

## HIPOTÁLAMO ANTERIOR NA MOLÉSTIA DE CHAGAS HUMANA

Reynaldo de Britto COSTA <sup>(1)</sup> e Richardo Antonio GALLINA <sup>(2)</sup>

### RESUMO

Baseados em observações de natureza clínica que sugerem um comprometimento do hipotálamo na moléstia de Chagas os Autores fazem um estudo microscópico do hipotálamo anterior de indivíduos chagásicos crônicos por meio do método da hematoxilina crômica de Gomori. Além de uma desnervação, constataram um aumento da substância Gomori-positiva e a presença de corpos de Herring exuberantes e anormais, em 35% dos casos.

### INTRODUÇÃO

O comprometimento do sistema nervoso central na moléstia de Chagas é conhecido desde a sua descoberta. JARDIM <sup>5</sup>, fez excelente revisão sobre o assunto.

Várias observações, de natureza clínica, parecem mostrar que em pacientes chagásicos crônicos existem alterações hipotalâmicas caracterizadas por uma perturbação da homeostase que se manifesta em vários setôres: iodoproteinemia (LOMÔNACO <sup>9</sup>), glicemia (REIS <sup>12</sup>), equilíbrio hidro-salino (BORGES <sup>2</sup>, VIEIRA & col. <sup>14</sup>) termorregulação (VIEIRA <sup>13</sup>, JARDIM <sup>4</sup>).

Em vista da ausência de um estudo morfológico, até o momento, do hipotálamo na referida moléstia, decidimo-nos a realizar a presente investigação. Dadas, porém, sua complexidade e multiplicidade de funções limitamo-nos ao estudo do hipotálamo anterior (núcleos supraóptico e paraventricular), fazendo uma avaliação quantitativa dos elementos nervosos dos primeiros e observando a substância Gomori-positiva em ambos. Segundo BARGMANN <sup>1</sup> esta substância corresponde à "neurosecreção", sendo elaborada, principalmente, pelos neurônios dos núcleos

supraóptico e paraventricular e transportada via feixe hipotálamo-neuro-hipofisário para a neuro-hipófise.

### MATERIAL E MÉTODOS

O material humano estudado no presente trabalho foi obtido de cadáveres autopsiados no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da USP, no decorrer do período que vai de outubro de 1967 a maio de 1969.

Retirávamos um fragmento do encéfalo contendo o hipotálamo anterior, e o colocávamos em líquido de Bouin, por 24 horas. Após inclusão em parafina foram realizados 3 a 5 cortes de cada caso com 7  $\mu$  de espessura que eram corados pelo método da hematoxilina-crômica de Gomori <sup>3</sup>.

Estudamos 80 casos: 40 de indivíduos não chagásicos e 40 de chagásicos crônicos.

1) Baseados nos trabalhos de KÖBERLE <sup>6, 8</sup>, interessava-nos saber se o hipotálamo sofre, igualmente, uma desnervação na mo-

Trabalho realizado com auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (biológicas 69/335)

- (1) Livre-Docente do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da U.S.P. (Serviço do Prof. Fritz Köberle), São Paulo, Brasil
- (2) Assistente do Departamento de Neurologia da mesma Faculdade (Serviço do Prof. Jorge Armbrust de Lima Figueiredo), São Paulo, Brasil

léstia de Chagas. Porém, para fazer uma avaliação quantitativa desta natureza, de acôrdo com os métodos usados pelo referido Autor, seria necessário escolher um núcleo hipotalâmico que, pela sua delimitação, permitisse uma contagem comparativa entre os dois grupos estudados. Isto, entretanto, de acôrdo com observações feitas em nosso material, nos pareceu impraticável pois, além da delimitação dos núcleos não ser muito perfeita, suas extensões são de tal ordem que nos obrigariam a fazer milhares de cortes num estudo seriado.

Procurando um método para simplificar estas avaliações quantitativas verificamos que, em gânglios nervosos da cadeia simpática, pode-se conseguir uma estimativa da população neuronal, por meio da simples contagem do número de células nervosas existentes em 100 campos microscópicos.

Aplicamos assim, êste método de contagem ao núcleo supraóptico de três casos de não chagásicos e de três de chagásicos crônicos, escolhidos ao acaso, usando ocular 10 x e objetiva 100 x. No presente estudo foram suficientes apenas 89 campos microscópicos para a análise estatística.

Os casos em que procedemos à contagem foram os seguintes:

não chagásicos	chagásicos
n.º 18	n.º 5
n.º 21	n.º 19
n.º 36	n.º 37

2) Uma tentativa de avaliação da atividade funcional das células dos núcleos su-

$$\text{não chagásicos } \bar{x}_1 = 12,85 \quad s_1^2 = 21,04 \quad s_1 = 4,59$$

$$\text{chagásicos } \bar{x}_2 = 6,53 \quad s_2^2 = 10,9 \quad s_2 = 3,30$$

Nosso objetivo era testar a hipótese de que a média do número de neurônios por campo,

$$H_0 : M_c = M_c^-$$

$M_c$  = média do número de neurônios por campo em indivíduos chagásicos

$$H_1 : M_c \text{ menor do que } M_c^-$$

$M_c^-$  = média do número de neurônios por campo em indivíduos não chagásicos.

$$\text{Temos: } n_1 = n_2 = 267$$

praópticos dos 80 casos examinados foi feita por meio da contagem de neurônios contendo granulações Gomori-positivas em 100 células examinadas de cada caso.

## RESULTADOS

### 1) Avaliação quantitativa dos neurônios do núcleo supraóptico

Os resultados médios da contagem de neurônios por campo microscópico, nos núcleos supraópticos dos três casos de indivíduos não chagásicos e dos três casos de indivíduos chagásicos estão expostos na Tabela I.

TABELA I

Média do número de neurônios por campo microscópico no núcleo supraóptico de três casos de indivíduos não chagásicos e três de chagásicos crônicos, em 89 campos (oc. 10 X, obj. 100 X)

	Não chagásicos			Chagásicos		
caso n.º	18	21	36	5	19	37
média	14,92	11,56	12,09	6,08	6,69	6,83

*Análise dos resultados:* Em virtude da homogeneidade observada dentro de cada grupo resolvemos agrupar suas contagens com o fim de estudar as duas populações.

Médias do número de neurônios por campo:

Usamos um teste de diferença de médias de populações com variâncias diferentes e desconhecidas. O tamanho da amostra permite usar a distribuição normal com a dis-

tribuição da variável média de neurônios por campo, em amostras de tamanho  $n = 267$

Calculamos então:

$$y = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} = \frac{6,32}{\sqrt{\frac{21,04}{267} + \frac{10,9}{267}}} = 18,51$$

Para  $n_1 + n_2$ ,  $y$  tem distribuição de Student com 266 graus de liberdade e o valor observado nos leva à rejeição da hipótese  $H_0$  a um nível de alfa = 0,01.

2) Os resultados percentuais de neurônios do núcleo supraóptico contendo granulações Gomori-positivas estão relacionados na Fig. 1.

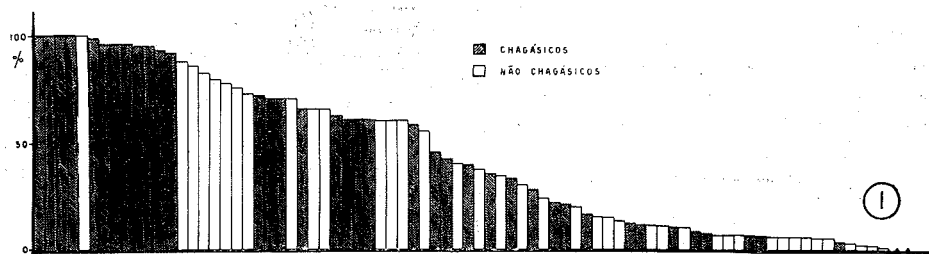


Fig. 1 — Percentuais de neurônios do núcleo supraóptico contendo granulações Gomori-positivas dos 40 casos de não chagásicos e dos 40 chagásicos crônicos, dispostos em ordem de grandeza.

A análise estatística (chorrilho) dos resultados não mostrou diferença significativa entre os dois grupos estudados embora o exame do gráfico anterior mostre uma tendência dos chagásicos a se agrupar na parte inicial do mesmo.

Não obstante estes resultados não mostrarem diferença estatisticamente significativa, eles não exprimem o fenômeno em toda sua extensão, pois a quantidade de granulações Gomori-positivas, por célula nervosa é, segundo nossas observações, maior nos casos de chagásicos do que nos de não chagásicos. Para melhor evidenciar este fato fotografamos os neurônios dos núcleos supraópticos dos casos de não chagásicos que apresentaram maior quantidade de substância Gomori-positiva, pois ainda não se conhece um método eficaz de avaliação quantitativa desta substância. O mesmo se fez com os casos de chagásicos (Figs. 2, 3 e 4). O exa-

me destas fotomicrografias mostra que nos casos de não chagásicos há um contraste entre a cor da substância cromófila e a cor do citoplasma, que é mais claro. Já nos casos de chagásicos este contraste desaparece, tornando-se difícil identificar a substância cromófila, o que se deve à maior intensidade de coloração do citoplasma devido à maior quantidade de material Gomori-positivo. Além disso, deve-se notar que os axônios estão bem nítidos nos chagásicos, em consequência do mesmo fato.

Outro achado que fala a favor de um aumento da "neuro-secreção" nos casos de chagásicos é a exuberância com que aparecem os chamados corpos de Herring nestes indivíduos. Em 14 casos (35%) estes acúmulos logo nos chamaram a atenção pois nunca foram encontrados, nos casos de não chagásicos, nesta intensidade (Figs. 5 a 10).

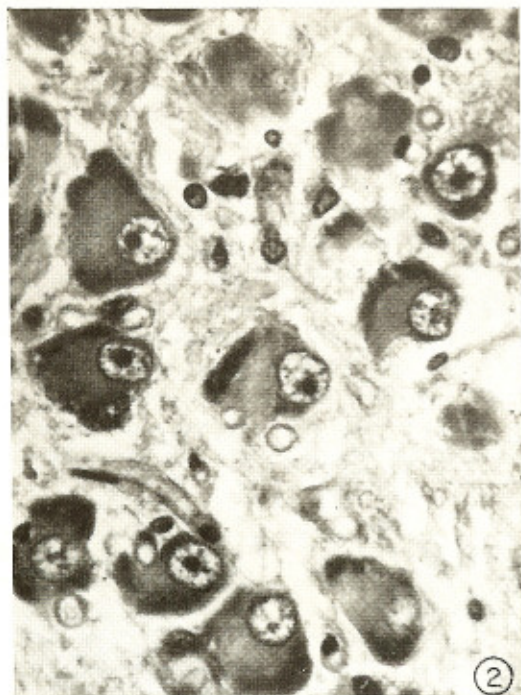
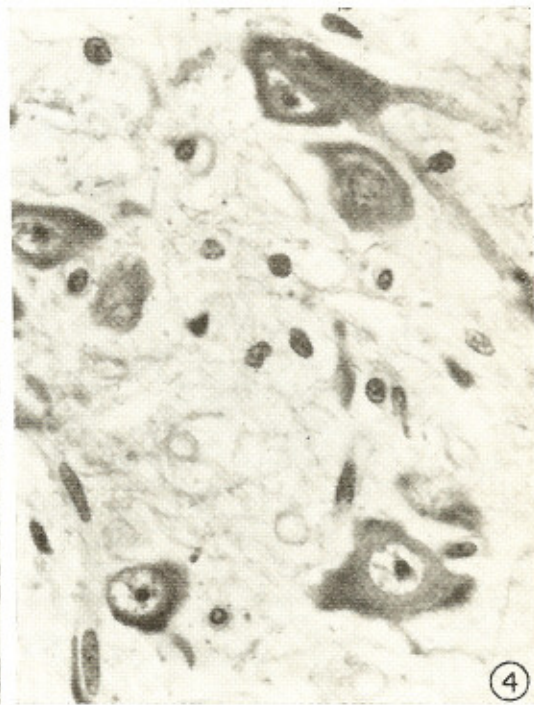
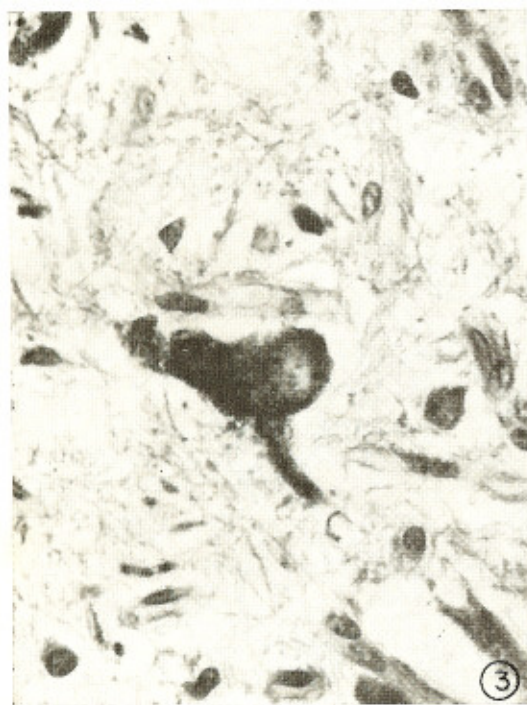


Fig. 2 — Neurônios do núcleo supraóptico de um indivíduo não chagásico (caso n.º 26). Nota-se que a substância cromófila é facilmente evidenciável apesar do citoplasma estar carregado de granulações Gomori-positivas. Hematoxilina-crômica de Gomori. 1440 X

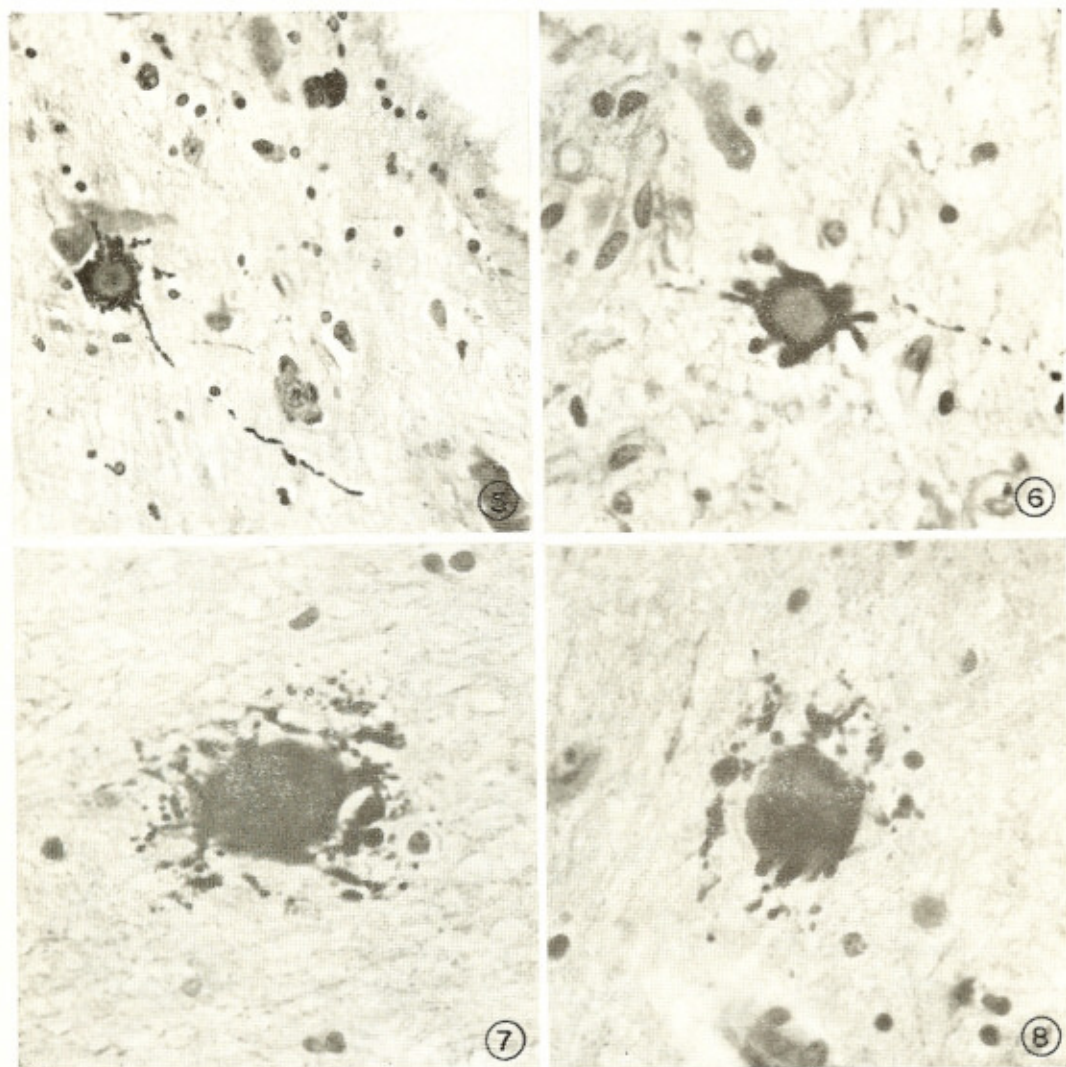


Figs. 3 e 4 — Neurônios do núcleo supraóptico de dois indivíduos chagásicos (casos n.º 24 e 25, respectivamente). Observe-se que a quantidade de granulações Gomori-positivas é de tal ordem que fica difícil, senão impossível, evidenciar-se substância cromófila. Note-se ainda a nitidez com que aparecem os prolongamentos, carregados da mesma substância. Hematoxilina-crômica de Gomori. 1440 X

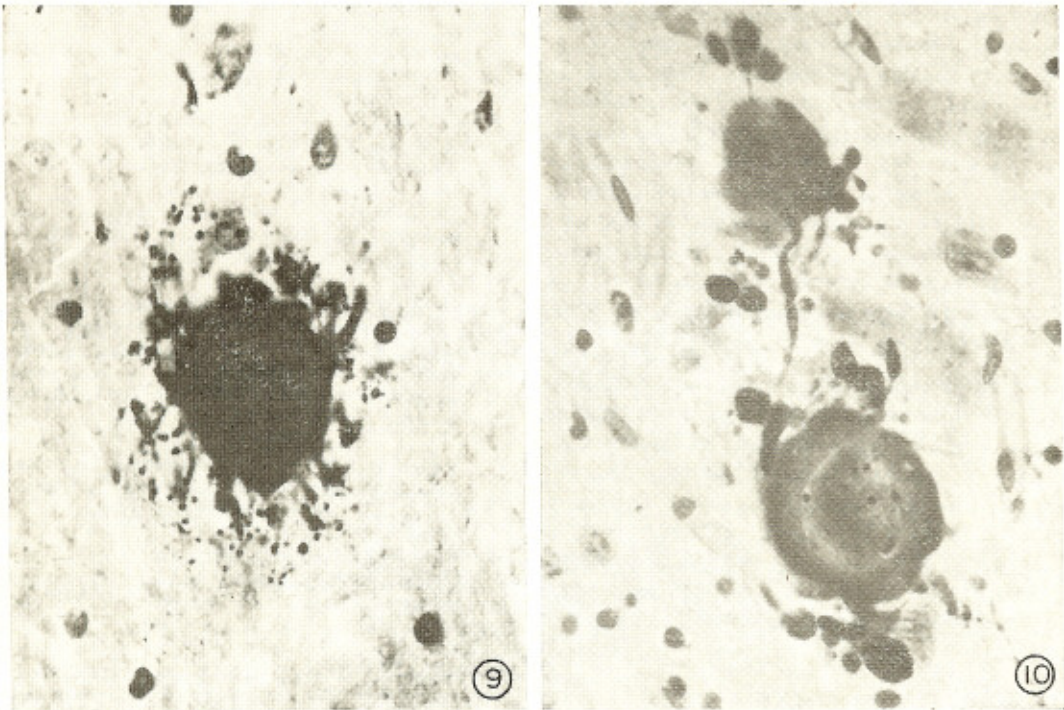
#### DISCUSSÃO

O despovoamento neuronal dos núcleos supraópticos não constitui surpresa para nós, pois a desnervação na moléstia de Chagas é um fato sobejamente comprovado pelos estudos sistematizados de KÖBERLE e seus colaboradores<sup>8</sup>. Lembramos, porém, que o grau de desnervação varia de um indivíduo para outro, podendo, inclusive ser muito discreta ou até mesmo não existir num determinado

setor ou setores do sistema nervoso central ou periférico e ser suficientemente acentuada em outras áreas a ponto de se exteriorizar clínica e/ou morfológicamente por meio de uma das "patias" chagásicas. Segundo KÖBERLE & ALCÂNTARA<sup>7</sup>, na fase tissular do parasitismo pelo *T. cruzi*, após a ruptura dos pseudo-cistos com libertação das formas em leishmânias, estas se desintegrariam e libertariam uma substância tóxica que, por sua vez iria determinar as lesões neuronais.



Figs. 5, 6, 7 e 8 — Corpos de Herring encontrados em 4 indivíduos chagásicos, geralmente situados em posição medial ao núcleo supraóptico, no início do tracto hipotálamo-neuro-hipofisário. (Casos n.ºs 2, 6, 30 e 37, respectivamente). Hematoxilina-crômica de Gomori. (Fig. 5), 500 X. (Figs. 6, 7 e 8), 1440 X



Figs. 9 e 10 — Corpos de Herring encontrados em dois indivíduos chagásicos (casos n.ºs 9 e 10, respectivamente). Hematoxilina-crômica de Gomori. 1440 X

PRATES-CAMPOS<sup>11</sup> estudando a síntese protéica das células de Purkinje do cerebelo de ratos inoculados com *T. cruzi*, através da administração da DL leucina e da 4-5T (leucina H<sub>3</sub>) e por meio da técnica radio-autográfica, constatou uma disfunção metabólica da célula nervosa, traduzida por queda da síntese protéica. Verificou ainda, o mesmo Autor que, esta alteração se processava na ausência de infiltração inflamatória local e de parasitismo direto do neurônio e ocorria paralelamente ao parasitismo local das células gliais.

Não encontramos nenhuma referência na literatura sobre o estudo específico do hipotálamo na fase crônica da moléstia de Chagas, seja na espécie humana, ou experimentalmente.

O papel fundamental do hipotálamo no controle da homeostase fala, por si, da importância deste achado na fisiopatologia da fase crônica da moléstia de Chagas. Ficam, assim explicadas, pelo menos parcial-

mente, as anormalidades na regulação da função tireoideana constatadas por LOMÔNACO<sup>9</sup>, as alterações da curva glicêmica observadas por REIS<sup>12</sup>, a sudorese exagerada ao estímulo colinérgico verificada por VIEIRA<sup>13</sup>, a perda hídrica exagerada notada por JARDIM<sup>4</sup>, ao estímulo calórico, em pacientes chagásicos crônicos.

Relativamente ao aumento da substância Gomori-positiva no hipotálamo anterior, não podemos ainda, nos limites deste trabalho, dar uma explicação satisfatória. Da análise dos estudos sobre "neurosecreção" verificamos que uma das poucas condições que aumentam a quantidade deste material no tracto hipotálamo-neuro-hipofisário é a hiper-hidratação (PÉCZELY<sup>10</sup>). Segundo este Autor, a hiper-hidratação interrompe a drenagem da neuro-hipófise e reduz, ou põe em repouso, a atividade portal da eminência mediana. Não conhecemos até o presente momento um estudo que descreva um estado igual ou semelhante a uma hiper-hidratação

na fase crônica da moléstia de Chagas. Estudos ulteriores são necessários para esclarecer o fenômeno descrito. Uma explicação simplista, nem por isso ilógica, poderíamos dar dizendo que em virtude de sua redução numérica, os neurônios remanescentes seriam obrigados a compensar as deficiências através de uma hiperfunção e conseqüente aumento do material "neurosecretório" por célula nervosa, suprimindo ou não as necessidades orgânicas, dependendo do grau da deservação.

Embora esta hipótese possa ser verdadeira, acreditamos que não é suficiente, por si para explicar os distúrbios da homeostase observados nos pacientes chagásicos crônicos. Parece-nos que existem também alterações no transporte e nos níveis do limiar para a liberação dos "releasing factors" hipotalâmicos, o que traria como conseqüência uma disregulação da homeostase.

#### SUMMARY

##### *Anterior hypothalamus in human Chagas' disease*

Based on clinical observations that suggest hypothalamic alterations in Chagas disease the Authors have realized a microscopical study of the anterior region of the hypothalamus from individuals in the chronic stage of this disease by the Gomori chromalum-hematoxylin method. Beside a partial denervation they found a greater amount of Gomori-positive material and the presence of exuberant and abnormal Herring corps in 35% of the cases.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Geraldo Garcia Duarte e à Dra. Maria Aparecida de Paiva do Departamento de Matemática e Estatística Aplicada à Biologia, pela análise dos resultados.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARGMANN, W. — Neurosecretion. *Int. Rev. Cytol.* 19:183-200, 1966.

2. BORGES, C. — Sódio e potássio no megaesôfago chagásico. *Comunicação ao X Congresso Brasileiro de Gastroenterologia*. Belo Horizonte, 21 a 25 de outubro de 1958.
3. GOMORI, G. — Observations with differential stains on human islets of Langerhans. *Amer. J. Path.* 17:395-406, 1941.
4. JARDIM, E. — Sudorese em pacientes com moléstia de Chagas crônica. *Arq. Neuro-Psiquiatria* 25:214-220, 1967.
5. JARDIM, E. — *Estudo das manifestações clínicas e do parasitismo do hipotálamo e do núcleo do terceiro par craneano na moléstia de Chagas experimental aguda, no rato*. Tese de Livre-Docência. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1968.
6. KÖBERLE, F. — Die Chagaskrankheit, eine Erkrankung der neurovegetativen Peripherie. *Wien. Klin. Wschr.* 68:333-343, 1956.
7. KÖBERLE, F. & ALCANTARA, F. G. — Mecanismo da desnutrição neuronal do sistema nervoso periférico na moléstia de Chagas. *Hospital (Rio)* 57:173-178, 1960.
8. KÖBERLE, F. — Chagas' Disease and Chagas' Syndromes: The Pathology of American Trypanosomiasis. *Adv. Parasitol.* 6:63-87, 1968.
9. LOMÓNACO, D. A. — *Estudo da função tireoideana na forma crônica da moléstia de Chagas*. Tese de Livre-Docência. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1962.
10. PÉCZELY, P. — Effect of Thirst and water load on the hypothalamic regulation of the adrenal in the pigeon (Columba Livia domestica). *Acta Morphol. Acad. Sci. Hung.* 14:227-238, 1966.
11. PRATES-CAMPOS, J. C. — Estudo autorradiográfico da síntese protéica dos neurônios de Purkinje na fase aguda da tripanosomiose cruzi experimental. VII Congr. Brasil. Patologia, Ribeirão Preto, S.P., 1968.
12. REIS, L. C. F. — *Estudo sobre anormalidades observadas em curvas glicêmicas na moléstia de Chagas*. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1963.
13. VIEIRA, C. B. — Hipersudação provocada pela pilocarpina na moléstia de Chagas crônica. *Hospital (Rio)* 64:57-67, 1963.
14. VIEIRA, C. B.; MAZZONCINI, M. & LOMÓNACO, D. A. — Variações da potassemia na forma crônica da moléstia de Chagas. *Rev. Paul. Méd.* 66:239-247, 1965.

Recebido para publicação em 23/9/1970.