

Correlação Clínico-Patológica na Forma Indeterminada da Doença de Chagas Experimental do Cão

Augusto Scalabrini, Antenor Cardoso, Sonia G. Andrade, Zilton A. Andrade
São Paulo, SP - Salvador, BA

Objetivo - Investigar o componente funcional cardíaco da forma indeterminada da doença de Chagas experimental do cão.

Métodos - Quatro cães na fase crônica indeterminada da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* e oito controles não infectados foram submetidos a uma série de testes invasivos, com ou sem bloqueio autonômico total, para explorar a função sinusal e o tempo de condução do estímulo elétrico. Os exames histológicos do coração e do sistema de gênese e condução do estímulo cardíaco foram realizados em todos os casos.

Resultados - Os cães infectados apresentaram miocardite focal, discreta a moderada, enquanto os controles exibiram tecidos histologicamente normais. Não houve diferença significativa entre os grupos infectado e controle no limiar de excitabilidade cardíaca, no tempo de condução intra e interatrial e no tempo de recuperação do nó sinusal após excitação.

Conclusão - A miocardite focal discreta ou moderada, característica da forma indeterminada da doença de Chagas, encontrada em graus variáveis nos animais investigados, não mostrou potencial para alterar os testes sensíveis de função cardíaca que foram empregados. Sugere-se que casos da forma indeterminada com positividade para testes exploratórios mais sensíveis devem ter lesões mais graves que as descritas para a forma indeterminada da doença de Chagas, possivelmente indicativas do início da forma crônica progressiva.

Palavras-chave: doença de Chagas, forma indeterminada, miocardite focal

A forma indeterminada da doença de Chagas é definida como aquela em que o indivíduo se apresenta com evidências sorológicas e/ou parasitológicas de infecção pelo

Clinico-Pathological Correlation in the Indeterminate Form of Experimental Chagas' Disease in Dogs

Purpose - To study the functional cardiac component of the indeterminate form of experimental Chagas' disease in dogs.

Methods - Four dogs chronically infected with *Trypanosoma cruzi* and eight normal controls were used. They were submitted to several invasive procedures, either in the presence of complete autonomic block or not, to test for disturbances in the origin and conduction of electric stimuli and the function of cardiac muscle. Histological examination of the heart and its conduction systems was performed in all animals.

Results - Mild to moderate focal myocarditis was found in infected dogs, often involving the conduction system of the heart. Sections of the heart from control dogs were histologically normal. Functional data on excitability, intra and interatrial conduction time and sinus node recovering time were essentially similar for both infected and control animals.

Conclusion - Focal myocarditis, the hallmark of the indeterminate form of Chagas' disease, did not alter the normal parameters of cardiac function, as seen after investigation with sensitive invasive techniques. It is probable that subjects considered as belonging to the indeterminate form of Chagas' disease, but presenting mild alterations at sensitive exploratory tests, may have more severe lesions than that usually described or may be already in the early progressive cardiac form of the disease.

Key-words: Chagas' disease, indeterminate form, focal myocarditis

Trypanosoma cruzi, estando assintomático e com o eletrocardiograma (ECG) e o estudo radiológico do coração e do tubo digestivo dentro dos limites da normalidade. Todavia, admite-se que alguns indivíduos dentro desta categoria, quando submetidos a testes exploratórios funcionais mais refinados, podem apresentar alterações cardíacas^{1,2}. Não há consenso quanto à classificação destes últimos casos, pois, realmente, não sabemos qual o significado dos achados obtidos. Têm havido tentativas de correlação anatomoclínica através do emprego de biopsias cardíacas em pacientes em diferentes estágios da doença de Chagas^{3,4}. Todavia,

os resultados têm sido pouco expressivos e não são propriamente relevantes para a pergunta crucial: indivíduos tidos como pertencentes à forma indeterminada da doença de Chagas, mas com testes funcionais mais sofisticados alterados, são mesmo indeterminados ou já estão no início da forma crônica cardíaca progressiva? Para responder esta pergunta necessitamos saber qual a expressão funcional da miocardite crônica focal, disseminada, mas discreta, que representa o substrato morfológico da forma indeterminada da doença de Chagas. Este problema é difícil de ser abordado em pacientes humanos, devido à exigüidade do material obtidos nas biopsias cardíacas e pelas dificuldades em se fazer uma exploração funcional adequada para correlação anatomofisiológica, devido a problemas éticos.

A presente investigação recorre ao modelo canino para tentar responder qual o significado funcional das lesões comumente encontradas em portadores da forma indeterminada da doença de Chagas, uma vez que o quadro histológico encontrado nos animais é bem representativo desta forma da doença no homem^{5,6}.

Métodos

Quatro cães de raça indefinida, com aproximadamente três meses de idade, foram inoculados intraperitonealmente com 25.000 tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi* por quilo de peso, obtidos do sangue de camundongos. Os pesos iniciais e finais dos animais, bem como os inóculos, encontram-se na tabela I. Todos os cães apresentaram parasitemia positiva ao exame direto do sangue periférico, embora em baixos níveis, em torno dos 24 até 30 dias após a inoculação. Os animais não desenvolveram sinais clínicos evidentes de doença durante a fase aguda da infecção, permanecendo aparentemente bem e ativos. Foram feitos ECG de rotina, com as 12 derivações clássicas, um dia antes e um mês após a inoculação e retirado sangue para exames sorológicos.

Oito cães adultos jovens, aparentemente normais, machos e fêmeas, foram obtidos na cidade de São Paulo e usados como controle para os testes funcionais. Todos os cães foram submetidos aos seguintes procedimentos: com anestesia pelo tionembutal e manutenção pelo halotano, os cães foram submetidos a uma toracotomia lateral direita, ao nível do 4º espaço intercostal e, em seguida, a uma pericardiotomia. Foram então fixados eletrodos de marcapasso (*monicrom*) em átrio esquerdo (AE), átrio direito alto

(ADa) e átrio direito baixo (ADb), fazendo-se depois a tunelização dos eletrodos até o dorso. Foram avaliados os seguintes parâmetros: o limiar de excitação do ADa, do ADb e do AE, o período refratário efetivo e o funcional (PRE e PRF), respectivamente, em 200 e 400ms, o tempo de recuperação do nó sinusal (TRNS), respectivamente, em 150 e 200ms, os tempos de condução atrial: átrio direito alto-átrio esquerdo baixo (AaAb) e átrio direito-átrio esquerdo (AaAe) em, respectivamente, 150, 200, 300, 400 e 500ms. Estas medidas foram tomadas com e sem bloqueio autonômico total pela técnica de José e Taylor⁷. O bloqueio foi obtido após injeção simultânea e intravenosa de propranolol (2,25mg/kg) e atropina (0,4mg/kg).

Os gráficos foram registrados utilizando-se o polígrafo Goldman, modelo ES2000, com registro eletrostático e com as medidas tomadas através de mesa digitalizadora Kurta, modelo ES/ONE, acoplada a microcomputador 385SX com software dedicado.

Os corações foram fixados *in totum* em formol a 10% durante pelo menos quatro dias. Tiveram as suas cavidades distendidas pela injeção do fixador no seu interior, após os vasos terem sido ligados. Secções da face livre dos ventrículos, de ambos os átrios e do septo interventricular foram incluídas em parafina e as secções obtidas foram coradas pela hematoxilina e eosina. Uma porção que incluía a parte alta do septo interventricular e a parte baixa do septo interatrial, situada entre o seio coronário e o início do septo membranoso foi retirada para o estudo do sistema de condução. Este bloco foi dividido em duas partes iguais e seccionado em cortes escalonados. Para o estudo do nódulo sino-atrial (NSA) a porção do músculo atrial situada em torno da desembocadura da veia cava superior foi retirada e cortada em vários fragmentos, que foram totalmente incluídos em parafina e cortados escalonadamente. As secções para o estudo do sistema de condução e do NSA foram também coradas pelo tricrômico de Masson.

Resultados

Não foram observadas alterações macroscópicas evidentes em qualquer dos casos. Nas cadelas infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* o peso do coração variou de 95 a 118g (média 102,25). Nos animais controles a variação foi de 77 a 116g (média 86,75). Os achados do estudo funcional estão discriminados na tabela II. Pode-se ver que não houve diferenças significantes entre os diversos parâmetros avaliados nos animais infectados e nos controles, seja com ou sem bloqueio autonômico total.

As secções obtidas dos corações dos animais controles mostraram músculo cardíaco sem qualquer alteração. Nos quatro animais infectados pelo *Trypanosoma cruzi* havia pequenos focos de inflamação mononuclear intersticial, distribuídos esparsamente e observados em todas as secções examinadas, especialmente nos átrios e nas porções altas do septo interventricular. Algumas alterações encontradas no epicárdio atrial, como a presença de focos hemorrágicos

Tabela I - Pesos e inóculos de quatro cadelas infectadas com tripomastigotas do *trypanosoma cruzi*, cepa Colombiana

Nº	Peso inicial (g) (aos 3 meses)	Peso final (g) (aos 7 meses)	Inóculo* (tripomastigotas)
1	2.800	8.500	71.250
2	2.700	6.000	67.800
3	2.500	7.800	57.250
4	3.300	8.200	82.500

* correspondentes a 25.000 por kg de peso corporal

Tabela II - Exploração funcional cardíaca em cães

Parâmetros	Controles		Chagas		C	BaXBAT:Cont. X Chagas		
	Basal	BAT	Basal	BAT		Ch	Ba	BAT
Limiar ADA	1,58±0,11	1,83±0,12	2,25±0,28	2,81±0,30	NS	NS	NS	NS
Limiar ADB	1,70±0,15	2,13±0,27	3,63±0,45	3,75±0,47	NS	NS	NS	NS
Limiar AE	0,95±0,12	1,17±0,22	4,25±0,53	2,83±0,55	NS	NS	NS	NS
PRE-400	148,00±6,56	165,77±8,79	132,73±5,93	139,09±3,92	NS	NS	0,05	0,01
PRF-400	151,67±6,65	169,62±7,13	128,18±5,85	134,09±3,92	NS	NS	0,01	0,01
PRE-200	139,33±6,98	157,77±11,05	122,27±4,23	126,82±3,32	NS	0,04	0,02	0,03
PRF-200	142,31±7,52	151,25±5,44	117,27±4,23	121,82±3,32	NS	0,04	0,01	0,01
TRNS-150	826,00±105,48	654,00±48,33	523,67±65,72	502,54±22,54	NS	NS	NS	NS
TRNS-200	1104,00±192,66	660,00±56,30	498,31±50,34	493,71±21,77	NS	NS	0,03	0,04
TCAaAb-150	20,20±1,43	21,00±1,00	19,91±2,72	24,48±7,13	NS	NS	NS	NS
TCAaAb-200	20,00±1,58	21,60±1,03	19,92±3,08	24,85±4,35	NS	NS	NS	NS
TCAaAb-300	20,40±1,29	21,20±0,97	22,43±2,57	24,59±4,88	NS	NS	NS	NS
TCAaAb-400	21,40±0,98	22,80±2,80	25,19±3,42	21,78±5,04	NS	NS	NS	NS
TCAaAb-500	23,00±2,00	20,00±0,00	21,83±3,35	20,30±4,29	NS	NS	NS	NS
TCAaAe-150	34,50±2,22	36,25±2,39	33,15±5,11	30,27±11,66	NS	NS	NS	NS
TCAaAe-200	31,00±1,35	35,00±2,04	29,98±4,74	34,25±6,70	NS	NS	NS	NS
TCAaAe-300	34,00±2,45	33,75±2,39	31,65±7,87	34,07±6,16	NS	NS	NS	NS
TCAaAe-400	33,50±2,53	32,25±1,31	34,28±2,87	35,99±0,71	NS	NS	NS	0,05
TCAaAe-500	33,75±2,39	34,50±0,50	35,93±7,48	38,07±5,07	NS	NS	NS	NS

BAT- bloqueio autonômico total; C- controles; Ch- doença de Chagas, Ba- basal

recentes e infiltração de leucócitos polimorfonucleares neutrófilos, foram correlacionadas com a manipulação da área para a colocação de eletrodos.

A frequência e intensidade das alterações inflamatórias focais variaram nos diferentes animais, sendo consideradas discretas em dois e moderadas nos outros dois. Fora dos focos inflamatórios, o miocárdio tinha aparência essencialmente normal, o que ocorreu em mais de 90% das áreas estudadas microscopicamente. Os focos de infiltração (fig. 1) eram constituídos principalmente por linfócitos, plasmócitos e alguns macrófagos. Por vezes surgia um ligeiro espessamento do estroma fibroso, especialmente quando o infiltrado tinha localização perivascular. A presença de discreta infiltração inflamatória foi vista também nas secções tomada do NSA (fig. 2), e nas proximidades da bifurcação do ramo direito e da divisão anterior do ramo esquerdo do feixe de His (fig. 3). Os plexos nervosos situados no subepicárdio atrial direito não mostravam alterações inflama-

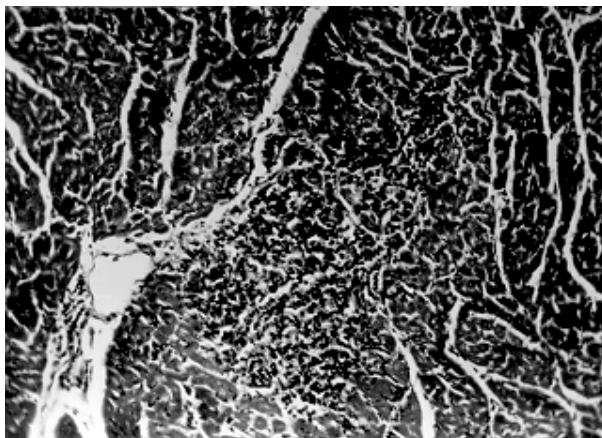


Fig. 1 - Miocardite crônica focal da forma indeterminada da doença de Chagas. Infiltrado focal de predominância linfocitária em pleno miocárdio do ventrículo esquerdo de um cão com infecção crônica pelo *Trypanosoma cruzi*. Hematoxilina-eosina, 200 X.

tórias. Também os neurônios parassimpáticos destes gânglios não exibiam redução numérica evidente e sempre tinham sua estrutura preservada.

Discussão

Os achados obtidos com o presente estudo demonstram que a presença de uma miocardite focal, disseminada e discreta, marca registrada da forma indeterminada da doença de Chagas observada no homem⁸ e nos animais expe-



Fig. 2 - Nódulo sinusal de um cão com a forma indeterminada da doença de Chagas. Há ligeiro espessamento fibroso do epicárdio, o qual exhibe discreto e difuso infiltrado mononuclear. Entre as fibras específicas do nódulo há raros leucócitos esparsos. Hematoxilina-eosina, 100 X.

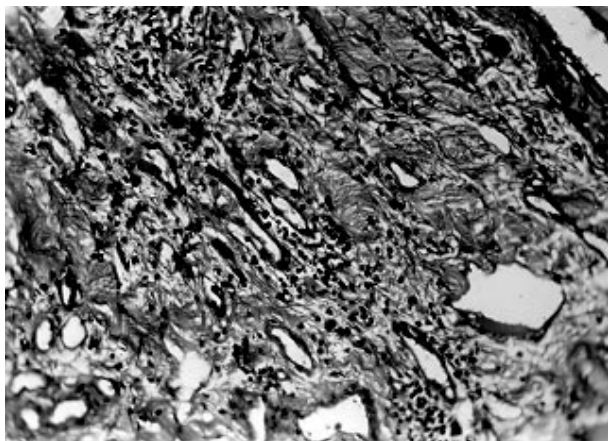


Fig. 3 - Tecido fibroso ricamente vascularizado e com focos de infiltração mononuclear encontrado no anel fibroso do coração de cão com infecção crônica pelo *Trypanosoma cruzi*. Esta área está nas proximidades da divisão do feixe de His para a saída do ramo direito e da divisão anterior do ramo esquerdo. Hematoxilina-eosina, 400 X.

rimientais^{5,6}, não foi capaz de alterar os diversos testes utilizados para se explorar a integridade do sistema nervoso autonômico cardíaco, do NSA, da condução intra e interatrial e do sistema de condução do coração. Estes dados sugerem que, para alterar tais testes, seriam necessárias lesões mais extensas ou mais graves do que as aqui observadas. Devemos reconhecer que os cães do presente experimento tiveram uma fase aguda da infecção relativamente leve, mas os achados da forma indeterminada, no que diz respeito à miocardite focal, são inteiramente comparáveis aqueles obtidos em animais que sobreviveram a uma fase aguda muito grave⁵. A diferença é que, nestes últimos, restaram lesões cicatriciais, algumas extensas, muitas comprometendo o sistema excito-condutor do coração que certamente poderiam acarretar alterações dos testes agora em-

pregados⁹. Portanto, tentando uma transposição para a doença humana, não se pode excluir a possibilidade de que alguns portadores da forma indeterminada e positividade para testes exploratórios mais refinados estejam revelando lesões cicatriciais, sem potencial evolutivo.

Vários autores têm chamado a atenção para manifestações de disfunção autonômica que podem ser detectadas em chagásicos assintomáticos^{10,11}. As anormalidades observadas em estudos eletrofisiológicos podem chegar a atingir quase metade dos chagásicos assintomáticos (43,1%), com até 18,1%, exibindo disfunção do nódulo sinusal¹². Entretanto, em estudos deste tipo, os casos controles são essenciais, pois alterações observadas em chagásicos assintomáticos através da eletrocardiografia dinâmica não diferiram essencialmente do que se pode observar em controles não chagásicos¹³.

Todavia, o que o presente estudo revela é que os testes funcionais aqui utilizados ainda são relativamente grosseiros para revelar o acontecimento cardíaco por um processo inflamatório crônico focal bem evidente. Desta maneira, a investigação agora realizada em cães sugere que a presença de alterações nos testes exploratórios mais refinados da fisiologia cardíaca em supostos portadores da forma indeterminada da doença de Chagas pode estar revelando algo mais grave que o habitual para esta forma da doença. Pode inclusive ser a presença de lesões residuais deixadas por uma fase aguda grave ou então o início da forma crônica cardíaca progressiva. Saber qual dos dois casos está acontecendo, só o potencial evolutivo clínico poderá esclarecer, mas temos agora justificativas para um melhor entendimento do significado dos testes na forma indeterminada da doença de Chagas e mesmo razões para a instituição de um tratamento etiológico para os pacientes em questão.

Referências

1. Comunicação. Validade do conceito de forma indeterminada da doença de Chagas. (1ª Reunião de Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas). Rev Soc Bras Med Trop 1985; 18: 46.
2. Pereira Barretto AC, Mady C - Forma indeterminada da doença de Chagas. Arq Bras Cardiol 1986; 47: 299-302.
3. Mady C, Pereira Barretto AC, Ianni BM et al - Right ventricular endomyocardial biopsy in undetermined form of Chagas' disease. Angiology 1984; 35: 755-9.
4. Palacios-Pru E, Carrasco H, Scorza C et al - Ultrastructural characteristics of different stages of human chagasic myocarditis. Am J Trop Med Hyg 1989; 41: 29-49.
5. Andrade ZA - The canine model of Chagas' disease. Mem Inst Oswaldo Cruz 1984; 79: 77-83.
6. Pifano FC, Anselmi M, Dominguez AC et al - La electrofisiología del corazón chagásico en condiciones experimentales y su correlación con la miocardiopatía del hombre. Rev Venezol San Assist Social 1966; 31: 91-102.
7. Jose AD, Taylor RR - Autonomic blockade by propranolol and atropine to study intrinsic myocardial function in man, J Clin Invest 1969; 48: 2019.
8. Lopes ER, Chapadeiro E, Andrade ZA et al - Anatomia patológica de corações de chagásicos assintomáticos falecidos de modo violento. Mem Inst Oswaldo Cruz 1981; 76: 189-97.
9. Andrade ZA, Andrade SG, Sadigursky M - Damage and healing in the conducting tissue of the heart. An experimental study in dogs infected with trypanosoma cruzi. J Patol 1984; 143: 93-101.
10. Junqueira Jr LF - Sobre o possível papel da disfunção autonômica cardíaca na morte súbita associada à doença de Chagas. Arq Bras Cardiol 1991; 56: 420-34.
11. Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C et al - Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas' disease as detected by thallium-201 scintigraphy. Am J Cardiol 1992; 15: 780-4.
12. Pimenta J, Miranda M, Pereira CB - Electrophysiologic findings in long-term asymptomatic chagasic individuals. Am Heart J 1983; 106: 374-80.
13. Pereira Barretto AC, Bellotti G, Sosa E et al - Arritmias e a forma indeterminada da doença de Chagas. Arq Bras Cardiol 1986; 47: 197-9.