

# Alterações morfológicas do sistema nervoso central induzidas em camundongos por *Trypanosoma cruzi*

Fabiana Ribeiro da Mata<sup>1</sup>, Márcio Christian Rodrigues de Souza<sup>1</sup>, João Roberto da Mata<sup>1</sup>, Ênio Chaves de Oliveira<sup>2</sup> e Tales Alexandre Aversi-Ferreira<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. <sup>2</sup>Laboratório de Doença de Chagas, Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás, Brasil. <sup>3</sup>Laboratório de Bioquímica e Neurociências, Departamento de Morfologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Campus Samambaia, Cx. Postal 131, 74001-970, Goiânia, Goiás, Brasil. \*Autor para correspondência. E-mail: aversiferreira@hotmail.com

**RESUMO.** Crianças até quatro anos de idade apresentam maior susceptibilidade à infecção chagásica com comprometimento do sistema nervoso central. Este trabalho teve como objetivo avaliar o peso corporal, as alterações morfológicas do sistema nervoso central de camundongos inoculados aos dez dias de idade com 4.000 ou 200.000 tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi* e a parasitemia em animais inoculados aos 25 dias com e sem imunossupressão. Os animais foram sacrificados e fixados com paraformaldeído 4%. Fragmentos encefálicos e da medula foram processados pela técnica histológica e corados com hematoxilina/eosina. A parasitemia foi maior nos animais inoculados e imunossuprimidos. Animais inoculados apresentaram ganhos de pesos menores que os controles. No encéfalo, ocorreram ninhos de amastigotas íntegros, nódulos gliais e infiltrados perivascularares. Na medula espinhal não foi encontrado alterações teciduais. Animais jovens foram mais susceptíveis às infecções pelo *Trypanosoma cruzi* apresentando comprometimento encefálico mais intenso. O isolado estudado demonstrou comportamento compatível com cepa tipo III.

**Palavras-chave:** *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas, sistema nervoso central.

**ABSTRACT.** Morphological alterations in the central nervous system induced in mice by *Trypanosoma cruzi*. Children up to four years old are most susceptible to infection by *Trypanosoma cruzi*, which can compromise the central nervous system. The objective of this study was to quantify body weight, evaluate the histological alterations in the nervous system of 10-day-old mice inoculated with 4.000 or 20.000 trypomastigotes of *T. cruzi*, and also study the parasitemia of the inoculated animals at 25 days of age, with and without immunosuppression. The animals were sacrificed and fixed with 4% paraformaldehyde. Encephalic and medullar fragments were processed using the histological technique and stained with hematoxylin-eosin. Parasitemia was major in inoculated and immunosuppressed animals. Inoculated animals presented lower body weight than controls. In the encephalon, amastigote nests, glial nodes and perivascular infiltrates were found. In the medulla, no histological alterations were. Young animals were more susceptible to *T. cruzi* infection, with more severe encephalic implications. The studied isolate presented behavior compatible with type III strains.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, Chagas' disease, central nervous system.

## Introdução

O primeiro relato de parasitismo, no sistema nervoso central (SNC), por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), foi descrito em seres humanos por Chagas (1911). Estudos posteriores indicaram maior susceptibilidade de crianças até dois ou quatro anos de idade à meningoencefalite chagásica (Prata, 1994). Durante a fase aguda da infecção com comprometimento do SNC, descrevem-se encefalomielite com a presença de parasitas, lesões degenerativas com proliferação glial, hemorragia e infiltração linfocitária perivascular e das leptomeninges (Pittella, 1993).

Parasitismo experimental do SNC por *T. cruzi* tem sido fartamente descrito, especialmente em ratos (Jardim, 1971; De Oliveira *et al.*, 2002; Rivera *et al.*, 2004) e camundongos (Alencar e Elejalde, 1960; Jardim, 1967). Ratos e camundongos com menos de 25 dias de idade são mais susceptíveis à infecção por *T. cruzi*, apresentando parasitismo encefálico e parasitemia mais elevada (Culbertson e Kessler, 1942; Costa *et al.*, 1986; Da Mata *et al.*, 2000). Alterações encefálicas intensas em ratos infectados aos dez dias de idade foram constatadas por Da Mata *et al.* (2000).

O comprometimento do SNC, durante a fase aguda da infecção chagásica, é evidenciado pela

presença de formas amastigotas e reação inflamatória em forma de nódulos gliais distribuídos pelo tecido nervoso, caracterizando encefalite multifocal (Da Mata et al., 2000).

Apesar dos efetivos esforços na busca por tratamento mais adequado, a tripanossomíase americana ainda constitui um problema de saúde pública. É reconhecida, atualmente, como doença negligenciada (DNDi, 2006), está distribuída pela América Latina e afeta milhões de pessoas com alto impacto de morbidade e mortalidade (Dias et al., 2002). Por outro lado, o curso da infecção depende, pelo menos em parte, das características intrínsecas de cada isolado de *T. cruzi* (Dias et al., 2002). Estes fatos justificam e explicam o vasto número de pesquisas básicas que abordam a doença de Chagas.

Este trabalho objetivou avaliar o comprometimento do SNC por *T. cruzi* e contribuir na caracterização de um isolado deste parasito, o qual foi obtido de um paciente portador da forma cardiodigestiva da doença de Chagas.

## Material e métodos

Utilizaram-se 48 camundongos *Swiss webster*, de ambos os gêneros. Foram constituídos grupos de cinco animais cada um, submetidos aos tratamentos, que receberam ração (labina-purina) e água à vontade até o sacrifício. Foram avaliados a parasitemia, o peso dos animais e as alterações no SNC em animais sem e com imunossupressão por ciclofosfamida dissolvida em salina e administrada intraperitonealmente na dosagem de 100 mg kg<sup>-1</sup> de peso corporal no 5º dia de infecção (Calabrese et al., 1991). Os animais foram inoculados com 4 x 10<sup>3</sup> ou 2 x 10<sup>5</sup> tripomastigotas de um isolado de *T. cruzi*, obtido de um paciente portador da forma cardiodigestiva da doença de Chagas (Oliveira et al., 1993). A parasitemia foi avaliada em dias alternados, a partir do terceiro dia da inoculação (Brenner, 1962).

Os animais foram sacrificados no 23º dia após a inoculação, em anestesia com cloral hidratado, perfundidos e fixados com paraformaldeído a 4%. Foram analisados fragmentos do encéfalo e medula espinhal nos níveis cervical, torácico e lombar. Estes fragmentos foram submetidos à técnica histológica, incluídos em parafina e confeccionaram-se lâminas, as quais foram coradas com hematoxilina-eosina. O material foi analisado em microscopia de luz com aumento de 300 X. Os dados quantitativos foram tratados pelo teste “t” de Student.

## Resultados

Animais inoculados aos dez dias de idade com 4 x 10<sup>3</sup>

ou 2 x 10<sup>5</sup> tripomastigotas apresentaram ganhos de peso semelhante, porém menores que os animais-controle (Tabela 1).

**Tabela 1.** Peso corporal médio em gramas (± desvio-padrão) de camundongos *Swiss webster*, aos dez e aos 33 dias de idade. Os animais foram inoculados aos dez dias de idade com 4 x 10<sup>3</sup> ou 2 x 10<sup>5</sup> tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*.

Idade (dias)	Inóculos	Peso médio	
		Dia da inoculação (dez dias)	Dia do sacrifício (33 dias)
dez dias	4x10 <sup>3</sup>	5,46 ± 0,38 (4,82 – 5,82)	19,98 ± 1,01 (18,81 – 21,12) <sup>a</sup>
	2x10 <sup>5</sup>	5,66 ± 0,72 (5,10 – 6,85)	19,52 ± 2,02 (15,99 – 21,13) <sup>a</sup>
	Controle	5,47 ± 0,20 (5,22 – 5,80)	29,73 ± 3,65 (25,31 – 35,02) <sup>b</sup>

Valores máximos e mínimos entre parênteses. Letras diferentes para a coluna indicam diferenças significativas (test t).

De modo semelhante, animais inoculados aos 25 dias com ambos os inóculos também não apresentaram diferenças entre si no ganho de peso, porém estes foram menores que seus controles. Já a imunossupressão, no 5º dia após o inóculo, determinou menor ganho de peso tanto em relação aos animais apenas inoculados quanto aos animais controles (Tabela 2). Não houve mortes em nenhum dos grupos experimentais.

**Tabela 2.** Peso corporal médio em gramas (± desvio-padrão) de camundongos *Swiss webster* aos 25 e aos 48 dias de idade. Os animais foram inoculados aos 25 dias de idade com 4 x 10<sup>3</sup> (sem e com imunossupressão no 5º dia de infecção) ou com 2 x 10<sup>5</sup> tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*.

Idade (dias)	Inóculos	Peso médio	
		Dia da inoculação (25 dias)	Dia do sacrifício (48 dias)
25 dias	4 x 10 <sup>3</sup>	11,28 ± 0,89 (10,30 – 12,40)	28,40 ± 3,26 (23,39 – 32,20) <sup>a</sup>
	4 x 10 <sup>3</sup> e imunossuprimidos	13,22 ± 0,58 (12,05 – 13,98)	23,68 ± 1,11 (22,16 – 24,98) <sup>b</sup>
	2 x 10 <sup>5</sup>	12,19 ± 1,21 (10,80 – 13,62)	27,81 ± 1,32 (25,6 – 29,05) <sup>a</sup>
	Controle	12,93 ± 1,14 (11,20 – 13,25)	33,43 ± 3,56 (29,30 – 37,25) <sup>c</sup>

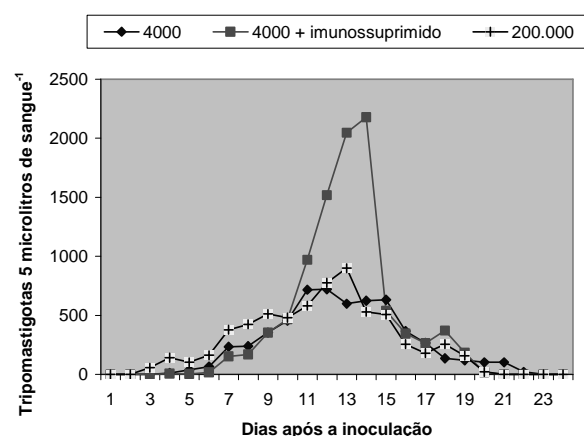
Valores máximos e mínimos entre parênteses. Letras diferentes para a coluna indicam diferenças significativas (test t).

A inoculação de 4 x 10<sup>3</sup> tripomastigotas aos 25 dias de idade induziu curva parasitêmica com início no 7º dia; já para o mesmo inóculo com imunossupressão no 5º dia de infecção, assim como com o inóculo de 2 x 10<sup>5</sup>, o início da parasitemia também foi observado no 5º dia após o inóculo (Figura 1).

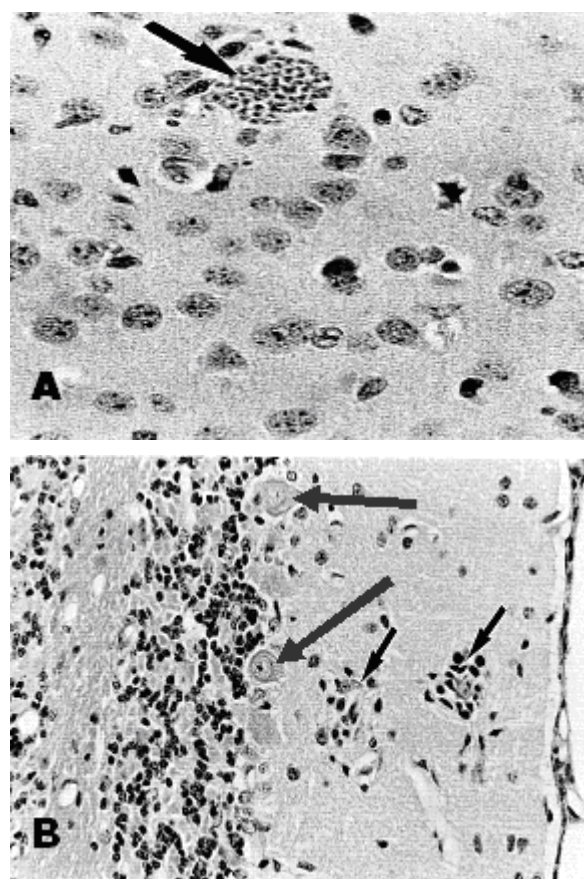
Os valores da parasitemia média observados no pico em animais com 25 dias de idade infectados com o menor inóculo (720,3) e com o maior inóculo (899,64) não apresentaram diferenças estatisticamente significativas, mas foram menores que aqueles apresentados por animais igualmente inoculados com 4 x 10<sup>3</sup> aos 25 dias de idade, porém imunossuprimidos no 5º dia de infecção (2.176,77).

Foi observado ninho de amastigotas íntegro sem esboço de reação inflamatória (Figura 2A) e por infiltrados perivasculars. Alterações encefálicas se caracterizaram por reação tecidual, em forma de nódulos

gliais distribuídos, tanto na substância branca quanto na cinzenta (Figura 2B).



**Figura 1.** Curva de parasitemia (valores médios) em camundongos *Swiss webster* infectados por *Trypanosoma cruzi* aos 25 dias de idade. Os animais foram inoculados com  $4 \times 10^3$  (sem e com imunossupressão no 5º dia de infecção) ou com  $2 \times 10^5$  tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*.



**Figura 2.** Camundongo inoculado aos dez dias de idade. A - córtex cerebral com ninho de amastigotas íntegro (seta) em célula glial. Inóculo de  $4 \times 10^3$  tripomastigotas. Hematoxilina/eosina. 300 X. B - Córtex cerebelar que exibe nódulos gliais (setas menores) e células de Purkinje (setas maiores). Inóculo de  $2 \times 10^5$  tripomastigotas. Hematoxilina/eosina. 300 X.

A natureza das células constituintes dos infiltrados perivasculars não está estabelecida. Na região mais periférica do córtex cerebral, observou-se infiltrado inflamatório que envolve a pia-máter, o qual se expandiu na camada molecular constituindo nódulos gliais subpiais. No cerebelo, os nódulos gliais estiveram presentes preferencialmente na camada molecular. Os nódulos gliais e ninhos de amastigotas foram mais facilmente encontrados nos animais inoculados aos dez dias e se apresentaram com grau variado de densidade celular. As células constituintes dos nódulos gliais, em microscopia de luz, não puderam ser identificadas. Não foram observados nódulos ou ninhos de amastigotas na medula espinhal ou no plexo corioide. Os animais inoculados aos 25 dias de idade, com qualquer um dos inóculos, apresentaram pequeno número de nódulos gliais e com valores semelhantes. Do mesmo modo, animais inoculados com  $4 \times 10^3$  tripomastigotas aos 25 dias de idade e imunossuprimidos no 5º dia de infecção apresentaram valores semelhantes àqueles de mesma idade apenas inoculados tanto com  $4 \times 10^3$  quanto com  $2 \times 10^5$  tripomastigotas. Para qualquer um dos inóculos utilizados, tanto em animais aos dez dias de idade quanto aos 25 dias de idade, o número de nódulos gliais foi estatisticamente maior nos animais mais jovens. O número máximo de nódulos gliais ocorreu quando se conjugou o maior inóculo com a menor idade (Tabela 3).

**Tabela 3.** Número médio ( $\pm$  desvio-padrão) de nódulos gliais no encéfalo de camundongos *Swiss webster* inoculados aos dez ou 25 dias de idade, com  $4 \times 10^3$  ou  $2 \times 10^5$  tripomastigotas do *Trypanosoma cruzi*.

Idade (dias)	Tamanho do inóculo		
	4.000	4.000 + imunossuprimido	200.000
dez dias	$4 \pm 1,22 (3 - 6)^a$	-	$105,20 \pm 23,92 (89 - 147)^{a*}$
25 dias	$0,20 \pm 0,44 (0 - 1)^b$	$0,20 \pm 0,44 (0 - 1)$	$0,4 \pm 0,54 (0 - 1)^d$

Letras diferentes nas colunas indicam diferenças significativas, nas linhas, apenas o valor com asterisco (\*) (test t).

## Discussão

A infecção pelo *T. cruzi*, em camundongos, aos dez ou aos 25 dias de idade determinou menor ganho de peso em comparação com camundongos-controle, dados coincidentes com relatos de infecção chagásica em ratos jovens (Oliveira *et al.*, 1986), porém diferem daqueles obtidos em ratos adultos (três meses de idade) por Guerra (1996). O menor ganho de peso corporal nos animais tratados com ciclofosfamida coaduna com a debilidade orgânica do animal e a exacerbação da infecção (Anton, 1987).

Quanto ao início da parasitemia, os resultados que utilizam qualquer um dos inóculos foram mais

tardios que aqueles apresentados por Oliveira *et al.* (1993) ao empregar os inóculos de  $10^4$  e  $10^5$  parasitas do mesmo isolado do *T. cruzi*, porém mais precoces, quando comparados com o inóculo de  $10^3$  tripomastigotas/animal em camundongos.

A indução de imunossupressão, em animais infectados, determinou parasitemias mais elevadas em comparação com os animais apenas infectados, confirmando dados da literatura (Silva e Rossi, 1990; Calabrese *et al.*, 1991). Os níveis parasitêmicos e a sobrevivência durante a fase aguda de todos animais infectados sugerem a classificação deste isolado como cepa do tipo III (Andrade e Andrade, 1979).

Os animais mais jovens apresentaram alterações teciduais mais intensas, o que coincide com a maior sensibilidade a infecção chagásica na primeira fase da vida pós-natal tanto de animais (Culbertson e Kessler, 1942; Costa *et al.*, 1986) quanto em crianças (Prata, 1994).

O aumento do inóculo utilizado, neste trabalho, em 50 vezes ou a indução da imunossupressão em animais infectados com o menor inóculo, aos 25 dias de idade, não demonstrou aumento das alterações encefálicas, o que se assemelha a dados apresentados para infecção em ratos aos 30 dias de idade (Da Mata *et al.*, 2000).

As alterações histológicas observadas no SNC, durante a fase aguda da infecção por *T. cruzi*, caracterizaram-se por reação inflamatória multifocal na forma de nódulos, conforme diversos relatos da literatura (Menezes, 1964; Jardim, 1971; Pittella *et al.*, 1993).

Os registros da presença de parasitas envolvidos nos nódulos gliais são abundantes (Menezes, 1964; Pittella *et al.*, 1993), todavia análises na microscopia de luz não demonstraram a presença de amastigotas na maioria dos nódulos, apesar de que estudos imuno-histoquímicos demonstraram a presença de *T. cruzi* (Da Mata *et al.*, 2000).

O cerebelo tem sido relatado tanto como sítio encefálico de intenso parasitismo (Menezes, 1964) quanto como área pouco parasitada (Queiroz, 1978). Nódulos subpiais, contíguos à leptomeninge, foram observados em conformidade com outros dados (Alencar e Elejalde, 1960; Da Mata *et al.*, 2000).

Não foi observada a presença de *T. cruzi*, no plexo corioide, o que parece refletir a raridade de registros do acometimento deste plexo durante a infecção (Da Mata *et al.*, 2000). Por outro lado, isto parece contrastar com alusões da literatura de que áreas encefálicas mais irrigadas seriam mais parasitadas (Menezes, 1964). Desse modo, é provável que, também nestas áreas, o parasitismo esteja na dependência da interação entre o parasito e as células presentes.

Ninhos de amastigotas íntegros ou rotos se assemelharam aos já documentados (Prata, 1994; Da Mata *et al.*, 2000), além de infiltrados perivasculares associados ou não aos nódulos gliais (Alencar e Elejalde, 1960; Da Mata *et al.*, 2000).

O maior grau de infecção foi observado quando se conjugou maior inóculo com a menor idade do animal. Este fato ratifica o maior parasitismo encefálico em animais mais jovens (Costa *et al.*, 1986; Da Mata *et al.*, 2000).

A similaridade do número de nódulos gliais e ninhos de amastigotas, entre os grupos apenas infectados e os grupos infectados e imunossuprimidos, demonstram a ausência de correlação entre os estados de imunossupressão e a infecção encefálica tanto em camundongos (Melo e Brener, 1978) quanto em ratos (Da Mata *et al.*, 2000), apesar de que a imunossupressão intensifica o parasitismo cardíaco.

A indução de imunossupressão, em camundongos durante a fase aguda, apesar de induzir níveis parasitêmicos mais elevados, parece não oferecer as condições ideais ao *T. cruzi* para parasitar o SNC o que concorda com Da Mata *et al.* (2000). Nos casos humanos de imunossupressão por longo tempo (AIDS, transplantes), infecções oportunistas secundárias são comuns, o que poderia induzir aumento nos níveis de citocinas. A disponibilidade de citocinas teciduais ou circulantes parece representar fator que pode desencadear aumento da permeabilidade da barreira hemato-encefálica (De Vries *et al.*, 1997). Assim, poder-se-á especular que o afrouxamento da BHE possivelmente signifique facilitação de penetração de *T. cruzi* no SNC, apesar de a quebra da BHE, utilizando ácido cálcico em ratos, não ter apontado nessa direção (Da Mata *et al.*, 2000). Por outro lado, a imaturidade do sistema imune dos animais mais jovens, juntamente com a maior permeabilidade dos capilares encefálicos, característicos desta fase, poderia conjugar-se, representando fatores de acesso de *T. cruzi* ao SNC.

## Conclusão

Animais jovens foram mais susceptíveis ao comprometimento encefálico por este isolado de *T. cruzi*, provavelmente pela imaturidade do sistema imune e maior permeabilidade dos capilares nessa fase de vida. A imunossupressão induzida, nos animais, determinou aumento na parasitemia. O isolado estudado apresentou comportamento compatível com cepa tipo III. Outras abordagens de caracterização, como a bioquímica, poderão ser utilizadas no aprofundamento desta.

# Referências

- ANDRADE, Z.A.; ANDRADE, S.G. Patologia. In: BRENER, Z.; ANDRADE, A. (Ed.). *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1979. p. 214-218.
- ALENCAR, A.; ELEJALDE, P. O sistema nervoso central na infestação experimental do camundongo albino pelo *Schizotrypanum cruzi*. *J. Bras. Neurol.*, Rio de Janeiro, v. 12, p. 49-57, 1960.
- ANTON, E. Delayed toxicity of cyclophosphamide in normal mice. *Br. J. Exp. Pathol.*, Oxford, v. 68, p. 237-249, 1987.
- BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, São Paulo, v. 4, p. 389-396, 1962.
- CALABRESE, K.S. *et al.* *Trypanosoma cruzi* infection in immunosuppressed mice. *Immunol. Lett.*, Amsterdam, v. 31, p. 91-96, 1991.
- CHAGAS, C. Nova entidade mórbida no homem: resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 3, p. 219-275, 1911.
- COSTA, S.C.G. *et al.* *Trypanosoma cruzi* invasion of structures related to development and central nervous system. *Rev. Bras. Neurol.*, Rio de Janeiro, v. 22, p. 183-190, 1986.
- CULBERTSON, J.T.; KESSLER, W.R. Age resistance of mice to *Trypanosoma cruzi*. *J. Parasitol.*, Lawrence, v. 28, p. 155-158, 1942.
- DA MATA, J.R. *et al.* *Trypanosoma cruzi* infection and the rat central nervous system: proliferation of parasites in astrocytes, and the brain reaction to parasitism. *Brain Res. Bull.*, New York, v. 53, p.153-162, 2000.
- DE OLIVEIRA, S.E. *et al.* Reactivation of Chagas' disease leading to the diagnosis of acquired immunodeficiency syndrome. *Braz. J. Infect. Dis.*, Salvador, v. 6, p. 317-321, 2002.
- DE VRIES, H.E. *et al.* The blood-brain barrier in neuroinflammatory diseases. *Pharmacol. Rev.*, Bethesda, 49, n. 2, p. 143-155, 1997.
- DNDi-Drugs for Neglected Diseases initiative. *Descoberta e desenvolvimento de drogas para doença de Chagas e leishmanioses*. Rio de Janeiro: Fiocruz/DNDi, 2006.
- DIAS, J.C. *et al.* The impact of chagas disease control in Latin America: a review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 97, p. 603-612, 2002.
- GUERRA, L.B. *Infecção experimental por Trypanosoma cruzi em ratos adultos: modelo para estudo de mecanismos envolvidos na lesão das terminações nervosas simpáticas do coração*. 1996. Tese (Doutorado em Morfologia)–Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1996.
- JARDIM, E. Alterações quantitativas das células de Purkinje na fase aguda da moléstia de Chagas experimental no camundongo. *Arq. Neuropsiquiatr.*, São Paulo, v. 25, p. 199-208, 1967.
- JARDIM, E. Moléstia de Chagas experimental no rato: parasitismo do núcleo do III par craniano. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, São Paulo, v. 13, p. 405-410, 1971.
- MELO, R.C.; BRENER, Z. Tissue tropism of different *Trypanosoma cruzi* strains. *Am. Soc. Parasitol.*, Lincoln, v. 64, p. 475-482, 1978.
- MENEZES, H. Moléstia de Chagas experimental: lesões do sistema nervoso central na fase aguda. *Rev. Bras. Med.*, São Paulo, v. 21, p. 21-24, 1964.
- OLIVEIRA J.S.M. *et al.* Changes in myocardial norepinephrine levels in response to stress, exercise and aging in control and *Trypanosoma cruzi* infected rats. *Braz. J. Med. Biol. Res.*, Ribeirão Preto, v. 19, p. 367-374, 1986.
- OLIVEIRA, E.C. *et al.* *Trypanosoma cruzi* and experimental Chagas' disease: characterization of a stock isolated from a patient with associated digestive and cardiac form. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, Rio de Janeiro, v. 26, p. 25-33, 1993.
- PITTELLA, J.E.H. *et al.* Central nervous system involvement in Chagas' disease. An updating. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, São Paulo, v. 35, p. 111-116, 1993.
- PRATA, A. Chagas' disease. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, Philadelphia, v. 8, p. 61-76, 1994.
- QUEIROZ, A.C. Estudo da alterações encefálicas em casos humanos agudos da doença de Chagas. *Rev. Patol. Trop.*, Goiania, v. 7, p. 13-22, 1978.
- RIVERA, J. *et al.* Reactivation of cardiac Chagas' disease in acquired immune deficiency syndrome. *Am. J. Card.*, Oxford, v. 94, p. 1102-1103, 2004.
- SILVA, J.S.; ROSSI, M.A. Intensification of acute *Trypanosoma cruzi* myocarditis in BALB/c mice pretreated with low doses of cyclophosphamide or gamma irradiation. *J. Exp. Pathol.*, Oxford, v. 71, n, p. 33-39, 1990.

Received on August 22, 2007.

Accepted on May 06, 2008.