



## ALTERAÇÕES TECIDUAIS AGUDAS INDUZIDAS EM RATOS WISTAR POR *Trypanosoma cruzi*

### *Acute alterations induced in Wistar rats by Trypanosoma cruzi*

Kleber Mirallia de Oliveira<sup>1</sup>, Nozelmar Borges de Souza Júnior<sup>1</sup>, Fabiana Ribeiro da Mata<sup>2</sup>, Simone Maria Teixeira Sabóia-Morais<sup>2</sup>, Tales Alexandre Aversi-Ferreira<sup>2</sup>, João Roberto da Mata<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Mestrado em Biologia da Universidade Federal de Goiás

<sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, DMORF, Goiânia – Goiás

Autor para correspondência: [jrdamata@pop.com.br](mailto:jrdamata@pop.com.br)

*Recebido em 11/06/2007 - Aceito em 12/07/2007*

**RESUMO:** O comportamento da doença de Chagas descrita em 1909 depende em parte, do isolado de *Trypanosoma cruzi*. Neste trabalho procurou-se avaliar a curva de parasitemia e o comprometimento do encéfalo, coração, língua, esôfago, pulmão, estômago, intestino delgado e grosso, rins e bexiga de ratos Wistar infectados com *Trypanosoma cruzi* isolado de um paciente portador da forma cardíaca e digestiva da doença. Utilizou-se 40 ratos (dez grupos contendo quatro animais cada um). Dois grupos inoculados aos 15 dias e dois inoculados aos 60 dias com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal, foram submetidos à avaliação da parasitemia em dias alternados a partir do 3º dia após inoculação. Os órgãos citados foram processados pela técnica histológica de rotina, seccionados e as lâminas foram coradas com hematoxilina e eosina. Os animais de 60 dias, apresentaram picos de parasitemia de 24.710 formas/ml de sangue em inócuos de  $10 \times 10^3$  formas/animal e de 28.240 formas/ml em  $10 \times 10^4$  formas/animal. Os animais inoculados aos 15 dias com  $10 \times 10^3$  formas, apresentaram pico de 116.490 formas/ml, e ratos inoculados aos 15 dias com  $10 \times 10^4$  de 229.450. O pico de parasitemia ocorreu entre o 21º e o 23º dia após a inoculação nos grupos avaliados, sendo que os animais inoculados aos 15 dias de idade apresentaram para ambos os inóculos valores parasitêmicos maiores que animais inoculados aos 60 dias de idade. A análise histológica demonstrou tropismo para o coração, com alterações teciduais tais como: processo inflamatório focal e difuso, infiltrado perivascular e ninhos do parasito íntegros e rompidos. Tais processos apresentaram células com sugestivas de macrófagos, linfócitos, polimorfonucleares, plasmócitos e fibroblastos. Os demais órgãos avaliados apresentaram-se com aspectos histológicos similares aos animais controle. Houve maior comprometimento do tecido cardíaco dos animais mais jovens (15 dias) submetidos ao maior inóculo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Trypanosoma cruzi*, doença de Chagas, infecção aguda, rato.

**ABSTRACT:** The Chagas disease, described in 1909, has a behavior that partially depends on the *Trypanosoma cruzi* isolate. In this work, the parasitemy curve and the alterations in the tissues of the encephalus, heart, tongue, esophagus, lungs, stomach, small and large intestines, kidneys and bladder of Wistar rats infected with *Trypanosoma cruzi* isolated from a patient carrying the cardiac and digestive form of the disease, were analyzed. Forty rats (ten groups of four animals each) were utilized. Two groups that were inoculated at 15 days and the other two at 60 days with  $10 \times 10^3$  or  $10 \times 10^4$  trypomastigotes/animal, were submitted to an evaluation of parasitemy at alternate days starting from the third day after inoculation. The organs listed were processed using the routine histological technique, and then microscope slides were confectioned and stained with hematoxillin and eosin. The animals inoculated at 60 days presented peaks of parasitemy ranging from 24,710 forms/mL of blood in inoculates of  $10 \times 10^3$  forms/animal to 28,240 forms/mL in inoculates of  $10 \times 10^4$  forms/animal. The animals inoculated at 15 days with  $10 \times 10^3$  forms, presented a peak of 116,490 forms/mL, while the ones inoculated at 15 days with  $10 \times 10^4$  forms had a peak of 229,450 forms/mL. The parasitemy peak occurred between the 21<sup>st</sup> and 23<sup>rd</sup> day after inoculation in the groups evaluated, whereas the animals inoculated at 15 days of age presented, for both inoculates, higher values of parasitemy than the animals inoculated at 60 days. The histological analysis demonstrated tropism in the heart, with tissue alterations such as: focal and diffuse inflammatory process, perivascular infiltrate and parasite nests both intact and breached. Such processes presented cells such as macrophages, lymphocytes, polymorph nuclear cells, plasmocytes and fibroblasts. The remaining organs evaluated presented histological aspects similar to those of the control animals. There were greater alterations in the cardiac tissue of the younger animals (15 days), submitted to the greater inoculum.

**KEYWORDS:** *Trypanosoma cruzi*, Chagas disease, acute infection, rat.

## INTRODUÇÃO

O comportamento da infecção da doença de Chagas descrita em 1909 depende em parte, do isolado de *Trypanosoma cruzi*. Por quase um século a doença de Chagas tem se constituído num desafio aos pesquisadores. Apesar de intensas pesquisas, a sua patogênese permanece sem esclarecimento completo e seu tratamento ainda inadequado (DNDi, 2006). Em torno de 7% da população latino-americana é portadora da doença e 25% está sob o risco de se contaminar (CAROD-ARTAL, 2003). Considera-se como área endêmica quase a metade do território brasileiro (44%), além dos casos isolados de infestações familiares no norte e no sul do Brasil (COURA, 2003). Atualmente a doença de Chagas é classificada como doença negligenciada e a pesquisa básica sobre esta patologia tem sido incentivada (DNDi, 2006). A morbidade da doença de Chagas está relacionada, pelo menos em parte, com fatores intrínsecos ao *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) que condicionam seu tropismo para diferentes órgãos (BRENER, 1978; WHO, 1986; MATA, et al., 2000). A análise da virulência, curvas de parasitemia, morfologia do parasito no sangue periférico, tropismo tecidual, quadro histopatológico da infecção no camundongo, tem contribuído para caracterizar os diversos isolados de *T. cruzi* (ANDRADE & ANDRADE 1979). Além destes parâmetros, critérios bioquímicos também têm sido utilizados tais como o padrão isoenzimático (MILES et al., 1980), esquizodemas (MOREL & SIMPSON, 1980) e composição antigênica do parasito (ANDRADE, et al., 1981; MORGADO, et al., 1982).

O comportamento de uma população de *T. cruzi*, obtida de um paciente do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Goiás (HC/UFG), portador da forma cardíaca e digestiva da doença de Chagas, foi avaliado em camundongos (OLIVEIRA, 1993). Este trabalho teve como objetivo, avaliar as alterações teciduais induzidas por esta mesma população de *T. cruzi* em ratos Wistar.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram utilizados 40 ratos *Wistar* machos com 15 e 60 dias de idade, fornecidos pelo Biotério do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da UFG. Os animais foram separados em grupos contendo quatro animais cada um e mantidos no Laboratório de Bioquímica e Neurociência do Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFG, recebendo ração comercial (Labina/Purina) e água à vontade. Os animais foram inoculados intraperitonealmente com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas por animal da população de *T. cruzi*, isolada no HC/UFG (OLIVEIRA, 1993).

Grupo A – 15 dias de idade

- 1A – ratos inoculados com  $10 \times 10^3$  – parasitemia
- 2A – ratos inoculados com  $10 \times 10^3$  – análise histológica
- 3A – ratos inoculados com  $10 \times 10^4$  – parasitemia
- 4A – ratos inoculados com  $10 \times 10^4$  – análise histológica
- 5A – ratos inoculados com salina – Controle

Grupo B – 60 dias de idade

- 1B – ratos inoculados com  $10 \times 10^3$  – parasitemia
- 2B – ratos inoculados com  $10 \times 10^3$  – análise histológica
- 3B – ratos inoculados com  $10 \times 10^4$  – parasitemia
- 4B – ratos inoculados com  $10 \times 10^4$  – análise histológica
- 5B – ratos inoculados com salina - Controle

Foi realizada a parasitemia em 5µl de sangue em dias alternados (BRENER, 1962). Os animais foram eutanasiados aos 23 dias após a inoculação (DA MATA, 2002) sob anestesia por cloral hidratado (Reagen) durante a perfusão intra-cardíaca de paraformaldeído a 4% em tampão fosfato 0,1M em pH 7,2. Foi removidos o encéfalo, coração, pulmão, língua, esôfago, estômago, rim, bexiga, intestino delgado e grosso. Fragmentos destes órgãos foram fixados, desidratados em etanol, incluídos em parafina (Histosec). O material foi seccionado, corado com hematoxilina/eosina e analisado sob microscopia de luz.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais inoculados tanto aos 15 quanto aos 60 dias de idade, com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal, apresentaram ao longo dos 23 dias de infecção, ganhos de pesos semelhantes ao grupo controle (Tab. 1 e 2). Não houve mortes durante toda a fase aguda.

Tabela 1 – Valores do peso corporal em gramas (média±desvio padrão) de ratos Wistar aos 15 dias de idade, inoculados com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal de *Trypanosoma cruzi*, e aos 38 dias de idade (23 dias após a inoculação). Os pesos dos animais do grupo controle também são apresentados. Valores máximos e mínimos entre parênteses.

Idade	Grupos	Inóculo/animal	Peso médio dos animais	
			Dia da inoculação (15 dias de idade)	Dia da eutanásia (38 dias de idade)
15 dias	Inoculado	$10 \times 10^3$	22,9±1,34 (21,5 - 25)	117±14,4 (101 - 132)
	Inoculado	$10 \times 10^4$	29,4±3,05 (26 - 33)	106±7,8 (100 - 116)
	Controle	-	26,4±2,09 (23 - 28)	110,8±6,3 (104 - 120)

Os valores não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

Tabela 2 – Valores do peso corporal em gramas (média±desvio padrão) de ratos Wistar aos 60 dias de idade, inoculados com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal de *Trypanosoma cruzi*, e aos 83 dias de idade (23 dias após a inoculação). Os pesos dos animais do grupo controle também são apresentados. Valores máximos e mínimos entre parênteses.

Idade	Grupos	Inóculo/animal	Peso médio dos animais	
			Dia da inoculação (60 dias de idade)	Dia da eutanásia (83 dias de idade)
60 dias	Inoculado	$10 \times 10^3$	220,6±13,6(203 - 241)	258±16,3 (240 - 278)
	Inoculado	$10 \times 10^4$	200,4±17,6(178 - 225)	240±62,1 (218 - 223)
	Controle	-	209,8±3,1(207 - 215)	260,2±1,9 (258 - 263)

Os valores não apresentam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

A inoculação de  $10 \times 10^3$  tripomastigotas/animal aos 15 dias de idade induziu curva parasitêmica com início no 5º dia, pico máximo no 23º dia após a inoculação e término do período de parasitemia patente no 39º dia. O valor da parasitemia média observada no pico foi de 116.490 tripomastigotas por mililitro de sangue (Fig. 1).

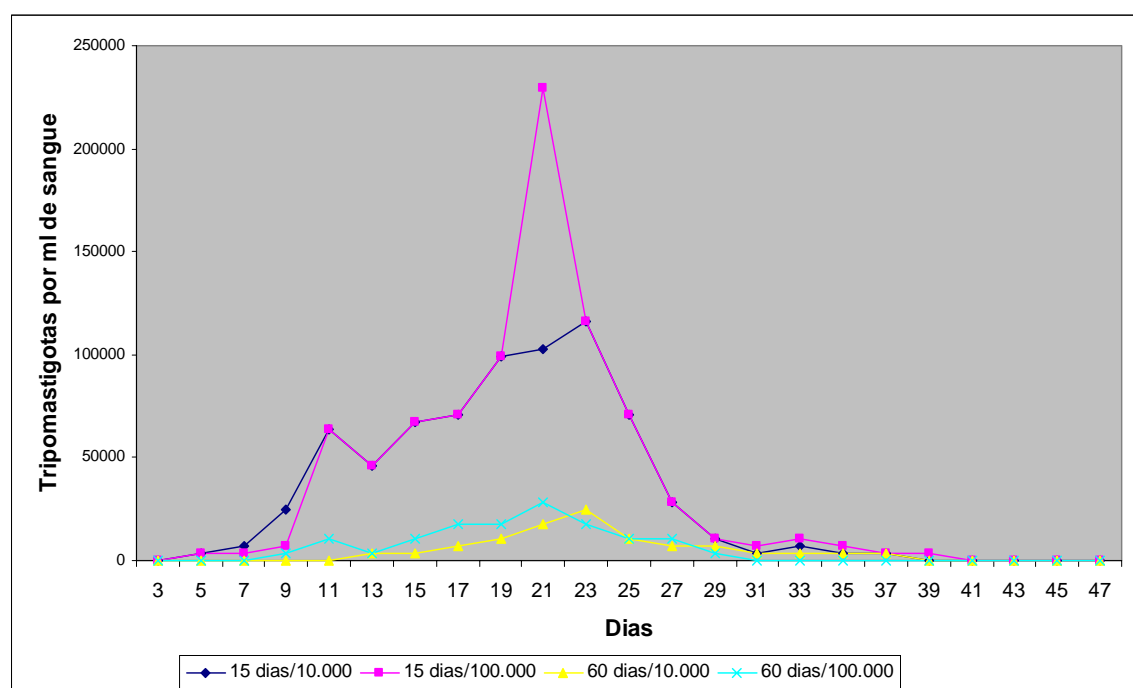


Figura 1 – Curva de parasitemia (valores médios) em ratos Wistar inoculados aos 15 ou aos 60 dias de idade com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas por animal do *Trypanosoma cruzi*.

Já a inoculação de  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal aos 15 dias de idade (Fig. 1) induziu curva parasitêmica com início similar (5º dia de infecção), porém com pico levemente mais precoce (21º dia de infecção) e valor parasitêmico médio no pico, 229.450 tripomastigotas/animal, quase duas vezes maior que aquele apresentado pelos animais inoculados com o menor inóculo. O término da parasitemia patente ocorreu no 41º dia pós-inoculação.

O inóculo de  $10 \times 10^3$  tripomastigotas/animal aos 60 dias de idade induziu curva parasitêmica com início no 13º dia de infecção, pico médio aos 23 dias de infecção com término da parasitemia patente aos 39 dias após a inoculação. Animais de mesma idade inoculados com  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal determinaram curva parasitêmica com início no 7º dia de infecção, pico médio aos 21 dias de infecção com término da parasitemia patente aos 33 dias após a inoculação (Fig. 1).

Os valores da parasitemia média observada no pico para animais com 60 dias de idade inoculados com  $10 \times 10^3$  (24.710) ou  $10 \times 10^4$  (28.240) foram estatisticamente semelhantes. Todavia estes valores foram menores ( $p < 0,05$ ) que aqueles apresentados por animais inoculados com  $10 \times 10^3$  aos 15 dias de idade (116.490) e principalmente inoculados com  $10 \times 10^4$  aos 15 dias de idade (229.450).

O isolado do *T. cruzi* avaliado, com ambos os inóculos e em ambas as idades dos animais foi capaz de induzir parasitismo cardíaco. Ocorreu a presença de ninhos de amastigotas íntegros distribuídos por todo o miocárdio (Fig. 2a) e por vezes associados á células inflamatórias (Fig. 2b). O processo inflamatório foi focal (Fig. 2c) ou difuso e infiltrados inflamatórios perivasculares (Fig. 2d) também foram fartamente encontrados. Através dos aspectos morfológicos pôde-se sugerir a tipagem celular do processo inflamatório focal (Fig. 2e). Não houve comprometimento da musculatura lisa do terço posterior do esôfago, do estomago, intestino delgado e grosso. Do mesmo modo não foram encontradas alterações na língua, bexiga, encéfalo, pulmão e rins.

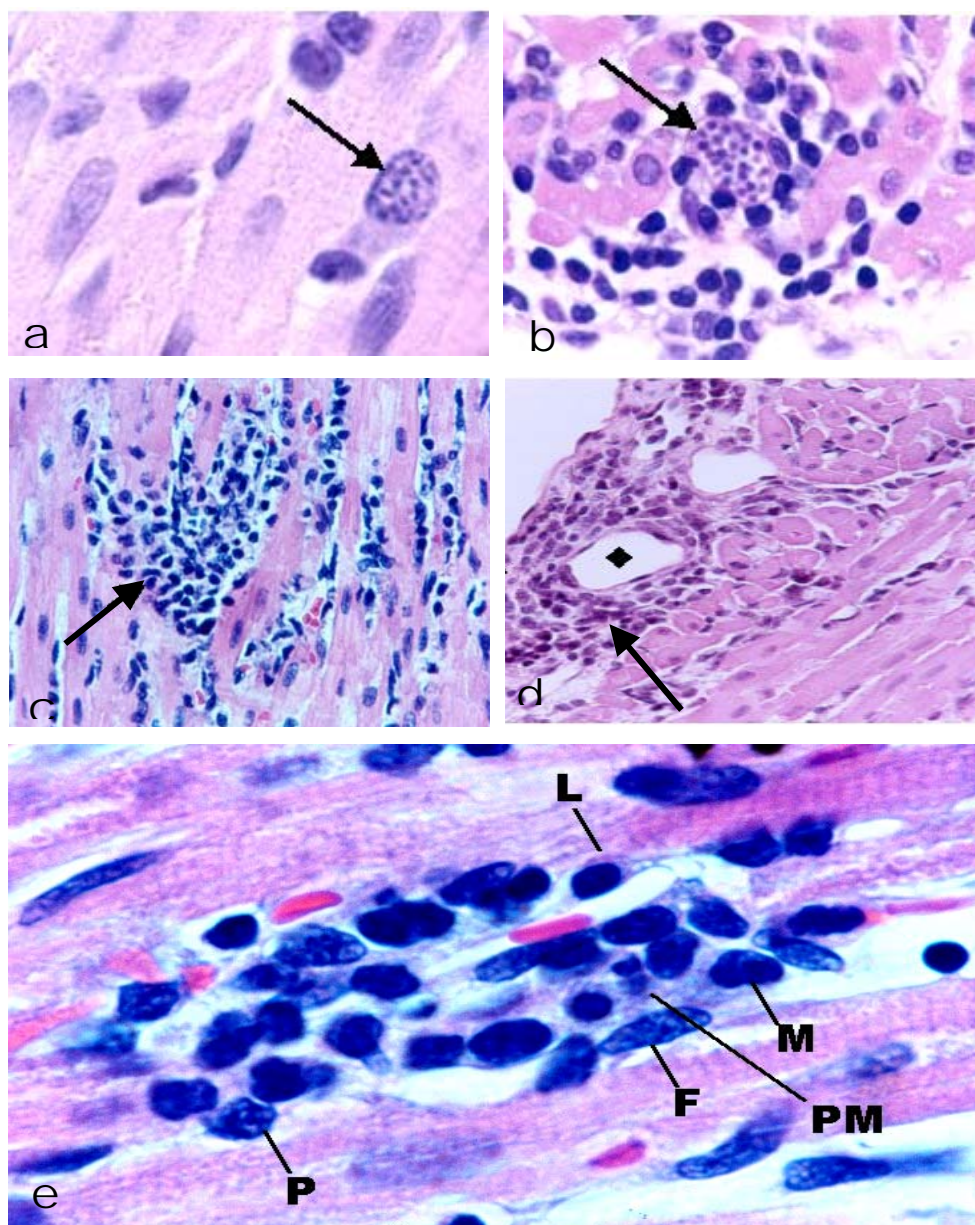


Figura 2 – Átrio esquerdo do coração de rato inoculado aos 15 ou 60 dias com  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal corada com hematoxilina e eosina.

a – Ninho de amastigota integro (seta). Rato de 60 dias, 900 X.

b – Ninho de amastigota (seta) envolto por células inflamatórias. Rato de 15 dias, 900 X.

c - Processo inflamatório focal (seta). Rato de 15 dias, 400 X

d – Vaso (♦) com Infiltrado perivascular (seta). Rato de 15 dias, 400X.

e – Processo inflamatório focal. Sugestiva de vários tipos celulares: linfócitos (L), macrófagos (M), fibroblasto (F), plasmócito (P) e polimorfonuclear (PM). Rato de 15 dias, 1.100X.

O número de ninhos de amastigotas íntegros, em animais inoculados aos 15 dias de idade sob o inóculo de  $10 \times 10^3$  e  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal foi maior que o encontrado em ratos de 60 dias de idade sob os mesmos inóculos (Tab. 3). Aos 60 dias não houve diferenças entre os dois inóculos, porém aos 15 dias, maior número de ninhos foi induzido pelo maior inóculo.

Tabela 3 – Número médio (média±desvio padrão) de ninhos de amastigotas íntegros no coração de ratos Wistar, inoculados aos 15 ou 60 dias de idade, com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal de *Trypanosoma cruzi*. Valores máximos e mínimos entre parênteses. Não foram encontradas alterações em animais do grupo controle.

Idade dos animais	Tamanho do inóculo (tripomastigotas/animal)	
	$10 \times 10^3$	$10 \times 10^4$
15 dias	$4 \pm 1,58$ (2 – 6) <sup>a</sup>	$8 \pm 1,58$ (6 – 10) <sup>a</sup> *
60 dias	$1 \pm 0,71$ (0 – 2) <sup>b</sup>	$2 \pm 1,00$ (1 – 3) <sup>b</sup>

Em cada coluna, os valores com letras diferentes indicam diferenças significativas. Para linhas, apenas o valor assinalado com asterisco (\*), apresenta diferença significativa ( $p < 0,05$ ).

O aumento do inoculo de  $10 \times 10^3$  para  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal determinou aumento de processos inflamatórios focais apenas nos animais mais jovens (Tab. 4).

Tabela 4 – Número médio (média±desvio padrão) de processos inflamatórios focais no coração de ratos Wistar inoculados aos 15 ou 60 dias de idade, com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal de *Trypanosoma cruzi*. Valores máximos e mínimos entre parênteses. Não foram encontradas alterações em animais do grupo controle.

Idade dos animais	Tamanho do inóculo (tripomastigotas/animal)	
	$10 \times 10^3$	$10 \times 10^4$
15 dias	$13 \pm 2,24$ (10 – 16)	$25 \pm 3,67$ (21 – 30) *
60 dias	$8 \pm 2,55$ (5 – 11)	$10 \pm 3,74$ (5 – 13)

Para cada coluna, os valores são semelhantes. Para linhas, apenas o valor assinalado com asterisco (\*), apresenta diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

O número de infiltrado perivascular foi semelhante sob o inóculo de  $10 \times 10^3$  tripomastigotas/animal em ambas as idades. Sob o maior inóculo os animais mais jovens, apresentaram maior número de infiltrado perivascular (Tab. 5).

Tabela 5 – Número médio (média±desvio padrão) de infiltrados perivasculares no coração de ratos Wistar inoculados aos 15 ou 60 dias de idade, com  $10 \times 10^3$  ou  $10 \times 10^4$  tripomastigotas/animal de *Trypanosoma cruzi*. Valores máximos e mínimos entre parênteses. Os animais do grupo controle não apresentaram alterações.

Idade dos animais	Tamanho do inóculo (tripomastigotas/animal)	
	$10 \times 10^3$	$10 \times 10^4$
15 dias	$5 \pm 1,58$ (2 – 7) <sup>a</sup>	$15 \pm 2,12$ (12 – 17) <sup>b*</sup>
60 dias	$3 \pm 1,00$ (2 – 4) <sup>a</sup>	$4 \pm 1,41$ (3 – 6) <sup>c</sup>

Em cada coluna, os valores com letras diferentes indicam diferenças significativas. Para linhas, apenas o valor assinalado com asterisco (\*), apresenta diferença significativa ( $p > 0,05$ ).

A população de *T. cruzi* induziu alteração tecidual no coração, assemelhando-se aos dados para este mesmo isolado em infecção de camundongo (OLIVEIRA, 1993; DA MATA, 2002).

Dentre os fatores que influenciam o curso da doença de Chagas em um modelo experimental, estão os que dependem do parasito e outros inerentes ao hospedeiro. MENEZES (1964) relata que a cepa do *T. cruzi*, a susceptibilidade do animal e o número de parasitos inoculados induzem variação na gravidade desta doença. De fato, neste trabalho as alterações no número de tripomastigotas inoculados e na idade dos animais determinaram variações na intensidade das lesões apresentadas.

Não ocorreram alterações no ganho de peso dos animais sob inoculação. Estes dados concordam com MELO & MACHADO (1998) e CAMARGO, et al., (1991) em ratos adultos sob inoculação. Por outro lado difere de ratos inoculados com a cepa Y, com relato de perda de peso devido a sua maior virulência (MATA, et al., 2002).

Constatou-se que o dia do pico da parasitemia foi relativamente uniforme nos grupos experimentais, fato semelhante foi constatado por DA MATA (2002), em torno do 21º ao 23º dia de infecção em infecção em camundongos.

A parasitemia apresentou fim mais precoce entre o 33º e 41º dia pós-inoculação, que a infecção com o mesmo isolado em camundongo (OLIVEIRA, 1993; DA MATA, 2002), sugerindo a resolução da fase aguda mais cedo no rato que no camundongo. Isto sugere que as defesas orgânicas dos ratos Wistar frente ao isolado e inoculo utilizado induz resposta orgânica mais eficiente para ambas as idades e inóculos.

Ocorreram picos parasitêmicos mais intensos nos ratos mais jovens o que também está amplamente registrado (KOLODNY, 1939; CULBUSTON & KESSLER, 1942; DIAS, 1985; PRATA, 1994; DA MATA, 2002). Nos ratos jovens, o aumento do número de formas inoculadas em dez vezes, duplicou o valor encontrado para o pico parasitêmico. De fato, quanto maior for o número de formas inoculadas tanto maiores serão os picos parasitêmicos e os danos teciduais até o limite da capacidade de reação do hospedeiro (ANDRADE, 1974; TARLETON, 1995). Neste trabalho ficou evidente, pela ausência de mortes, que as defesas orgânicas do rato Wistar frente à cepa e inóculos utilizados suplantaram a intensidade da infecção.

Houve relação entre o aumento da parasitemia e intensidade das alterações teciduais, concordando com KRAMER (1972) e DA MATA (2002), porém diferindo dos relatos de MENESES & ALCANTARA (1965). Não ocorreram alterações encefálicas o que difere do relato de DA MATA (2002) ao utilizar este mesmo isolado em camundongos. Isto sugere menor refratariedade do SNC de camundongo ao *T. cruzi* do que o de rato. O tropismo do parasito para tecido cardíaco também foi encontrado conforme relatos de OLIVEIRA (1993) e DA MATA (2002).

Houve intensa reação inflamatória no tecido cardíaco, com desagregação celular induzida por edema com a presença de macrófagos, linfócitos, plasmócitos e polimorfonucleares nos infiltrados inflamatórios, similares a outros relatos (OLIVEIRA, et al., 1993; MARIN-NETO, et al., 1999; MELO & MACHADO, 2001). ANDRADE, et al. (1997) relata necrose de miócitos não parasitados, edema e infartos microscópicos devido alterações microvasculares. Os mesmos aspectos foram encontrados neste trabalho, com edema e comprometimento micro-vascular. Infiltrados inflamatórios também estiveram presentes conforme outros relatos (HIGUCHI, et al., 1999; MATA, et al. 2000).

## CONCLUSÕES

O isolado de *T. cruzi* não induziu comprometimento no ganho de peso dos animais infectados. Houve preferência de parasitismo pelo tecido cardíaco, contudo sem determinar mortes durante a fase aguda da infecção. O infiltrado inflamatório apresentou células com características morfológicas compatível com linfócitos, macrófagos, fibroblasto, plasmócitos e polimorfonucleares.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRADE, Z. A. & ANDRADE, S. G. Patologia. In: BRENER, Z. & ANDRADE, *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Caps. 6, p. 214-218, 1979.

ANDRADE, S. G.; ANDRADE, V.; ROCHA FILHO, F. D.; BARRAL NETTO, M. Análise antigênica de diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*. 23: 245-250, 1981.

ANDRADE, Z. A.; et al. Myocardial changes in acute trypanosoma cruzi infection. *Amer. Journ. of Pathol.* v. 144, p. 1406-1411, 1974.

ANDRADE, S. G.; FILHO, A. C.; SOUZA, A. J. M.; LIMA, E. S.; ANDRADE, Z. A. Influence of treatment with immunosuppressive drugs in mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. *Trypanosoma J. Exp. Path.* v. 78, p. 391-399, 1997.

BRENER, Z. Therapeutic activity and criterion of cure on mice experimentally infected with *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Inst. Med. trop.* v. 4, p. 389-396, 1962.

- BRENNER, Z.; ANDRADE, Z. A. *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. Rio de Janeiro: Ed. Guanabara Koogan, 1979.
- CAMARGO, I. J.; ARAÚJO, P. M.; SAKURADA, J. K.; STACH-MACHADO, D. R.; RANGEL, H. A. *Trypanosoma cruzi*: early resistance induced by culture-derived trypomastigotes. *Experimental Parasitology*. v. 73, p. 260-268, 1991.
- CAROD-ARTAL, F. J.; MELO, A. P.; HORAN, T. A. American trypanosomiasis (Chagas's disease): unrecognised cause of stroke. *Journal of Neurology, Neurosurgery and psychiatry*. v. 74, p. 516-518, 2003.
- CHAGAS, C. Nova tripanozomiose humana. Estudo sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* agente etiológico de nova entidade mórbida do homem. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. v.I, p. 1-62, 1909.
- COURA, J. R. Tripanosomose, doença de chagas. *Cienc. Cult.* v. 55, p. 1-7, 2003.
- CULBERTSON, J. T. & KESSLER, W. R. Age resistance of mice to *Trypanosoma cruzi*. *J. Parasitol.* v. 28, p. 155-158, 1942.
- DA MATA, F. R. Alterações teciduais induzidas por *trypanosoma cruzi* em camundongos: influencia do inóculo, da idade e do estado imunológico do animal. *Dissertação de mestrado*. ICB/UFMG: Goiânia, 2002.
- DIAS, J. C. P.; LOYOLA, C. C. P.; BRENER, S. Doença de Chagas em Minas Gerais, situação atual e perspectivas. *Rev. Bras. Malar.* v. 37, p. 7-28, 1985.
- DNDi – Drugs for Neglected Diseases initiative. Simpósio - Descoberta e desenvolvimento de drogas para doença de Chagas e leishmanioses – *Fiocruz/DNDi*, Rio de Janeiro, 2006.
- HIGUCHI, M. L. Humam chronic chagasic cardiopathy: participation of parasite antigens, subsets of lymphocytes, cytofines and microvascular abnormalities. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. v. 94, p. 263-267, 1999.
- KOLODNY, M. H. Studies on age resistance trypanosome infections: The resistance of the rat on different ages to infection with *trypanosoma cruzi*. *Am. J. Hyg.* v. 29, p. 13-24, 1939.
- KRAMER, Jr. A. W. Experimental Chaga'disease in purebred beagle dog cutely infected with **Trypanosoma cruzi** (B strain). *Rev. Inst. Med trop.* v. 14, p. 91-300, 1972.
- MARIN-NETO, J. A.; et al. Chagas heart disease. *Arq. Bras. Cardiol.* v. 72, p. 264-274, 1999.
- MATA, J. R.; CAMARGOS, E. R. S.; CHIARI, E.; MACHADO, C. R. S. *Trypanosoma cruzi* infection and the rat central nervous system: proliferation of parasites in astrocytes, and the brain reaction to parasitism. *Brain Research Bulletin*. v. 53, p. 153-162, 2000.
- MELO, R. C.; MACHADO, C. R. Depletion of radiosensitive leukocytes exacerbates the heart sympathetic denervation and parasitism in experimental Chagas disease in rats. *J. Neuroimmunol.* v. 84, p. 151-157, 1998.
- MELO, R. C.; MACHADO, C. R. *Trypanosoma cruzi*: peripheral blood monocytes and heart macrophages in the resistance to acute experimental infection in rats. *Exp. Parasitol.* v. 97, p. 15-23, 2001.
- MENEZES, H. Moléstia de Chagas experimental. Lesões do sistema nervoso central na fase aguda. *Rev. Bras. Med.* v. 21, 21-24, 1964.
- MENEZES, H. & ALCÂNTARA, F. G. Distribuição dos parasitas (pseudo-cistos) no sistema nervoso central de ratos infectados experimentalmente pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Goiana Med.* v. 11, p. 21-25, 1965.
- MILES, M. A ; LANHAM, S. M.; SOUZA, A. A ; PÓVOA, M. Further enzymic characters os *Trypanosoma cruzi* and their evaluation for strain identification. *Trans. R. Soc. Trop. Méd. Hyg.* v. 74, p. 221-237, 1980.
- MOREL, C.; SIMPSON, L. Characterization of pathogenic trypanosomatidade by restriction endonuclease finger-print of kenetopast DNA minecircles. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* v. 29, p. 1070-1074, 1980.
- MORGADO, M. G.; HOEGAEDERDEN, M. V.; CATRO FILHO, B. G. Antígenos "particulares" das cepas de *Trypanosoma cruzi*: demonstração por imunoeletroforese bidimensional. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. v. 77, p. 57-59, 1982.



OLIVEIRA, E. C.; STEFANI, M. M. A.; LUQUETTI, A. O.; VÊNCIO, E. F.; MOREIRA, M. A. R.; SOUZA, C.; REZENDE, J. M. *Trypanosoma cruzi* and experimental chagas'disease: Characterization of a stock isolated from a patient with associated digestive and cardiac form. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. v. 26, p. 25-33, 1993.

PRATA, A . Chagas' disease. *Infec. Dis. Clin. N. Am.* v. 8, p. 61-76, 1994.

TALERTON, R. L. The role of T cells in *Trypanosoma cruzi* infections. *Parasitology Today*. v.11, p. 7-9, 1995.

WHO. Report of the steering committees research activities of the scientific working group (SWG) on Chagas's disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. v. 8, p. 181-224, 1986.