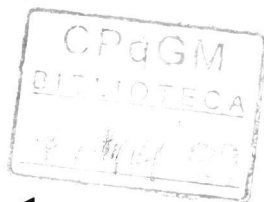


ANAIIS

ACADEMIA DE MEDICINA DA BAHIA



VOLUME 11
DEZEMBRO/1998

SALVADOR-BAHIA

Quimioterapia experimental da doença de chagas: Influência do tratamento específico na regressão das lesões fibrótico – inflamatórias do miocárdio*

*Sonia Gumes Andrade***

I – INTRODUÇÃO

Apesar da transmissão da doença de Chagas pelo inseto vetor ter sido controlada em muitas áreas do Brasil a partir da década de 80, através de campanhas de desinsetização pelo Ministério da Saúde³², persiste ainda, em uma parcela significativa das populações das áreas endêmicas da doença, a infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Este fato é decorrente da própria história natural da doença, que se desenvolve em um período de tempo muito prolongado, persistindo contaminados por toda a vida aqueles que o foram em idade muito precoce. Relatos de auto-cura da doença são escassos, nem sempre comprovados. Em animais suscetíveis como o camundongo, não ocorre autocura após períodos prolongados de infecção, podendo-se detectar a infecção patente, utilizando-se metodologia adequada para este fim. Por outro lado, existem mecanismos de transmissão pouco controláveis, como a congênita e a transfusional, permitindo o surgimento de novos casos agudos esporádicos. O advento dos transplantes cardíacos em pacientes chagásicos ou mesmo o transplante de outros órgãos, trouxe o risco de reativação de infecções subpatentes pelo uso dos imunossupressores, com agudização e intensificação significativa da miocardite.

A síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS), tem levado à reativação de infecções inaparentes em pacientes com a

* Trabalho apresentado à ACADEMIA DE MEDICINA DA BAHIA para concorrer à vaga No. 25

** Chefe do Laboratório de Doença de Chagas Experimental, Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – FIOCRUZ. Rua Valdemar Falcão No. 121, Brotas, Salvador-Bahia

forma indeterminada da doença, determinando quadros graves de comprometimento do sistema nervoso central²³.

Em todas as ocorrências acima expostas, existe a necessidade do tratamento específico da infecção pelo *T. cruzi*. Tendo em vista a alta incidência nas áreas endêmicas, de indivíduos sorologicamente positivos, muitas vezes apresentando sinais evolutivos da doença ou mesmo na sua fase indeterminada, o tratamento etiológico tem sido indicado principalmente no caso de crianças e adolescentes¹ e hoje faz parte dos programas da Fundação Nacional de Saúde²⁴.

Dentro da perspectiva atual acima esboçada em que, ao par de uma aparente diminuição na gravidade do problema da doença de Chagas no Brasil, persiste uma real e preocupante situação qual seja a de persistência de uma legião de indivíduos infectados, a necessidade de erradicação do parasito passa a ser uma prioridade, após o êxito, ainda parcial, na erradicação do seu vetor.

O enfoque que daremos ao presente trabalho representa a temática de nossas investigações sobre a doença de Chagas e a exposição que faremos a seguir está, em sua maior parte, baseada nos resultados de estudos que temos desenvolvido, sempre levando em conta outras fontes de referência ligadas ao assunto.

II – ASPECTOS BÁSICOS DA QUIMIOTERAPIA DA DOENÇA DE CHAGAS

O problema da quimioterapia da doença de Chagas continua sendo um desafio, tanto do ponto de vista clínico como experimental. Além da dificuldade em se encontrarem drogas ao mesmo tempo eficazes, atóxicas, não mutagênicas, existem as dúvidas sobre o efeito curativo das mesmas, sobre a real valia do tratamento da fase crônica e a possibilidade da regressão das lesões fibrótico-inflamatórias.

A abordagem experimental tem permitido investigar algumas das questões acima listadas e tem contribuído para esclarecer, pelo menos em parte, alguns dos problemas relacionados com a

quimioterapia da doença de Chagas. As drogas ainda hoje em uso clínico são as mesmas de 20 atrás: o Nifurtimox ou Bay 2502, derivado nitrofurilidênico e o Benzonidazol (RO 7-1051), derivado nitroimidazólico, as quais têm sido objeto da maioria destas pesquisas. Além da investigação sobre a eficácia destas drogas e a sua capacidade antiparasitária tem-se procurado investigar nestes estudos a influência do tratamento sobre as lesões tissulares. Na fase crônica da infecção, onde os mecanismos de autoimunidade estão envolvidos, muitos médicos acreditam que o tratamento específico não seria benéfico para o paciente, baseados em uma suposta manutenção das lesões de caráter imunológico, mesmo na ausência dos parasitos. Os estudos experimentais têm entretanto evidenciado que, tanto na fase aguda, em que a ação direta do parasito é responsável pelas lesões, como na fase crônica em que os mecanismos imunológicos são importantes, o tratamento curativo com o Benzonidazol e o Nifurtimox leva a uma nítida diminuição do processo fibrótico-inflamatório^{16, 17}. Estes achados sugerem que o tratamento específico pode ser benéfico aos pacientes que apresentem uma cardiopatia inicial ou naqueles da forma indeterminada, principalmente os mais jovens.

Além destes medicamentos têm sido testadas experimentalmente drogas também eficazes mas que não atingiram o uso clínico como MK-436 que, do mesmo modo que o Benzonidazol, é um derivado nitroimidazólico e demonstrou grande eficácia no tratamento da infecção experimental, determinando a cura parasitológica em alta percentagem dos animais, mesmo quando infectados por cepas do *T. cruzi* altamente resistentes aos outros quimioterápicos^{6, 7}.

Considerando os aspectos básicos das pesquisas sobre quimioterapia da doença de Chagas, torna-se patente que os novos compostos que poderão vir a ser eficazes contra o *Trypanosoma cruzi*, *in vivo*, deverão interferir no metabolismo parasitário, sendo inócuos aos sistemas metabólicos das células do hospedeiro²⁸. Diferentes aspectos têm sido investigados como a catalisação da replicação dos minicírculos do kDNA que é feita por uma topoisomerase exclusiva dos tripanosomatídeos; a pre-

sença de glicosomas nos quais os processos enzimáticos podem ser alterados com finalidade terapêutica bem como nos ciclos metabólicos do oxigênio e das purinas. A interferência no sistema de proteção dos tripanosomatídeos contra a ação do Oxigênio (sistema tripanotione), pode tornar os parasitos mais suscetíveis à peroxidase e aos radicais livres. Os aspectos referidos foram extensamente revistos por Marr e do Campo²⁸.

As formas parasitárias intracelulares do *T. cruzi* se constituem em verdadeiras formas de resistência pela sua localização, sendo necessário que os medicamentos atuem intracelularmente, sem comprometimento das estruturas celulares do hospedeiro. No sentido de investigar a ação intracelular dos quimioterápicos com efeito tripanosomicida^{6,16}, foram utilizados camundongos inoculados com diferentes cepas do *T. cruzi* e submetidos ao uso das drogas em uso clínico ou com drogas em fase de investigação experimental como o MK-436. O tratamento foi acompanhado desde as primeiras horas após a administração do composto (6, 12 e 24 horas) e os animais sacrificados sequencialmente, foram examinados, não só pela microscopia ótica como pelo exame ultraestrutural, tanto no tratamento com Nifurtimox e o Benzimidazol¹⁶, como com o MK-436⁶. Nestes estudos foi verificado que, logo às primeiras horas (6 horas), após a administração dos medicamentos, os ninhos parasitários sofrem alterações das formas amastigotas, e ao exame ao microscópio eletrônico, evidencia-se, além da acentuada vacuolização citoplasmática, tumefação mitocondrial, condensação nuclear e enrugamento da membrana das formas parasitárias intracelulares¹⁰. A miocélula cardíaca sofre alterações, com lise citoplasmática em torno das formas parasitárias em degeneração, condensação nuclear e citoplasmática, inclusões lipídicas, além de alterações mitocondriais. Estes achados demonstram a ação seletiva sobre as formas intracelulares do parasita. A destruição parasitária, condiciona a liberação de produtos antigênicos do parasito ou da própria célula destruída, levando assim a uma exacerbação do processo inflamatório, o que agrava a miocardite, nos casos agudos, com as conseqüências previsíveis, levando a uma falência miocárdica. O uso, nestes casos, dos corticoesteróides com ação

anti-inflamatória, no sentido de inibir e controlar a acentuada miocardite, poderia levar a uma exacerbação parasitêmica e o aumento do parasitismo cardíaco nos animais experimentais, em consequência da ação imunossupressora destas drogas. Deste modo, para o tratamento em casos indicados, seria necessário testar experimentalmente o efeito dos corticoides quando associados aos quimioterápicos, na inibição da miocardite da fase aguda, exacerbada pela destruição parasitária intracelular. Com este objetivo, foram utilizados cães jovens experimentalmente infectados com a cepa 12SF do *Trypanosoma cruzi*, a qual é muito virulenta e miocardiopática, isolada de um caso agudo fatal de São Felipe, BA⁴. Os cães foram acompanhados quanto à evolução da fase aguda, pela realização de eletrocardiogramas, antes e após infecção e pela avaliação da parasitemia. Após estabelecida a infecção grave os cães sobreviventes foram submetidos a tratamento com Nifurtimox a partir do 17^o ao 21^o dias de infecção na dose de 30mg/kg/dia, seguida após 24 horas, de doses diárias de 1mg de Betametasona. O tratamento combinado com Nifurtimox e Betametasona teve uma duração de 12 dias. O acompanhamento eletrocardiográfico demonstrou regressão das alterações do ECG e maior sobrevida naqueles tratados com esta associação quando comparados com os infectados não tratados ou com os infectados e tratados apenas com Nifurtimox. O estudo histopatológico mostrou que o uso associado do quimioterápico com corticóides⁴ propicia a regressão do processo inflamatório sem prejuízo da ação antiparasitária. Esta mesma associação foi empregada em dois pacientes com forma aguda grave tendo melhorado a condição clínica, as alterações radiológicas e eletrocardiográficas destes pacientes, propiciando a sobrevida dos mesmos¹⁴. Este pode servir de exemplo de como o modelo experimental pode ser utilizado para responder a uma questão de interesse para o tratamento, quando o clínico se depara com um caso de forma aguda grave de doença de Chagas. Isto não implica na conclusão de que os estudos experimentais possam vir a ser transferidos diretamente para o uso clínico. Há entretanto evidências de que nos modelos experimentais da doença de Chagas aspectos ligados à patogenia e à patologia podem ser esclarecidos, observando-se mesmo a reprodução de caracte-

rísticas da infecção do homem no modelo experimental. Um bom exemplo disto é o caso de um paciente de 17 anos, com a forma aguda fatal da doença de Chagas, do qual foi isolada a cepa designada como 12 SF, de alta virulência, que foi utilizada em numerosos trabalhos experimentais como protótipo do biodema Tipo II. Esta cepa determinou em cães as mesmas lesões observadas ao exame anátomo-patológico do paciente do qual a mesma foi isolada, mostrando mais uma vez que o modelo experimental pode oferecer importantes indicações para o acompanhamento e o tratamento em seres humanos.

III – O PROBLEMA DA RESISTÊNCIA AOS QUIMIOTERÁPICOS

Os compostos atualmente em uso clínico, especialmente o Benzonidazol (RO 7-1051 – Rochagan), tiveram a sua eficácia comprovada clínica e experimentalmente, tornando-se entretanto problemática a comprovação da cura parasitológica em uma percentagem de casos tratados. Por outro lado, os resultados obtidos pelos pesquisadores em diversas áreas geográficas do Brasil e de outros países da América mostraram resultados discrepantes quanto aos índices de cura obtidos, indicando diferenças geográficas na resposta aos medicamentos³². Estudos experimentais vieram a demonstrar a existência de cepas do *T. cruzi* com nítida resistência ao Nifurtimox e ao Benzonidazol o que se constitui em uma característica intrínseca, ligada ao tipo biológico da cepa^{8, 9}. Deste modo, vale salientar o importante papel da cepa do parasito nas diferenças de resposta ao tratamento observadas por diversos autores em pacientes de diferentes áreas geográficas. As cepas do *T. cruzi* caracterizadas do ponto de vista biológico em diferentes biodemas^{2,3} e bioquímico em zimodemas³⁰, têm um distribuição ubíqua nas diversas regiões do Brasil e em outros países da América do Sul e Central¹⁵ o que pode, pelo menos em parte, estar associado às diferentes respostas aos quimioterápicos em pacientes de diferentes áreas geográficas. Resulta destas observações a recomendação do estudo e tipagem das cepas isoladas de pacientes de áreas

endêmicas em que programas de tratamento venham a ser desenvolvidos. Em estudo de colaboração clínico – experimental¹⁸ foram estudadas laboratorialmente cepas do *T. cruzi* isoladas de pacientes em diferentes formas clínicas da doença de Chagas da região Centro-Oeste do Brasil, compreendendo localidades de Minas Gerais, Goiás e Oeste da Bahia. As cepas isoladas foram caracterizadas do ponto de vista biológico e isoenzimático e incluídas em dois diferentes biotipos: Tipo II e Tipo III. As cepas do Tipo II (zimodema 2), têm mostrado boa resposta ao tratamento quimioterápico⁵ e as de Tipo III (zimodema 1) são muito resistentes e têm demonstrado experimentalmente, índices de cura nulo⁹. Os resultados dos testes terapêuticos experimentais das cepas isoladas dos pacientes da área endêmica do Brasil Central foram comparados com os resultados do tratamento dos pacientes dos quais as mesmas foram isoladas¹⁸. Foi demonstrada uma correspondência em 81,8% dos casos entre os resultados do tratamento dos pacientes quando comparados com os obtidos nos camundongos inoculados com as cepas isoladas dos mesmos, indicando que os resultados experimentais se superpõem, até certo ponto, aos resultados clínicos. Isto cria uma nova perspectiva para a triagem de drogas a serem usadas no tratamento de pacientes nas diferentes áreas endêmicas.

Merece registro o fato de que o composto nitroimidazólico MK-436 (Merck Sharp Dhome), testado experimentalmente em camundongos infectados com os diferentes tipos de cepa^{6,7} mostrou-se eficaz, mesmo nas cepas resistentes aos outros medicamentos, determinando a cura parasitológica em alta percentagem de casos, não só tratados na fase aguda⁶ como na fase crônica⁷. Este composto, entretanto, embora aprovado por diferentes pesquisadores, não foi testado em pacientes e sua produção foi descontinuada. Entretanto os estudos experimentais com esta droga sugerem a possibilidade da síntese de drogas realmente eficazes, com capacidade curativa para os diferentes tipos de cepa, o que permitirá a eliminação do parasita mesmo naqueles pacientes portadores de cepas que até o momento não têm respondido ao tratamento quimioterápico com as drogas em uso clínico.

IV – CORRELAÇÃO ENTRE CURA PARASITOLÓGICA E NEGATIVAÇÃO SOROLÓGICA: A MEMÓRIA IMUNOLÓGICA

Entre os problemas relacionados à quimioterapia da doença de Chagas e que têm desafiado os clínicos em áreas endêmicas da alta prevalência está a comprovação da cura nos pacientes tratados. De acordo com Cançado²², a cura só poderá ser comprovada quando, ao lado da negativação parasitológica comprovada por xenodiagnósticos repetidamente negativos, durante período prolongado, ocorrer também a negativação sorológica. Os testes sorológicos ditos “convencionais” são a imunofluorescência indireta (IFI), hemaglutinação e o ELISA. Além destes tem sido preconizado o teste de lise mediada por complemento (LMC) o qual, de acordo com Krettli et al.²⁷ pode detectar a persistência de parasitos vivos após o tratamento. Entretanto os resultados obtidos com este teste em vários laboratórios são controvertidos e, além disto, a técnica é muito trabalhosa e dificilmente poderia ser usada em trabalhos de rotina. No modelo experimental por nós utilizado, não houve correlação entre o teste de LMC e os testes já referidos, de cura parasitológica.

Na experiência clínica de vários pesquisadores, entre a negativação do xenodiagnóstico e a negativação sorológica há um acentuado lapso de tempo, de mais de um ano nos casos agudos e período maior nos casos crônicos. Estes aspectos dificultam o estabelecimento de critérios de cura em pacientes tratados.

Os estudos experimentais têm demonstrado em diferentes grupos de tratamento, não só na fase aguda como na fase crônica da infecção que a cura parasitológica, comprovada por vários métodos, não coincide com a negativação sorológica. Os testes de cura aplicados aos animais tratados são variados e simultâneos como o xenodiagnóstico, a hemocultura, a subinoculação do sangue em camundongos recém-nascidos, o tratamento com drogas imunossupressoras e o estudo histopatológico, todas com o objetivo de demonstrar a ausência de parasitos isto é, a comprovação segura da “cura parasitológica”. São também realiza-

dos os testes sorológicos nestes animais os quais têm revelado, na maioria dos casos, a falta de correlação entre a negatificação parasitológica e a sorológica. Com o objetivo de investigar os mecanismos determinantes destes achados foi levantada a hipótese de que antígenos parasitários estariam sequestrados em "células de memória" no baço¹¹. A memória imunológica está associada ao desenvolvimento de centros germinais no baço onde se alojam as células dendríticas foliculares, na zona B, as quais capturam complexos antígeno-anticorpo e, como células apresentadoras de antígenos os fornecem às células B antígeno-específicas dando origem às células B de memória imunológica, envolvidas na resposta humoral. As células dendríticas podem manter complexos imunes por períodos prolongados e, através de determinantes antigênicos livres, mantêm a estimulação continuada da resposta sorológica e da produção de anticorpos. Para investigar esta hipótese, camundongos infectados por diferentes cepas do *T. cruzi*, tratados na fase crônica da infecção, foram acompanhados em um período de 3 a 6 meses após o término do tratamento, quando foram submetidos aos diversos testes de cura parasitológica citados anteriormente. Esta triagem inicial permitiu detectar os seguintes grupos de estudo, tomando como base a cura parasitológica: 1) camundongos tratados e parasitologicamente curados; 2) camundongos tratados porém não curados; 3) controles infectados não tratados. Em todos os animais a sorologia avaliada pelo teste de IFI foi mantida positiva com títulos variando de 1:10 a 1:160 nos tratados e curados e em títulos mais elevados, (1:160 a 1:640) nos não curados e nos não tratados. A investigação dos antígenos do *T. cruzi* sequestrados em células dendríticas foi realizada pela técnica da imuno-eletronmicroscopia com marcação dos antígenos pela peroxidase após o tratamento das secções criopreservadas com anti-soro monoespecífico purificado anti-*T. cruzi*. Os resultados mostraram marcação positiva de células dendríticas nos centros germinais dos folículos linfoides, visualizada como depósitos densos osmiofílicos na membrana celular, idênticos aos que são evidenciados nas formas parasitárias intracelulares em controles positivos¹¹. Estes achados dão apoio à hipótese de que a memória imunológica é mantida por células do baço identificadas como células dendríticas

foliculares. Isto pode explicar porque pacientes tratados e curados podem permanecer sorologicamente positivos por um lapso de tempo ainda não bem determinado e somente um cuidadoso acompanhamento poderá detectar, com segurança a fase em que ocorre a negatificação sorológica. No animal experimental há uma variação de acordo com a espécie, quanto ao tempo de persistência do estímulo após a injeção de diferentes antígenos em ratos, coelhos e camundongos. Neste sentido, novas investigações têm sido desenvolvidas para o esclarecimento do problema no modelo experimental. A possível existência de uma "memória imunológica" mantendo a estimulação à formação de anticorpos, abre novas perspectivas na avaliação do efeito curativo de drogas anti-*T. cruzi* e na avaliação dos resultados do tratamento em pacientes das áreas endêmicas.

V – IMPORTÂNCIA DO TRATAMENTO QUIMIOTERÁPICO NA REGRESSÃO DAS LESÕES FIBRÓTICO-INFLAMATÓRIAS

O desafio do tratamento específico da Doença de Chagas não está apenas na procura de drogas capazes de eliminar os parasitos do organismo mas, e principalmente, na possibilidade de que a cura parasitológica possa contribuir para a regressão das lesões, quer seja na fase aguda, onde as reações antígeno/anticorpo estão envolvidas ou na fase crônica onde os mecanismos de imunidade celular são predominantes. Dai o interesse em se obter modelos experimentais capazes de indicar se o tratamento curativo da doença de Chagas influenciaria ou não na evolução das lesões tissulares. O modelo experimental do camundongo permite monitorizar as múltiplas alterações nos diversos órgãos e tecidos as quais variam com a cepa do parasito, sua virulência e patogenicidade e o seu tropismo. Tem sido demonstrado que na fase aguda da infecção por diferentes cepas as lesões histopatológicas decorrem diretamente do parasitismo tissular. Os órgãos e tecidos que apresentam uma maior densidade parasitária são os que apresentam o maior grau de lesões

quer seja em nível de miocárdio e músculo esquelético com as cepas miotrópicas ou lesões disseminadas, com as cepas macrofagotrópicas, na fase aguda da infecção.

Deste modo, no tratamento da infecção aguda a regressão ou não das lesões tissulares está na dependência da cura parasitológica. Nesta fase, o exame histopatológico pós-tratamento em diferentes modelos experimentais (camundongos ou cães), mostrou regressão total das lesões nos animais curados que foram infectados com cepas susceptíveis, porém mesmo naqueles infectados com cepas resistentes, em que não houve cura parasitária, detectou-se nítida diminuição das lesões quando comparados com os controles não tratados^{4,6,16}. Estes dados vêm confirmar que as lesões desenvolvidas na fase aguda são dependentes da presença de parasitos nos tecidos e que a cura ou mesmo a diminuição da carga parasitária pode fazê-las regredir.

Nos animais infectados pelo *T. cruzi*, que evoluem para fase crônica da infecção, uma gama de alterações pode se desenvolver a depender da cepa do parasito, variando desde lesões inflamatórias focais, discretas a lesões acentuadas em miocárdio e músculo esquelético com densos infiltrados de macrófagos, linfócitos e plasmócitos e a proliferação de fibroblastos.

No camundongo cronicamente infectado pelo *T. cruzi* o processo de fibrose intersticial do miocárdio é proeminente e há uma predominância dos colágenos Tipos III e IV nos estados avançados de evolução. A identificação dos tipos genéticos de colágeno é importante para a avaliação das possibilidades evolutivas do processo de fibrose bem como da possibilidade de regressão, desde que diferentes tipos de colágeno têm acentuadas diferenças na suscetibilidade ao ataque enzimático. Um estudo seqüencial das alterações da matriz extracelular do miocárdio¹² demonstrou que o espessamento da matriz intersticial ocorre no camundongo desde a fase subaguda precoce. A fibronectina, importante molécula de adesão, é o componente mais proeminente nesta fase, aparece em nítida relação com o processo inflamatório que dissocia as fibras cardíacas e está nitidamente correlacionada com a atração e aderência de fibroblastos aos tecidos. A laminina também está nitidamente aumentada, tendo a mesma

distribuição do colágeno de Tipo IV e está relacionada com o espessamento da membrana basal dos miócitos. Com a evolução da infecção observa-se espessamento da matriz conjuntiva com depósito de colágeno dos tipos III e IV¹². As lesões fibrótico-inflamatórias nos casos com infecção crônica têm sua patogenia ligada aos processos imunológicos de hipersensibilidade tardia e autoimunidade, capazes de manter a inflamação e de determinar o depósito colagênico. Além disto, os parasitos são escassos e não poderiam ser diretamente correlacionados com as lesões presentes. A presença de antígenos parasitários nas lesões da fase crônica, detectados por métodos imunohistoquímicos²⁵ e pela reação de PCR (*polymerase -chain reaction*)²⁶ indicam entretanto um importante papel do parasito na manutenção das lesões nesta fase.

A pesquisa orientada no sentido de detectar a reversibilidade da fibrose miocárdica na doença de Chagas experimental¹⁹ sob o efeito do tratamento quimioterápico demonstrou que, concomitantemente com a regressão do processo inflamatório havia uma progressiva diminuição da matriz colagênica. A imunomarcagem dos diversos tipos de colágeno, da fibronectina e da laminina mostrou acentuada diminuição ou o desaparecimento dos depósitos matriciais intersticiais. O estudo realizado permitiu avaliar evolutivamente a regressão das lesões pois os animais foram examinados de 30 a 150 dias após o término do tratamento. Em nível ultraestrutural foram constatadas alterações líticas e aspectos característicos de degradação do colágeno, com depósitos amorfos eletrondensos, alterações estas de caráter progressivo. Estes aspectos indicam que, embora as lesões fibrótico-inflamatórias da cardiopatia chagásica tenham um caráter imunológico, ligado à hipersensibilidade tardia, como já demonstrado experimentalmente, a presença do parasito parece fundamental para a evolução e manutenção das lesões. A formação e a degradação da matriz se constituem em processos dinâmicos, reversíveis. Quando a formação da matriz excede a degradação, ocorre a fibrose. A inflamação crônica, importante componente das doenças parasitárias é um potente estimulador da formação da matriz extracelular²¹. Quanto mais recente a fibrose, mais rápida a sua de-

gradação embora esta possa ocorrer em fibroses de longa duração. A possibilidade de reversão da fibrose intersticial difusa do miocardio após o tratamento etiológico pode-se constituir em um fato novo na conduta terapêutica da doença de Chagas a partir da observação de que não apenas as alterações inflamatórias mas também o processo de acúmulo de colágeno na matriz extracelular podem regredir na dependência do "clearance" parasitário.

Uma evolução peculiar das lesões fibrótico-inflamatórias pela infecção com o *T. cruzi* foi observada no roedor silvestre *Calomys callosus*¹³, reservatório vertebrado encontrado naturalmente infectado no seu habitat natural e que foi posteriormente adaptado ao laboratório por Mello²⁹. Este animal é mais resistente do que o camundongo e sobrevive à infecção por cepa virulenta do *T. cruzi* (cepa Y) porém apesar de sua maior resistência avaliada pela sobrevivência, desenvolve intensas lesões do músculo esquelético e miocardio com cepa de Tipo III (cepa F), associadas com intenso e precoce processo de fibrogênese¹³ com depósitos de colágeno caracterizados através de coloração especial com o método do picro-Sirius e pela imunomarcagem dos tipos de colágeno, laminina e fibronectina. As lesões fibrótico-inflamatórias sofrem regressão espontânea e aos 40 dias observa-se uma volta à estrutura normal a não ser por infiltrados focais residuais. Esta regressão espontânea das lesões é de grande interesse porque, através do seu estudo é possível melhor interpretar a patogenia da fibrose. Neste modelo os macrófagos são o componente mais importante do infiltrado e mostram sinais de ativação caracterizada à microscopia eletrônica pela emissão de prolongamentos e o contacto com os miócitos, determinando lesões necróticas focais das miocélulas cardíacas, sugerindo o seu papel como células efetoras no processo de miocárdite no *C. callosus*. O papel dos macrófagos no processo de fibrogênese decorre da produção pelos mesmos de citocinas com potencial fibrogênico através da estimulação da proliferação fibroblástica. A regressão rápida da fibrose neste modelo parece ligada ao fenómeno de "down regulation" da hipersensibilidade tardia, com significativa imunossupressão da imunidade celular e conseqüente diminui-

ção da fibrogênese. Embora o estudo ultraestrutural tenha demonstrado alterações evidentes do colágeno, com perda da periodicidade, depósitos eletrondensos e aspectos líticos, indicando um processo de fibroclasia, como tem sido descrito em outros modelos²⁰, a regressão da fibrose parece mais ligada ao decréscimo da fibrogênese resultante da regressão do processo inflamatório. O processo descrito no *C. callosus* não ocorre no camundongo em que as lesões da fase crônica são evolutivas e cuja regressão só ocorre mediante tratamento específico curativo.

É importante, deste modo, estabelecer qual seria o real efeito do tratamento específico curativo, na regressão das lesões anatomopatológicas da forma crônica da doença de Chagas. Em camundongos com infecção prolongada submetidos a tratamento específico tanto com o Benzonidazol e o Nifurtimox, como com o MK-436, houve total regressão do processo fibrótico-inflamatório do miocárdio nos animais curados e com a persistência apenas de focos inflamatórios residuais naqueles tratados, porém não curados^{7, 17}. Nos animais curados em que persistiram lesões inflamatórias, estas eram discretas ou residuais. No tratamento com a droga MK-436⁷, que tem efeito curativo amplo, sendo eficaz mesmo em animais infectados com cepas do Tipo III observou-se nítida regressão das lesões quando comparadas com os controles não-tratados.

De acordo com Andrade^{20, 21} o processo de fibrose se constitui em uma manifestação proeminente em diferentes doenças parasitárias tais como a doença de Chagas e a esquistossomose, porém não é irreversível, como se julgava há tempos atrás e, além de ser suscetível de uma remodelação fisiológica como ocorre na involução uterina após a gravidez ou em outras oportunidades, pode também regredir após a cura do parasitismo nas doenças parasitárias (especialmente na esquistossomose).

Em pacientes cronicamente infectados, a fibrose cardíaca é um dos mais importantes componentes da forma crônica cardíaca da doença de Chagas. Esta fibrose evolui concomitantemente com a miocardite crônica difusa e aparece como um depósito difuso, perimisial e endomisial, intersticial e peri-vascular de colágeno ou como cicatrizes focais no miocárdio. Também o sistema

excito-condutor do coração mostra, nos casos de cardiopatia crônica chagásica, a presença de focos de fibrose como seqüelas de um envolvimento deste tecido na fase aguda da infecção, ou como resultado de destruição progressiva, na fase crônica. De acordo com Weber et al.³³ os depósitos de colágeno fibrilar no interstício do miocárdio são de grande importância no desenvolvimento da insuficiência cardíaca e na disfunção diastólica em diferentes cardiopatias. A cardiopatia crônica chagásica se enquadra nestas características e apresenta, além disto, um caráter evolutivo evidente.

Estes resultados indicam que é de grande interesse o tratamento de indivíduos infectados pelo *T. cruzi* não só na forma aguda como na forma crônica indeterminada ou naqueles com envolvimento cardíaco inicial, levando-se em conta a possibilidade de involução do processo fibrótico-inflamatório que é fundamental nas lesões cardíacas da doença de Chagas.

REFERÊNCIAS

- ¹ **Andrade, ALSS, Zicker, F, Oliveira, RM, Almeida e Silva, S, Luquetti, A, Travassos, LR.** Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. **The Lancet**, 348: 1407-1413, 1996.
- ² **Andrade, SG** – Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas do Reconcavo Bahiano. **Rev. Patol. Trop.** 3: 65-121, 1974.
- ³ **Andrade, SG.** Morphological and behavioural characterization of *Trypanosoma cruzi* strains. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 18 (Suppl): 39-46, 1985.
- ⁴ **Andrade, SG, Andrade, ZA, Sadigursky, M.** Combined treatment with a Nitrofuranic and a corticoid in experimental Chagas' disease. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 29:766-773, 1980.
- ⁵ **Andrade, SG, Andrade, ZA, Figueira, RM.** Estudo experimental sobre a resistência de uma cepa do *Trypanosoma cruzi* ao Bay2502. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo.** 19: 124-129, 1977.

- ⁶ **Andrade, SG, Castro Silva, R, Santiago, CMG, Freitas, LAR.** Therapeutic action of the MK-436 (2-5 Nitroimidazol) in *Trypanosoma cruzi* infection in mice: a parasitological, serological, histopathological and ultrastructural study. **Bull. Wrlld. Health Org**, 65: 625 – 633, 1987.
- ⁷ **Andrade, SG, Castro Silva, R, Santiago, CMG.** Treatment of chronic experimental *Trypanosoma cruzi* infections in mice with MK436, a 2-substituted 5-nitroimidazole. **Bull. Wrlld. Health Org**, 67: 509-514, 1989.
- ⁸ **Andrade, SG & Figueira, RM.** Estudo experimental sobre a ação terapêutica da droga RO 7-1051 na infecção por diferentes cepas do *Trypanosoma cruzi*. **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, 19: 335-341, 1977.
- ⁹ **Andrade, SG, Figueira, RM, Carvalho, ML, Gorini, DF.** Influência da cepa do *Trypanosoma cruzi* na resposta à terapêutica experimental pelo Bay2502. **Ver. Inst. Med. Trop. São Paulo**, 17: 380-389, 1975.
- ¹⁰ **Andrade, SG & Freitas, LAR.** *Trypanosoma cruzi*: cardiac myocells alterations due to spontaneous or therapeutically induced intracellular parasite desintegration. **Cel. Mol. Biol.** 33:797-805, 1987.
- ¹¹ **Andrade, SG, Freitas, LAR, Peyrol, S.** Experimental chemotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection: persistence of parasite antigens and positive serology in parasitologically cured mice. **Bull. Wrlld. Health Org**. 69:191-197, 1991.
- ¹² **Andrade, SG, Grimaud, JA, Stocker Guerret, S.** Sequential changes of the connective matrix components of the myocardium (fibronectin and laminin) and evolution of cardiac fibrosis in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **Amer. J. Trop. Med. Hyg**, 40: 252-260, 1989.
- ¹³ **Andrade, SG, Kloetzel, JK, Borges, MM, Ferrans, VJ.** Morphological aspects of the myocarditis and myositis in *Calomys callosus* experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*: Fibrogenesis and spontaneous regression of fibrosis. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**.89:379-383, 1994.
- ¹⁴ **Andrade, SG, Macedo, V.** Tratamento combinado da doença de Chagas com Bayer 2502 e corticoide (Estudo experimen-

- tal e clínico). **Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo**, 15:421-430, 1973.
- ¹⁵ **Andrade, SG. & Magalhães, JB.** Biodemes and zymodemes of *Trypanosoma cruzi* strains. Correlations with clinical data and experimental pathology. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 30: 27-35, 1997.
- ¹⁶ **Andrade, SG, Magalhães, JB & Pontes, AL.** Evaluation of chemotherapy with benznidazole and nifurtimox in mice infected with *Trypanosoma cruzi* strains of different types. **Bul. Wrlld. Health Org.** 63: 721-726, 1985.
- ¹⁷ **Andrade, SG, Magalhães, JB & Pontes, AL.** Terapêutica da fase crônica da infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi* com o Benzonidazol e o Nifurtimox. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 22:113-118, 1989.
- ¹⁸ **Andrade, SG, Rassi, A, Magalhães, JB, Ferriolli Filho, F., Luquetti, AO.** Specific chemotherapy of Chagas' disease. A comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strain. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.** 86: 624-626, 1992.
- ¹⁹ **Andrade, SG, Stocker-Guerret, S, Pimentel, AS & Grimaud, JÁ.** Reversibility of cardiac fibrosis in mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi* under specific chemotherapy. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 86: 187-200, 1991.
- ²⁰ **Andrade, ZA.** Morphological features of collagen degradation in advanced hepatic schistosomiasis of man. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, 87: 129-138, 1992.
- ²¹ **Andrade, ZA.** Extracellular matrix degradation in parasitic diseases. **Brazilian J. Med. Biol. Res.** 27: 2273-2281, 1994.
- ²² **Cançado, JR.** Tratamento específico. In Cançado, JR, Chuster, M. Cardiopatia Chagásica. Fundação Carlos Chagas, Belo Horizonte, MG, pp. 327-355, 1985.
- ²³ **Ferreira, MS, Nishioka, SA, Rocha, A, Moreira Silva, A, Ferreira, RG, Olivier, W, Tostes Jr. S.** Acute fatal *Trypanosoma cruzi* meningoencephalitis in a human immunodeficiency virus-positive hemophilic patient. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 45:723-727, 1991.

- ²⁴ **Fundação Nacional de Saúde** – Tratamento etiológico da doença de Chagas: Informe técnico. **Rev. Pat. Trop.** 25: 323 – 334, 1996.
- ²⁵ **Higushi, ML, Brito, T, Reis, M, Barbosa, A, Bellotti, G, Pereira Barreto, AC, Pileggi, F.** Correlation between *T. cruzi* parasitism and myocardial inflammatory infiltrate in human chronic chagasic myocarditis. Light microscopy and immunohistochemical findings. **Cardiovasc. Pathol.** 2: 101-106, 1993.
- ²⁶ **Jones, EM, Colley, DG, Tostes, S, Lopes, ER, Vnencak-Jones, CL, McCurley, TL.** Amplification of a *Trypanosoma cruzi* DNA sequence from inflammatory lesions in human chagasic cardiomyopathy. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** 48: 348-357, 1993.
- ²⁷ **Krettli, AU, Cançado, JR, Brener, Z.** Effect of specific chemotherapy on the levels of lytic antibodies in Chagas disease. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.** 76: 334-340, 1982.
- ²⁸ **Marr, JJ & Docampo, R.** Chemotherapy for Chagas' disease: a perspective of current therapy and considerations for future research. **Reviews Infect. Dis.** 8: 884-993, 1986.
- ²⁹ **Mello, DA,** *Calomys callosus*, Renger, 1830 (Rodentia cricetidae): sua caracterização, distribuição biológica, criação e manejo de uma cepa em laboratório. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz,** 79: 37- 44, 1984.
- ³⁰ **Miles, MA, Lanham, SM, Sousa, AA, Povoas, M.** Further enzymic characters of *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. **Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.** 74: 221-227, 1980.
- ³¹ **Pinto Dias, JC.** Profilaxia. In : Doença de Chagas, pp. 195-202, Editor: Jarbas Malta, Editora Servier, São Paulo, 1996.
- ³² **Prata, A,** Diferenças geográficas na Doença de Chagas. **Simpósio Internacional,** Brasília, DF, 1985. Editora da UnB.
- ³³ **Weber, KT, Brilla, CG, Janicki, JS.** Myocardial fibrosis: functional significance and regulatory factors. **Cardiovasc. Res.** 27: 341-348, 1993.