

## ASPECTOS PATOGENÉTICOS DA MIOSITE CHAGÁSICA EXPERIMENTAL

SONIA G. ANDRADE

ZILTON A. ANDRADE

---

### RESUMO

O estudo de material experimental de miosite chagásica permitiu isolar a participação dos seguintes fatores lesionais para as fibras musculares: 1) infiltração inflamatória do interstício muscular; 2) parasitismo direto das fibras; 3) alterações de arteriolite necrotizante.

A fibra destruída seguem-se fenômenos de fagocitose, reparação fibrosa e regeneração muscular. Esta súmula patogênética foi possibilitada por dados observados em várias fases evolutivas da infecção em camundongos por duas cepas diferentes de *Trypanosoma cruzi*.

---

O estudo das lesões de músculos esqueléticos de camundongos experimentalmente infectados com duas cepas diferentes do *T. cruzi*, a cepa Y e a cepa colombiana, nos permitiu observar elementos patogênicos que nos pareceram de importância na determinação destas lesões. Tal estudo foi facilitado pela possibilidade de examinar extenso material acumulado, representativo de várias fases evolutivas e pelo conhecimento prévio obtido a respeito das diferenças histopatológicas existentes entre as lesões determinadas pelas duas cepas de tripanosomas na infecção aguda (3).

As alterações musculares que ocorrem na doença de Chagas já foram extensamente consideradas na sua morfologia e evolução, desde os trabalhos de Chagas (7), Vianna (17) e Mayer e Rocha Lima (10), até trabalhos recentes em material humano (13) e em infecções experimentais de diversos animais (1,8,14) porém ainda não foram bem analisados os diversos fatores envolvidos na patogenia destas lesões. De fato, embora a presença das formas de evolução do parasita no interior da fibra muscular tenha de logo chamado a atenção dos pesqui-

sadores, também já de início foi dado relêvo à presença de alterações degenerativas de fibras musculares não parasitadas.

Assim, a ação do parasitismo sobre as fibras musculares por um lado e a presença de substâncias tóxicas liberadas pela rotura do ninho parasitário (10), ou de reações de tipo alérgico (11), têm sido aventados na explicação destas alterações.

No presente trabalho procura-se analisar os diversos elementos envolvidos na patogênese das lesões musculares da doença de Chagas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Fragmentos de músculos esqueléticos de 92 camundongos infectados pelo *T. cruzi* foram estudados histologicamente após inclusão em parafina e coloração pela hematoxilina e eosina. Dêstes animais, 46 eram infectados com a *cêpa colombiana* e 46 com a *cêpa Y* do *T. cruzi*.

*Cêpas de tripanosomas utilizadas* — A *cêpa colombiana* foi inicialmente estudada por Federici et al. (8). Caracteres principais: período prépatente de 8 a 12 dias, máximo de parasitemia aos 30 dias, miotropismo. A *cêpa Y* foi estudada inicialmente por Silva e Nussenzweig (15). Caracteres principais: período prépatente de 3 a 5 dias, máximo de parasitemia entre 9 e 12 dias, reticulotropismo. As duas *cêpas* utilizadas sofreram passagens sucessivas em camundongos antes de sua utilização.

Os inóculos empregados variavam de 9.000 a 206.000 tripanosomas para a *cêpa colombiana* e de 8.300 a 284.000 para a *cêpa Y*, calculados de acordo com a técnica de Brener (5).

A duração da infecção variou entre 7 e 370 dias nos diversos animais examinados.

## RESULTADOS

### I — Estudo das fases iniciais da infecção:

a) Nos animais infectados pela *cêpa Y* formas leishmanias do *T. cruzi* foram encontradas em células reticulares do interstício muscular a partir de 7 dias após a infecção, sem se observar qualquer reação inflamatória em torno. Nesta fase inicial da infecção pela *cêpa Y*, apenas as células intersticiais se mostraram parasitadas e, a partir de 10 dias, já se observava uma reação mononuclear em torno das mesmas.

(fig. 1) Aos 12 dias já havia difuso processo inflamatório intersticial constituído por células histiocitárias e nítida proliferação sarcolemal, com raríssimas fibras parasitadas. Coincidente com a evolução deste processo inflamatório intersticial, observavam-se alterações de fibras musculares que, embora não parasitadas, apresentavam degeneração hialina do seu sarcoplasma. (fig. 2) Fibras hialinizadas (mumificadas) foram observadas em cortes longitudinais, em percurso extenso, observando-se aspectos transitórios indicativos de tendência à reabsorção das fibras lesadas e à regeneração muscular, esta última revelada pela proliferação e enfileiramento ao longo ou no interior do sarcolema de células de citoplasma denso e basófilo. (fig. 3) O parasitismo das fibras musculares só se tornava bem evidente, embora discreto, aos 14 dias. Com a rotura das fibras parasitadas havia então degeneração das mesmas acompanhada de intensa reação inflamatória em torno, com a presença de histiócitos e de polimorfunucleares, com fagocitose de parasitos e de restos de fibras degeneradas. O quadro histológico representativo de degeneração muscular com infiltração mononuclear, fagocitose, proliferação sarcolemal e processos regenerativos das fibras se tornava bem nítido por volta do 20.º dia da infecção. Estava também presente um processo reacional, difuso, inespecífico, mononuclear, de intensidade variável. A partir daí passaram a predominar os fenômenos regenerativos e observavam-se em torno das fibras lesadas, células de citoplasma abundante, basófilo, núcleos vesiculosos em nítida proliferação. A partir de 30 dias havia infiltrados inflamatórios focais histiocitários com alguns plasmócitos de permeio, em torno de vasos sanguíneos ou de fibras musculares em degeneração.

b) Nos animais infectados pela *cêpa colombiana*, nas fases iniciais da infecção, 7 a 13 dias, as fibras musculares não apresentavam alterações. As leishmânias não apareciam no interstício muscular porém eram vistas em pequeno número em células do tecido adiposo perimuscular, em perineuro em endotélio de capilares. Aos 14 dias eram vistas raras fibras musculares parasitadas, porém o parasitismo de músculo só se tornava bem evidente aos 20 dias e se intensificava muito até 30 dias. Apesar da presença de numerosas fibras musculares parasitadas a partir de 14 dias, não se observava nesta fase inicial infiltrado inflamatório intersticial nem se verificavam alterações degenerativas de fibras não parasitadas. À medida entretanto que progredia o parasitismo muscular (20 dias) observava-se degeneração de fibras parasitadas, onde eram identificados grandes ninhos de leishmânias. A

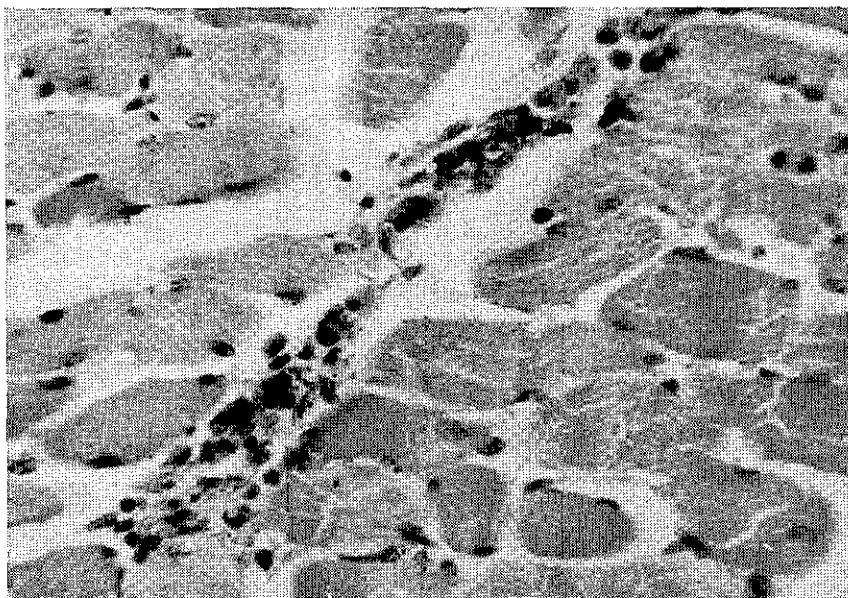


FIG. 1 - Secção de músculo esquelético vendo-se o infiltrado intersticial com histiócitos contendo leishmânias. Infecção inicial pela cêpa Y do *T. cruzi*. H.E. 120X.

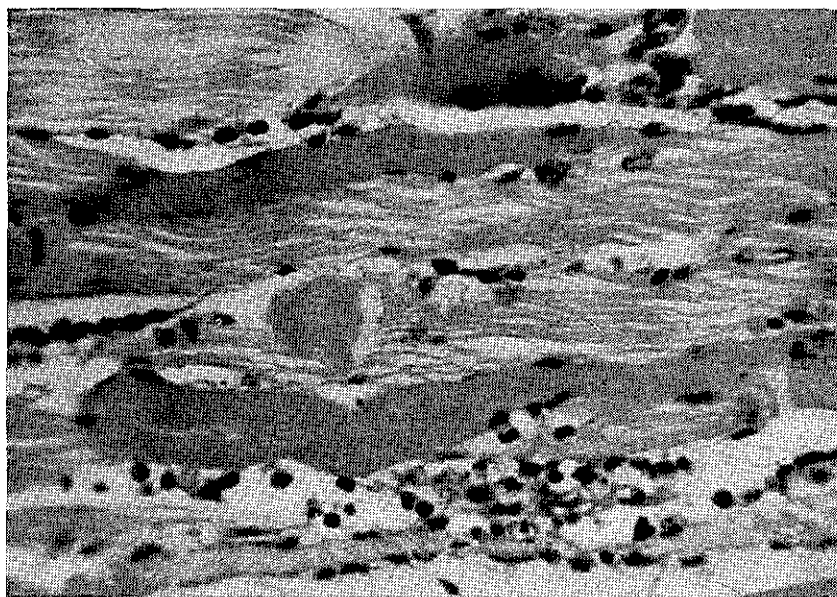


FIG. 2 - Fibras musculares estriadas exibindo várias fases de alterações degenerativas, como eosinofilia, hialinização e necrose na presença de infiltrado intersticial provocado pelas formas leishmânias do *T. cruzi* (cêpa Y). H.E. 120X.

desintegração destes ninhos com destruição da fibra parasitada, determinava em tôrno da mesma processo inflamatório com infiltração de células mononucleares, fagocitose de restos de músculo por histiócitos e de leishmânias por leucócitos polimorfonucleares neutrófilos. (fig. 4) Estas lesões focais se acompanhavam de infiltrado inflamatório mononuclear intersticial, que se intensificava progressivamente, sendo intensa a miosite intersticial aos 30 dias, com degeneração das mesmas. Observavam-se também infiltrados inflamatórios perivasculares onde predominavam os plasmócitos e lesões degenerativas das paredes arteriolas. (fig. 5) A partir de 40 dias havia infiltrados focais com numerosos plasmócitos (fig. 6) e fenômenos regenerativos bem evidentes das fibras musculares. As lesões arteriolas se tornaram proeminentes nesta fase e se caracterizavam por peri-arterite, necrose hialina focal da média e tumefação endotelial.

## II — *Estudo das fases crônicas da infecção:*

a) O exame de animais com infecção crônica pela *cépa Y*, com 113, 180, 206 e 370 dias, mostrava uma difusa miosite intersticial com infiltrado linfocitário. Havia focos de destruição de fibras musculares com densa infiltração mononuclear em tôrno, observando-se fagocitose de restos musculares e processo de regeneração. Era excepcional o achado de leishmânias no interior de fibras musculares. Em tôrno de arteriolas observava-se infiltrado linfo-histiocitário, com raros plasmócitos de perimeio.

b) Nos animais com infecção crônica pela *cépa colombiana* com 150, 284 e 358 dias existiam também lesões de fibras musculares que apareciam com destruição focal e invasão de mononucleares por vezes coincidindo com a presença de leishmânias que formavam grandes ninhos no interior da fibra lesada. As lesões mais proeminentes nêstes casos de infecção crônica pela *cépa colombiana* eram as vasculares, observando-se uma panarterite com necrose hialina da média, proliferação da íntima, infiltração mononuclear de tôdas as camadas, além de denso infiltrado periférico contendo histiócitos e plasmócitos.

Estas lesões vasculares foram observadas em várias fases evolutivas, desde a presença de franca necrose hialina, à dilatação aneurismática do vaso e à reparação por tecido fibroso com diminuição mais ou menos acentuada da luz vascular.

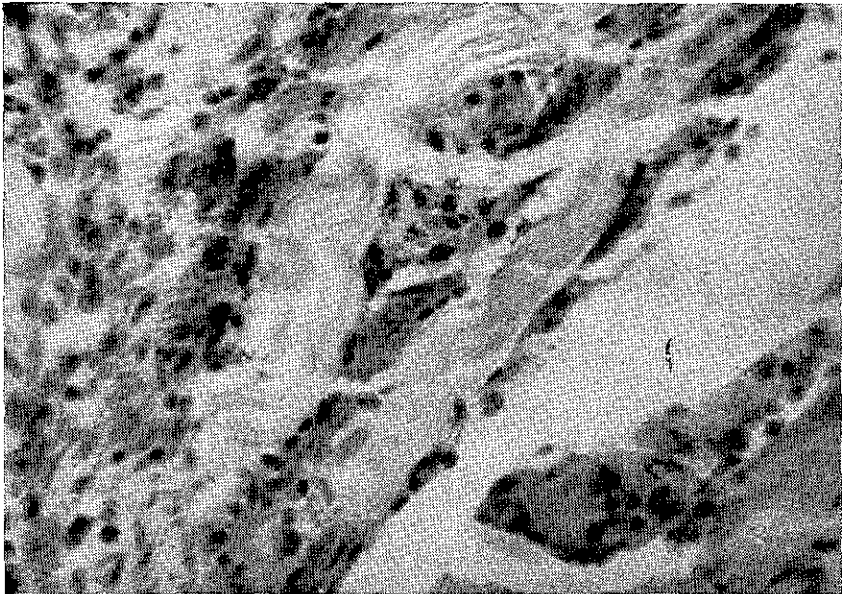


FIG. 3 - Proliferação de células basófilas na periferia de fibras musculares estriadas lesadas (aspecto regenerativo). H.E. 120X.

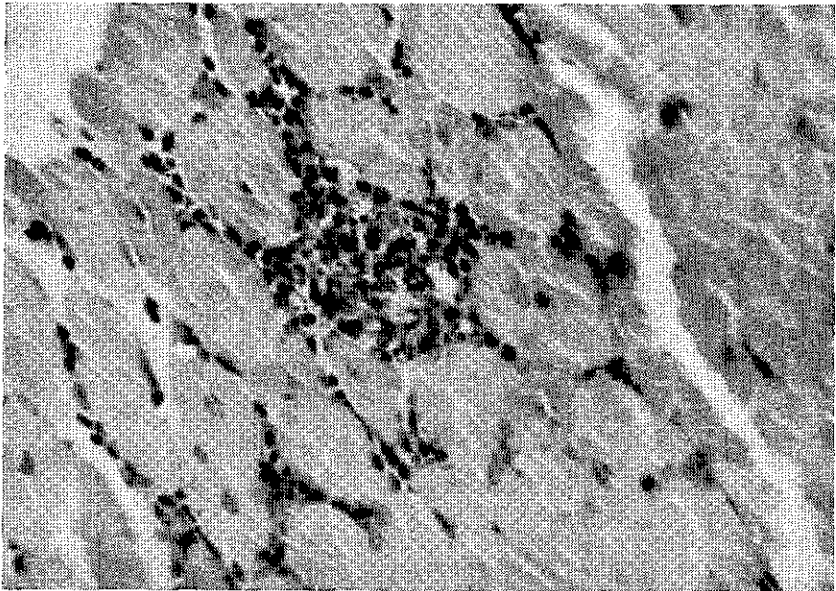


FIG. 4 - Destruição focal de fibra muscular parasitada com infiltração inflamatória focal e intersticial. Fase inicial de infecção pela Cêpa colombiana do *T. cruzi*. H.E. 120X.

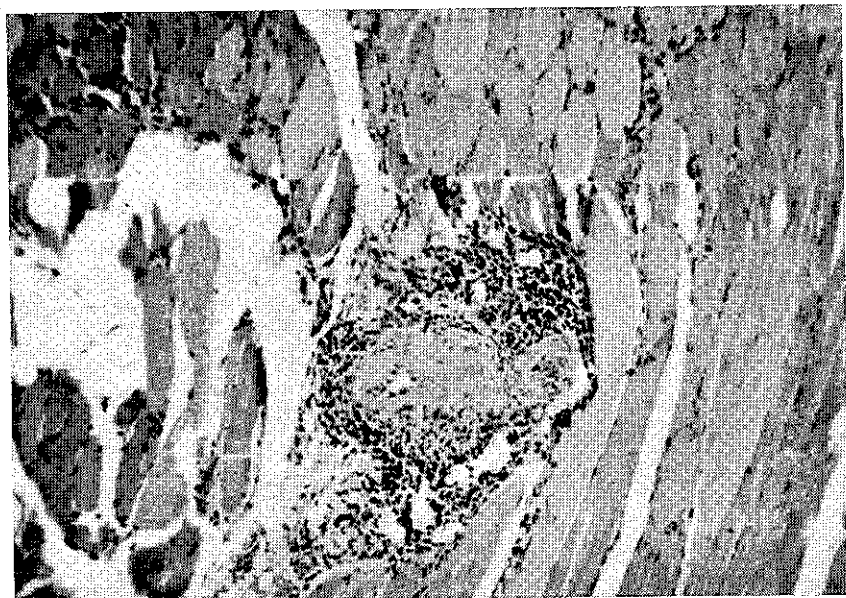


FIG. 5 - Miosite chagásica com necrose da parede arteriolar, a qual exhibe intensa infiltração inflamatória em tórno. H.E. 80X.

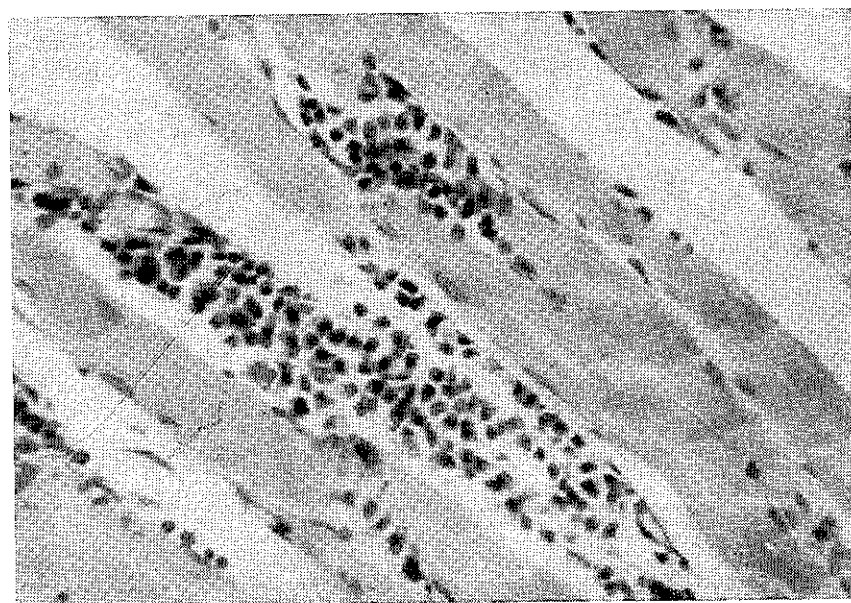


FIG. 6 - Infiltração intersticial predominantemente às custas de células plasmáticas na miosite pela cépa colombiana do *T. cruzi*. H.E. 120X.

## COMENTÁRIOS

O primeiro estudo anátomo-patológico da doença de Chagas, feito por Vianna (17) em criança que faleceu com a forma aguda da doença, demonstrou que a fibra muscular parasitada não apresentava qualquer reação em tórno, a qual só surgia após a rotura do ninho parasitário.

A observação das fases iniciais da infecção com uma cêpa reticulotrópica (*cêpa Y*), no presente material, demonstra que as alterações musculares podem se iniciar antes de haver parasitismo da própria fibra. Com efeito, enquanto as leishmânias estão presentes no tecido intersticial do músculo, acompanhadas de discreta reação inflamatória, as lesões musculares começam a aparecer e podem atingir até o grau de necrose hialina, na ausência de parasitismo da fibra. Esta observação ilustra um aspecto de grande importância na patogenia da doença de Chagas, qual seja o de que lesões inflamatórias determinadas pelas leishmânias coincidem com o aparecimento de degenerações das estruturas circunvizinhas. Alguns trabalhos têm demonstrado que a destruição de células ganglionares nervosas nos plexos mio-entéricos mostra correlação positiva com a presença e o grau de lesões inflamatórias em tórno dos plexos (12, 16). Quando a inflamação é abolida pelo tratamento com a cortisona (2) as lesões degenerativas neuronais não são observadas, apesar da presença de muitas leishmânias no local. Ainda não sabemos que fatores ou que mediadores da inflamação são liberados nos locais de desintegração dos ninhos parasitários, mas a observação das lesões musculares não deixa dúvida de que a fibra muscular pode ser destruída logo que surgem as alterações intersticiais inflamatórias provocadas pela presença dos parasitos. Já com a *cêpa colombiana*, as alterações inflamatórias musculares são multifocais e se fazem inicialmente em tórno de fibras destruídas pelos parasitos. Até aqui pudemos verificar que as fibras musculares na miosite chagásica podem sofrer destruição por dois mecanismos distintos, bem evidenciáveis nas fases iniciais da infecção pelas duas cêpas que estudamos: a inflamação do interstício muscular e o parasitismo direto das fibras. Nas fases mais tardias, especialmente nas infecções com a *cêpa colombiana*, surge um outro fator, representado pelas lesões de arteriolite necrotizante. Estas lesões já foram observadas por Brito e Vasconcelos (6) em esôfagos de pacientes chagásicos, por Okumura et al. (12) em intestinos de camundongos e por Abath e Aarão (1) em músculo esquelético também de camundongos. Estudo de animais com



infecção prolongada (4) mostra que estas lesões vasculares podem ser observadas em vários órgãos, inclusive no sistema nervoso central. As suas características morfológicas de lesão arteriolar focal com necrose fibrinoide e hialina, sugerem fortemente a implicação de fatores de hipersensibilidade na sua patogenia. Lesões musculares isquêmicas ou de vizinhança poderão surgir em consequência destas alterações vasculares. Por sua vez, a presença de lesões musculares, por qualquer dos mecanismos acima aventados, suscita uma série de reações mesenquimais tendentes à remoção de detritos celulares por células histiocitárias, à reparação fibrosa e à regeneração muscular. Esta última se processa ativamente, uma vez que muita fibras isoladas sofrem necrose, deixando aparentemente intacto o revestimento sarcolemal, o que tem sido considerado uma condição adequada para a regeneração muscular (9).

As modificações histopatológicas resultantes da ação destes variados fatores concorrem para formar um quadro polimorfo na miosite chagásica experimental, quadro este que tentamos interpretar nas suas implicações com a patologia geral da doença.

#### SUMMARY

An experimental study on the pathogenesis of muscular changes observed during infection of mice with two different strains of *T. cruzi* revealed three fundamental pathways for skeletal muscle destruction: 1) interstitial inflammation, due to the parasites; 2) direct muscular parasitism; 3) necrotizing arteriolitis, possibly of hypersensitive nature.

Following muscular destruction, mesenchymal changes appear leading to phagocytosis of muscular debris, fibrous replacement and skeletal muscle regeneration. All these features contribute to form the variegated histological appearance of experimental Chagas' myositis.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 — ABATH, G.M. & CARVALHO, J.A.M. — Histopathology of skeletal muscle in experimental Chagas'disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 15:135-140, 1966.
- 2 — ANDRADE, S.G. & ANDRADE, Z.A. — Doença de Chagas e Alterações neuronais no plexo de Auerbach (Estudo experimental em camundongos). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 8:219-224, 1966.
- 3 — ANDRADE, S.G. & ANDRADE, Z.A. — Estudo histopatológico comparativo das lesões produzidas por duas cépas do *Trypanosoma cruzi*. "O Hospital", Rio de Janeiro, 70:1.267-1.278, 1966.
- 4 — ANDRADE, S.G. & ANDRADE, Z.A. — Patologia da Doença de Chagas experimental de longa duração. (Enviado para publicação).
- 5 — BRENER, Z. — Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da Doença de Chagas, Belo Horizonte, 1961, Tese.

- 6 — BRITO, T. & VASCONCELOS, E. — Necrotizing arteritis in megaesophagus (Histopathology of ninety one biopsies taken from the cardia). *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 1:195-206, 1959.
- 7 — CHAGAS, C. — Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral dos estudos etiológicos e clínicos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 3:219-275, 1911.
- 8 — FEDERICI, E.E., ABELMANN, W.B. & NEVA, F.A. — Chronic and progressive myocarditis and myositis in C3H mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 13:272-280, 1964.
- 9 — GILBERT, R.K. & HAZARD, J.B. — Regeneration in human skeletal muscle. *J. Path. Bact.* 89:503-512, 1965.
- 10 — MAYER, M. & ROCHA LIMA, H. — El comportamiento del *Schizotrypanum cruzi* en animales homeotermicos y artrópodos. *Arch. Venezolanas de Pat. Trop. Paras. Médica.* 2:9-49, 1954.
- 11 — MUNIZ, J. & AZEVEDO, A.P. — Nôvo conceito da patogenia da "Doença de Chagas" (Trypanosomiasis americana). *O Hospital, Rio de Janeiro*, 32:165-183, 1947.
- 12 — OKUMURA, M.; BRITO, T.; SILVA, L.H.P.; SILVA, A.C. & CORRÊA NETTO, A. — The pathology of experimental Chagas' Disease in mice. I. Digestive tract changes with referenes to Necrotizing arteritis. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 2:17-28, 1960.
- 13 — PRATA, A. & PORTO, G. — Biopsia de músculo na Doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 8:193-196, 1966.
- 14 — ROMAÑA, C. — Contribuição ao conhecimento da Tripanosomiase Americana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 39:253-264, 1943.
- 15 — SILVA, L.H.P. & NUSSENZWEIG, V. — Sobre uma cêpa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Cl. Biol.* 20:191-208, 1953.
- 16 — TAFURI, W.L. & BRENER, L. — Lesões dos plexos de Meissner e de Auerbach do intestino do camundongo albino na fase crônica da tripanosomiase cruzi experimental. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 9:149-154, 1967.
- 17 — VIANNA, G. — Contribuição para o estudo da anatomia patolójica da "Moléstia de Carlos Chagas". *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 3:276-293, 1911.

Recebido para publicação em 10/8/67.