
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

SECRETARIA
DE
PÓS-GRADUAÇÃO
I. B.

VALDELICE OLIVEIRA BURGOS

***AVALIAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HISTOPATÓLOGICAS DO PÂNCREAS
DE CAMUNDONGOS INFECTADOS EXPERIMENTALMENTE PELA
CEPA RAL DE TRYPANOSOMA CRUZI.***

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Valdelice Oliveira
Burgos
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação de Mestrado
apresentada ao Instituto de
Biologia da UNICAMP para
obtenção do Título de Mestre em
Parasitologia.

Orientador: Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque

**CAMPINAS
- 2002 -**

UNIDADE Be
 Nº CHAMADA T/UNICAMP
B915a
 V EX
 TOMBO BC/ 60858
 PROC 16.837/02
 C DX
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 12/09/02
 Nº CPD

CM00173033-7

313 ID 256997

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

B915a

Burgos, Valdelice Oliveira

Avaliação das alterações histopatológicas do pâncreas de camundongos infectados experimentalmente pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*/Valdelice Oliveira Burgos. -- Campinas, SP:[s.n.], 2002

Orientador: Sérgio de Albuquerque

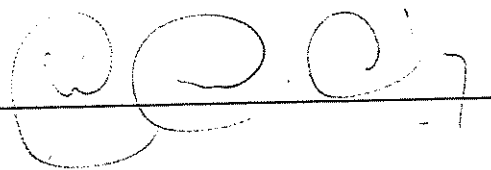
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
 Instituto de Biologia

1. Doença de Chagas. 2. Pâncreas. 3. Camundongo. 4. Glicemia.
 5. Histologia. I. Albuquerque, Sérgio. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 10 de julho de 2002

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque



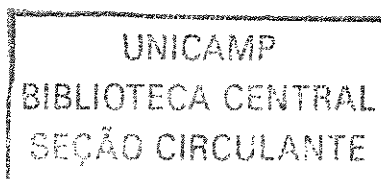
Profa. Dra. Marlene Tiduko Ueta



Profa. Dra. Heid Sueli Leme dos Santos



Prof. Dr. José Clóvis do Prado Junior



88/12/24/38

A Deus,

*Obrigado Senhor, por Ter
estado ao meu lado em todos
momentos de minha vida, por
abrir caminhos e me fazer
descansar em Ti em todos
momentos.*

*Aos meus pais Manoel e
Natália,*

*Pelo amor e apoio constante
em minha vida, por me fazer
sentir segura nos momentos
difíceis e por me ajudar a
crescer.*

Obrigada, Amo vocês!

A FAPESP,

*Sou muito agradecida a Fundação
pelo auxílio na realização
deste trabalho.*

Muito Obrigada!

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Sérgio de Albuquerque, meu orientador, pelo apoio que nunca faltou durante o meu desenvolvimento, sempre ajudando e orientando. Aprendi muito e tenho admiração por suas qualidades como profissional.

A Prof.a. Dra. Rosa Domingues Ribeiro, e a Renata Domingues Ribeiro Toneto, que me ajudaram no início de tudo, me abrindo o caminho. Sou muito grata a vocês.

Ao Prof. Dr. José Clóvis do Prado Junior e á Prof.a. Dra. Ana Amélia Carraro Abrahão, professores da Disciplina de Parasitologia da FCFRP-USP, pela amizade que foi cultivada durante esse período.

Á Prof.a Dra. Heid Sueli Leme dos Santos pelo apoio, amizade e incentivo.

A Miriam Paula Alonso Toldo técnica da disciplina de Parasitologia do Departamento de Ciências da Saúde da FCFRP-USP, por auxiliar no desenvolvimento do projeto.

A Edna Moraes da Disciplina de Patologia da FORP-USP, agradeço pela ajuda na realização dos cortes histológicos e pela amizade que cresceu entre nós.

Ao Prof. Dr. Nelson Cordeiro da Silva pelo apoio dado durante meu período em Campinas.

A Margareth Rovariz, pela amizade e por ser uma pessoa incansável em ajudar.

Às secretárias Vânia Claudia, Wânia Tavares e Amélia Regina, da FCFRP-USP pela ajuda quando foi necessário.

Aos Técnicos da disciplina de Parasitologia do Departamento de Ciências da Saúde da FCFRP-USP, Georgius e Antônio, muito obrigada pela ajuda.

A Alcione, Patrícia e Karina Pontin pela amizade e ajuda que nunca faltaram.

A todos os colegas da FCFRP-USP e UNICAMP, pelo apoio e amizade.

Aos Docentes e Funcionários do Departamento de Parasitologia do Instituto de Biologia da UNICAMP, durante o período em Campinas sempre obtive apoio de todos, e carinho. Agradeço vocês por tudo.

Aos animais de laboratório porque sem eles minha pesquisa não teria sido realizada.

Sumário

RESUMO.....	xii
ABSTRACT.....	xiv
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	10
2.1. Pâncreas.....	14
2.2. Lipase e Amilase.....	16
3. OBJETIVOS.....	18
4. MATERIAS E MÉTODOS.....	19
4.1. Cepa do <i>Trypanosoma cruzi</i>	19
4.2. Camundongos.....	19
4.3. Infecção dos camundongos por <i>T. cruzi</i>	20
4.4. Avaliação do peso e da determinação da glicemia dos grupos experimentais.....	21
4.5. Análise bioquímica da amilase e lipase.....	22
4.6. Técnica da coleta de Pâncreas.....	22
4.7. Técnica histológica.....	23
4.8. Técnica morfométrica.....	23
4.9. Análises estatística.....	24
5. RESULTADOS.....	25
5.1. Parasitemia.....	25
5.2. Glicemia.....	26
5.3. Peso.....	28
5.4. Amilase e Lipase.....	29
5.5. Histopatologia.....	31
5.5.1. Porção Exócrina: Ácinos serosos e Ductos.....	31
5.5.1.1. grupo controle – machos.....	31
5.5.1.2. grupo infectado – machos.....	31
5.5.1.3. grupo controle – fêmeas.....	36
5.5.1.4. grupo infectado – fêmeas.....	36
5.5.2. Morfometria dos Ácinos.....	40
5.5.3. Porção Endócrina : Ilhotas Langerhans.....	42
5.5.3.1 grupo controle – machos.....	42
5.5.3.2. grupo infectado – machos.....	42
5.5.3.3. grupo controle – fêmeas.....	45
5.5.3.4. grupo infectado – fêmeas.....	45

5.5.4. Morfometria da Ilhotas de Langerhans: células α e β	48
6. DISCUSSÃO.....	52
6.1. Parasitemia.....	52
6.2. Glicemia.....	54
6.3. Peso.....	56
6.4. Lipase e Amilase.....	57
6.5. Histologia.....	60
6.5.1. Ácinos.....	60
6.5.2. Ilhotas de Langerhans.....	62
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66

RESUMO

*Nas pesquisas clínicas a respeito da fisiopatologia da doença de Chagas, cada vez mais vem ganhando corpo a idéia de que os portadores desta moléstia apresentam o que poderia definir-se como uma dificuldade do organismo doente em manter a homeostase através da regulação de suas funções, quer sejam motoras, secretoras ou metabólicas. Uma das principais causas, relacionadas à diversidade de alterações anatomopatológicas que o parasito *T. cruzi* promove no hospedeiro está diretamente ligada às características morfológicas da cepa, que podem apresentar um tropismo tecidual diferenciado. As formas largas de *T. cruzi* apresentam miotropismo e tropismo glandular. Os parâmetros foram avaliados em ambos os sexos na fase aguda, analisando comparativamente a parasitemia, a histopatologia, a morfometria (cariometria e análise de superfície) do pâncreas. O modelo experimental utilizado foi o camundongo albino (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, machos e fêmeas. O inóculo empregado foi de 2×10^4 formas tripomastigotas sanguícolas da cepa RAL, e em dias pré-determinados 3º, 6º, 8º, 10º, 12º, 14º e 16º dias experimentos, os animais foram sacrificados e retirados o sangue e amostras do pâncreas, para as dosagens da glicemia e das enzimas lipase e amilase (total). O pico parasitemico ocorre em dias diferentes, no 12º (pico parasitemico para as fêmeas), e 14º (pico parasitemico para os machos), com um aumento*

apreciável do número de parasitas para os machos. Ao comparar as ilhotas pancreáticas dos grupos infectados com os grupos controles de ambos os sexos, houve uma atrofia nas células α e hipertrofia nas células β das ilhotas pancreáticas de ambos os sexos dos grupos infectados. Entretanto, os ácinos pancreáticos das fêmeas infectadas demonstraram uma maior hipertrofia, já em relação a glicêmica houve uma redução significativa em relações a ambos os sexos. Houve redução do peso nos grupos infectados em relação ao grupo controle, entretanto mais significativa no grupo macho infectado. Contudo, a amilase não apresentou variações significativas entre os grupos infectadas machos e fêmeas, mas quanto à lipase houve uma variação significativa entre os grupos machos e fêmeas, mas não significativas entre grupos infectados e controles do mesmo sexo. Observando todos os aspectos avaliados, verificou-se que no presente trabalho ocorreram alterações bioquímicas e histológicas do pâncreas de animais infectados com a cepa RAL de T. cruzi. A cepa RAL de T. cruzi apresenta um comportamento atípico em relação às outras cepas estudadas e descritas na literatura, promovendo alterações pancreáticas mais intensas nos animais fêmeas que nos machos.

ABSTRACT

Searching the physiopatology of Chagas' disease in clinical researches, the idea that the bearers of this disease present what could be defined as a difficulty of the sick organism in maintaining the homeostasis through the regulation of their functions as motive, secretors or metabolic. One of the main causes related to the diversity of anatomopathological alterations that the parasite T.cruzi promotes in the host is directly linked to the morphologic characteristics of strains that can show a tissular differentiated tropism.. The parameters were evaluated in both sexes were in the acute phase, analyzing the comparative parasitemia, histopathology, and morfometry (cariometric and surface analysis) of the pancreas. The experimental model used was the both sexes of albino mouse (Mus musculus) of the lineage Swiss. RAL strain of T.cruzi was used with the inoculum of 2×10^4 blood trypomastigotes forms. In pre-determined days the animals were killed being pancreas and blood collected for the evaluation of glycemy, enzymes - lipase and amylase (total). The high parasitemy happens in different days, being in the 12^o for the females, and the 14^o for the males with an appreciable increasing of the parasites number for the males. When comparing the pancreatic islets of the infected groups with the control groups of both sexes, there was an atrophy in α -cells and hypertrophy in β -cells of the pancreatic islets of both sexes of the infected groups, however,

the pancreatic acids of infected females demonstrated a larger hypertrophy, and a glycemic reduction only accentuated in relation to the infected males. Amylases didn't show significant variations among the groups infected (males and females), but the lipases had a significant variation among the male and female groups, but no significant between infected groups and controls of the same sex. Observing all the appraised aspects in the present work we noted biochemical alterations and histological destruction of the pancreatic gland of animals infected with the T.cruzi RAL strain. The T.cruzi RAL strain presents an atypical behavior in relation to the other studied strains described in the literature, promoting more intense pancreatic alterations in the female animals than in males.

1. INTRODUÇÃO

A infecção chagásica tem se apresentado, desde a sua descoberta por Carlos Chagas em 1909, como uma doença difícil de ser combatida, devido à multiplicidade de suas características biológicas e genéticas. Afeta quase toda a América Latina, sendo apontada como uma das principais causas de morbidade entre as populações carentes da América do Sul. Entre 16 e 18 milhões de indivíduos já foram infectados, causando a morte de aproximadamente 70.000 pessoas/ano (WHO, 1991; SCHMUNIS, 1997).

Trypanosoma cruzi vivia restrito ao ambiente silvestre, circulando entre mamíferos e hemípteros da fauna natural. Foi o homem, invadindo esses ecótopos, que fez incluir hemíptero o ciclo epidemiológico humano (DIAS & BORGES DIAS, 1976; DIAS & COURA, 1997).

A frequência de infecção de seres humanos pela transmissão vetorial está relacionada com o nível econômico da população e com a capacidade de domiciliação desse vetor. E a enfermidade continuará a ser transmitida nas áreas rurais ou periurbanas das Américas, onde a pobreza da população permita o contato íntimo entre os triatomíneos infectados e o hospedeiro humano (WHO, 1991).

No contexto epidemiológico da doença de Chagas humana (DCH) no Brasil, a Região Nordeste ocupa importância acentuada, ocupando o segundo lugar nos inquéritos nacionais de prevalência de números de indivíduos infectados e distribuição dos vetores realizados entre 1975 e 1980. Após vinte anos, ainda é preocupante o risco de transmissão da DCH. A Região Nordeste permanece socialmente necessitada e detentora dos mais altos índices de moradias carentes que permitem a domiciliação e sobrevivência do triatomíneo (VINHAES & DIAS 2000).

O controle do vetor, da doença de Chagas, até hoje, vem sendo muito discutido entre pesquisadores. A iniciativa dos Países do Cone Sul, da qual o Brasil faz parte, foi iniciada em 1991, comprometeu-se em buscar a eliminação de *T.infestans*, sendo nessa época o mais importante transmissor de *T.cruzi*, e controlar a endemia chagásica. Foram realizados inquéritos entomológico e sorológico, a redução e eliminação da transmissão sangüínea por triagem adequada dos potenciais doadores e do fortalecimento da rede de bancos de sangue (OPAS, 1992).

Em relação a outros Países do Cone Sul, depois dessa iniciativa do controle vetorial e transfusional, o Uruguai, em 1997, e o Chile, em 1999, foram certificados como estados livres da transmissão da doença de Chagas (WHO, 1998, 2000). Mas em relação ao controle transfusional a situação mais preocupante é da Bolívia (DIAS & SCHOFIELD, 1998).

Os maiores desafios controle, nesse contexto, prendem-se à domiciliação de espécies secundárias e silvestres de triatomíneos e das trocas adaptativas das espécies (SCHOFIELD, 1998). No caso de outras espécies, sobretudo *T.brasiliensis*, *T.pseudomaculata* e *T.sordida*, ainda que as respostas sejam mais lentas, tem sido possível manter os níveis de infestação e de colonização intradomiciliar (VINHAES & DIAS, 2000).

No Brasil a transmissão vetorial é importante, por ainda existirem focos de *T.infestans* nos estados de Goiás, no sul de Tocantins, na região do São Francisco, na Bahia, no norte do estado do Rio Grande do Sul e no sudeste do Piauí (VINHAES & DIAS, 2000).

Sob o controle vetorial, acredita-se que com o tempo, a infecção pelo parasita tende a diminuir nestas regiões que ainda são de risco, mas as curvas de prevalências mostram que a forma transfusional é importante no que diz respeito à transmissão da doença de Chagas (VINHAES & DIAS, 2000). Mas o aperfeiçoamento do sistema hemoterápico tem afastado doadores soropositivos em doença de Chagas, pois desde meados da década de 90, muito se tem avançado (RAMOS & CARVALHO, 2001).

Sobre o protozoário *T.cruzi* é sabido que se multiplica-se no interior da célula do seu hospedeiro definitivo, tendo Carlos Chagas sugerido que as formas intracelulares parasitárias seriam de multiplicação e latência (CHAGAS, 1916), apesar que a última forma, até hoje, ainda, não

foi comprovada. A multiplicação das formas amastigotas prossegue por divisão binária, as quais se diferenciam em formas tripomastigotas até a distensão e ruptura da célula parasitada, com liberação de novos parasitos.

As distintas cepas de *T.cruzi* possuem tropismo diferenciado para determinados órgãos do hospedeiro humano, o que explicaria, por exemplo, o fato de ser mais comum o diagnóstico de formas digestivas na região central do Brasil, ou de ser baixa, a prevalência de cardiopatias no norte do Equador, em relação à região sul (WHO, 1997).

Acredita-se que a diversidade de alterações anatomopatológicas, que o parasito promove no hospedeiro, estão ligadas diretamente às características morfológicas da cepa, principalmente em relação as diferentes subpopulações existentes (FERRIOLLI-FILHO, 1975; RIBEIRO, et al., 1982; BELDA-NETO & RIBEIRO, 1989).

Segundo ANDRADE (1976), existem cepas com predominância de formas delgadas, que por sua vez apresentam tropismo diferenciado por células do sistema fagocitário mononuclear, parasitando com maior frequência esplenócitos, hepatócitos e células da medula óssea. Como característica, provocam altos e precoces picos parasitêmicos. Apesar de serem mais sensíveis à ação dos anticorpos circulantes, determinam na fase aguda da infecção uma elevada taxa de mortalidade na grande maioria dos animais experimentais infectados. Esse tipo de conformação morfológica confere a esta cepa uma maior resistência aos

anticorpos circulantes. Como consequência, permanecem por mais tempo na corrente circulatória determinando picos parasitêmicos tardios e infecções de duração mais prolongada.

MELO & BRENER (1978), verificaram que as cepas de morfologia larga apresentam tropismo por células musculares e isto se deve à presença de receptores específicos para *T.cruzi* na membrana destas células. Além disso, parece que as formas largas de tripomastigotas estão mais adaptadas ao desenvolvimento no inseto vetor. Em contrapartida, as formas finas ou delgadas estão mais adaptadas a cumprirem o ciclo tecidual.

DEANE (1979), observou o comportamento diferenciado de populações constituídas por tripomastigotas predominantemente finos e largos, obtidas por centrifugação diferencial das amostras Y e F de *T.cruzi*. Considerando que a grande maioria dos tripomastigotas delgados presentes no sangue de animais infectados não apresentavam capacidade de evoluir senão após penetração celular, e que, em parte, as formas largas exibiam capacidade de iniciar a infecção no inseto hospedeiro, designa as populações obtidas de “célula dependente” e “vetor dependente”, respectivamente. A uma parcela de elementos que apresentava capacidade ambivalente e que poderiam dar origem a ambas populações - célula ou vetor dependente - a autora designa de “população indiferenciada”, correspondente às formas intermediárias do parasita.

RIBEIRO & BELDA-NETO (1983), utilizando técnicas de centrifugação diferencial, conseguiram o desmembramento da cepa Bolívia de *T.cruzi*, de características polimórficas, em duas sub-amostras: uma obtida do sobrenadante, constituída de tripomastigotas, predominantemente finos, e outra, obtida do sedimento, caracterizada pela presença marcante de formas largas. Essas sub-amostras do parasita têm sido mantidas regularmente mediante subinoculações de sangue por via intraperitoneal em camundongos jovens, por meio de repiques semanais para as sub-amostras obtidas do sobrenadante e por repiques a cada 14 dias para as obtidas do sedimento, sem modificações de suas características.

Como descrito acima, pode-se observar que a morfologia das formas tripomastigotas é um dos fatores determinantes na patologia da doença. Entretanto, as cepas que apresentam características morfológicas predominantemente largas, possuindo marcante tropismo para células musculares (musculatura lisa, esquelética e cardíaca) e tecido glandular (MARTINI et al., 1986).

Em relação a glândula pancreática. CROWELL (1923) demonstrou a ausência de parasitos e de lesões pancreáticas em um caso fatal. Mas, PIZZI (1953) estudou o pâncreas de ratos pela cepa T de *T.cruzi* e demonstrou que este parasitismo promoveu desorganização celular. Trabalhando com camundongos infectados com a cepa Y de *T.cruzi*, OKUMURA et al. (1960) observaram pancreatite caracterizada por edema

intersticial, atrofia das células acinares e infiltrado de células inflamatórias. A cepa Bolívia desorganiza estruturas pancreáticas em camundongos infectados (RIBEIRO et al., 1977) e a para a Y cepa de *T.cruzi* foi descrita que parasita intensamente o pâncreas (SOUZA & ALENCAR, 1984).

ALBUQUERQUE et al. (1990), observaram desorganização das estruturas pancreáticas causadas em camundongos infectados pela cepa Bolívia de *T.cruzi*, por suas sub-amostras finas e largas. RIBEIRO et al. (1991) observaram alterações nas ilhotas de Langerhans e ductos inter e intralobulares, além de desorganização exacerbada do tecido acinar em camundongos experimentalmente infectados pela cepa RC de *T.cruzi*. A avaliação histopatológica do pâncreas em camundongos foi descrita em outros relatos de parasitismo experimental. SCORZA et al. (1996) utilizando cepa isolada de *Didelphis marsupialis* e LENZI et al. (1996) estudando a cepa CL de *T.cruzi*, demonstraram desorganização acinar no pâncreas. Mas em ROCHA et al. (1998) realizaram contagem de neurônios dos gânglios nervosos da cabeça, corpo e cauda do pâncreas em autópsia de 12 casos de chagásicos, e 50% dos chagásicos apresentaram um número total de neurônios menor em relação aos não chagásicos.

SALDANHA et al. (2001) estudaram as ilhotas pancreáticas demonstrando que houve uma maior hipertrofia nas ilhotas de pacientes chagásicos de fase crônica. Mas pouco se entende em relação aos efeitos

que *T.cruzi* promovem no hospedeiro, relacionados com a bioquímica e a fisiologia do indivíduo.

Para a homeostase do organismo é de grande importância a liberação dos hormônios estimulantes que dependem da integridade do órgão. PRADO et al. (1999) demonstraram que os hormônios possuem um papel fundamental na defesa contra a infecção por *T.cruzi*. Neste trabalho, evidenciou-se que os hormônios gonadais influenciam no processo de defesa na doença de Chagas experimental, sendo as fêmeas mais resistentes que os machos.

O pâncreas é uma glândula mista, importante para a homeostase do metabolismo por liberar hormônios e enzimas, e o protozoário *T.cruzi* pode causar alterações na fisiopatologia desta glândula. A enzima amilase é produzida além de ser produzido no pâncreas é produzida também pela glândula salivar. E VIEIRA & HADLER (1961) estudaram as variações da amilase nas glândulas salivares de pacientes chagásicos crônicos e observaram que inicialmente houve uma queda dos valores normais. Mas VIEIRA (1961) demonstra, uma hiperamilasemia em pacientes chagásicos e um aumento no volume e hiperatividade das glândulas salivares associada ao megasôfago.

Associação entre os níveis lipase e amilase vem tomando importância, sendo objeto de pesquisa de vários autores. Infelizmente não há trabalhos associando a porção endócrina e exócrina do pâncreas com a

infecção de *T.cruzi*. NIGRO (1991), relaciona a hipoglicemia com a pancreatite, ocasionada por inflamação gástrica, em casos de incidência de rotavirose, ocorrendo uma elevação dos níveis séricos de amilase e lipase. TSUZUKI et al. (1993) relataram a importância na determinação da hiperamilasemia em pacientes com pancreatite.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

É sabido que a inflamação é o processo patológico da doença de Chagas, podendo ser influenciada por inúmeros parâmetros para medir a intensidade do parasitismo e tropismo da cepa, através do dimorfismo sexual, resistência natural do hospedeiro, entre outros. As alterações morfológicas do tubo digestivo na doença de Chagas humana e experimental têm sido exaustivamente descritas (KÖBERLE, 1968; ANDRADE, 1976; TAFURI & RASO, 1983; LOPES et al., 1985). Entretanto, existem poucas informações sobre as possíveis lesões, histológicas e fisiológicas no pâncreas que *T.cruzi* possa determinar, tanto no homem (LISBOA, 1960; VIEIRA, 1961; BRITTO-COSTA et al., 1973) como em animais de experimentação (ALBUQUERQUE et al., 1991; RIBEIRO et al., 1991; CALABRESE et al., 1994). E este órgão é de grande importância, por ser uma glândula mista e possuir funções endócrina e exócrina.

Os primeiros casos de autópsia em casos agudos não relatam alterações pancreáticas. CROWELL (1923), estudando um caso fatal, relatou a presença de lesões no pâncreas sem a presença de parasitas. Como PIZZI (1953), inoculou a cepa T de *T.cruzi* em ratos e observa, em cortes histológicos, a presença de um intenso parasitismo nos ácinos do pâncreas, já demonstrando que essas alterações poderiam promover um comprometimento na secreção geral do órgão.

LISBOA (1960), relatou que em seis natimortos, com a forma congênita da doença de Chagas, foram encontrados alterações pancreáticas, edemas e infiltrados inflamatórios. OKUMURA et al. (1960), observaram a desorganização e atrofia acinar em camundongos infectados pela cepa Y e Bolívia de *T. cruzi*, depois confirmada por RIBEIRO et al. (1977).

VIEIRA & HADLER (1961), realizam um estudo histológico do pâncreas no megaesôfago, e, nesses casos, foram encontradas alterações evidentes no parênquima, destruição de tecido pancreático e, ainda, um quadro histológico de cirrose pancreática, além de algumas áreas atrofiadas.

RIBEIRO et al. (1991), inocularam a cepa RC de *T. cruzi* em camundongos, e durante a infecção observou que os ácinos estavam desorganizados, degenerados e atrofiados. Estudos sobre a desnervação intrapancreática foram realizados por ROCHA et al. (1998), verificaram uma despopulação neuronal do pâncreas no grupo chagásico em relação ao grupo controle .

As ilhotas pancreáticas que consiste o pâncreas endócrino e têm origem endodérmica, sendo que as células se diferenciam a partir dos ductos primitivos do pâncreas, em torno da nona a décima primeira semana de gestação (FRIESS et al. 1996; WATANABE, 1998).

Alguns estudos relacionam a infecção de *T.cruzi* com as ilhotas pancreáticas. OKUMURA et al. (1963) relata o encontro do parasita em ácinos e nas ilhotas pancreáticas de camundongos infectados experimentalmente. TEXEIRA et al. (1989) avaliaram morfometricamente as ilhotas pancreáticas em pacientes e observaram um aumento significativo de suas células quando comparadas ao grupo controle de pacientes não chagásicos.

Ao contrário, RIBEIRO et al. (1991) estudaram as ilhotas pancreáticas na fase aguda de camundongos infectados pela cepa RC de *T.cruzi*, observando que essas estavam diminuídas e desorganizadas, apresentando células e núcleos de menor volume e palidamente corados.

Mas recentemente, SALDANHA et al. (2001) estudando a morfometria e a morfologia das ilhotas pancreáticas de pacientes chagásicos em fase crônica, demonstraram a presença de infiltrados inflamatórios, fibrose, hemorragia e aumento nuclear das células das ilhotas pancreáticas.

Acredita-se que as alterações inflamatórias no pâncreas podem, possivelmente, comprometer a fisiologia deste. Trabalhos fisiológicos têm demonstrado alterações na secreção de hormônios e outros peptídeos, sugerindo a desnervação parcial das ilhotas pancreáticas de indivíduos chagásicos (TRONCON et al., 1985).

A avaliação do metabolismo é importante para associar alterações no organismo. MENEGHELLI et al. (1969) estudaram o metabolismo de carboidratos em 20 pacientes chagásicos, e a análise do teste de tolerância à glicose mostrou que a velocidade do consumo de glicose nestes pacientes é mais alta em relação àqueles não chagásicos.

CÁCERES & FERNANDES (1976) também estudaram o metabolismo da glicose no crescimento e diferenciação de *T.cruzi*, notando que as formas epimastigotas consomem rapidamente a glicose do meio de cultura. Mais tarde, porém, ocorre a oxidação dos ácidos orgânicos que se acumulam no meio, como resultado desse metabolismo. CAZZULO (1978) pesquisou a degradação aeróbia da glicose por *T.cruzi*, demonstrando que este é capaz de degradar a glicose, tanto aerobicamente como anaerobicamente.

LONG et al. (1980) estudaram a resposta de hormônios pancreáticos e gastrointestinais, após a insulina intravenosa em doentes chagásicos comparado com pacientes não chagásicos. Notam que, após a administração de insulina intravenosa, a concentração de glicose foi reduzida em pacientes chagásicos e que houve uma desnervação parcial das células alfa e beta dos pacientes com chagas crônico gastrointestinal.

Além dos estudos relacionados com a doença de Chagas, muitos pesquisadores também estudaram o pâncreas sem a doença. A hiperinsulinemia e hipoglicemia em adultos com as ilhotas pancreáticas

hiperplásicas e a degranulação exócrina das células pancreáticas, geralmente são mais presente em síndromes clínicas em crianças e, raramente, em adultos (KAREN et al., 1983).

2.1. Pâncreas

O pâncreas é uma glândula exo-endocrina localizada na porção posterior do abdômen superior, posteriormente ao estômago e cólon transverso. Tem coloração amarelada, sendo recoberto por uma delgada cápsula constituída por tecido conjuntivo. Esta cápsula emite septos delicados para dentro do parênquima, determinando a formação de lóbulos que são visíveis à superfície de corte. Juntamente com o fígado, o pâncreas é a maior glândula anexa ao tubo digestivo (FALKMER, 1995).

Classicamente, o pâncreas é dividido em porções, a saber: cabeça, localizada na borda interna da curvatura do duodeno e limitada pela borda direita da veia mesentérica; processo uncinado, prolongamento da parte inferior e esquerda da cabeça que se projeta entre artéria e veias mesentéricas superiores; o corpo é de forma prismática e possui três faces - anterior, posterior e inferior, localizando-se entre a cabeça e o ponto onde a glândula se estreita ligeiramente. O quarto segmento compreende o restante do órgão sendo denominado de parte estreita, que se estende para

a esquerda até a parte inferior da face gástrica do baço (WITTINGEN & FREY, 1974).

As ilhotas pancreáticas ou de Langerhans estão espalhadas por toda glândula, mas em geral aparecem próximo ao centro de um lóbulo. entre as quais encontram-se numerosos capilares, ao redor destas ilhotas do pâncreas, o sangue troca substâncias com os tecidos adjacentes (FALKMER, 1995).

Histologicamente, o pâncreas endócrino é constituído por quatro tipos principais de células. São as células β , α , δ e PP (polipeptídeos pancreáticos), representando cerca de 68, 20, 10 e 2%, respectivamente, da população de células das ilhotas. Podem ser diferenciadas morfológicamente, pelas suas propriedades tintoriais, pelo aspecto ultra-estrutural de seus grânulos e pelo seu conteúdo hormonal.

As células β produzem insulina e são as mais abundantes. Os grânulos intracelulares, que contêm insulina, possuem uma matriz cristalina com perfis retangulares, sendo circundados por um halo. As células α secretam glucagon e as células δ contêm somatostatina, que suprime tanto a liberação de insulina quanto a de glucagon (GERICH, 1976).

As células PP contêm um polipeptídeo pancreático peculiar, que exerce vários efeitos gastrointestinais, como estimulação da secreção das enzimas gástricas intestinais e inibição da motilidade

intestinal. Estas células possuem grânulos escuros e não estão presentes apenas nas ilhotas, mas também se encontram dispersas no pâncreas exócrino (ANJA & SLACK 1999).

2.2. Lipase e Amilase

As células funcionam como engenhos químicos constituídos por moléculas, em sua maioria possuem formas estruturais protéicas e altamente especializadas. Estas moléculas são chamadas de *enzimas*, que possuem funções catalisadoras e reguladoras de diferentes reações químicas, tendo como objetivo o equilíbrio orgânico, aumentando a velocidade das reações químicas e regulando o metabolismo dos carboidratos (GREGORY, 1965).

Na digestão e absorção dos carboidratos, estão presentes diversas estruturas enzimáticas. Entretanto, há enzimas que possuem funções fundamentais na hidrólise dos alimentos, que é a *lipase* que decompõe as gorduras em glicerol e ácidos graxos; e a *amilase* que transforma os amidos em açúcares mais simples (CAMPANA, 1975).

Tanto o pâncreas, como o intestino delgado secretam enzimas proteolíticas, de maneira que a ação conjugada de todas elas resultam na transformação das proteínas em aminoácidos, sendo assimiláveis no intestino delgado. Para facilitar a digestão das gorduras, o fígado secreta bíles, que contém os sais que envolvem pequenas gotículas

lipídicas, para posteriormente serem emulsificadas, hidrolisadas e digeridas pela amilase pancreática e gástrica, como também pela lipase pancreática e intestinal.

Quando as células acinares são estimuladas, estas vesículas contendo zimogênio migram para a membrana plástica apical e sofrem ruptura no ponto de fixação, liberando o conteúdo enzimático para a luz acinar (BENDAYAN et al., 1985).

Acredita-se que a liberação das enzimas pancreáticas que dependem da integração dos estímulos neuro-hormonais (BROOKS, 1973). Desta forma é importante o conhecimento da função exócrina do pâncreas em portadores da moléstia de Chagas. Estudos demonstraram que as alterações hormonais em indivíduos chagásicos podem influenciar nas alterações enzimáticas (FORTI et al., 1970).

GIANNINI et al. (1976) relatam uma significativa redução da atividade da lipase lipoprotéica na forma crônica da doença de Chagas. CAMPANA (1977) também relatou o mesmo resultado já mencionado, mas não encontrou a causa da influência.

Infelizmente poucos relatos estão associados a estas enzimas e a doença de Chagas, mesmo que já provado que *T.cruzi* causa inflamação no pâncreas a pancreatite. Mas pesquisadores como TSUZUKI et al. (1993) associam a importância da determinação da hiperamilasemia, resultante de pancreatite.

3. OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é estudar morfológicamente e quantitativamente as alterações das estruturas teciduais do pâncreas endócrino e exócrino de camundongos machos e fêmeas, infectados pela cepa RAL de *T.cruzi*, bem como avaliar as possíveis alterações das concentrações plasmáticas de lipase e amilase (total) entre grupos controle e infectado.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Cepa de *Trypanosoma cruzi*

Foram utilizadas formas tripomastigotas sangüíneas da cepa RAL de *T.cruzi*, originalmente isolada de triatomíneo *Triatoma infestans*, capturado na região rural da cidade de Santa Rosa do Viterbo - SP (RIBEIRO et al., 1993). A cepa é mantida em camundongo (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, por repiques realizados cada 12 dias, por meio de inoculação intraperitoneal, sendo caracterizada genotipicamente como pertencente ao grupo *Trypanosoma cruzi* II (DOST et al., 2001).

4.2. Camundongos

Foram utilizados 84 camundongos albinos (*Mus musculus*) da linhagem Swiss, machos e fêmeas, pesando aproximadamente 20 gramas, com idade de 28 dias, que foram divididos em dois grupos:

I - grupo controle - 21 animais machos e 21 fêmeas, livres de infecção, mantidos na mesma condição ambiental dos infectados com *T.cruzi*;

II - grupo infectado - 21 animais machos e 21 fêmeas inoculados intraperitonealmente com 2×10^4 formas tripomastigotas sangüíneas da cepa RAL;

Todos animais receberam ração comercial NUVILAB CR1, (Nuvital Nutrientes LTDA) e água “ad libitum”, foram mortos, sob anestesia com éter, nos 3º, 6º, 8º, 10º, 12º, 14º e 16º para a realização da contagem dos parasitas no sangue e análises histopatológicas e bioquímicas.

4.3. Infecção dos Camundongos por *T.cruzi*

A coleta de sangue foi realizada por punção cardíaca de camundongos infectados pela cepa RAL. 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-se o método descrito por BRENE (1961) onde se utiliza para tal, 5 μ l de sangue colhido de corte na extremidade da cauda do animal, por meio de pipeta automática.

O material colhido é então colocado entre lâmina e lamínula (22x22mm), e procede-se à contagem do número de tripomastigotas em 50 campos, visualizado-os em aumento de 400 X.

A contagem de parasitos foi realizada a partir do 3º dia após o inóculo, sendo posteriormente efetuada em intervalos de dois em dois dias. A parasitemia teve como finalidade relacionar a infecção com a avaliação histológica e bioquímica. A média utilizada por grupo foi de 3 camundongos em cada dia da coleta.

4.4.Avaliações do peso e da determinação da glicemia dos grupos experimentais

Nos 3º, 6º, 8º, 10º, 12º, 14º e 16º dias experimentos, foi efetuado o controle do peso desses animais, durante a execução do experimento, em balança semi-analítica.

A determinação da glicemia dos animais foi realizada sempre no período diurno, sendo utilizado o kit ADVANTAGE (ROCHE), que tem como princípio básico a bioamperometria.

4.5. Análise bioquímica da amilase e lipase

Nos 3^o, 6^o, 8^o, 10^o, 12^o, 14^o e 16^o dias experimentos, após a punção cardíaca dos camundongos com seringa heparinizada o sangue foi centrifugado a 2500 rpm (650g), por 5 minutos, e depois foram realizadas as dosagens enzimáticas no plasma obtido. A atividade enzimática é estável após a centrifugação por 18 horas entre 15-25°C e por vários meses entre 2-8°C.

A leitura foi realizada em espectrofotômetro MICRONAL, mod. Compuspectro B485. Para a determinação dos níveis de amilase, foi utilizado o kit LABTEST, e para a determinação dos níveis de lipase, o kit BIOBRÁS. Esses são Kits utilizados em rotinas laboratoriais.

4.6. Técnica da coleta das amostras de Pâncreas

Foi realizado a parasitemia pela cauda de todos os camundongos nos 3^o, 6^o, 8^o, 10^o, 12^o, 14^o e 16^o dias experimentos, e aleatoriamente após a parasitemia foram anestesiados 3 camundongos de cada grupo e realizado a punção cardíaca, e retirado o pâncreas imediatamente após a punção, sendo este órgão colocado em fixador ALFAC (álcool 85%, formol e ácido acético), após 24 horas, em solução de álcool 80%.

4.7. Técnica histológica

Após fixação, o pâncreas foi desidratado, diafanizado e incluído em parafina. Foram realizados cortes semi-seriados de 6 μm de espessura em intervalos de 10, os quais foram posteriormente corados pela técnica hematoxilina-eosina, visando as análises morfológicas e morfométricas dos ácinos serosos e a técnica de goodpasture, para diferenciação entre as células α e β , diferenciando as células α produtora de glucagon, em vermelho, e as β produtora de insulina, em azul (BEHMER et al., 1975).

As duas colorações foram realizadas com o intuito de elucidar as alterações causadas pela cepa RAL de *T.cruzi* em camundongos *Mus musculus*, além de esclarecer as diferenças desta infecção entre os diferentes grupos avaliados.

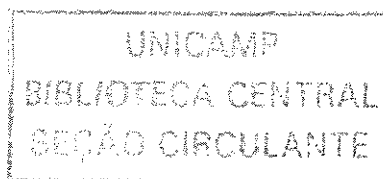
4.8. Técnica morfométrica

Os vários cortes do pâncreas foram observados com aumento 1000x em microscópio óptico (Jenaval – Carl Zeiss), munido de uma câmara para captura de imagem. As imagens foram então projetadas em programa de computador (KS-100 – Carl Zeiss), onde foram avaliados 50 núcleos de cada animal. Foram verificados os seguintes parâmetros: perímetro nuclear, área nuclear, volume nuclear, coeficiente de forma, índice de contorno nuclear e excentricidade.

4.9. Análise estatística

Para análise dos resultados, assim como para diversos cálculos matemáticos envolvidos nos estudos morfométricos dos dados, foram utilizados diversos programas para computador, do tipo IBM-PC, em linguagem BASIC AVANÇADO (BASICA), desenvolvidos no Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pelo Prof. Dr. Geraldo Maia Campos. Foram utilizados os testes não paramétricos de Mann-Whitney e da mediana (SIEGEL, 1975).

Para a avaliação estatística dos parâmetros bioquímicos e peso, foi utilizado o teste de ANOVA, complementado pelo teste de múltipla comparação de Tukey, por meio do programa Prisma Graphics, versão 3.02.



5. RESULTADOS

5.1. Parasitemia

A Figura 1 representa os resultados obtidos na determinação da curva parasitêmica dos camundongos machos e fêmeas infectados pela cepa RAL de *T. cruzi* no período de 16 dias.

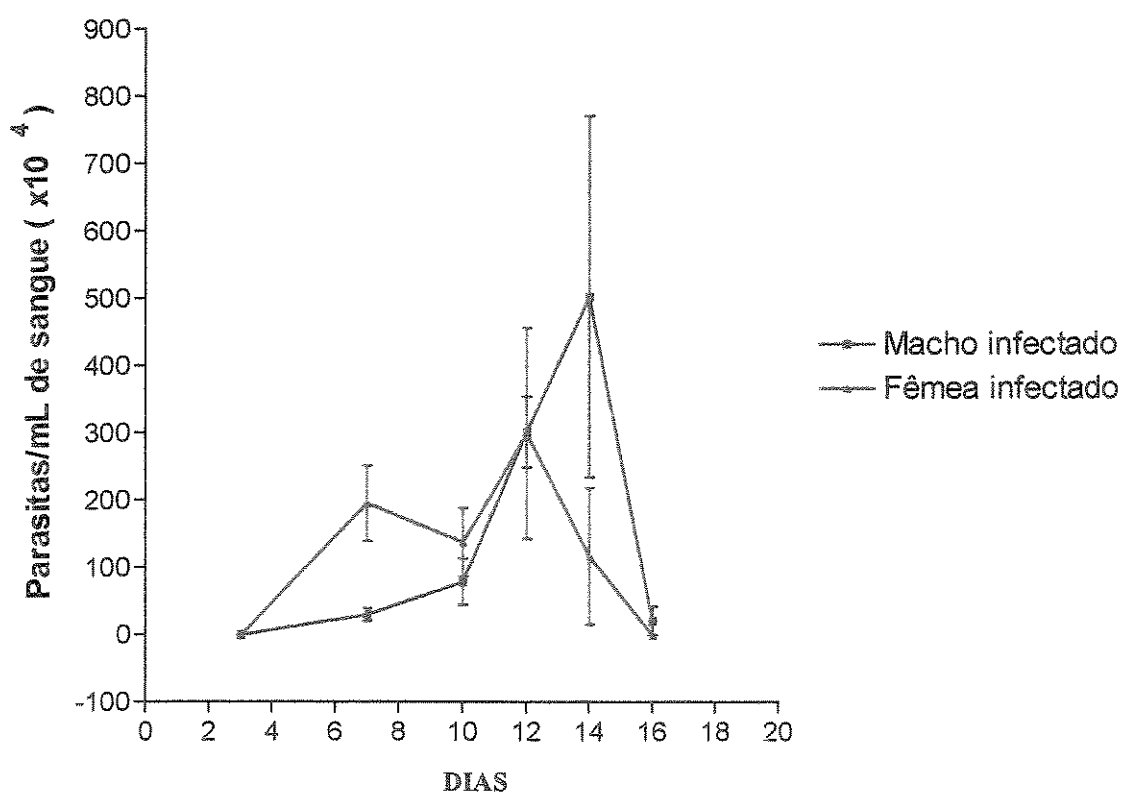


Figura 1. Representação gráfica da parasitemia dos camundongos machos e fêmeas, infectados com 2×10^4 formas tripomastigotas da cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

A parasitemia foi analisada a partir do 3º dia até o 16º dia de infecção, os picos parasitêmicos foram diferentes para ambos os sexos, sendo que para as fêmeas o 12º dia e para os machos o 14º dia, sugerindo-se que estas diferenças nos dias do pico e o aumento de parasitas/mL maior no macho que na fêmea, possa se devido o dimorfismo sexual.

5.2. Glicemia

Após análise comparativa entre os grupos controles e infectados podemos observar na Figura 2, que os grupos infectados, independentemente do sexo avaliado, apresentaram uma significativa redução dos níveis de glicose circulante, quando comparados aos grupos controle, sem infecção ($p < 0,01$).

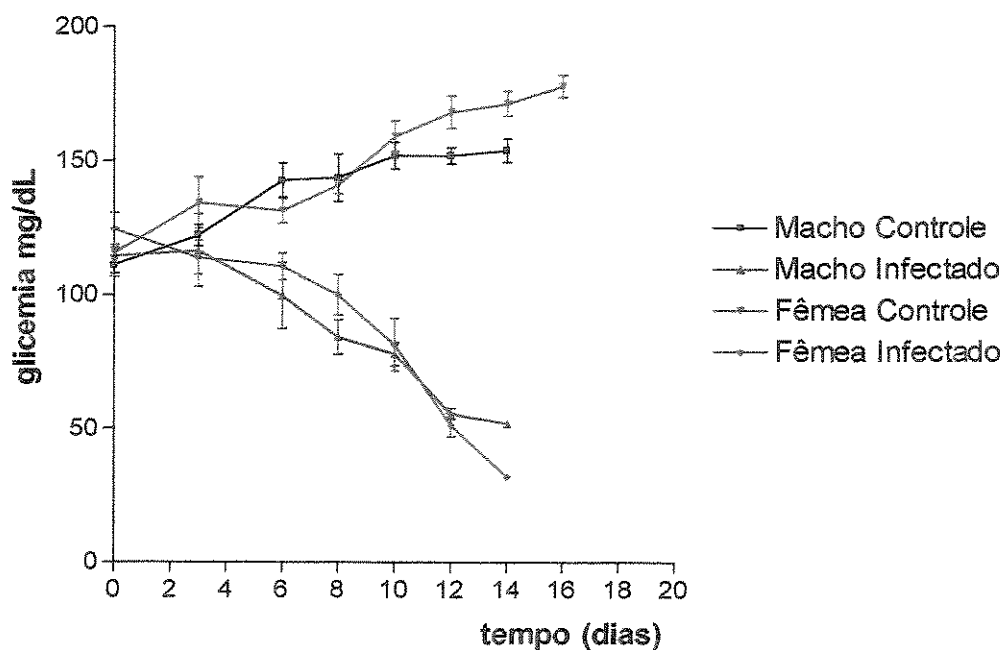


Figura 2. Avaliação do comportamento glicêmico médio entre camundongos machos e fêmeas, dos grupos controles e infectados pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

É importante salientar que os grupos controles, machos e fêmeas, e infectados não apresentaram diferença significativa entre si, quando esse tipo de parâmetro foi avaliado isoladamente para cada grupo pelo teste estatístico ANOVA ($p > 0,05$).

5.3. Peso

Ao observarmos a Figura 3 notamos o efeito que a infecção causa sobre o peso dos camundongos machos e fêmeas infectados pela cepa RAL de *T. cruzi* no período de 16 dias.

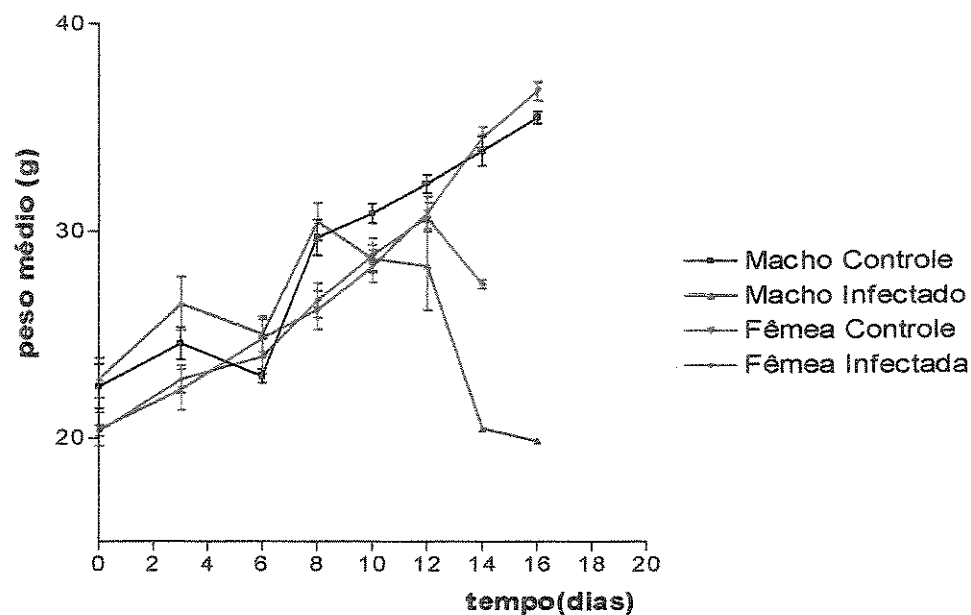


Figura 3. Variação média do peso (g) dos grupos machos e fêmeas, controles e infectados dos camundongos, durante o período da infecção pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

Na Figura 3, podemos observar que nos grupos infectados, tanto os animais machos como as fêmeas apresentaram perdas

significativas do peso após o 8º dia de infecção, para os machos e 12º dia para as fêmeas. Houve uma queda mais acentuada nos machos em relação às fêmeas, caracterizando um possível dimorfismo sexual.

5.4. Amilase e Lipase

A Figura 4 ilustra as avaliações referentes às concentrações plasmáticas das enzimas amilase (A) e lipase (B). Pelos resultados referentes à enzima amilase, não houve variação significativa entre os diferentes grupos estudados.

Já em relação à enzima lipase, é nítida a ocorrência de variação entre os grupos controles e infectados machos e fêmeas. Porém dentro dos grupos apresentando o mesmo sexo, não houve variação de valores. Talvez essas diferenças estejam na dependência do dimorfismo sexual.

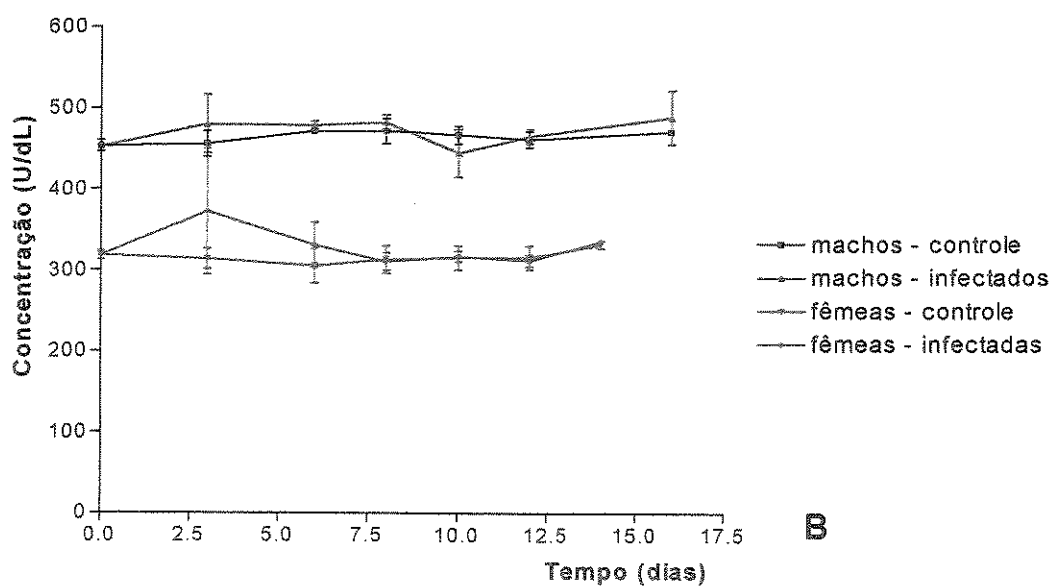
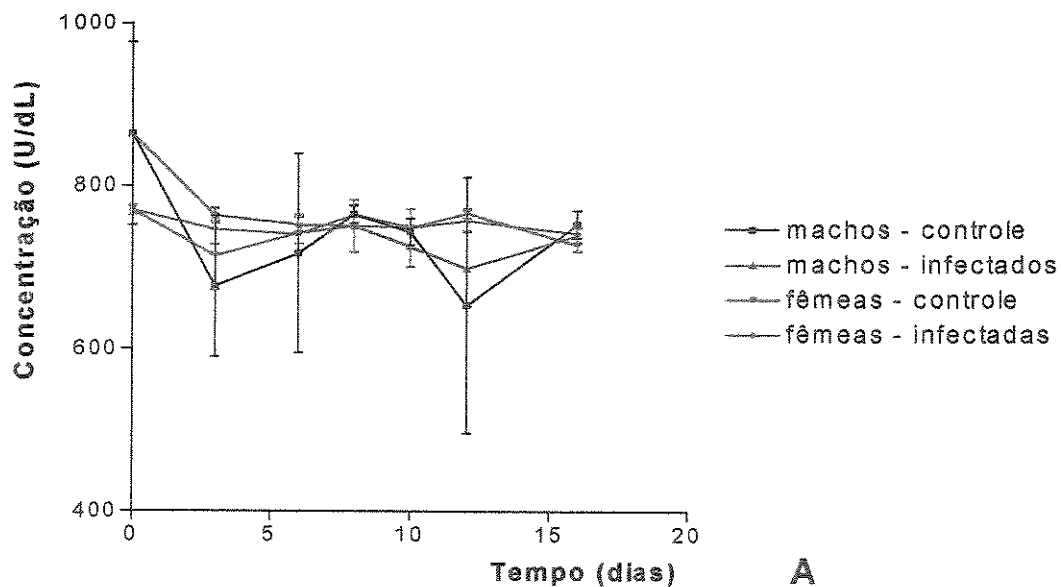


Figura 4. Avaliação das enzimas Amilase (A) e Lipase (B) camundongos machos e fêmeas, dos grupos controles e infectados pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*.

5.5. Histopatologia

5.5.1. Porção Exócrina: Ácinos Serosos e Ductos

5.5.1.1. grupo controle – machos

Pela avaliação da porção exócrina da glândula pancreática do grupo controle macho, observamos integridade celular e ausência de polimorfismo celular. Quanto à simetria, os ácinos serosos se organizam em formas triangulares, apresentando o núcleo e nucléolo microscopicamente visíveis. Os ductos são facilmente identificados, caracterizando um órgão sem alterações significativas.

As células acinares do grupo controle permaneceram do 3º dia ao 16º dia, integras sem apresentarem polimorfismo celular (Figuras 5 e 6).

5.5.1.2 grupo infectado – machos

Pela avaliação do grupo dos animais infectados pela cepa RAL de *T.cruzi*, foi observado a partir do 3º dia de infecção, uma granulação mais intensa. Nota-se início da infecção no 3º dia desorganização celular, mas não foi possível visualizar as formas amastigotas do parasito (Figura

7). No interior do citoplasma acinar, pode-se notar a presença de formas amastigotas de *T.cruzi*, no 12^o dia após a infecção (Figura 8).

Durante o período de infecção, o aspecto morfológico é modificado, havendo uma representativa desorganização nos ácinos serosos 12^o dia (Figuras 9). No último dia de infecção, o 16^o dia, os ácinos pancreáticos continuavam desorganizadas (Figura 12).

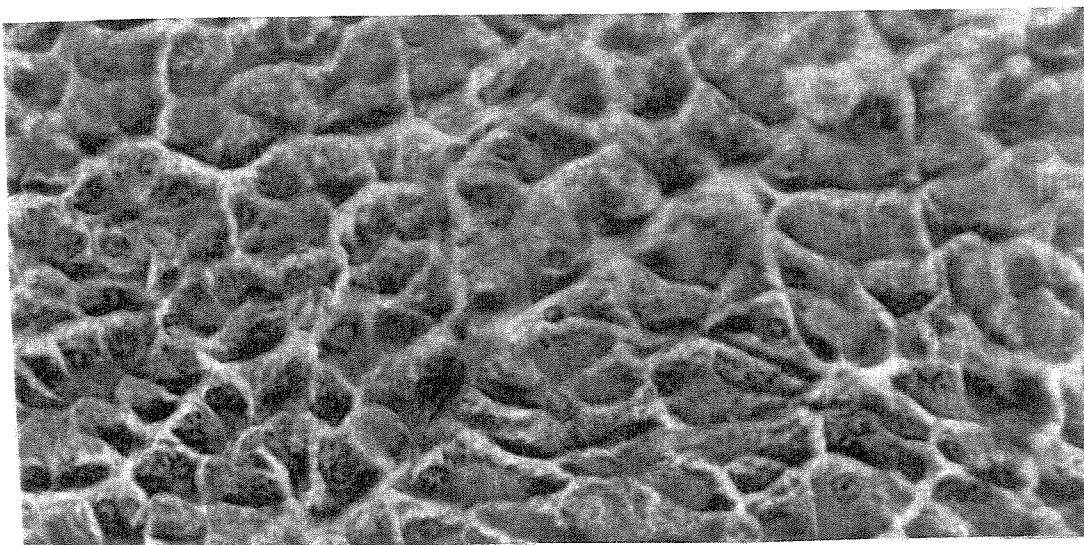


Figura 5. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos machos do grupo controle do 3º dia. Notar organização dos ácinos e das ilhotas entre os ácinos. (hematoxilina-eosina – 400 X).

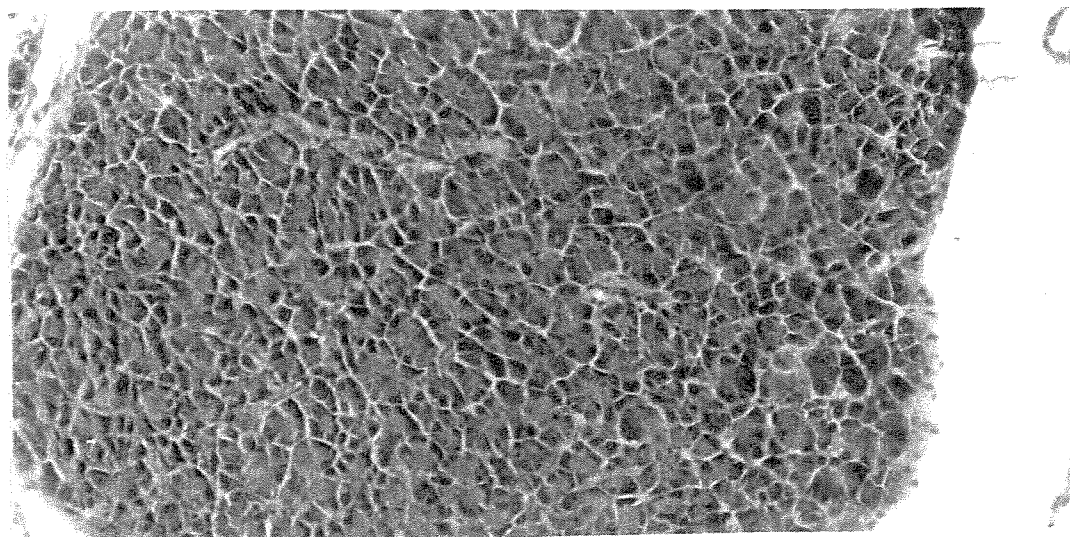


Figura 6. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas do grupo controle dos machos 16º dia. Notar ácinos organizados ao final do experimento (hematoxilina-eosina – 120X).

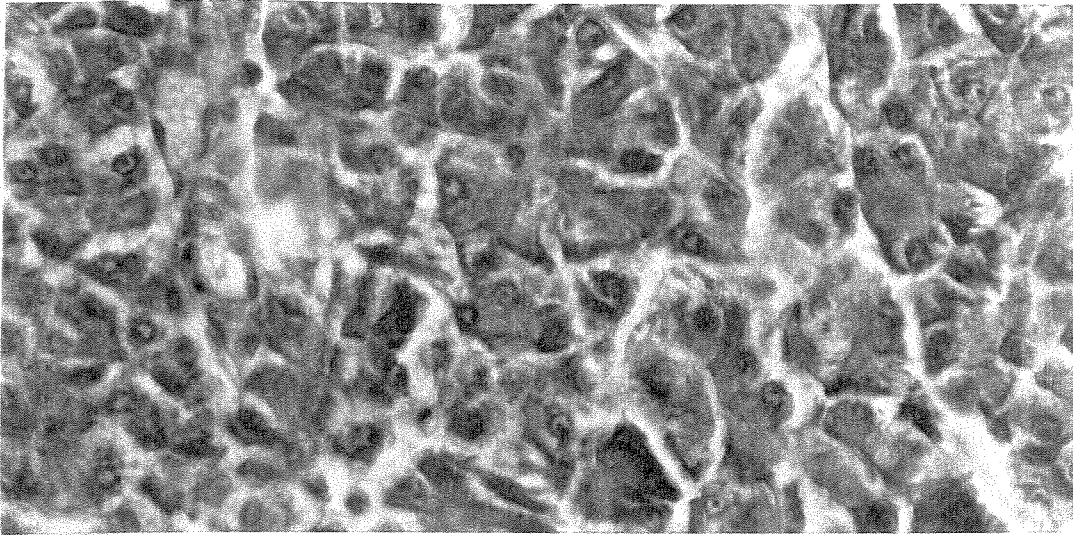


Figura 7. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos machos do grupo infectado (3^o dia de infecção por *Trypanosoma cruzi*). Notar início de desorganização acinar (hematoxilina-eosina – 400 X).

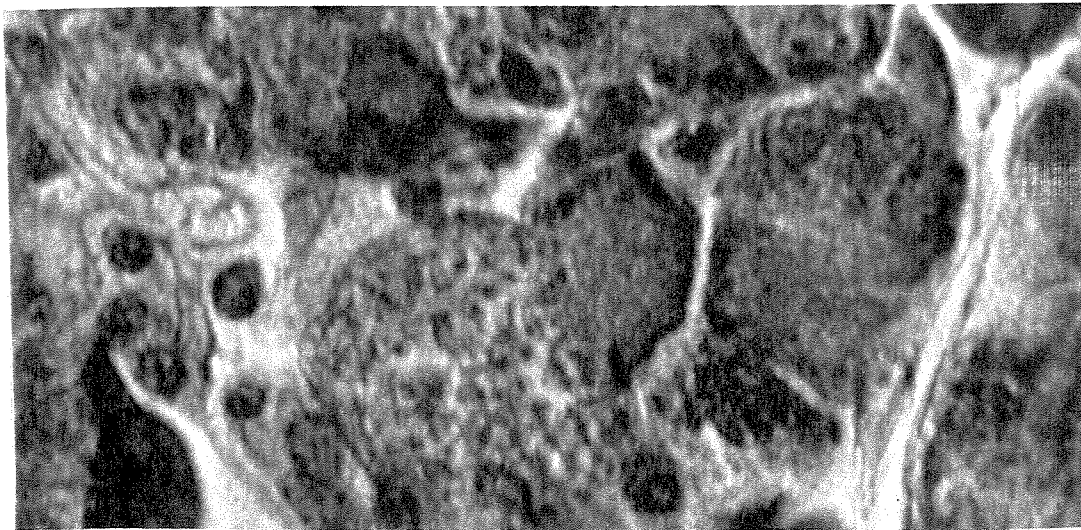


Figura 8. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos machos do grupo infectado (12^o dia de infecção por *Trypanosoma cruzi*). Ácino com a presença de formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* (hematoxilina-eosina-1000X).

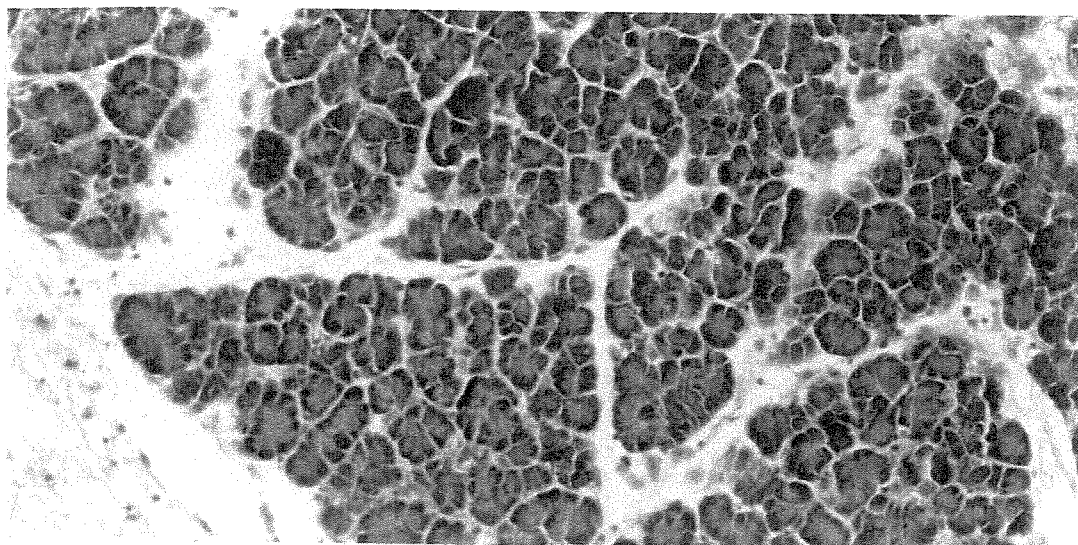


Figura 9. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos machos do grupo infectado (12^o dia de infecção por *T. cruzi*). Ácinos desorganizados (hematoxilina-eosina-120X).

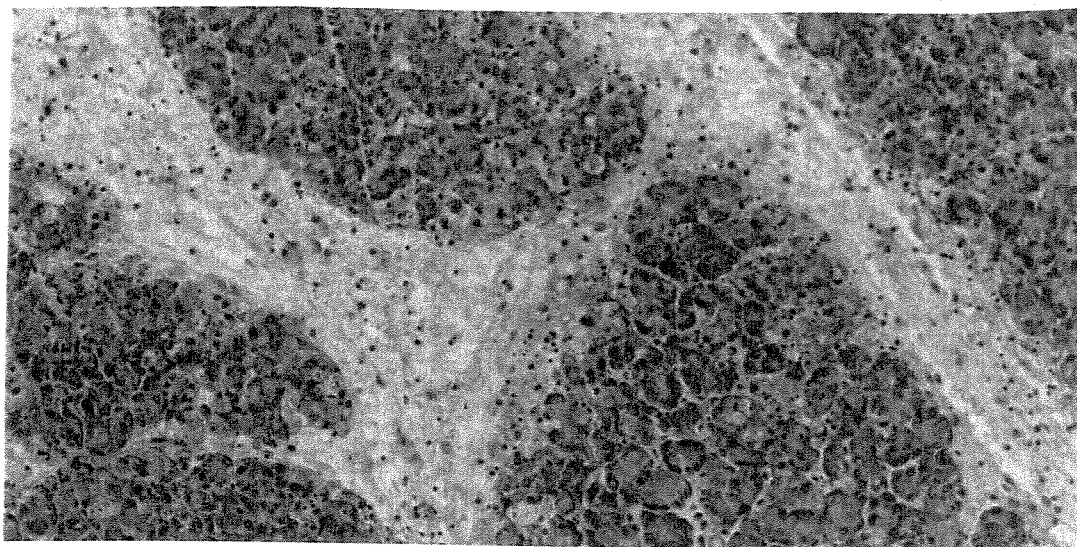


Figura 10. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos machos do grupo infectado 16^o dia. Ácinos desorganizados (Hematoxilina-eosina - 120X).

5.5.1.3. grupo controle – fêmeas

O aspecto histológico da porção exócrina da glândula pancreática do camundongo fêmea apresentou-se de forma organizada em todo período do experimento do 3º dia ao 16º dia (Figuras 11 e 12). Os ácinos glandulares serosos apresentaram-se com núcleos de forma basal e citoplasma escuro.

5.5.1.4. grupo infectado – fêmeas

A porção exócrina da glândula pancreática dos camundongos fêmeas infectadas com a cepa RAL de *T.cruzi*, apesar de não apresentar parasitismo tão intenso como o grupo experimental dos machos infectados, apresentou de uma maneira geral do 3º dia (Figura 13) ao 16º dia (Figuras 16) uma intensa desorganização acinar e inflamações celulares. Observou-se nas fêmeas infectadas no 12º dia a presença de formas amastigotas no interior dos ácinos, como já demonstrado nos machos (Figura 14). Foi possível observar em alguns campos no 12º dia, após o início da infecção, apresentaram infiltrados inflamatórios (Figuras 15).

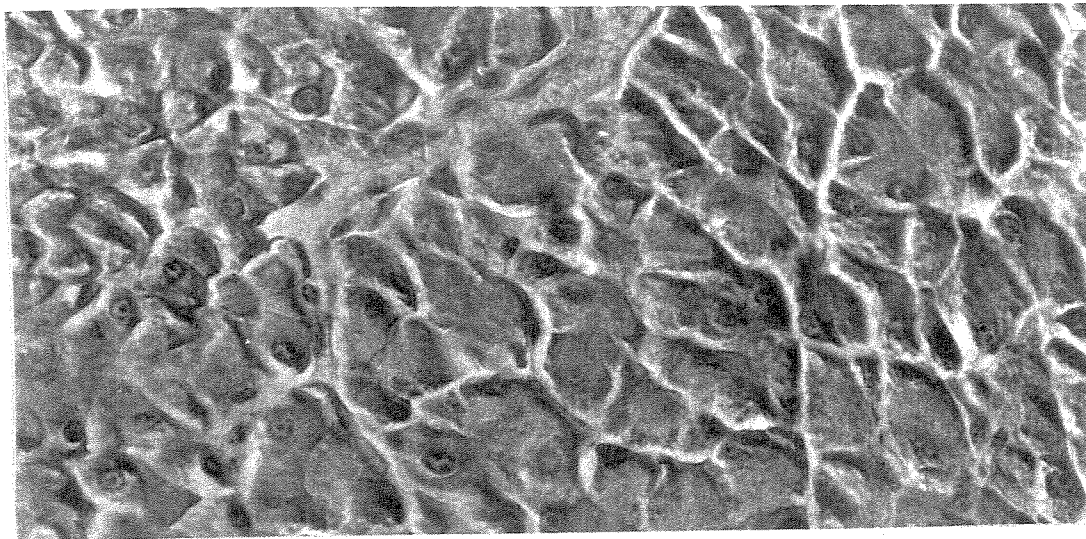


Figura 11. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas do grupo controle das fêmeas no 3º dia. Ácinos organizados (hematoxilina-eosina 400X).

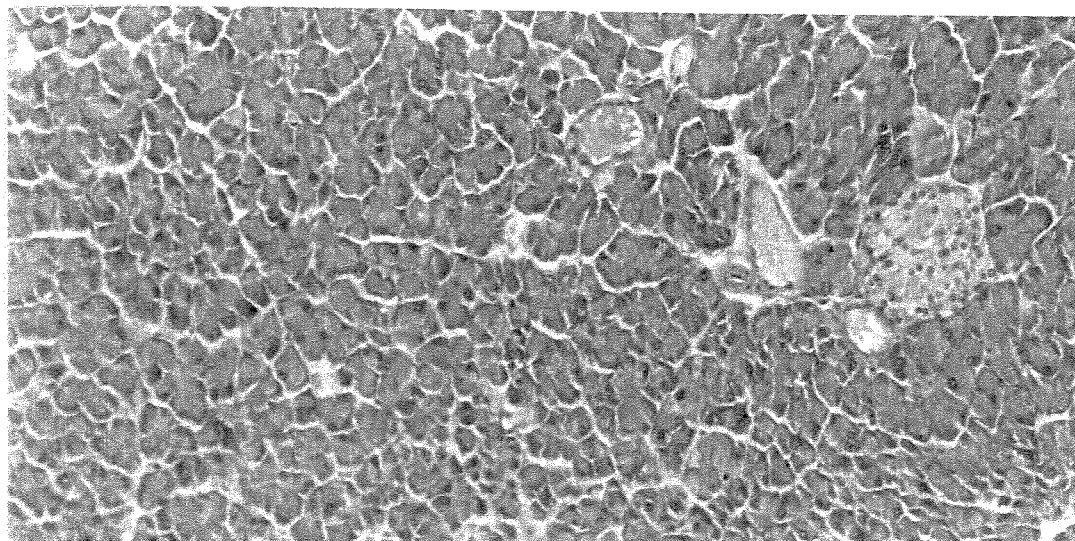


Figura 12. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas do grupo controle das fêmeas no 16º dia. Notar continuidade da organização acinar (hematoxilina-eosina 120X).

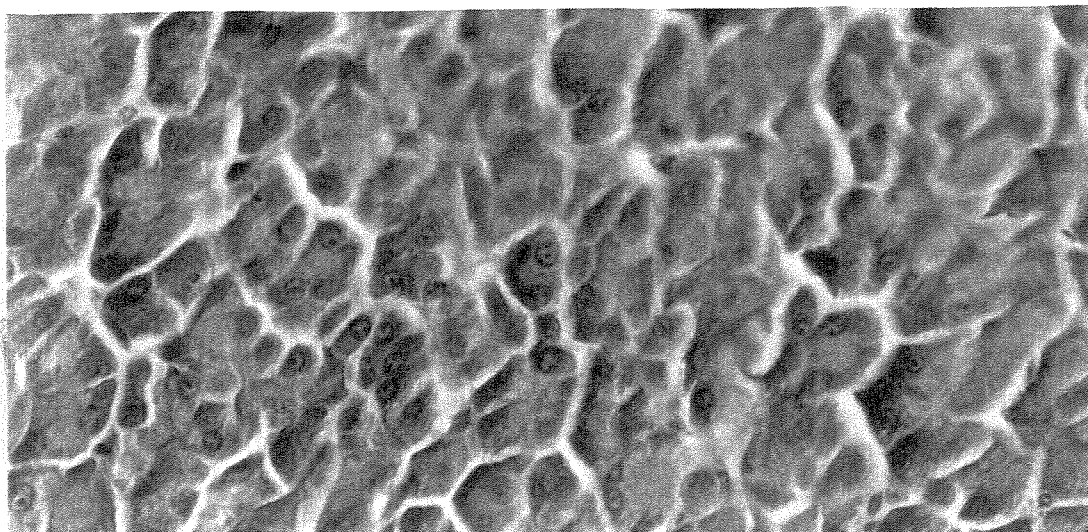


Figura 13. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas do grupo infectado das fêmeas no 3º dia. Notar ácidos desorganização (hematoxilina-eosina 400X).

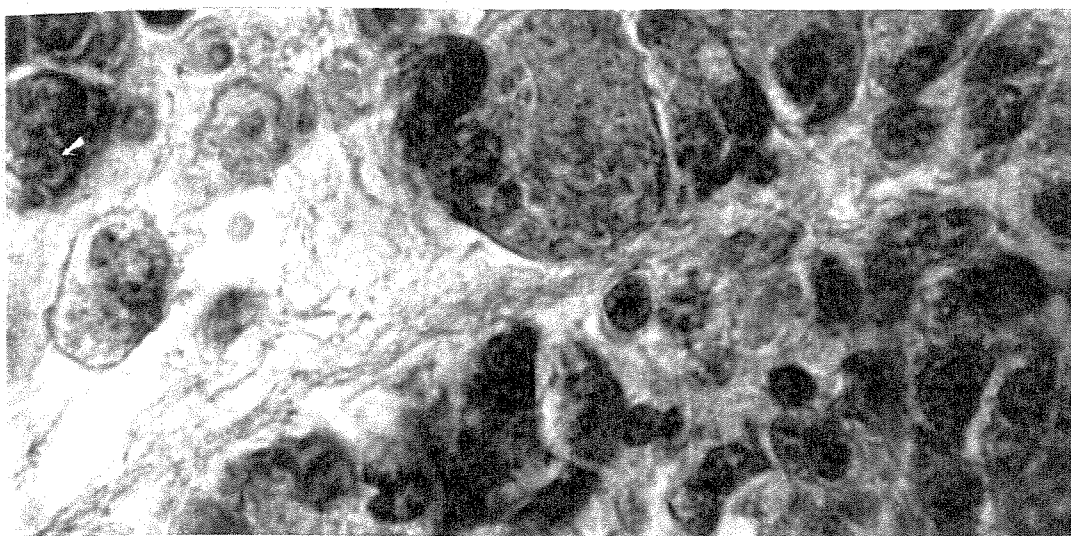


Figura 14. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos fêmeas do grupo infectado no 12º dia. Ácidos desorganizados no interior presença de formas amastigotas de *Trypanosoma cruzi* (hematoxilina-eosina - 1000X).

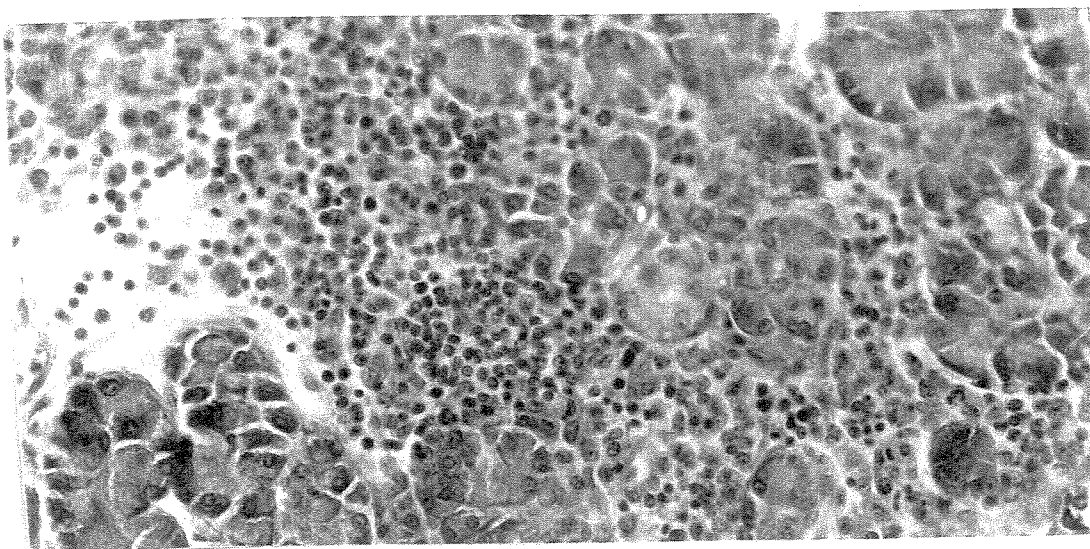


Figura 15. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos fêmeas do grupo infectado no 12º dia após a infecção. Ácinos desorganizados com infiltrado celular (hematoxilina-eosina 250X).

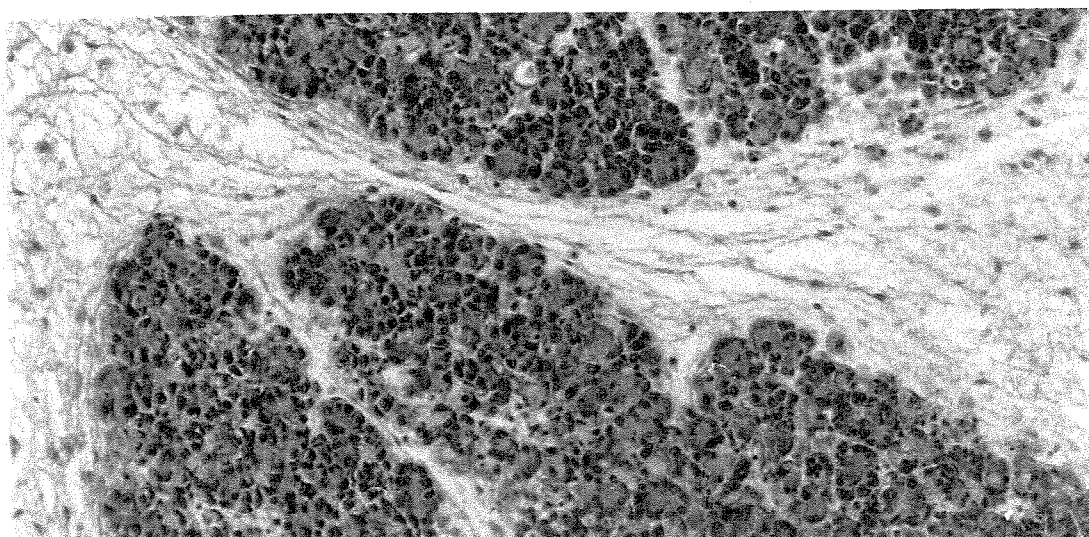


Figura 16. Fotomicrografia do aspecto histológico do pâncreas dos camundongos fêmeas do grupo infectado do 16º dia. Ácinos desorganizados presença de infiltrado celular (hematoxilina-eosina 120X).

5.5.2. Morfometria dos Ácinos

As Tabelas 1 e 2 demonstram as alterações dos ácinos pancreáticos, decorrentes do parasitismo por *T.cruzi*.

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

Parâmetros \ Grupos	Controle	Infectado Fêmea						
	Média	3.o Dia	6.o Dia	8.o Dia	10.o Dia	12.o Dia	14.o Dia	16.o Dia
Volume Nuclear (μm^3)	0,11	0,14 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,12 ^{ns}
Perímetro (μm)	1,78	2,03*	1,93 ^{ns}	1,88 ^{ns}	1,83 ^{ns}	1,93 ^{ns}	1,90 ^{ns}	1,83 ^{ns}
Excentricidade	0,60	0,59 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,59 ^{ns}
Ind. de contorno	3,59	3,58 ^{ns}	3,59 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,59 ^{ns}
Área nuclear (μm^2)	0,25	0,33*	0,29**	0,28**	0,32*	0,29**	0,28**	0,31*
Coef. de forma	0,98	0,97 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,97 ^{ns}

^{ns} não significante

* significante para $p < 0,01$

**significante para $p < 0,05$

Tabela 2. Comparação dos parâmetros nucleares acinares entre os animais machos do grupo controle e infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

Parâmetros	Grupos	Infectado Macho						
	Controle							
	Média	3.o Dia	6.o Dia	8.o Dia	10.o Dia	12.o Dia	14.o Dia	16.o Dia
Volume Nuclear (μm^3)	0,14	0,16 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,14 ^{ns}	0,10 ^{ns}	0,15 ^{ns}	0,12 ^{ns}	0,10 ^{ns}
Perímetro (μm)	1,94	1,57*	2,03 ^{ns}	2,03 ^{ns}	1,82**	2,05 ^{ns}	1,86 ^{ns}	1,79 ^{ns}
Excentricidade	0,59	0,57 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,57 ^{ns}	0,60 ^{ns}
Ind. de contorno	3,58	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,59 ^{ns}
Área nuclear (μm^2)	0,30	0,29 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,32 ^{ns}	0,26*	0,33 ^{ns}	0,28 ^{ns}	0,25 ^{ns}
Coef. de forma	0,98	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,97 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,97 ^{ns}

^{ns} não significante

* significante para $p < 0,01$

**significante para $p < 0,05$

Por meio dos resultados obtidos, pode-se verificar que as maiores alterações que estão relacionadas às fêmeas apresentam um alto grau de significância em relação à área nuclear dos ácinos pancreáticos, observando-se uma hipertrofia nuclear. Em relação aos animais machos, não foi observada nenhuma alteração significativa nos parâmetros avaliados

5.5.3. Porção Endócrina: Ilhotas Langerhans

5.5.3.1. grupo controle – machos

A glândula pancreática da porção endócrina das ilhotas de Langerhans do grupo controle macho apresentaram formatos íntegros e ao redor das ilhotas estão localizados os ácinos pancreáticos. Observa-se a presença de tecido conjuntivo e de vasos sanguíneos. O número de células α e β são compatíveis microscopicamente com as dosagens glicêmicas do 3º dia ao 16º dia (Figuras 17 e 18).

5.5.3.2. grupo infectado – machos

Para as ilhotas de Langerhans do grupo infectado macho pela cepa RAL de *T. cruzi*, pode-se observar a presença de infiltrado inflamatório tanto pela coloração de hematoxilina-eosina, como pela coloração de Goodpasture. Desta forma, observou-se microscopicamente uma variação no tamanho e no número das células. Foi notada uma ligeira hipertrofia das células β , e microscopicamente observou-se a redução em número e, morfometricamente, a atrofia das células α durante o 3º dia ao 14º dia (Figuras 19 e 20).

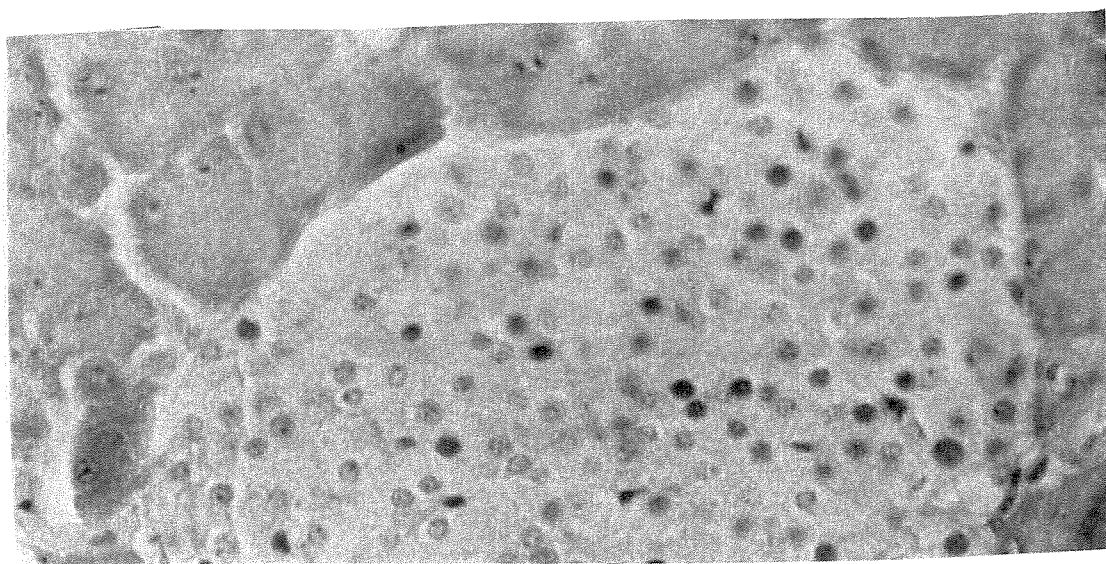


Figura 17. Fotomicrografia do aspecto histológico do grupo controle macho das Ilhotas de Langerhans (3^o dia). Observar nos pontos avermelhados os núcleos das células α e nos pontos azulados, os núcleos das células β (Goodpasture – 400X).

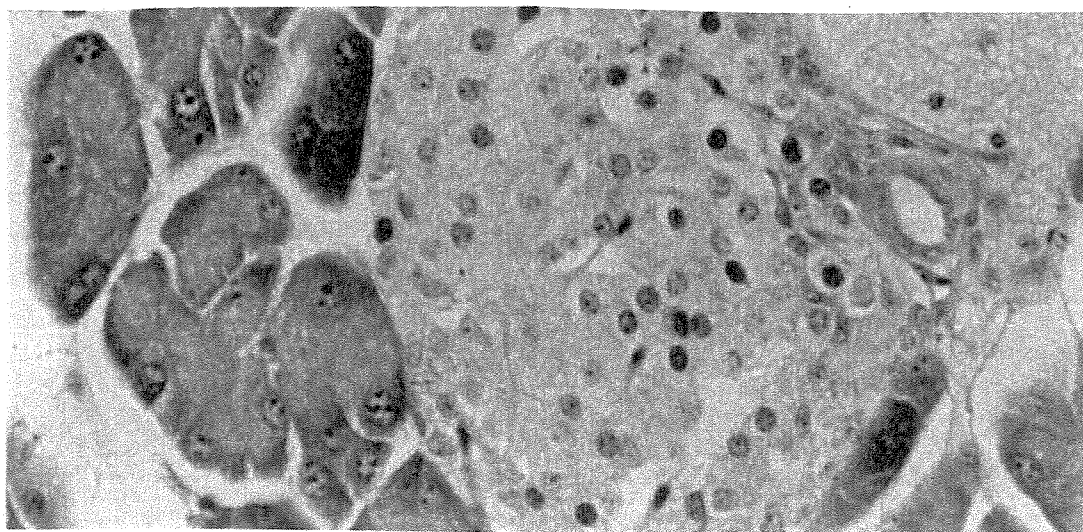


Figura 18. Fotomicrografia do aspecto histológico do grupo controle macho das Ilhotas de Langerhans (16^o dia). Observar nos pontos avermelhados os núcleos das células α e nos pontos azulados, os núcleos das células β . (Goodpasture – 400X).

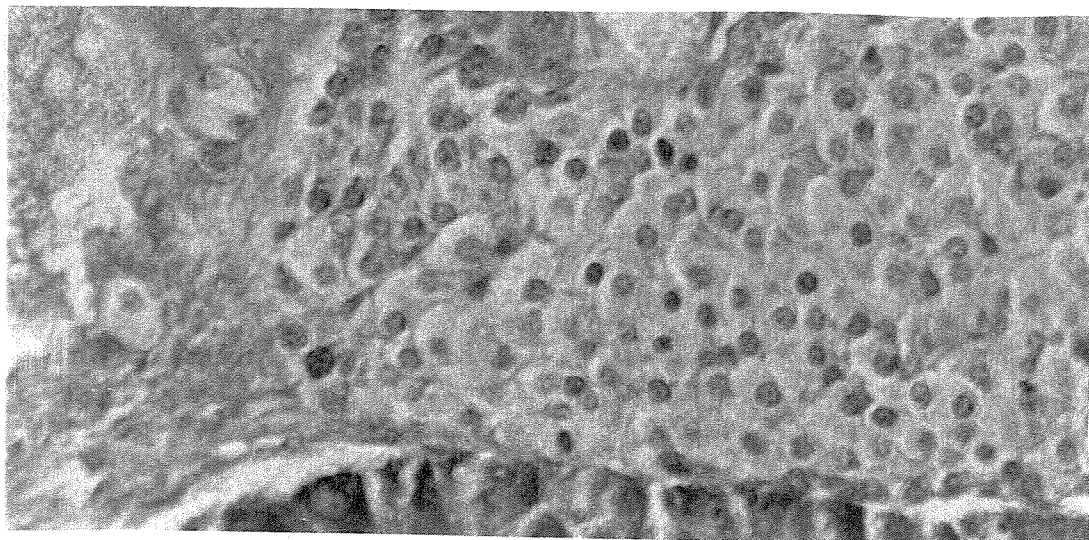


Figura 19. Fotomicrografia do aspecto histológico das Ilhotas de Langerhans do pâncreas do grupo infectado macho (3º dia). Observar que no início da infecção ocorre o mesmo tipo de comportamento em relação ao grupo controle (Goodpasture – 400X).

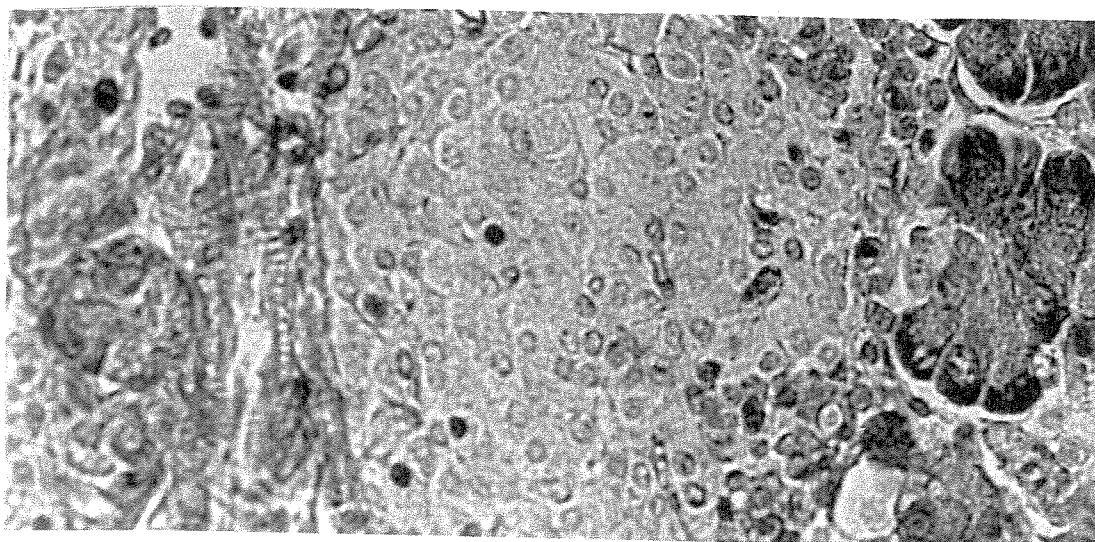


Figura 20. Fotomicrografia do aspecto histológico do grupo infectado macho das Ilhotas de Langerhans do pâncreas (14º dia). Observar ilhotas com pontos mais avermelhados representado pelos núcleos das células α e os azulados, os núcleos das células β (Goodpasture – 400X).

5.5.3.3. grupo controle – fêmeas

A glândula endócrina do pâncreas do grupo controle das fêmeas mostrou estruturas análogas às dos machos do 3º dia ao 16º dia (Figuras 21 e 22).

5.5.3.4. grupo infectado – fêmeas

As ilhotas de Langerhans apresentaram infiltrados inflamatórios como nos grupos infectados machos, e com alterações em relação semelhante ao tamanho ao número de células. Entretanto, observando as uma redução da proporção de células α e um hipertrofia das células β dos grupos infectados, em relação ao grupo controle 3º dia e 12º dia (Figuras 23 e 24).

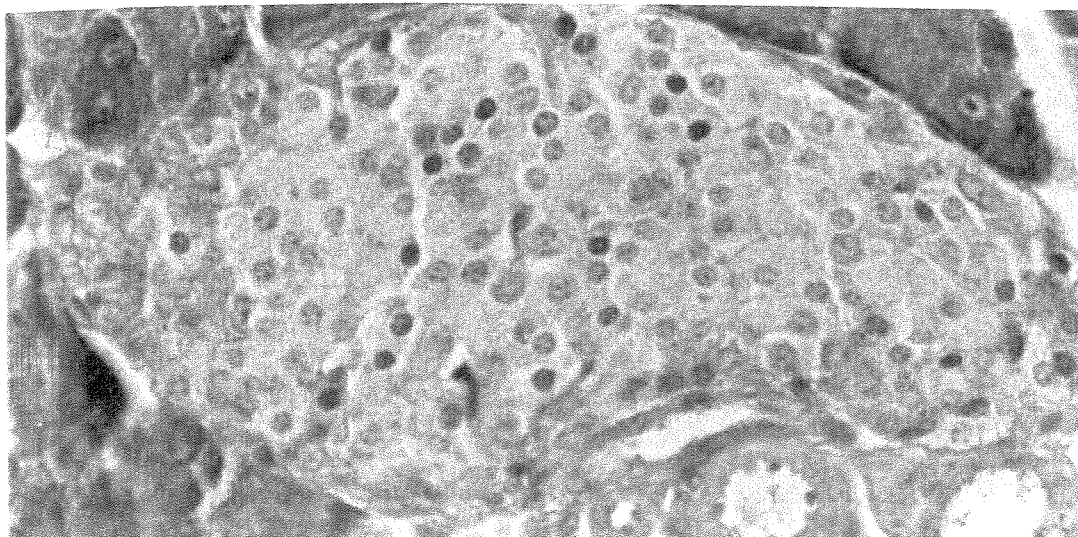


Figura 21. Fotomicrografia do aspecto histológico das Ilhotas de Langerhans do pâncreas (3º dia) grupo controle fêmea - observar ilhotas com pontos mais avermelhados representado pelos núcleos das células α e os azulados, os núcleos das células β (Goodpasture – 400X).

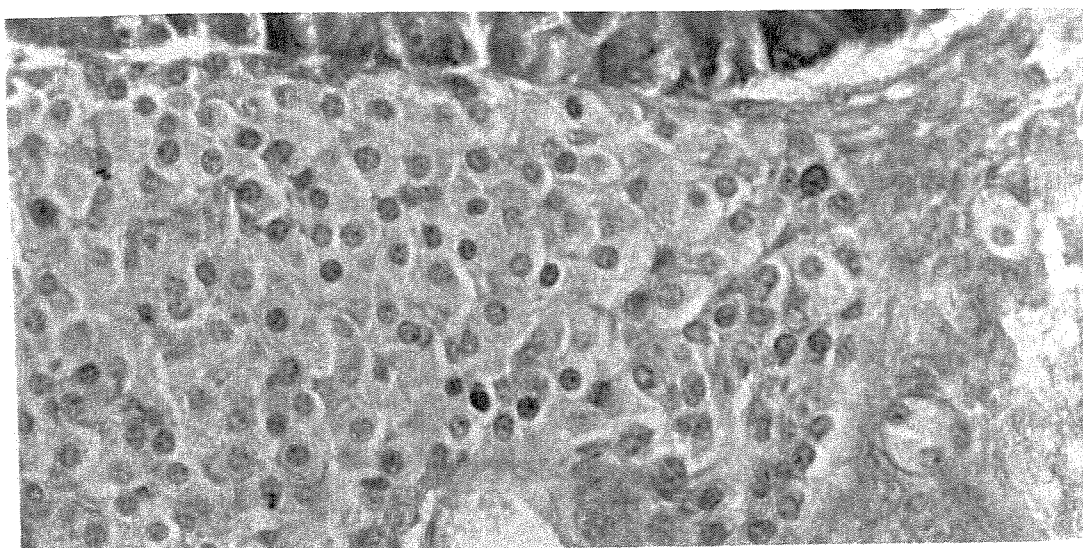


Figura 22. Fotomicrografia do aspecto histológico das Ilhotas de Langerhans do pâncreas (16º dia) grupo controle fêmea (núcleos avermelhados células α e os azulados as células β) (Goodpasture – 400X).

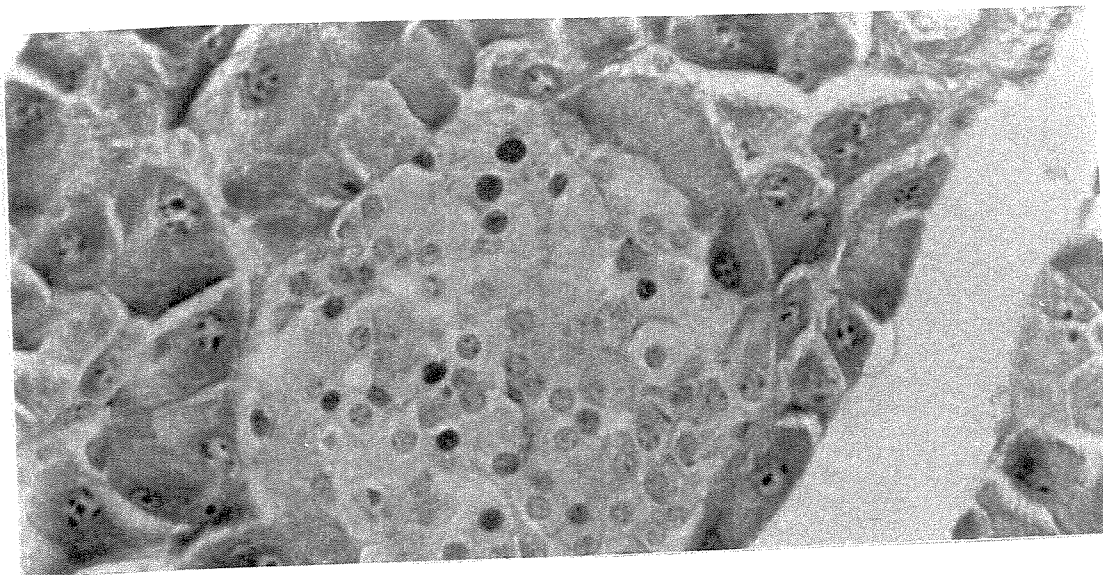


Figura 23. Fotomicrografia do aspecto histológico das Ilhotas de Langerhans do pâncreas (3^o dia) do grupo infectado fêmea. Observar o mesmo tipo de comportamento do grupo controle (Goodpasture – 400X).

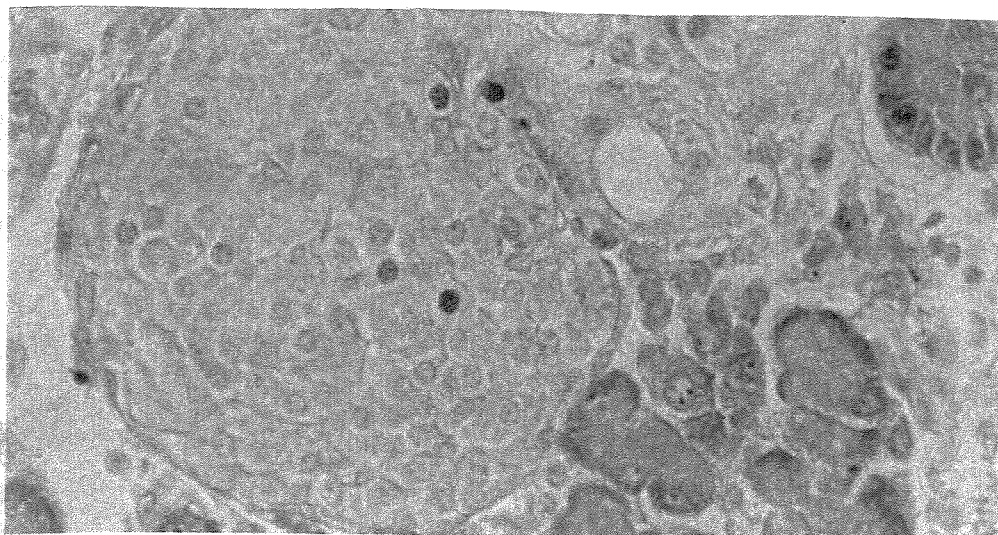


Figura 24. Fotomicrografia do aspecto histológico das Ilhotas de Langerhans do pâncreas (12^o dia), grupo infectado fêmea. Observar ilhotas com pontos mais avermelhados representado pelas células α e os azulados as células β (Goodpasture – 400X).

5.5.4. Morfometria das Ilhotas de Langerhans: células α e β

As Tabelas 3 e 4 demonstram as alterações nucleares das células α , constituintes das ilhotas de Langerhans, decorrentes do parasitismo determinado por *T.cruzi*.

Tabela 3. Comparação dos parâmetros nucleares das células α das ilhotas de Langerhans, entre os camundongos fêmeas do grupo controle e infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, durante a infecção.

Parâmetros	Grupos	Infectado Fêmea				
	Controle					
	Média	3.o Dia	7.o Dia	10.o Dia	12.o Dia	14.o Dia
Volume Nuclear (μm^3)	0,08	0,10**	0,08*	0,11**	0,07 ^{ns}	0,07 ^{ns}
Perímetro (μm)	1,71	1,82**	1,71 ^{ns}	1,85**	1,63**	1,62**
Excentricidade	0,59	0,63*	0,65**	0,61 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,63*
Ind. de contorno	3,59	3,60 ^{ns}	3,61*	3,59 ^{ns}	3,59 ^{ns}	3,60 ^{ns}
Área nuclear (μm^2)	0,23	0,26**	0,23 ^{ns}	0,27**	0,21 ^{ns}	0,20**
Coef. De forma	0,98	0,97*	0,96**	0,97*	0,97*	0,97*

^{ns} não significativa

* significativa para $p < 0,01$

**significante para $p < 0,05$

Tabela 4. Comparação dos parâmetros nucleares das células α das ilhotas de Langerhans, entre os animais machos dos grupos controle e infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, durante infecção.

Parâmetros	Grupos	Controle					Infectado Macho			
	Média	3.o Dia	7.o Dia	10.o Dia	12.o Dia	14.o Dia				
Volume Nuclear (μm^3)	0,10	0,09*	0,10 ^{ns}	0,11*	0,08**	0,07**				
Perímetro (μm)	1,81	1,78 ^{ns}	1,84 ^{ns}	1,85 ^{ns}	1,70*	1,61*				
Excentricidade	0,60	0,62 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,61 ^{ns}	0,61 ^{ns}				
Ind. de contorno	3,59	3,60 ^{ns}	3,59 ^{ns}	3,59 ^{ns}	3,59 ^{ns}	3,59 ^{ns}				
Área nuclear (μm^2)	0,26	0,25 ^{ns}	0,26 ^{ns}	0,27 ^{ns}	0,23*	0,20*				
Coef. De forma	0,98	0,97**	0,97*	0,97*	0,97*	0,97*				

^{ns} não significante

* significante para $p < 0,01$

**significante para $p < 0,05$

Através dos resultados apresentados, pode-se notar uma ligeira atrofia celular das células α , ocasionada no decorrer da infecção chagásica, tanto nos camundongos machos quanto nas fêmeas, representada pelos parâmetros volume nuclear e área nuclear, que são os principais itens a serem avaliados no que diz respeito à alteração celular.

Tabela 5. Comparação dos parâmetros nucleares das células β das Ilhotas de Langerhans, entre os camundongos fêmeas do grupo controle e infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

Parâmetros	Grupos	Infectado Fêmea				
	Controle					
	Média	3.o Dia	7.o Dia	10.o Dia	12.o Dia	14.o Dia
Volume Nuclear (μm^3)	0,08	0,09*	0,09*	0,09*	0,10**	0,08 ^{ns}
Perímetro (μm)	1,66	1,75**	1,76**	1,77**	1,83**	1,69 ^{ns}
Excentricidade	0,58	0,57 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,60 ^{ns}	0,60 ^{ns}
Ind. de contorno	3,58	3,58 ^{ns}	3,59 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,59 ^{ns}	3,59 ^{ns}
Área nuclear (μm^2)	0,22	0,24*	0,24*	0,25*	0,26*	0,22 ^{ns}
Coef. De forma	0,98	0,98 ^{ns}	0,97*	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}

^{ns} não significante

* significante para $p < 0,01$

**significante para $p < 0,05$

Tabela 6. Comparação dos parâmetros nucleares das células β das Ilhotas de Langerhans, entre os camundongos machos do grupo controle e infectado pela cepa RAL de *Trypanosoma cruzi*, de acordo com o curso da infecção.

Parâmetros	Grupos	Controle					Infectado Macho				
		Média	3.o Dia	7.o Dia	10.o Dia	12.o Dia	14.o Dia				
Volume Nuclear (μm^3)		0,09	0,10*	0,08*	0,10*	0,09*	0,07*				
Perímetro (μm)		1,76	1,79 ^{ns}	1,70*	1,81 ^{ns}	1,78 ^{ns}	1,61**				
Excentricidade		0,58	0,59 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,59 ^{ns}	0,58 ^{ns}	0,61**				
Ind. de contorno		3,58	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,58 ^{ns}	3,59 ^{ns}				
Área nuclear (μm^2)		0,25	0,25 ^{ns}	0,23*	0,26 ^{ns}	0,25 ^{ns}	0,26**				
Coef. De forma		0,98	0,98 ^{ns}	0,97*	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}	0,98 ^{ns}				

^{ns} não significante

* significante para $p < 0,01$

**significante para $p < 0,05$

Nas células β , notou-se uma discreta hipertrofia celular, observados nos dados contidos nas Tabelas 5 e 6. Apesar dos parâmetros referentes aos grupos machos e fêmeas infectados por *T.cruzi*, apresentarem um valor aumentado para a maioria dos itens avaliados, a

elevação mais significativa foi na área nuclear obtidos nos camundongos fêmeas.

No dia do pico parasitêmico da fêmea, o 12^o dia, evidencia-se os valores para as células α e β coerentes, comparando-os com as curvas glicêmicas (Figura 1), e alterações histológicas, demonstradas na Figura 24, onde é observada uma diminuição significativa da proporção de células α em relação às células β . Entretanto, é no pico parasitêmico do macho, o 14^o dia, que ocorre o mais acentuado nível de atrofia da célula α e a hipertrofia da célula β , demonstradas na Figura 20.

6. DISCUSSÃO

6.1. Parasitemia

CHAGAS (1909) demonstrou a existência de variações parasitêmicas durante a infecção de *T. cruzi* nos animais e no homem. Atualmente, a parasitemia do sangue é um parâmetro importante para o estudo de doença de Chagas em laboratórios experimentais, pois permite diferenciar as fases agudas e crônicas da infecção, podendo também ser

utilizada como um marcador biológico para a caracterização e estabelecimento de diferentes cepas de *T. cruzi* (SOGAYAR, 1993).

A média parasitêmica obtida no grupo experimental tenta estabelecer correlações anátomo-patológicas (MENEZES, 1970; RIVIERA-VANDERPAS et al., 1983).

Utilizando camundongos machos e fêmeas infectados pela cepa Y de *T. cruzi*, SILVA & NUSSENZWEIG (1953) verificaram que os níveis de parasitemia foram variáveis, não avaliando a influência do sexo dos camundongos sobre esse parâmetro.

Alguns autores acreditam que existem diferenças de susceptibilidade entre machos e fêmeas. CHAPMAN et al. (1975) observaram que os camundongos machos da linhagem CF-1 são mais sensíveis que as fêmeas. Ao contrario HOFF et al. (1979) atestaram que não havia diferenças relacionadas com o sexo, na parasitemia de camundongos infectados por *T. cruzi*.

Entretanto no presente trabalho, as fêmeas inoculadas com a cepa RAL de *T. cruzi* apresentaram um nível parasitêmico menor em relação aos machos, e o pico parasitêmico foi no 12º dia da infecção (Figura 1) e nos machos, no 14º dia após o inóculo inicial. Os resultados observados até aqui vão de encontro àqueles obtidos por BICE & ZELEDON (1970) em relação às cepas CHINGA e CR observaram as fêmeas de camundongos mais resistentes que os machos, fato esse que foram verificados por

PRADO JR et al. (1999) demonstraram em experimentos com *Calomys callosus* que fêmeas infectadas com cepa Y de *T.cruzi* possuíam parasitemia menor em relação aos machos. Desta forma os autores demonstram a possibilidade de hormônios gonadais poderem representar um papel fundamental na defesa contra infecção de *T.cruzi*.

6.2. Glicemia

A moléstia de Chagas vem se caracterizando como responsável por alterações de mecanismos reguladores da homeostase. A cepa RAL de *T.cruzi* mostrou também causar alterações no mecanismo glicêmico, pois os camundongos machos e fêmeas infectados apresentaram uma queda dos níveis de glicose no sangue elevada em relação aos grupos controles demonstrado na Figuras 2.

A fase aguda da doença de Chagas relacionado com a glicemia pouco descrita. Mas anormalidades que ocorrem no metabolismo dos hidratos de carbono na fase crônica da doença de Chagas foram descritas pela primeira vez por REIS et al. (1960). Este achado foi confirmado posteriormente por CAMPOS & CANÇADO (1962) e por VIEIRA & MENEGBELLI (1966).

VIEIRA & MENEGHELLI (1970) demonstraram peculiaridades da hipoglicemia insulínica na forma crônica da doença de Chagas. Estes autores observaram uma predominância de valores hipoglicêmicos em indivíduos chagásicos na prova de tolerância à insulina. É importante salientar que a hipoglicemia é incomum em um indivíduo normal, e pode causar injúrias ao sistema nervoso central, sendo a manutenção dos níveis plasmáticos de glicose essencial à sobrevivência do cérebro e, como consequência, ao organismo (MARKS & ROSE, 1981; SERVICE, 1983). Acredita-se que a infecção por *T.cruzi* pode comprometer o pâncreas (ALBUQUERQUE et al., 1991), sendo que a causa da hipoglicemia ainda não está bem esclarecida. Na fase aguda da doença de Chagas humana ocorre uma parasitemia elevada, que usualmente acomete o componente parassimpático do sistema nervoso do coração e aparelho digestivo (PRATA, 1994; REZENDE, 1994).

SANTOS et al. (1999) determinaram a glicemia de mulheres chagásicas crônicas e não-chagásicas, demonstrando que as chagásicas eram hiperglicêmicas, quando comparadas ao grupo controle, concluindo que pode ter ocorrido uma hiperglicemia pelo comprometimento funcional das células β , mesmo sem proceder às avaliações histopatológicas.

Também é importante ressaltar que o pâncreas controla a secreção de insulina, existindo uma oscilação fisiológica na secreção desse hormônio (LANGET et al., 1979). Por isso existem muitos trabalhos que

tentam esclarecer a fisiologia do mecanismo da hipoglicemia em seres humanos, que é determinada por patologias como adenoma pancreático, insuficiência hepática, hipotireoidismo, cirrose avançada, necrose, carcinoma, febre amarela, insulínoma, doença de Addison. Outros autores acreditam que a hipoglicemia pode estimular as células α , produtora de glucagon, e suprimir a produção de insulina (CORRAL & FRIER, 1981).

6.3. *Peso*

CHAGAS (1936) já relacionou o índice parasitêmico com a virulência do parasita, demonstrando uma correlação direta desses aspectos com a patogenia ocasionada. Na fase aguda da doença de Chagas, a resposta sistêmica para essa infecção manifesta-se com o aparecimento de alguns sintomas precoces como febre, mal-estar, anorexia, leucocitose com desvio à esquerda (KUSHNER, 1982; BEISEL, 1984).

O maior comprometimento nutricional, observado nos chagásicos falecidos após a reação aguda prolongada, está de acordo com a subnutrição global observada (CARRICO et al., 1986; DEITH, 1993) e poderia ser devido a fenômenos comuns nesta situação, como febre, anorexia, lipólise, proteólise, aumento do gasto energético (BEISEL, 1984; CUNHA et al., 1993; DEITH, 1993). CUNHA et al. (1994) demonstraram em seu trabalho que os chagásicos apresentando reação à fase aguda, demonstraram peso,

altura e índice de massa corporal (IMC) inferiores aos chagásicos sem reação na fase aguda.

Alguns pesquisadores demonstraram que a pancreatite crônica possui características clínicas podem causar uma má-absorção e insuficiência exócrina (MOTTO et al., 1981), perda de peso (observada em 91,6% dos pacientes), esteatorréia e icterícia (GUARITA et al., 1989).

O presente experimento demonstra resultados de acordo com as observações acima relacionadas. Foi relacionada a perda de peso durante a infecção pela cepa RAL de *T. cruzi*, onde podemos observar que machos apresentaram uma perda de peso maior em relação às fêmeas (Figura 3), o que pode estar relacionado ao maior índice parasitário, levando esse grupo animal a um comprometimento funcional fisiológico e anátomo-patológico mais acentuado.

6.4. Lipase e Amilase

A inflamação do pâncreas a *pancreatite*, quase sempre está associada às lesões das células acinares. Do ponto de vista clínico e histológico, a pancreatite manifesta-se como espectro, tanto na sua duração quanto na sua gravidade. O pâncreas exócrino tem sido pouco estudado na doença de Chagas. É importante destacar a resposta pancreática secretora

está correlacionada a estímulos nervosos e hormonais. Os estímulos nervosos são mediados, sobretudo, pelo sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático, com nítido predomínio do último (MOTTO et al., 1988).

Um dos primeiros estudos relacionados a atrofia, foi descrito por CHAGAS & VILLELA (1922) que demonstraram uma hipertrofia das glândulas em casos de megasôfago. Entretanto ainda não foi objeto de investigação sistemática. NASH & MORRISON (1949) observaram em seus estudos, que o parênquima pancreático estava muito denso, com ácinos e ductos menores do que aspectos normais, e havia infiltração difusa de linfócitos ao redor dos ductos. A impressão era que a proporção de ácinos para os ductos era maior do que na glândula normal.

Mas OLIVEIRA et al. (1952) verificaram hipertrofia das células acinosas e presença de secreção nos ductos excretores. O encontro ocasional de hiperamilasemia que levou autores ao estudo do pâncreas, cujo aspecto foi normal nos casos estudados.

A relação da amilase foi estudada em chagásicos relacionado com a glândula salivar e sistema digestivo, houve destruição do megacólón pela doença de Chagas, raras vezes é acompanhada de aumento de volume das glândulas salivares e de hiperamilasemia (VIEIRA et al., 1962). E em pacientes chagásicos com megaesôfago e hipertrofia das glândulas salivares, VIEIRA & CAMELO (1963) observaram haver uma

correlação estatisticamente significativa entre as taxas de amilase e de proteína total da saliva mista, tanto em repouso como após estimulação.

Sobre a lipase, GIANNINI et al. (1976) demonstraram a atividade da lipase, avaliada em 12 portadores da forma crônica da doença de Chagas, sendo essa atividade significativamente menor em relação aos pacientes não chagásicos. Entretanto, CAMPANA (1977) demonstrou que no comportamento da lipase em pacientes chagásicos crônicos ocorre uma redução da atividade enzimática, sugerindo a existência de um comprometimento anatômico.

Associamos as dosagens das enzimas lipase e amilase, nos camundongos machos e fêmeas infectados pela cepa RAL de *T. cruzi*, onde notamos, que a amilase não apresentou alterações significativas entre os grupos controles e infectados de ambos os sexos Figura 4A. Entretanto, a lipase apresentou diferença entre o grupo macho controle e infectado do grupo fêmea controle e infectado, mas se relacionarmos essa enzima no mesmo grupo não houve alterações significativas Figura 4B.

6.5. Histologia

6.5.1. Ácinos

A glândula pancreática dos camundongos machos e fêmeas infectados pela cepa RAL de *T. cruzi* apresentaram desorganização e hipertrofia acinar. A partir do 3º dia pode-se observar o início da desorganização tecidual, não sendo possível, entretanto, visualizar a presença de formas amastigotas do parasito.

No 10º dia, foram observadas alterações mais significativas do grupo infectado em relação ao grupo controle de ambos os sexos, começando a ser notada a presença de ninhos de formas amastigotas de *T. cruzi* na região interna acinar.

Um fato a ser considerado é que o parasitismo acinar nos camundongos machos foi mais intenso em relação aos camundongos fêmeas.

Para o pâncreas coletado no 12º dia (dia do pico parasitêmico para a fêmea) é possível observar uma intensa migração linfocítica e presença de granulomas, mas a reação inflamatória de maior intensidade foi para o macho no 14º dia (dia do pico para o macho). Além disso, houve um aumento do número de formas amastigotas na região acinar.

Para ambos os sexos foi possível observar um aumento significativo de regiões granulomatosas de maneira mais intensa, de acordo com a evolução da doença.

A avaliação histopatológica do pâncreas, obtido do grupo contendo animais não infectados (controle – 12º dia para fêmeas e no 14º para macho) demonstra a continuidade da integridade tecidual.

Em relação aos parâmetros nucleares acinares, verifica-se que as maiores alterações são relacionadas às fêmeas, que apresentaram um alto grau de significância quando avaliadas em relação à área nuclear dos ácinos pancreático. Pelos dados apresentados, é possível observar uma hipertrofia dessas estruturas. Até o ultimo dia de infecção, os grupos controles permaneceram sem alteração.

As situações onde são observadas hipertrofia de estruturas pancreáticas são acompanhadas por atividade alterada, caracterizada pelo aumento da atividade de hiperamilasemia, além de hipersensibilidade aos estímulos colinérgicos (VIEIRA, 1961, 1964).

Sobre a desnervação do pâncreas infectado por *T.cruzi* pouco ainda se sabe pesquisadores demonstraram que *T.cruzi* causa alterações como hiperplasia das ilhotas e inflamação com destruição parassimpática de gânglios periféricos do pâncreas (BRITTO-COSTA et al. 1973; ROCHA et al., 1998).

6.5.2. Ilhotas de Langerhans

No presente trabalho, foram observadas alterações nucleares das células α e β , constituintes das Ilhotas de Langerhans, durante o parasitismo determinado pela cepa RAL de *T.cruzi*. Pelos resultados apresentados, podemos notar uma ligeira atrofia celular nas células α , tanto nos camundongos machos quanto fêmeas, representada pelos parâmetros volume nuclear e área nuclear, principais itens a serem avaliados no que diz respeito à alteração nuclear. Entretanto, observando os mesmo parâmetros nota-se que nas células β , houve uma discreta hipertrofia celular.

Apesar dos parâmetros referentes aos grupos machos e fêmeos, infectados por *T.cruzi*, apresentarem um valor aumentado para a maioria dos itens avaliados, é nítida uma elevação mais significativa para os valores obtidos para os animais fêmeas.

No dia do pico parasitêmico das fêmeas (12^o dia) mostra atrofia mais acentuada das células α e hipertrofia das células β . Desta forma podemos correlacionar esses achados a uma maior deficiência dos níveis glicêmicos observados nos animais do grupo infectado. Nos camundongos machos houve a mesma alteração, porém mais acentuada no 14^o dia (dia do pico parasitêmico para o macho).

Após a realização da coloração diferencial (Goodpasture) verificou-se microscopicamente uma diminuição do número de células α em relação aos grupos controles. Porém não foi observada variação na proporção de células β , notando-se também infiltrado celular ao redor das ilhotas de Langerhans. Assim, nossos resultados vão de encontro àquele observado por HEITZ et al. (1977) que ao estudarem recém nascidos, filhos de mães diabéticas, observaram uma hiperplasia das ilhotas pancreáticas e um aumento de células β , que ocasionou hipoglicemia nos recém nascidos.

7. CONCLUSÕES

- A cepa RAL de *T. cruzi* demonstrou picos parasitêmicos diferentes, no 12º dia para as fêmeas e 14º dia para os machos, porém os comportamentos parasitêmico mais elevados foram nos camundongos machos quando comparados às fêmeas.
 - A cepa RAL apresentou alterações glicêmicas tanto nos camundongos machos quanto nas fêmeas infectadas, onde os animais apresentaram-se hipoglicêmicos com o decorrer da infecção
 - Nos camundongos machos e fêmeas infectados, foi observada perda de peso significativa após o 8º dia de infecção, para os machos, e após o 12º dia para os fêmeas.
 - Os índices de concentração plasmática de amilase e lipase não apresentam significância nos grupos machos e fêmeas controle em relação aos mesmos grupos infectados durante o período de infecção.
 - As análises morfométricas demonstraram alterações histológicas significativas, por apresentarem hipertrofias nos ácinos serosos do pâncreas das fêmeas infectadas, porém sem alterações nos machos. Entretanto, as ilhotas de Langerhans apresentaram-se células α atrofiadas e células β hipertrofiadas, em ambos os sexos.
-

- As análises morfológicas efetuadas no pâncreas dos animais controle e infectados evidenciaram uma possível redução do número de células α nas Ilhotas de Langerhans .

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBUQUERQUE, S.; RIBEIRO, R.D.; LOPES, R.A.; LAMANO-CARVALHO, T.L.; PAULA-LOPES, O.V. Tissue tropism of different tropism of *Trypanosoma cruzi* strains. IX. Alterations in A and B Langerhans islets cells produced by slender and broad formas of the Bolivian strain. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.85, n.1, p.8, 1990.

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.

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

ANJA, C. P; STACK, JM.W. Analysis of Pancreatic Development Using a Cell Lineage Labe. **Experimental Cell Research**. v. 247, p. 123-132, 1999.

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.

BEISEL, W.R. Metabolic Effects of Infection. **Progress in Food Nutrition Science**. v. 8, p. 43-75, 1984.

BELDA NETO, F.M.; RIBEIRO, R.D. Estudo das características da infecção de camundongos por sub-amostras do *Trypanosoma cruzi*, após passagem em cultura e triatomíneo. **Rev.Ciênc.Farm. S. Paulo**, v.11, p.1-13, 1989.

BENDAYAN, M.; BRUNEAU, A.; MORISSET, J. Morphometrical and immunocytochemical studies on rat pancreatic acinar cells under control and experimental conditions. **Biol. Cell**. v. 54, p. 227-234, 1985

BICE, D.E.; ZELEDON, R. Comparison of infectivity of strains of *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). **J. Parasitol.** v. 56, p. 663-670, 1970.

BRENER, Z. Contribuição ao estudo da terapêutica experimental da doença de Chagas. Tese. Belo Horizonte: Fac. Odont. Farm. Univ. Minas Gerais. Mimeografia, 79p, 1961.

BRITTO-COSTA, R.; NETO, JR.E.M., MARTUM, J. Estudo sobre a secreção glandular exócrina do aparelho digestivo e dos brônquios na moléstia de Chagas humana. **Rev. Inst. Med. Trop. de S. Paulo**. v. 227-234, 1973.

BROOKS, F.P. The neurohumoral control of pancreatic exocrine secretion. **Amer. J. Clin. Nutr.** v. 26, p. 291, 1973.

CÁCERES, O.; FERNANDES, J.F. Glucose Metabolism, growth and differentiation of *Trypanosoma cruzi*, **Rev. Brasil. Biol.** v. 36, sup. 2, p. 397-410, 1976.

CALABRESE, K.S.; LAGRANGE, P.H.; COSTA, S.C.G. Trypanosoma cruzi: histopathology of endocrine system in immunocompromised mice. **International Journal of Experimental Pathology**. v. 75, p. 453-462, 1994.

CAMPOS, J.O.; CANÇADO, J.R. Curvas glicêmicas anormais observadas em pacientes com a forma crônica da moléstia de Chagas. **O Hospital**. v. 62, sup. 2, p. 275-278, 1962.

CAMPANA, J. O. Lipase lipoprotéica. **Rev. Paul. Med.** v. 86, p.44, 1975.

CAMPANA, J. O. Estudo da atividade plasmática da lipase lipoprotéica na doença de Chagas crônica. **Rev. Paul. Med.** set.-out, p. 37-44, 1977.

CARRICO, C.J.; MEAKINS, J.L.; MARSHALL, J.C.; FRY, D.; MAIER, R.V. Multiple-organ failure syndrome. **Archives of Surgery**. 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.

CHAGAS, C.; VILLELA, E. Forma cardíaca da Trypanosomíase Americana. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 14, n. 1, p 3-61, jan./dez.1922.

CHAGAS, E. Infection expérimentale de l' homme par le Schizotrypanum cruzi. **C.R.Soc. Biol.** v. 121, p.769-771, 1936.

CHAPMAN, J.R.; HANSON, W.L.; WAITS, V.B. The influence of gonadectomy of host on parasitemia and mortality of mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **J. Parasitol.**, v. 61, p. 213-6,1975.

CORRALL, R.J.M ; FRIER, B.M. Acute Hypoglycemia in Man: Neural Control of Pancreatic Islet Cell Function. **Metabolism**. v. 30, p.160-5, 1981.

CROWELL, B.C. The acute form of American trypanosomiasis: notes on its pathology, with autopsy report and observations on trypanosomiasis cruzi in animals. **Am. J. Trop. Med.** v.3, p.424-454, 1923.

CUNHA, D.F.; CUNHA, S.F.C.; PRADO, L.E.; ARAÚJO, M.B.M; REIS, M.A.;TEIXEIRA, V.P.A. Subnutrição e alcoolismo em homem chagásico de 41 anos de idade. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.3, p. 103-105, 1993.

CUNHA, D.F.; VIEIRA, C de O, de PAULA e SILVA, G., EREDIA, G.R., TEIXEIRA, 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, sup. 2, p.23-6, 1994.

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, **Fundação Oswaldo Cruz**, p.A6-A7, 1979.

DEITH, E.A. Multiple organ failure. **Advances in Surgery**. v. 26, p. 333-356, 1993.

DIAS, J.C.P.; BORGES DIAS, R. Aspectos sociais, econômicos e culturais da doença de Chagas. **Ciência e Cultura**. v.31, p. 33-36, 1976.

DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. Epidemiologia , In: Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma Abordagem para o Clínica Geral, p.33-46, Rio de Janeiro, Editora FioCruz.1997.

DIAS, J. C. P.; SCHOFIELD, C.J. Controle da transmissão transfucional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. **Rev. da Soc. Brasileira de Medicina**. v. 31, p. 373-383, 1998.

DOST, K.C.; ALBUQUERQUE, S.; HEMLEBEN, V.; ENGELS, J.C. PRADO JR. Molecular genetic chracterization of different *Trypanosoma cruzi* strains and comparasion of their development in *Mus musculus* and *Calomys callosus*. **Parasitology Research**. DOI 10.1007/s00436-001-0553-8, 2001.

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

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.

FORTI, N.; GINNINI, S.D.; PAPALÉO NETTO, M.; DIAMENT, J.; PAULA, P. Glicemia e níveis plasmáticos de ácidos graxos livres e de potássio em portadores de cardiopatia chagásico e insuficiência cardíaca congestiva, submetidos ao teste de tolerância à insulina. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo**. v. 28, p.53, 1970.

FRIESS, H.; MALFERTHINER, P.; ISENMANN, R.; KUHNE, H.; BEGER, H.; BUCHELER, M.W. The risk of pancreaticointestinal anastomosis can be predicted preoperatively. **Pancreas**. august. v.13, sup.2, p. 202-8, 1996.

GERICH, J.E. Regulation of pancreatic insulin and glucagon secretion. **Rev. Physiol**. v. 38, p. 353, 1976.

GIANNINI, S.D.; NETTO, M.P.; FORTI, N.; DIAMENT, J.; SAWAIA, N. Estudo da atividade da lipase lipoprotéica "in vivo" na forma crônica da doença de Chagas. **Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. S. Paulo**. v.31, sup. 2, p. 109-115, 1976.

GREGORY, R.A. Secretory mechanisms of the digestive tract. **Ann. Rev. Physiol**. v. 27, p. 395, 1965.

GUARITA, D.R.; COELHO, M.E.; MOTTO, C. de B.; BETTARELLO, A.
Chronic pancreatitis: clinical characteristics, complications and
association with other diseases. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. São
Paulo**. sep-oct, v. 44, sup. 5, p. 221-6, 1989.

HEITZ, P.U.; KLOPPPEL, G; HACKI, W.H; POLAK, J.M.; PEARSE, A.G.E.
Nesidioblastosis: The pathologic basis of persistent hiperinsulinemic
hypoglycemia in infants. **Diabetes**. v.26, sup. 7, p.632-642, 1977.

HOFF, R.; MOTT, K. E.; SILVA, J. F.; MENEZES, V.; HOFF, J.N.; BARRET,
T.V. SHERLOCK, I. Prevalence of parasitemia and seroreactivity to
Trypanosoma cruzi in rural population of Northeast Brazil. **Am. J. Trop.
Med. Hyg.**, v.72, p. 247-50, 1979.

KAREN, M.; WEIDENHEIM, M.D; WILLIAM, W.; HINCHEY, M.D.;
WALLACE. G. Hyperinsulemic Hypoglycemia in Adults with Islet-cell
Hyperplasia and Degranulation of Exocrine Cells of the Pancreas. **Am.
J. Clin. Pathol.** v. 79, p. 14-24, 1983.

KÖBERLE, F. Chagas' disease and Chagas' syndromes: The pathology of
Americn Trypanosomiasis. **Adv. Parsit.** v. 6, p. 63-116, 1968.

KUSHNER, I. The acute-phase response to injury and infection. **Annals of
New York Academy of Science**. v. 389, p. 39-48, 1982.

LANGET D.A.; MATTHEWS, D.R.; PETO, J.; TURNER, R.C. Cyclic
oscillations of basal plasma glucose and insulin concentrations in
human beings. **The New England Journal of Medicine**. v. 301,
sup.19, p.1023-1027, 1979.

-
- LENZI, H.L.; OLIVEIRA, D.N.; LIMA, M.T.; GATTASS, C.R. *Trypanosoma cruzi*: infectivity of CL strain during murine acute infection. **Experimental Parasitology**, v.84, p.16-27, 1996.
- LISBOA, A.C. Sobre a forma congênita da doença de Chagas. Estudo anômico-patológico de 6 casos. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**. v.2, p. 319-334,1960.
- LOPES, E.R. CHAPADEIRO, E. ROCHA, A. Anatomia patológica do coração na forma indeterminada. *In*: CAÇADO, J.R. CHUSTER, M.(ed.), Cardiopatia chagásica. **Fundação Carlos Chagas**, Belo Horizonte, MG, p.33-40,1985.
- LONG, E.R., ALBUQUERQUE, R.H.; PRATA, A.; BARNES, A.J.; ADRIN, T.E.; CRISTOFIDES, N.D., BLOOM, A.S.R. Response of plasma pancreatic and gastrointestinal hormones and growth hormone to oral and intravenous glucose and insulin hypoglycaemia in Chagas disease. **Gut**. v. 21, p. 772-777,1980.
- MARTINI, A.S.; LOPES, R.A.; UTRILLA, L.S.;RIBEIRO, R.D.; REIS, C.C.A. Morphologic and morphometric study of changes in the alterations on young mouse parotid gland with subpatent Chagas disease. **Agew. Parasitol.** may, v.27, n.2, p.65-72, 1986.
- MARKS, V.; ROSE, F.C. Hypoglycaemia. 2nd ed. Oxford: Blackwell, 1981.
- MELO, R.C.; BRENER, Z. Tissue tropism of different *Trypanosoma cruzi* strains. **J. Parasitol.**, v.64, p.475-82, 1978.
-

MENEZES, H. Imunização de camundongos com vacina "viva" avirulenta de *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.4, p. 157-165, 1970.

MENEGHELLI, U.G.; REIS, L.C.F.; VICHI, F.L.; FILHO, E.C.L. Estudos sobre o metabolismo dos hidratos de carbono na moléstia de Chagas. **Rev. Paulist. Med.** .v. 75, p.281-288, 1969

MOTTO, C.B.; GUARITA, D.R.; MACHADO, M.C.C; BETTARELLO, A. Pancreatite crônica, evolução e elementos de prognóstico. **Rev. Hosp. Clin. Med. S. Paulo** . v. 38, p. 143-145, 1981.

MOTTO, C.B.; GUARITA, D.R.; SIPAHI, A.M.; BETTARELLO, A. Avaliação funcional do pâncreas exócrino em portadores de doença de Chagas crônica. **Rev. Hosp. Clin. Med. S. Paulo**. v. 43, sup.6, p 279-287, 1988.

NASHA, L.; MORRISON, L. F. Asymptomatic chronic enlargement of the parotid glands. **Ann. Otol. Rhinol. & Laryng.** v. 58, p. 646-665, 1949.

NIGRO G. Pancreatitis with Hypoglicemia – Associated convulsi Following Rotavirus Gastroenteitis. **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, v. 12 p. 280-282, 1991.

OLIVEIRA, H.L.; BLOISE, W. ; LOPES, A.G. Hiperatividade de glândulas salivares como causa da hiperamilasemia verificada em caso de megaesôfago. Possível valor semiológico da relação amilasemi/lipasemia, **Revis. Paulist. Med.** v. 41, p. 238-245,1952.

OKUMURA, M.; DEBRITO, T.; DA SILVA, L.H.P.; DA SILVA, A.C.; NETTO, A.C. The pathology of experimental Chagas' disease in mice. I. Digestive tract changes, with a reference to necrotizing arteritis. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v.2, p.17-28, 1960.

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. do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo**. v. 18, p.151-164, 1963.

OPAS (Organização Pan-Americana de Saúde). Documento OPS.PNSP/92-18 sobre a Iniciativa do Cone Sul. Washington, DC: **Organização Mundial da Saúde**, 1992.

PIZZI, P.T. Localización pancreática predominante y fenomenos de esteatonecrosis en ratones experimentalmente infectados con *Trypanosoma cruzi*. **Bol. Inform. Parasitar. Chilenas**, v.8, p.11-3, 1953.

PRADO J.R. J.C.; APPARECIDA, 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.

PRATA, A. Chagas' disease. **Infectious Diseases Clinics of North Americ.** v. 8, p. 61-76, 1994.

-
- RAMOS, A.N. Jr.; CARVALHO, M.D. The various meanings of Brazil's certification as free Chagas disease. **Cad. Saúde Publica.** nov-dec, v. 17, sup. 6, p. 1403-12, 2001.
- RANSON, J.H.C. Risk factors in acute pancreatitis. *Hosp. Pract.* v. 20, p. 69, 1985.
- REIS, L.C.F.; OLIVEIRA, H.L.; VIEIRA, C. Curvas glicêmicas anormais observadas em pacientes com a forma crônica da moléstia de Chagas. **Rev. Goiana de Medicina.** v.6 sup.2, p 156-165, 1960.
- REZENDE, J.F. Aspectos da forma digestiva da doença de Chagas. **Rev. da Soc. Brasil. de Med. Tropic.** v. 31, p. 43-49, 1994.
- RIBEIRO, R.D.; LOPES, R.A.; PETENUSCI, S.O.; MAIA CAMPOS, G.; PETENUSCI, N.C. Alterações de glândulas salivares de camundongos e ratos infectados pelo *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Fac. Farm. Odont. Ribeirão Preto**, v.14, n.1, p.35-40, jan./jun. 1977.
- RIBEIRO, R.D.; FERRIOLLI FILHO, F.; BELDA NETO, F.M. Comportamento de sub-amostras do *Trypanosoma cruzi* em hospedeiros vertebrados e invertebrados. **Rev. Bras. Biol.**, v.42, n.1, p.51-4, 1982.
- RIBEIRO, R.D.; BELDA NETO, F.M. Estudo morfológico de sub-amostras do *Trypanosoma cruzi*. II - Estudo micrométrico de tripomastigotas sangüícolas das sub-amostras Bolívia SN e Bolívia SD. In: JORNADA FARMACÊUTICA, 30^a, Araraquara, 1983. **Resumos**, Araraquara, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, p.31,1983.
-

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.

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. 769-770, 1993.

RIVIERA-VANDERPAS, M.T. ; RODRIGUES, A.M.; AFCHAIN, D. BAZIN, H; CAPRON, A. *Trypanosoma cruzi* :variation in susceptibility of inbred strains. **Acta Trop. (Basel)**. v.40, p.5-10, 1983.

ROCHA A.; de OLIVEIRA L.C.; ALVES R. S. LOPES E. R. Pancreatic neuronal loss in chronic Chagas' disease patients. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** v.31,sup. 1, p. 43-9, 1998.

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

SANTOS, V.M.; CUNHA, S.F.C.; TEIXEIRA, V. P.A.; MONTEIRO, J.P.; SANTOS, J.A.M. ; DOS SANTOS, J.A.M.; DOS SANTOS, T.A.M.; DOS SANTOS, L.A.M.; DA CUNHA, D.F. Frequência de diabetes mellitus e

hiperglicemia em mulheres chagásicas e não-chagásicas. **Rev. Da Societ. Brasil. de Med. Trop.** v. 32, sup. 5, p. 480-496, 1999.

SCHMUNIS, G.A. Tripanossomiase America: 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.

SCHOFIELD, C. J. Biosystematica and evolution of the Tritominae. **European Community and Latin American Network for Triatomtominae Studies.** p. 11-18. 1998.

SCORZA, C.; HERRERA, L.; URDANETA-MORALES, S. *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*: histopathology in mice infected with strains isolated from Didelphis marsupialis from the Valley of Caracas (Venezuela). **Acta cient. venez.**, n.47, v.4, p.244-7, 1996.

SERVICE, F.J. ed. Hypoglycemia disordes. Bonton: G.K. Hall, 1983.

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

SILVA, P.H.L; NUSSENZWEIG, V. Sôbre uma cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. **Folia Clinica et. Biologica.** Dec. v. 20, sup. 3, p. 191-208, 1953.

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, sup. 5, p. 395-8, 1993.

SOUZA, M. A; ALENCAR, A. A. On the tissular parasitism of *Trypanosoma cruzi* y strain in Swiss mice. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, v. 26, n.6, p.316-21, 1984.

TAFURI W.L.; RASO, P. Anatomia Patológica. *In*: Raia AA (ed.) *Manifestação digestivas da moléstia de Chagas*, Sarvies, São Paulo, p.61-79, 1983.

TEIXEIRA, V.P.A.; ALMEIDA, H.O. GOBBI, H. BARBOSA, A.J.A.; SILVEIRA, S.; REIS, M.A. Avaliação morfométrica das ilhotas pancreáticas em chagásicos crônicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.22, sup.II, p.80, 1989.

TRONCON, L.E.; OLIVEIRA, R.B. MENEGHELLI, U.G., DANTAS, R.O; GODOY, R.A. Plasma gastrin and gastric acid responses to insulin hypoglycemia in Chagas' disease. **Braz. J. Med. Biol. Res.** v. 18, sup.3, p. 273-8, 1985.

TSUZUKI T.; SHIMIZU S.; TAKAHASHI S.; LIO H. Hyperamylasemia after Hepatic Resection, **The American Journal of Gastroenterology**. v. 88, sup.5 , p. 734-36, 1993.

VIEIRA, C. B. Hiperamylasemia and hyperactivity of salivary glands associated with megaesophagus. **Am. J. Dig. Dis.**, v. 6, p. 727-41, 1961.

VIEIRA, C.B.; HADLER, W.A. Estudo histológico da glândula parótida e do pâncreas no megaesôfago. **Revista da Associação Médica Brasileira**. v.7, p. 89-96, 1961.

VIEIRA, C.B.; CAMARA LOPES, L.H. MENENGUCCI, W. Variação de volume das glândulas salivares e da amilase em pacientes com megaesôfago chagásico operado. **Rev. Goian. Med.** v. 8, p. 11-19, 1962.

VIEIRA, C.B.; CAMELO, J.S. Variações do volume-minuto, da amilase e da proteína total da saliva mista de pacientes chagásico com hipertrofia das glândulas salivares, em diferentes condições de estimulações. **Ver. Bras. Gastroenterol.** v.15, sup. 4, p. 147-1963.

VIEIRA, C.B. Hiperexcitabilidade de glândulas salivares hipertróficas à pilocarpina na forma crônica da moléstia de Chagas. **Rev. Ass. Med.** v.10, p.1-6, 1964.

VIEIRA, C.B.; MENENGHELLI, U.G. A observação de gordura em portadores em portadores de forma crônica da moléstia de Chagas e sua correlação com a prova oral de tolerância à glicose. **O Hospital.** v. 69, sup. 3, p. 162-171, 1966.

-
- VIEIRA, C.B; MENEGHELLI, G. U. Peculiaridade da hipoglicemia insulínica na forma crônica da moléstia de Chagas. I- Estudo Clínico. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** maio-junho, v.12, sup. 3, p. 175-178,1970.
- VINHAES, M.C.; DIAS, J.C.P. Doença de Chagas no Brasil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 16, sup.2, p. 7-12, 2000.
- WATANABE, S. Acute pancreatitis: overview of medical aspects. **Pancreas.** v.16, p. 30, 1998.
- WITTINGEN J, FREY CF. Islet concentration in the head, body, tail and uncinat process of the pancreas. **Annals of Surgery** v. 179, sup.4, p. 412-414,1974.
- WHO (World Health Organization). Control of Chagas Disease. **Who Technical Report Series** . p. 811. Geneva: WHO, 1991.
- WHO (World Health Organization). Chagas disease. Interruption of transmission. **Wekly Epidemiol Rec.** v. 72, p. 1-5, 1997.
- WHO (World Health Organization). Chagas Disease, Uruguay - Interruption of transmission . **Weekly Epidemiological Record.** v. 73, p 1-4, 1998.
- WHO (World Health Organization). Chagas Disease interruption in Chile. **TDR News.** v. 62, p 14, 2000.

