BALLINGER, W.F.; LACY, P.E. Transplantation of islets of Langerhans of diabetic rhesus monkeys. **Surg.** v.77, p.100, 1975.

SCHMUNIS, G.A. Tripanossomíase Americana: Seu impacto nas Américas e perspectivas de eliminação. In: Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Um manual prático para a Clínica Geral (J.C.P. Dias; J.R. Coura, eds), p. 11-24, Rio de Janeiro, Editora Fiocruz, 1997.

SCHOSSLER, D.R.C.; MAZZANTI, S.N.; CECIM, M. Alterações histológicas e imunoistoquímicas em pâncreas de ratos normais e diabéticos tratados com *Syzygium cumini*. Alterações histológicas e imunoistoquímicas em Ciência Rural, Santa Maria, Nov-Dez, v.34, suppl..6, p.1821-25, 2004.

SIEGEL, S. Estatística não-paramétrica para as ciências do comportamento. São Paulo, McGraw-Hill do Brasil, 1975.

SILVEIRA AC. PROFILAXIA. IN: BRENER Z, ANDRADE ZA, BARRAL-NETTO M (eds) *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª edição, Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro p. 75-86, 2000.

SOGAYAR, R.; KIPNIS, T.L. & CURI, P.R. A critical evaluation of the expression of parasitemia in experimental Chagas disease. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**. v.35, suppl.5, p. 395-8, 1993.

SONGIN, M.L. Evolution of eukaryotic microorganism and their small subunit ribosomal RNAs. **Am. Zool.** v.29, p.217-32, 1989.

STRAUSS, E; GAYOTTO, L.C.C.; FAY, F; FAY, F. Liver histology in co-infection of hepatitis c virus (HCV) and hepatitis g virus (HGV). **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo**, Mar./Apr. v.44 , suppl.2, 2002.

STRYER, Lubert. Biochemistry. New York: W. H. Freeman and Company, 2000.

TAFURI, W.L. & BRENER, Z. Lesões do sistema nervoso autônomo do camundongo albino na fase crônica da tripanossomíase cruzi experimental. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.8, p.177-83, 1966.

TAFURI, W.L.; MARIA, T.A. & LOPES, E.R. Lesões do plexo mientérico do esôfago, do jejuno e do colo de chagásicos crônicos: estudo ao microscópico eletrônico. **Rev. Inst. Med. Trop.** São Paulo, v.13, p.76 -91, 1971.

TEXEIRA, A.R.L.; TEXEIRA, G.; MACEDO, V.; PRATA, A. Acquired cell-mediated immunodepression in acute Chagas disease. **J. Clin. Invest.** v. 62, p. 1132-8, 1978.

TIBAYRENC, M. & AYALA, F. J. Isoenzyme variability in *Trypanosoma cruzi* the agente of Chagas' disease: genetical, taxonomical and epidemiological significance. **Evolution**, v.42, p. 277-292. 1988.

TRONCON, L.E.A.; OLIVEIRA, R.B.; MENEGHELLI, U.G.; DANTAS R.O. & GODOY, R.A. Plasma gastrin and gastric acid responses to insulin hypoglycemia in Chagas` disease. **Brasilian J. Méd. Biol. Res.** v.18, p.273-8, 1985.

VALENTE, S.A.S., VALENTE V.C. Situação da doença de Chagas na Amazônia. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.26, p68-70, 1992.

VAZ, M. G. M.; REZENDE, J.M.; XIMENES, C.A. & LUQUETTI, A.O. Correlação entre a sintomatologia e a evolução do megaesôfago. **Rev. Goiana Med.** v.41, p.1-15, 1966.

VIANNA, G. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da “molestia de Chagas”. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. V.3, p.276-294, 1911.

VIEIRA, C.B.; MENEGHELLI, U.G. & SIMÃO, C. Gastrointestinal motility and the glycemic picture in the chronic stage of Chagas' disease. Preliminary observations. Hospital (Rio J). Jun, v.71, suppl.6, p. 1747-55, 1967.

VINHAES, M.C.; DIAS, J.C. Chagas disease in Brazil. **Cad. Saude Publica**. v.16 suppl 2, p.7-12, 2000.

VOET, D.; VOET, J.; G ;PRATT, C. W. Fundamentos de bioquímica. **Art Med**, 2000.

WHO (World Health Organization). Recent epidemiological
<http://www.who.int/ctd/chagas/epidemio.htm> acesso 20.08.04.

WOO, J.; CANNON, D. C. Intermediários metabólicos e íons inorgânicos. In: SAUNDERS W. B., (Eds). Diagnósticos Clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. 18 ed. São Paulo: Manole, p.159-196, 2000.

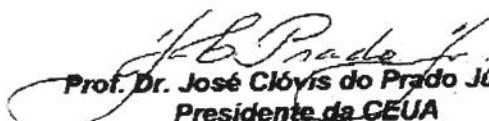
YANG, R. Q.; LIU, J. L.; GROSFELD; M. D. PESCOVITZ. Intestinal venous drainage through the liver is a prerequisite for oral tolerance induction. **J. Pediatr. Surg.** v. 29, p. 1145-1148, 1994.

ZAYAS, C.F.; PERLINO, C.; CALIENDO, A.; JACKSON, D.; MARTINEX, E.J.; PSO, P.; HEFFRON, T.G.; LOGAN, J.L.; HERWALDT, B.F.; MOORE, A.C.; STEURER, F.J.; BERN C.; MAGUIRE JH. Chagas disease after organ transplantation, 2001. **MMWR** , v51, p 210-212,2002.

CERTIFICADO

Certificamos que o trabalho (Protocolo nº 2002.1.1209.53.5), intitulado "Avaliação do metabolismo de carboidratos em camundongos infectados experimentalmente pela cepa ral e rc de trypanosoma cruzi" de autoria do Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque e Valdelice Burgos está de acordo com os **Princípios Éticos na Experimentação Animal** adotados pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)** do Campus de Ribeirão Preto - USP.

Ribeirão Preto, 28 de outubro de 2002.


Prof. Dr. José Clóvis do Prado Júnior
Presidente da CEUA
Campus - USP - Ribeirão Preto

Rebido original
29/10/02
Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque
Imunologia - FCFRP/USP

Avenida Bandeirantes, 3900 – CEP 14040-900 – Ribeirão Preto – São Paulo
Fone: (16) 602 43 37 – Fax: (16) 633 05 67
e-mail: ceua@pcarp.usp.br