

TRYPANOSOMA CRUZI (CEPA CL) PROMOVE PERDA NEURONAL NO PLEXO MIOENTÉRICO DO CÓLON DE RATOS

Larissa Carla Lauer Schneider

Docente do Departamento de Ciências Morfológicas (DCM), Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil.

E-mail: lari_uem@yahoo.com.br

Silvana Marques de Araújo

Docente do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Fisiopatologia (PBF) e do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Coletiva, Departamento de Ciências Básicas da Saúde. Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil.

Nilza Cristina Buttow

Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (PBC), Departamento de Ciências Morfológicas (DCM), Universidade Estadual de Maringá (UEM), Maringá, PR, Brasil

RESUMO: *Trypanosoma cruzi*, um protozoário parasita, é o agente etiológico da doença de Chagas. A infecção chagásica apresenta duas fases: aguda e crônica. Na fase aguda a mortalidade é mais frequente, sendo que o organismo que consegue sobreviver a ela passa para a fase crônica indeterminada. No trato gastrointestinal o *T. gondii* pode parasitar o sistema nervoso intramural formando os megaesôfago e o megacólon. Não existem trabalhos que relacionam a perda neuronal do plexo mientérico com a infecção com a cepa CL do *T. cruzi*. Portanto, o objetivo deste trabalho foi verificar alterações morfoquantitativas no plexo mioentérico no colo distal de ratos infectados com a cepa CL durante a fase aguda e crônica da doença. Foram utilizados 20 ratos divididos em quatro grupos: infectado com a cepa CL durante 7 dias (grupo IA) do *T. cruzi* e seu controle (grupo CA), ambos sacrificados após sete dias do início do experimento, outro grupo infectado (IC) e sacrificado após trinta dias e seu controle (CC). Foi realizada a estimativa da densidade neuronal e a morfometria das áreas do perfil dos corpos celulares dos neurônios através da técnica de Giemsa. A análise quantitativa demonstrou uma redução significativa no número de neurônios nos grupos infectados IA e IC. Em relação ao perfil neuronal foi observada uma atrofia dos neurônios do grupo IC em relação ao controle. Portanto, a cepa CL do *T. cruzi* provoca uma denervação do plexo mioentérico do colo sem contudo ocasionar hipertrofia neuronal no tempo experimental de trinta dias.

PALAVRAS-CHAVE: Cepa CL; Doença de Chagas; Plexo mioentérico; *Trypanosoma cruzi*.

TRYPANOSOMA CRUZI (STRAIN CL) CAUSES NEURONAL LOSS IN RATS' MYO-ENTERIC PLEXUS OF THE COLON

ABSTRACT: The parasite protozoa *Trypanosoma cruzi* is the etiological agent of Chagas' disease. Infection comprises the acute and chronic type. Mortality in the former is more frequent and the organism that survives passes to the undetermined chronic phase. *T. gondii* within the gastrointestinal tract parasites the intramural nervous system and causes mega-esophagus and mega-colon. No reports in the literature relate neuronal loss of the myo-enteric plexus with infection by strain CL of *T. cruzi*. Current analysis verifies morphoquantitative alterations in the myo-enteric plexus in rats' distal colon infected with strain CL during the acute and chronic phase of the disease. Twenty rats were divided into four groups: infected with strain CL of *T. cruzi* during 7 days (Group IA) and its control (Group CA), killed after seven days from the start of the experiment; another infected group (IC), killed after 30 days and its control (CC). Neuronal density and morphometry of the areas of cell bodies of neurons were estimated by Giemsa technique. Quantitative analysis showed a significant decrease in the number of neurons in infected groups IA and IC. In the case of the

neuronal profile, atrophy of neurons of group IC was reported when compared to control. Strain CL of *T. cruzi* causes a de-nerving of the myo-enteric plexus of the colon without causing a neuronal hypertrophy during the thirty days of experimental period.

KEY WORDS: Chagas' s disease, Myo-enteric plexus, Strain CL; *Trypanosoma cruzi*.

INTRODUÇÃO

Trypanosoma cruzi é um protozoário parasita agente etiológico da doença de Chagas em humanos. Atualmente as estimativas da Organização Mundial da Saúde é que 11 a 18 milhões de indivíduos estão infectados mundialmente, principalmente na América Latina, sendo que no Brasil ocorrem cerca de 6.000 mortes por ano relacionadas a esta doença (MARTINS-MELO et al., 2014; WHO, 2010).

A transmissão do *T. cruzi* ocorre principalmente via inseto vetor da subfamília Triatoma, família Reduviidae. Na América do Sul a espécie mais comum é a *Triatoma infestans* (ZACKS et al., 2005), a penetração de tripomastigotas metacíclicos presentes nas fezes e urina dos triatomíneos ocorre pela pele após o hematofagismo do inseto (COSTA et al., 2010).

A infecção chagásica apresenta duas fases distintas conhecidas: aguda e crônica. Na fase aguda a parasitemia é alta, pois os tripomastigotas se encontram na corrente sanguínea com a intenção de parasitar qualquer célula do organismo; as principais são: macrófagos, células de Schwann, micróglia, fibroblastos, células musculares lisas, estriadas e outras (BASTOS et al., 2010). O período de incubação da doença de Chagas varia de acordo com a forma e como o agente foi transmitido. A transmissão da doença por meio da picada dos insetos vetores ocorre entre 5 e 15 dias após a entrada do agente (ANVISA, 2008).

No tecido os parasitas se multiplicam em sua forma amastigota formando ninhos que atraem células inflamatórias fazendo surgir uma inflamação aguda focal, sendo que nesta fase a mortalidade é mais frequente (NAGAJYOTH et al., 2012). Se o organismo consegue sobreviver a ela passa para a fase crônica indeterminada,

sendo esta fase assintomática e o organismo infectado pode ficar anos assim, sendo que a parasitemia é bastante baixa (RASSI et al., 2010). Os danos causados pela inflamação gerada na fase aguda originam as outras formas da fase crônica, que são a cardíaca, a digestiva e a mista (cardíaca e digestiva) (WHO, 2014).

A forma digestiva da doença está relacionada com a infecção do *T. cruzi*, ainda durante a fase aguda, parasitando as células musculares, os fibroblastos e principalmente o sistema nervoso intramural (plexo mioentérico e submucoso). Portanto, dependendo do grau e da extensão das lesões deixadas pelo parasita é que surgem os primeiros sinais de incoordenação motora do órgão acompanhada da alteração da secreção e absorção (WHO, 2014).

As mudanças da população neuronal do plexo mioentérico já foram bem estudadas com a cepa Y de *T. cruzi* (CAMARGOS et al., 2000; MAIFRINO et al., 1999; MOREIRA et al., 2011; MOREIRA et al., 2013; MOREIRA et al., 2014a; MOREIRA et al., 2014b; NOGUEIRA-PAIVA et al., 2014). No entanto, nenhum estudo com a cepa CL foi realizado para verificar as alterações morfoquantitativas causadas no plexo mioentérico. Estudos comprovaram que esta cepa é miotrópica, ou seja, infecta qualquer tecido muscular, parasitando a musculatura lisa do intestino (LENZI et al., 1996). Assim, o objetivo deste trabalho foi verificar alterações morfoquantitativas no plexo mioentérico no colo distal de ratos infectados com inóculo de 520.000 tripomastigotas da cepa CL na fase aguda e crônica da doença de Chagas.

2 METODOLOGIA

Foram utilizados vinte ratos *Wistar (Rattus norvegicus)*, machos, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá (UEM). O experimento teve a aprovação do Comitê de Ética da UEM (Protocolo 032/03). O peso dos animais utilizados foi de 120g no início do experimento, o que corresponde a uma idade aproximada de 45 dias. O experimento teve duração de trinta dias sendo os animais mantidos em grupos de cinco por gaiola em sala com luz e ventilação controladas no biotério do Departamento de Ciências Morfofisiológicas. Até a época do sacrifício foram alimentados com dieta

padrão Nuvilab e água *ad libitum*.

Os ratos foram divididos em quatro grupos: um infectado com a cepa CL (grupo IA) do *T. cruzi* e sacrificados após sete dias, um grupo controle (CA) sacrificado após sete dias do início do experimento, outro grupo infectado com a cepa CL (IC) sacrificado após trinta dias e seu controle (CC), também sacrificado após trinta dias do início do experimento, sendo que o grupo IA foi considerado na fase aguda e o grupo IC na fase crônica (NAGIB et al., 2007).

O inóculo utilizado foi de 520.000 tripomastigotas sanguíneas, por via intraperitoneal. A comprovação da infecção foi feita pelo exame de uma gota de sangue entre lâmina e lamínula, a partir do 4º dia de infecção. Foram examinados todos os campos de uma lamínula 24 X 24 mm, considerando objetiva de 40X. A infecção foi considerada positiva nos animais que apresentaram pelo menos um parasita.

Ao término do período experimental de cada grupo, os animais foram anestesiados com éter etílico até sua morte. O colo distal foi retirado e amarrado nas extremidades, sendo inflado com a solução fixadora de Giemsa (30 ml de formaldeído, 15 ml de ácido acético, 9 g de cloreto de sódio e 55 ml de água destilada) e mantido em frasco contendo a mesma solução durante 24 horas. Ao final deste período foram abertos dois pequenos orifícios, próximos de cada extremidade e o conteúdo de fixador foi drenado passivamente da luz.

Os procedimentos de dissecação foram feitos utilizando-se estereomicroscópio e manipulação com pinças. Os fragmentos foram dissecados (delaminados) após o período de dois dias contendo a mesma solução fixadora. Primeiramente a dissecação foi feita cortando-se transversalmente fragmentos cilíndricos do colo distal e, em seguida, foi realizada a abertura longitudinal destes fragmentos na linha da inserção do mesentério de forma a obter fragmentos retangulares. Estes fragmentos foram colocados em placa de Petri contendo solução fixadora de Giemsa, sendo a camada muscular própria (camada muscular longitudinal, plexo mioentérico e camada muscular circular) separada da mucosa e submucosa.

O plexo mioentérico foi identificado com corante de Giemsa à base de azul de metileno em tampão fosfato de Sorensen 0,1N (pH 6,9) (BARBOSA, 1978). Para a

montagem das lâminas, os preparados de membranas foram desidratados em série crescentes de etanol, diafanizados em xilol e montados com resina sintética Permonuntâ (Fisher Chemical, New Jersey, USA).

Para realizar a estimativa do número de neurônios foi feita a contagem em 40 campos aleatórios com uma área total de 9,16 mm², na região intermediária da circunferência intestinal (60-120º; 240-300º; considerando 0º a inserção mesentérica) (MIRANDA-NETO et al., 2001). Para esta finalidade foi utilizado microscópio de luz (Olympus BX 41) e objetiva de 40X. Os resultados foram expressos em 9,16 mm².

As áreas do perfil dos corpos celulares de 100 neurônios de cada animal, em um total de 500 neurônios por grupo, foram analisadas morfometricamente com o auxílio do sistema de análise de imagens computadorizada (Image Pró-Plus 4.5 - Media Cybernetics, Inc). Os neurônios foram classificados de acordo com seu tamanho, em intervalos de classes de 100 mm². Os resultados foram expressos como a média \pm desvio padrão sendo submetidos a análise estatística com o auxílio do *software* GraphPad Prism 5.0 (GraphPad Software, Inc.). As comparações de parâmetros dos grupos estudados foram através de teste de variância ANOVA seguido do teste pós-análise de variância de Tukey. O nível de significância adotado foi de 0,05, assim qualquer valor de probabilidade de erro (*p*) menor que esse valor foi considerado significativo. Os resultados foram apresentados como média mais ou menos intervalo de confiança de 95%.

3 RESULTADOS

Houve uma redução significativa de 24% na densidade neuronal no grupo IA (*p* < 0.05) e uma redução também significativa de 21,5% no grupo IC (*p* < 0.05) quando comparados com seus controles, grupos CA e CC respectivamente (Tabela 1; Figura 2).

Tabela 1. Quantificação dos neurônios miontéricos evidenciados com o método de Giemsa em uma área de 9,16 mm² do colo distal de ratos. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão

	Controle	Infectados	% Redução
Fase aguda	1397 \pm 115,7	1525 \pm 108,8*	24
Fase crônica	1577 \pm 25,83	1218 \pm 44,74*	21

* redução significativa ($p < 0,05$) quando comparados com seu controle.

Não houve diferença na área média do perfil celular dos neurônios miontéricos no colo distal quando comparamos os grupos IA e CA ($p > 0,05$). No entanto, o grupo IC apresentou uma redução significativa de 12,24% quando comparado com o grupo CC ($p < 0,001$) (Tabela 2; Figura 2).

Tabela 2. Área média do perfil celular (μm^2) dos neurônios miontéricos evidenciados com o método de Giemsa no colo distais de ratos. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão

Grupos	Controle	Infectados
Fase aguda	198,6 \pm 93,83	194,1 \pm 84,56
Fase crônica	222,9 \pm 128,4	195,6 \pm 97,92*

* redução significativa ($p < 0,001$) quando comparado com seu controle.

A área do perfil neuronal variou entre 61 μm^2 e 661 μm^2 no grupo IA, entre 57,5 μm^2 e 919 μm^2 no grupo CA, entre 60 μm^2 e 657,4 μm^2 no grupo IC e entre 49 μm^2 e 935 μm^2 no grupo CC. Verificamos que nos quatro grupos estudados a população celular predominante foi de neurônios no intervalo de classe de 101-200 μm^2 (Figura 1).

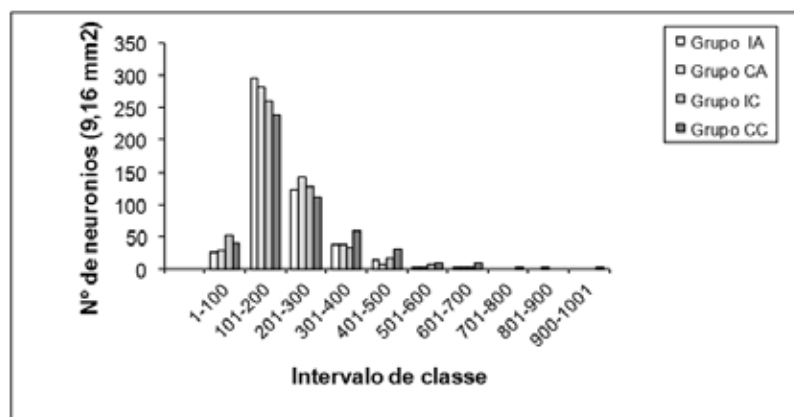


Figura 1. Distribuição por área do perfil celular dos neurônios miontéricos no colo distal, em intervalos de classes de 100 μm^2 , relacionando animais infectados com cepa CL do *T. cruzi* durante a fase aguda e crônica (grupos IA e IC, respectivamente) e seus respectivos controles (grupos CA e CC).

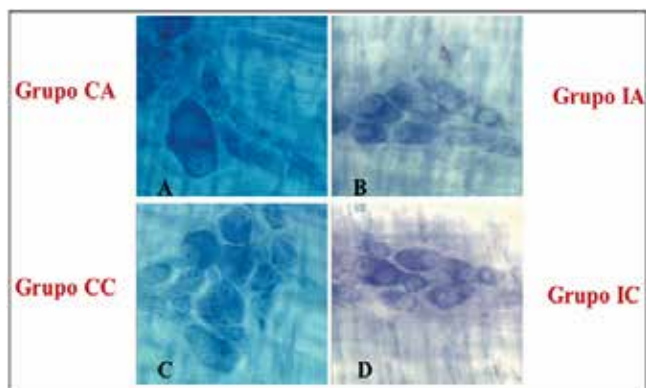


Figura 2. Neurônios do cólon corados com a Giemsa: A) Grupo CA; B) Grupo IA; C) Grupo CC; e D) Grupo IC. Aumento 400X.

4 DISCUSSÃO

No presente trabalho pode-se perceber alterações morfoquantitativas do plexo mioentérico do colo distal de ratos infectados com *Trypanosoma cruzi* na fase aguda e crônica da doença de Chagas. O modelo de infecção com a cepa CL levou a redução de 24% de neurônios mioentéricos durante 7 dias de infecção e 21,5% durante 30 dias de infecção com a doença de Chagas.

Maifirino et al. (1999) observaram no colo de camundongos infectados com a cepa Y, durante a fase crônica da doença uma perda de pelo menos 34%

no número de neurônios entéricos NADH-diaforese positivos, sendo que na região distal do colo a perda foi de 44%. Estudos com as cepas SC-1 e 147 de *T. cruzi* no plexo mioentérico de esôfago de cães não demonstraram evidências de denervação (MACHADO et al., 2001). Nas cepas Y ou Be-78 não houve diferenças significativas no plexo mioentérico do esôfago e do cólon entre o animal controle e o infectado mas houve redução da inervação na fase aguda em ambas as cepas (NOGUEIRA-PAIVA et al., 2014), ao contrário das cepas CL-Brener e ABC isolados que demonstraram processo inflamatório restrito na musculatura estriada do esôfago (CAMARGOS et al., 2000).

O sistema nervoso entérico é a terceira divisão do sistema nervoso autônomo e sua função é regular as funções gastrintestinais, como a absorção, secreção e motilidade. As alterações destas funções estão relacionadas com deficiências de neurônios entéricos e da musculatura do trato gastrintestinal que podem originar vários problemas dependendo da região afetada, como, por exemplo, dor abdominal, diarreia, constipação e incontinência fecal (WADE; COWEN, 2004).

Nos casos mais graves da doença de Chagas (depois de anos da fase inicial) surgem o megaesôfago e o megacólon (KISS et al., 1986) que são dilatações permanentes e difusas dessas vísceras, acompanhadas ou não de alongamento da parede, provocada pela despopulação neuronal intrínseca dos órgãos (KÖBERLE, 1968). Em estudos de pacientes chagásicos crônicos (com megaesôfago ou megacólon) observou-se redução do número de neurônios do plexo mioentérico com comprometimento na inervação colinérgica do estômago destes pacientes (CARLUCCI et al., 2011).

As reduções neuronais mais significativas no plexo mioentérico observadas neste trabalho ocorreram durante os primeiros 7 dias de infecção, pois manteve quase o mesmo valor após 30 dias da mesma, não havendo diferença significativa entre os dois tempos de infecção estudados. Essa consideração é apoiada pelos trabalhos de Pires e Pereira (1988) que observaram que é durante a fase aguda da doença de Chagas que ocorre a denervação intrínseca do coração.

Na fase aguda da doença de Chagas os protozoários na forma de tripomastigotas infectam

os tecidos do organismo e se multiplicam na forma de amastigotas formando ninhos que atraem células inflamatórias surgindo uma inflamação aguda focal (KÖBERLE, 1968). A denervação do plexo mioentérico ocasionada durante a fase aguda aparentemente deve-se à ação do óxido nítrico no infiltrado inflamatório ocasionado pelos ninhos amastigotas (ARANTES, 2004). O óxido nítrico ajuda o organismo nos processos inflamatórios, destruindo as células inflamadas e também os parasitas e quando produzido em excesso agride as células que formam os tecidos, ocasionando sua morte (GARCIA et al., 1999).

A produção de IFN-g e TNF- α pelo *T. cruzi* pode ativar a enzima iNOS que eleva a produção de óxido nítrico, que tem o papel de ativar macrófagos com atividade tripocida, ou seja, ação de destruir os ninhos amastigotas presentes no intestino. Caso ocorra inativação da enzima iNOS (iNOS^{-/-}) não haverá síntese de NO, mas os parasitas e o infiltrado inflamatório estarão presentes pela liberação de IFN-g. A ausência da produção de óxido nítrico no infiltrado inflamatório faz com que o número de neurônios do plexo mioentérico não seja reduzido (ARANTES et al., 2004). Portanto, a denervação do plexo mioentérico na fase aguda da infecção pelo *T. cruzi* é ocasionada pela liberação do IFN-g que ativa a iNOS, liberando NO no processo inflamatório do intestino.

Lesões no cólon são devido à presença de células NK e células T citotóxicas presentes no filtrado inflamatório, o qual suporta que a participação da resposta imune na perda neuronal ocorra vários anos após o episódio da fase aguda (SILVEIRA et al., 2007). Os mastócitos participam da indução da patologia do *T. cruzi* no megaesôfago em pacientes, onde a liberação de proteínas específicas, como a triptase, pode contribuir para morte neuronal (MARTINS et al., 2014).

A área média do perfil celular dos neurônios mioentéricos obtido neste estudo para o grupo CI foi de 198,6 μm^2 , no grupo IA foi de 194,1 μm^2 , no grupo CC foi de 222,9 μm^2 e no grupo I30 foi de 195,6 μm^2 . A análise morfométrica foi realizada em 500 neurônios de cada grupo. Durante 7 dias de infecção da doença não houve mudança do perfil neuronal nos grupos infectados quando comparados com seus controles. No entanto, observamos uma redução significativa ($p < 0,001$) de

12,24% do perfil neuronal durante 30 dias da doença. Nos quatro grupos estudados a população celular predominante foi de neurônios no intervalo de classe de 101-200 μm^2 .

Machado et al. (2001) realizaram estudos no plexo mioentérico no esôfago de cachorros e não observaram alterações no perfil neuronal na fase crônica da doença de Chagas. Estudos em humanos verificaram que apenas em casos de megacólon ocorria uma hipertrofia dos neurônios, indicando que a hipertrofia está relacionada com a intensidade da denervação (ADAD et al., 2001).

As mudanças morfoquantitativas dos neurônios entéricos podem ocorrer como uma resposta à infecção e ao processo inflamatório (DE GIORGIO et al., 2004). A plasticidade neuronal já foi observada em diferentes modelos animais e em diferentes parasitas. A expressão do polipeptídeo intestinal vasoativo (VIP), da substância P (SP) e do neuropeptídeo Y (NY) é alterada nos nervos entéricos do jejuno de coelhos durante a infecção com um nematódeo *Trichinella spiralis* (ARCISZEWSKI et al., 2009). Os neurônios do plexo mioentérico do intestino delgado sofreram atrofia geral com uma redução da área do pericário e do núcleo em aves (BONAPAZ et al., 2010) e em ratos (SUGAUARA et al., 2008) na infecção crônica com *Toxoplasma gondii*.

Apesar de ter sido observada a denervação não ocorreu hipertrofia no grupo chagásico agudo. Estes resultados estão de acordo com Moreira et al. (2011), que mostraram a relação das mudanças na população do plexo mioentérico com o inóculo e o tempo de infecção ocasionando mudanças na plasticidade neuronal. Neste estudo, o tempo experimental foi apenas de 30 dias, talvez não fosse tempo suficiente para a adaptação dos neurorreceptores em resposta à patologia chagásica.

As alterações na plasticidade como a atrofia ou a hipertrofia neuronal e, até mesmo mudanças na expressão de neuropeptídeos durante o processo inflamatório, podem acontecer devido às interações do parasita com o hospedeiro. O *T. cruzi* possui na sua superfície um antígeno, a trans-sialidade, também conhecido como fator neurotrófico derivado do parasita, que auxilia na sua invasão na célula de mamíferos e este fator faz com que as células do hospedeiro resistam à citotoxicidade da infecção, ativando o mecanismo de sobrevivência da célula

e consequentemente inibindo a apoptose. Este processo pode resultar na neuroproteção e reparo neuronal, prolongando a persistência dos parasitas nos tecidos infectados enquanto reduz a neuropatologia da doença de Chagas (CHUENKOVA; PERRIN, 2010). Portanto a atrofia neuronal encontrada durante 30 dias da infecção pode ser explicada por um processo de adaptação que provavelmente ocorreu no período.

5 CONCLUSÃO

Tendo em vista os resultados obtidos pode-se concluir que a infecção com inóculo de 520.000 da cepa CL do *T. cruzi* provoca uma denervação do plexo mioentérico do colo e promove uma redução do perfil neuronal na fase crônica.

REFERÊNCIAS

- ADAD, S. J.; CANÇADO, C. G.; ETCHEBEHERE, R. M.; TEIXEIRA, V. P.; GOMES, U. A.; CHAPADEIRO, E.; LOPES, E. R. Neuron count reevaluation in the myenteric plexus of chagasic megacolon after morphometric neuron analysis. *Virchows Arch.*, v. 438, p. 254-258, 2000.
- ANVISA. Gerenciamento do Risco Sanitário na transmissão de doença de Chagas aguda por alimentos. **Informe técnico**, nº 35 de 19 de junho de 2008.
- ARANTES, R. M. E.; MARCHE, H. H. F.; BAHIA, M. T.; CUNHA, F. Q.; ROSSI M. A.; SILVA, J. S. Interferon- γ -Induced Nitric Oxide Causes Intrinsic Intestinal Denervation in *Trypanosoma cruzi*-Infected Mice. *Am J Pathol.*, v. 164, n. 4, p. 1367-1368, 2004.
- ARCISZEWSKI, M. B.; NOWAKWSKI, Z.; WASOWICZ, K.; CALKA, J. Expression of vasoactive intestinal polypeptide, substance P and neuropeptide Y in jejunal enteric nerves is altered in rabbits suffering from long-term *Trichinella spiralis* infection: an immunohistochemical study. *Veterinarni Medicina*, v. 54, p. 589-597, 2009.
- BARBOSA, A. J. F. Técnica histológica para gânglios nervosos intramurais em preparados espessos. *Rev Bras Pesq Méd Biol.*, São Paulo, v. 11, p. 95-101, 1978.

- BASTOS, C. J. C.; ARAS, R.; MOTA, G.; REIS, F.; DIAS, J. P.; de JESUS, R. Silva; FREIRE, M. S.; de ARAÚJO, E. G.; PRAZERES, J.; GRASSI, M. F. R. Clinical outcomes of thirteen patients with acute disease acquired through oral transmission from two urban outbreaks in northeastern Brazil. **PLoS Negl Trop Dis.**, v. 4, n. 6, p. 711, 2010.
- BONAPAZ, R. S.; HERMES-ULIANA, C.; SANTOS, F. N.; da SILVA, A. V.; ARAÚJO, E. J. A.; SANT'ANA, D. M. G. Effects of infection with *Toxoplasma gondii* oocysts on the intestinal wall and the myenteric plexus of chicken (*Gallus gallus*). **Pesq Vet Bras**, v. 30, n. 9, p. 787-792, 2010.
- CAMARGOS, E. R. S.; FRANCO, D. J.; GARCIA, C. M.; DUTRA, A. P.; TEXEIRA, A. L.; CHIARI, E.; MACHADO, C. R. S. Infection with different *Trypanosoma cruzi* populations in rats: myocarditis, cardiac sympathetic denervation, and involvement of digestive organs. **The Am J Trop Med and Hyg.**, v. 62, n. 5, p. 604-612, 2000.
- CARLUCCI, W.; CENEVIVA, R.; FERREIRA, S. H.; SILVA, O. C. Histological, biochemical and pharmacological characterization of the gastric muscular layer in Chagas disease. **Acta Cir Bras.**, v. 26, Suppl. 2, p. 74-78, 2011.
- CHUENKOVA, M. V.; PERRIN, M. P. *Trypanosoma cruzi*-Derived Neurotrophic Factor: Role in Neural Repair and Neuroprotection. **J Neuroparasitology**, v. 26, p. 55-60, 2010.
- COSTA, M.; TAVARES, V. R.; AQUINO, M. V. M.; MOREIRA, D. B. Doença de Chagas: uma revisão bibliográfica. **Rev. Refacer.**, v.1, n. 2 (2010).
- DE GIORGIO, R.; GUERRINI, S.; BARBARA, G.; CREMON, C.; STANGHELLINI, V.; CORINALDESI, R. New insights into human enteric neuropathies. **Neurogastroenterol Motil**, v. 16, Suppl. 1, p. 143-147, 2004.
- GARCIA, S. B.; PAULA, J. S.; GIOVANETTE, G. S.; ZENHA, F.; RAMALHO, E. M.; ZUCOLOTO, S.; SILVA, J. S.; CUNHA, F. Q. Nitric oxide is involved in the lesions of the peripheral autonomic neurons observed in the acute phase of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **Exp Parasitol.**, v. 93, p. 191-197, 1999.
- KISS, D. R.; HABR-GAMA, A.; PINOTTI, H. W. Megacólon chagásico: considerações sobre novas perspectivas fisiopatológicas. **Rev Paul Med.**, São Paulo, v. 104, p. 145-155, 1986.
- KÖBERLE, F. Chagas 'Disease and Chagas' Syndromes: The Pathology of American Trypanosomiasis. **Adv Parasitol.**, v. 6, p. 63-116, São Paulo, 1968.
- MACHADO, E. M. M.; JUNIOR, D. J. C.; PINHEIRO, S. W.; LOPES, E. R.; FERNANDES, A. J.; DIAS, J. C. P.; ADAD, S. J. Morphometry of Submucous and Myenteric Esophageic Plexus of Dogs Experimentally Reinfected with *Trypanosoma cruzi*. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 96, n. 4, p. 545-548, 2001.
- MAIFRINO, L. B. M.; LIBERTI, E. A.; WATANABE, II-Sei; SOUZA, R. R. Morphometry and Acetylcholinesterase activity of the myenteric neurons of the mouse colon in the chronic phase of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. **Am J Trop Med Hyg.**, v. 60, n. 5, p.721-725, 1999.
- MARTINS-MELO, F. R.; RAMOS, A. N. Jr; ALENCAR, C. H.; HEUKELBACH, J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analylisis. **Acta Tropica.**, v. 130, p. 167-174, 2014.
- MARTINS, P. R.; NASCIMENTO, R. D.; LISBOA, A. S.; MARTINELLI, P. M.; REIS, D. d'Á. Neuroimmunopathology of *Trypanosoma cruzi*-induced megaesophagus: Is there a role for mast cell proteases? **Hum Immunol.**, v. 75, p. 302-305, 2014.
- MOREIRA, N. M.; SANT'ANA, D. M. G.; ARAÚJO, E. J. A.; TOLEDO, M. J. O.; GOMES, M. L.; ARAÚJO, S. M. Neuronal changes caused by *Trypanosoma cruzi*: an experimental model. **An Acad Bras Ciênc.**, v. 83, n. 2, p. 545-555, 2011.
- MOREIRA, N. M.; SANTOS, F. d. N.; TOLEDO, M. J. d. O.; MOREAES, S. M. F.; ARAÚJO, E. J. A.; SANT'ANA, D. M. G.; ARAÚJO, S. M. Moderate physical exercise reduces parasitaemia and protects colonic myenteric neurons in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **Int J Exp Pathol.**, v. 94, n. 6, p. 426-435, 2013.
- MOREIRA, N. M.; ZANONI, J. N.; DALÁLIO, M. M. O.; ARAÚJO, E. J. A.; BRAGA, C. F.; ARAÚJO, S. M. Physical

exercise protects myenteric neurons and reduces parasitemia in *Trypanosoma cruzi* infection. **Exp Parasitol.**, v. 141, p. 68-74, 2014a.

MOREIRA, N. M.; MORAES, S. M. F.; DALÁLIO, M. M. d. O.; GOMES, M. L.; SANT'ANA, D. M. G.; ARAÚJO, S. M. Moderate physical exercise protects myenteric metabolically more active neurons in mice infected with *Trypanosoma cruzi*. **Dig Dis Sci.**, v. 59, n. 2, p. 307-314, 2014b.

NAGAJYOTHI, F.; MACHADO, F. S.; BURLEIGH, B. A.; JELICKS, L. A.; SHERER, P. E.; MUKHERJEE, S.; LISANTI, M. P.; WEISS, L. M.; GARG, N. J.; TANOWITZ, H. B. Mechanisms of *Trypanosoma cruzi* persistence in Chagas disease. **Cell Microbiol.**, v. 14, n. 5, p. 634-643, 2012.

NAGIB, P. R. A.; DUTRA, W. O.; CHIARI, E.; MACHADO, C. R. S. *Trypanosoma cruzi*: Populations bearing opposite virulence induce differential expansion of circulating CD3+CD4_CD8_T cells and cytokine serum levels in young and adult rats. **Exp Parasitol.**, v. 116, n. 4, p. 366-374, 2007.

NOGUEIRA-PAIVA, N. C.; FONSECA, K. S.; VIEIRA, P. M. A.; DINIZ, L. F.; CALDAS, I. S.; MOURA, S. A. L.; VELOSO, V. M.; GUEDES, P. M. M.; TAFURI, W. L.; BAHIA, M. T.; CARNEIRO, C. M. Myenteric plexus is differentially affected by infection with distinct *Trypanosoma cruzi* strains in Beagle dogs. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 109, n. 1, p. 51-60, 2014.

PIRES, J. G. P.; PEREIRA, F. E. L. *Trypanosoma cruzi* (CL strain) infection in mice changes the chronotropic effect of isoproterenol *in vitro*. **Braz J. Med. Biol. Res.**, v. 20, p. 445-447, 1988.

RASSI, A.; RASSI, Jr. A.; MARIN-NETO, J. A. Chagas Disease. **Lancet**, v. 375, p. 1388-1402, 2010.

SILVEIRA, A. B. M.; LEMOS, E. M.; ADAD, S. J.; CORREA-OLIVEIRA, R.; FURNESS, J. B.; REIS, D. d'Á. Megacolon in Chagas disease: a study of inflammatory cells, enteric nerves, and glial cells. **Hum Pathol.**, v. 38, p. 1256-1264, 2007.

SUGAUARA, E. Y. Y.; SANT'ANA, D. M. G.; ALMEIDA, E. C.; REIS, A. B.; SILVA, A. V.; ARAÚJO, E. J. A. Alterations

of the myenteric plexus of the ileum and the descending colon caused by *Toxoplasma gondii* (genotype III). **Arq Neuro-Psiquiatr.**, v. 66, p. 516-523, 2008.

WADE, P. R.; COWEN, T. Neurodegeneration: a key factor in the ageing gut. **Neurogastroenterol motil.**, v. 16, Suppl. 1, p. 19-23, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>> Acesso em: 22 fev. 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Working to Overcome the Global Impact of Neglected Tropical Diseases**. First WHO Report on Neglected Tropical Diseases. Geneva, Switzerland: WHO, 2010.

ZACKS, M. A.; WEN, J. J.; VYATKINA, G.; BATHIA, V.; GARG, N. An overview of chagasic cardiomyopathy: pathogenic importance of oxidative stress. **An Acad Bras Ciênc.**, v.77, n. 4, p. 695-715, 2005.

Recebido em: 18 de março de 2016

Versão final recebida em: 25 de maio de 2016

Aceito em: 29 de maio de 2016