

ESTUDO HISTOLÓGICO DA GLÂNDULA SUBMANDIBULAR DE CAMUNDONGOS ADULTOS INFECTADOS COM AS CEPAS BOLÍVIA E Y DE *Trypanosoma cruzi*

Lídia Sabbag UTRILLA*
Célia Cebrian Araújo REIS**
Rosa Domingues RIBEIRO***
Arlete Scarrasso MARTINI****
Ruberval Armando LOPES*****

- RESUMO: Camundongos adultos foram infectados experimentalmente com as cepas Bolívia e Y do *Trypanosoma cruzi*. Foram estudadas as alterações histomorfológicas determinadas pelos parasitas nas glândulas submandibulares. As alterações estruturais observadas em animais inoculados com cepa Bolívia foram sempre mais severas do que as causadas pela cepa Y. As células acinares apresentaram-se atróficas com redução da eosinofilia citoplasmática e conseqüente deslocamento do núcleo para o pólo basal. Os ductos encontravam-se com paredes finas e lume dilatados e septos amplos. Foram observadas formas amastigotas do *T. cruzi* no citoplasma de células acinares. No estroma observamos presença de moderado infiltrado linfoplasmocitário.
- UNITERMOS: Glândula submandibular; *Trypanosoma cruzi*; cepa Bolívia; cepa Y.

Introdução

O desenvolvimento da glândula submandibular em camundongos inicia-se no 13º dia de prenhez, a partir da proliferação e migração de células do epitélio do revestimento da cavidade bucal primitiva, enquanto o tecido conjuntivo intersticial origina-se do mesênquima.

* Departamento de Morfologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 14800 – Araraquara – SP.

** Departamento de Princípios Ativos Naturais e Toxicologia – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – 14800 – Araraquara – SP.

*** Departamento de Ciências da Saúde – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP – 14049 – Ribeirão Preto – SP.

**** Departamento de Ciências Biológicas – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP – 14800 – Araraquara – SP.

***** Departamento de Estomatologia – Faculdade de Odontologia – USP – 14049 – Ribeirão Preto – SP.

Ao nascimento do animal, a referida glândula está constituída por um sistema de ductos epiteliais fechados contendo na sua extremidade os brotos terminais⁷. Em torno do 25º dia de vida ocorre intensa atividade proliferativa. A partir daí as estruturas glandulares estão esboçadas, as organelas se estruturam e o índice mitótico diminui gradativamente¹¹, completando o processo de diferenciação ao redor dos 60 dias de idade.

Na infecção chagásica experimental ocorrem importantes alterações das glândulas salivares.

O tropismo do *Trypanosoma cruzi* para glândulas salivares tem sido relatado desde 1942⁵. Estas observações foram confirmadas em 1970⁴, sendo descrita a presença de ninhos de amastigotas do parasita em glândulas salivares de camundongos.

Em 1977¹⁰ foi descrita a redução do tamanho dos ácinos e dos ductos estriados nas glândulas submandibulares, sublinguais e parótidas de camundongos inoculados com cepas Bolívia e Y do *T. cruzi*.

Em trabalhos posteriores confirmamos a ocorrência de atrofia em glândulas parótidas e submandibulares de camundongos jovens inoculados com *T. cruzi*, e sacrificados na fase aguda^{9,13} ou subpatentes da infecção⁸.

Camundongos jovens inoculados aos 28 dias com cepas Bolívia e Y do *T. cruzi* e examinados na fase subpatente da infecção, apresentaram: atraso na diferenciação do parênquima acinar e dos ductos granulosos e diminuição da atividade secretora em glândula submandibular¹⁴.

Considerando que nos trabalhos acima referidos a inoculação sempre foi realizada em animais de 28 dias, período no qual os componentes da glândula estão formados mas não totalmente desenvolvidos, persiste a dúvida se na infecção chagásica experimental ocorre atrofia ou retardo no desenvolvimento dessa glândula.

Assim, é objetivo deste trabalho estudar as alterações induzidas na glândula submandibular pelas cepas Bolívia e Y do *T. cruzi*, inoculadas em camundongos adultos.

Material e método

Foram utilizados camundongos (*Mus musculus Rodentia*) albinos, machos, com 60 dias, divididos em 3 grupos experimentais:

Grupo I (Controle): Constituído por 10 animais normais injetados com solução fisiológica.

Grupo II (cepa Bolívia): 10 animais inoculados intraperitonealmente com 2×10^4 formas tripomastigotas, sanguícolas da cepa Bolívia. A cepa Bolívia, de características polimórfas, com formas sanguícolas predominantemente largas, isoladas de fezes de

exemplares de *Triatoma infestans* provenientes de Vitichi na Bolívia⁶, foi mantida em camundongos por meio de repiques quinzenais.

Grupo III (cepa Y): 10 animais em condições iguais aos do grupo controle foram inoculados com cepa Y do *Trypanosoma cruzi* (300.000 formas sanguícolas i.p.) e sacrificados no 7º dia de infecção chagásica. A cepa Y é constituída por tripomastigotas sanguícolas delgadas. Foi isolada de um caso agudo de doença de Chagas¹² e é mantida em repiques a cada 7 ou 9 dias.

Todos os animais receberam ração balanceada e água *ad libitum*. Sob anestesia com éter sulfúrico, os animais foram sacrificados no período agudo da infecção.

As glândulas salivares foram dissecadas e, ato contínuo, imersas em líquido de Bouin. Após fixação durante 24 horas, o material foi incluído em parafina segundo rotina histológica. Para análise das características estruturais dos componentes das glândulas, o material foi corado com hematoxilina-eosina e tricrômico de Masson.

Resultado

Grupo Controle – A glândula submandibular apresenta seus componentes em disposição ordenada, estando dividido em lobos bem delimitados pelos septos. Ácinos constituídos por células piramidais serosas, caracterizadas pela presença de finas granulações acidófilas no citoplasma e moderada basofilia respectivamente nos pólos apical e basal. Tais células contêm núcleo esferóide, volumoso e de cromatina frouxa e nucléolo evidente na maioria das vezes.

Ductos granuloses com lume amplo e regular, revestidos por células epiteliais cilíndricas. O núcleo dessas células é grande, esferóide e de cromatina frouxa, localizado no terço médio. O citoplasma apical apresenta grânulos de secreção acidófilos.

Os ductos estriados são menores com lume regular, revestidos por células cilíndricas com estrias citoplasmáticas no pólo basal. O núcleo é volumoso com cromatina frouxa e localiza-se no terço médio.

Os ductos excretores, de lume amplo e regular, são revestidos por epitélio biestratificado cúbico.

Os espaços interparenquimatosos são preenchidos por tecido conjuntivo frouxo, com poucas fibras colágenas e muitos capilares sanguíneos. Formam septos que delimitam os diversos lobos e lóbulos desta glândula.

Grupo II – Nas glândulas provenientes de animais infectados com cepa Bolívia do *T. cruzi*, o parênquima apresentou severa desorganização quando comparado ao dos animais controle. As células acinares foram as mais susceptíveis à ação do *T. cruzi*. Verificou-se desorganização acinar cujas células apresentaram citoplasmas palidamente eosinófilos e núcleos ora esferóides e vesiculosos, ora pequenos e densos.

Ocorreu atrofia, inchação turva, degeneração vacuolar e necrose de células acinares. Foram observadas formas amastigotas do *T. cruzi* no citoplasma dessas células.

Os ductos mostraram-se menos comprometidos, com paredes mais finas e lumes dilatados. Tal fato ocorreu com mais frequência nos ductos granulosos, cujas células apresentaram-se pálidas e sem grânulos. Nos ductos estriados, as estrias basais são poucas e irregulares.

O volume do estroma aumentou quando se comparou este grupo ao controle. Os lobos glandulares acham-se separados entre si pela interposição de septos amplos, cujo tecido conjuntivo apresentou edema intersticial, divulsão de fibras colágenas, proliferação angioblástica, hiperemia intensa e infiltrado inflamatório moderado, formado por células mononucleadas.

Grupo III – Nas glândulas provenientes de animais infectados com cepa Y do *T. cruzi*, observamos alterações qualitativas dos componentes glandulares semelhantes às descritas para o grupo II. Entretanto, estas alterações foram sempre menos acentuadas do que aquelas descritas para a cepa Bolívia.

Discussão

Conforme referido, as glândulas salivares de camundongos não estão completamente desenvolvidas até o nascimento.

É comum utilizar-se para a reprodução experimental da doença de Chagas, camundongos com 27-28 dias de vida, idade em que os elementos estruturais das glândulas salivares estão ainda em diferenciação. O propósito deste trabalho foi verificar a atuação do *T. cruzi* em animais adultos com glândulas já diferenciadas, a fim de elucidar a alteração ocorrida quando as glândulas já tiveram seu desenvolvimento normal.

Assim, verificou-se que camundongos inoculados com cepas Bolívia e Y do *T. cruzi* aos 60 dias de idade e sacrificados no pico máximo da parasitemia, para cada cepa, apresentaram alterações das glândulas submandibulares que se caracterizaram por atrofia e degeneração acinar, alterações ductulares, além da presença de moderado infiltrado inflamatório no estroma.

Embora essas alterações tenham sido semelhantes com ambas as cepas, as alterações induzidas pela cepa Bolívia foram sempre mais severas do que as induzidas pela cepa Y.

Estes dados estão de acordo com as observações que se referem às cepas com formas sangüíneas predominantemente largas, indutoras de resposta inflamatória mais intensa³.

Quanto à atrofia acinar e alterações ductulares observadas em animais adultos, os resultados são semelhantes àqueles descritos por Ribeiro et al.¹⁰, os quais observaram atrofia acinar em ratos infectados com cepa Y do *T. cruzi*. Utrilla et al.¹⁵ referem-se à ocorrência de hipofunção glandular caracterizada pela diminuição das glicoproteínas neutras, das proteínas ricas em triptofano e da basofilia citoplasmática em animais inoculados com cepa Bolívia ou Y do *T. cruzi* e sacrificados na fase subpatente da infecção experimental. Os autores observam que essas alterações foram mais intensas nos animais inoculados com cepa Bolívia do *T. cruzi*.

Martini et al.⁸ também observaram retardo no desenvolvimento de ácinos e ductos da glândula parótida em animais jovens e infectados com cepas Bolívia ou Y do *T. cruzi* e sacrificados na fase subpatente da infecção.

A ocorrência de atrofia em glândulas parótidas de camundongos jovens inoculados com cepa Bolívia e sacrificados na fase aguda da infecção foi confirmada, através da morfometria, por Reis et al.⁹, que propõem que as alterações observadas poderiam decorrer da degeneração de neurônios autonômicos.

Os resultados obtidos no presente trabalho diferem dos observados por Alves¹, que demonstrou a ocorrência de alterações na glândula submandibular, que se caracterizaram por aumento no desenvolvimento dos ácinos e atraso na diferenciação dos ductos granulados em animais sacrificados aos 18 e 32 dias após a inoculação com cepa Y do *T. cruzi*. Alves & Machado² observaram também hipertrofia acinar, ao lado do retardo no desenvolvimento dos ductos, em glândulas submandibulares de camundongos sacrificados 18 dias após inoculação da cepa Y do *T. cruzi*.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que ocorre um processo atrófico dos componentes das glândulas submandibulares de camundongos adultos infectados com cepa Bolívia e Y do *T. cruzi*. Esta atrofia pode decorrer da degeneração de neurônios do sistema nervoso autônomo ou pode ser consequência de alterações patológicas de glândulas endócrinas induzidas pelo parasita.

Sabendo-se que ocorre extensa destruição de neurônios autonômicos na infecção chagásica, é possível que a diminuição dos neurotransmissores, adrenérgico e colinérgico, na fenda sináptica, seja fator importante para as alterações estruturais observadas em animais infectados.

Agradecimento

Agradecemos às Sras. Terezinha Aparecida Carlessi Possato, Maria Zenaide Tita Fernandes e Sr. Luis Antonio Potenza, pela valiosa colaboração técnica na realização deste trabalho.

UTRILLA, L. S. et al. Histologic study of adult mouse submandibular glands infected with Bolivia and Y *Trypanosoma cruzi* strains. Rev. Odontol. UNESP, São Paulo, v. 21, n. 1, p. 71-77, 1992.

- **ABSTRACT:** Adult mice inoculated with T. cruzi strains (Bolivia and Y) were analysed at the acute phase of the experimental chagasic infection, through the histomorphological alterations of the submandibular glands. The structural alterations observed in animals inoculated with the Bolivia strain were always more severe than those caused by the Y strain. The acinar cells were atrophic and the cytoplasm presented faintly eosinophilic and consequent dislocation of the nucleus towards the basal cytoplasm. The ducts were dilated and lined with low cylindrical epithelium. Their lumen were reduced. The septa were widened. T. cruzi (amastigotes) was found in the submandibular glands acini cells. Presence of a moderate lymphoplasmocytic infiltrate.
- **KEYWORDS:** Submandibular gland; *Trypanosoma cruzi*; Bolivia strain; Y strain.

Referências bibliográficas

1. ALVES, J.B. Alterações da inervação autônoma e da histologia da glândula submandibular na doença de Chagas experimental, em ratos. Rev. Bras. Pesq. Méd. Biol., v. 10, p. 159-73, 1977.
2. ALVES, J.B., MACHADO, C.R.S. Histological and histoquantitative study of the rat submandibular gland in Chagas' disease. Arch. Oral. Biol., v. 25, p. 437-43, 1980.
3. ANDRADE, G.A., ANDRADE, Z.A. Estudo histopatológico das lesões produzidas por duas cepas do *Trypanosoma cruzi*. Hospital., v. 70, p. 1267-78, 1966.
4. BICE, D.E., ZELEDON, R. Comparison of infectivity of strains of *Trypanosoma cruzi*. (Chagas, 1909). J. Parasitol., v. 56, p. 663-70, 1970.
5. COLLIER, H.O.J., FULTON, J.D., INNES, J.R.M. The oedema of mice infected with *Trypanosoma cruzi*, and the accompanying pathological lesions. Am. Trop. Med. Parasitol., v. 36, p. 137-50, 1942.
6. FUNAYAMA, G.K., PRADO JÚNIOR, J.C. Estudo dos caracteres de uma amostra boliviana do T. cruzi. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., p. 75-81, 1974.
7. JACOBY, F., LEESON, C.R. The post-natal development of the rat submaxillary gland. J. Anat., v. 93, p. 201-16, 1959.
8. MARTINI, A.S. et al. Morphological and morphometric study of the alterations on young mouse parotid gland with subpatent Chagas' disease. Angew. Parasitol., v. 27, p. 65-72, 1986.
9. REIS, C.C.A. et al. Can cocaine block the uptake of neurotoxin produced by *Trypanosoma cruzi*? Angew. Parasit., v. 30, p. 239-47, 1989.
10. RIBEIRO, R.D. et al. Alterações de glândulas salivares de camundongos e ratos infectados com *Trypanosoma cruzi*. Rev. Fac. Farm. Odontol., Ribeirão Preto, v. 14, p. 35-40, 1977.

11. SHAFER, W. The effect of single and fractionated doses of selectively applied X ray irradiation on the histologic structure of the major salivary glands of the rat. *J. Dent. Res.*, v. 32, p. 796-800, 1953.
12. SILVA, L. H. P., NUSSENSWEIG, V. Sobre uma cepa do *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Fol. Clin. Biol.*, v. 20, p. 191-208, 1953.
13. UTRILLA, L.S. et al. Sialoadenopatia chagásica. Estudo experimental da glândula parótida. *Rev. Ciênc. Farm.*, v. 4, p. 21-5, 1982.
14. UTRILLA, L.S. et al. Diferenciação da glândula submandibular de camundongos experimentalmente infectado pelo *Trypanosoma cruzi*. In: REUNIÃO ANUAL SOBRE PESQUISA BÁSICA EM DOENÇA DE CHAGAS, 9, 1984. Caxambu. 1984. *Anais...Caxambu*, 1984. p. 31.
15. UTRILLA, L.S. et al. Alterações histoquímicas da glândula parótida de camundongos na fase subpatente da doença de Chagas. *Rev. Fac. Odontol*, Ribeirão Preto, v. 22, p. 710, 1985.

Recebido em 16.12.1991.