

ESTUDO SOBRE A SECREÇÃO GLANDULAR EXÓCRINA DO APARELHO DIGESTIVO E DOS BRÔNQUIOS NA MOLÉSTIA DE CHAGAS HUMANA

Reynaldo de BRITTO-COSTA (1), Eduardo MARTINS NETO JUNIOR (2) e Jamil MAETUM (2)

RESUMO

Estudando a secreção mucosa no tracto digestivo e nos brônquios humanos, de indivíduos chagásicos crônicos por meio da coloração combinada Alcian-Blue — P.A.S., os Autores observaram uma redução na quantidade de mucopolissacarídeos ácidos no portador da moléstia de Chagas, bem como uma hipertrofia das glândulas mucosas do brônquio, atribuindo estas alterações a distúrbios da regulação nervosa autônoma, que ocorre nesta moléstia.

INTRODUÇÃO

Em recente publicação, KÖBERLE & col.³ fazem uma condensação de todos os trabalhos publicados por ele, colaboradores e outros, atualizando os conhecimentos sobre esta grave endemia que grassa em nosso país, ceifando milhares de vidas.

Ficou assim sobejamente comprovado que na moléstia de Chagas existe uma “desnervação” mais ou menos acentuada, tanto no sistema nervoso central como no sistema nervoso autônomo, simpático e parassimpático.

Ora, as glândulas anexas e as glândulas próprias da parede do tubo digestivo são, em graus variáveis, controladas pelo sistema nervoso autônomo. Seria, pois, justo se esperar que na moléstia de Chagas devam existir alterações funcionais e/ou morfológicas nestas glândulas.

Na verdade, KÖBERLE² já verificou distúrbios da secreção mucosa em um caso de megasigmóide, que rotulou como “mucoembolia”.

Posteriormente, VIEIRA & col.⁷, fazendo um estudo morfológico e funcional em glândulas salivares de indivíduos portadores de

megaesôfago chagásico, observou, além de uma hipertrofia dessas glândulas (aumento de tamanho das células e ácinos), uma hiperatividade funcional, um aumento de síntese proteica e um aumento dos grânulos de secreção. Além disso, verificou o mesmo Autor, um aumento da amilaseia e do volume salivar.

Com exceção destes dois trabalhos anteriormente citados, não encontramos na literatura um estudo mais detalhado e específico sobre a secreção glandular exócrina dos pacientes portadores de moléstia de Chagas. Em vista disso resolvemos encetar a presente pesquisa, fazendo um estudo morfológico e histoquímico das glândulas exócrinas do tracto digestivo, e dos brônquios, em material de autópsia de casos humanos.

MATERIAL E MÉTODOS

O material do nosso estudo foi colhido de cadáveres autopsiados no Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e da Faculdade de Medicina de São Paulo, e constou de fragmentos dos se-

Trabalho realizado com auxílio da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Médicas 71/1050)

- (1) Livre-Docente do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, Brasil (Serviço do Prof. Fritz Köberle)
(2) Bolsistas da F.A.P.E.S.P. (Médicas 71/737 e 71/736)

guintes órgãos: a) Glândulas Salivares; sub-mandibular, sub-lingual; b) Esôfago: anel do terço inferior; c) Estômago: fragmento da região cárdica, fragmento do corpo, fragmento do antro pilórico; d) Anel do Duodeno (1.^a porção); e) Anel do Jejuno (1.^a alça); f) Anel do Íleo Terminal; g) Anéis do Cólon (Ascendente e sigmóide); h) Fragmento do Pâncreas; i) Anel dos Brônquios principais.

O estudo compreendeu duas partes:

1) Avaliação aproximada da composição relativa dos mucopolissacárides ácidos e neutros e, quando possível, sua quantificação.

O material foi fixado em formol salino neutro tamponado, a 10%, durante 24 horas, incluído em parafina e cortado em cortes de 7 micra. Após, eram corados pelos seguintes métodos: H. & E. e Alcian Blue — PAS (AB/PAS) — (pH: 0,4 e pH: 2,5) (QUINTARELLI & col.⁵). As colorações foram realizadas simultaneamente em todos os cortes de um mesmo nível.

Este método combinado permite distinguir os mucopolissacárides ácidos, que se coram em azul, dos neutros, que se coram em vermelho. Aumentando-se a concentração hidrogeniônica das soluções não haverá dissociação das carboxilas glicurônicas e somente os radicais ácidos fortes (sulfatos) conseguirão se dissociar, ligando-se assim ao Alcian Blue e dando origem à cor azul. O aparecimento da cor púrpura (“Heliotrope”) indica uma menor concentração de mucopolissacárides ácidos ou mais concentração de mucopolissacárides neutros e os ácinos que assim se apresentaram foram designados pelo termo “misto”.

Estudamos ao todo 20 casos, 10 de indivíduos não chagásicos e 10 de indivíduos chagásicos crônicos. Os critérios adotados para diagnóstico de moléstia de Chagas consistiram de: alterações morfológicas características da doença principalmente cardiopatia e reação de fixação de complemento de Guerreiro Machado positiva, com título superior a 1,9 no soro obtido dos cadáveres, ou a mesma reação positiva feita em vida.

Selecionamos para o nosso estudo somente os indivíduos do grupo etário de 30 a 50 anos.

A composição relativa dos mucopolissacárides ácidos e neutros foi determinada por meio de uma ocular integradora, nas glândulas salivares sub-mandibular e sub-lingual.

Utilizamos a ocular Kpl 8 x, Carl-Zeiss, que possui 25 pontos equidistantes marcados, e objetiva 40 x. Contamos, assim, o número de ácinos glandulares mistos, ácidos ou neutros, bem como o tecido intersticial coincidentes com os pontos marcados, em 10 campos microscópicos escolhidos ao acaso. Obtivemos, desse modo, um total de 250 “hits” para cada caso.

As glândulas mucosas do esôfago e dos brônquios pelo seu tamanho e distribuição não nos permitiram utilizar a ocular integradora. Por esta razão fizemos apenas uma contagem diferencial de 100 ácinos, escolhidos ao acaso, distribuídos segundo quatro tipos: vazio de secreção, neutro (vermelho), ácido (azul) e misto (púrpura).

Quando o uso da ocular integradora e o método anterior não eram possíveis fazia-se uma simples comparação microscópica das preparações histológicas, coradas pelos vários métodos propostos. Foi o que fizemos nos seguintes níveis: estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon e ductos excretores do pâncreas.

2) Para avaliarmos prováveis alterações no volume das glândulas brônquicas e esofágicas empregamos o método da pesagem, recomendado por HARTUNG & col.¹. Este método consiste na projecção (com 50 aumentos) do corte histológico sobre um papel desenhando-se o contorno da mucosa. Exclui-se a cartilagem. Com o auxílio de uma tesoura recorta-se o traçado e procede-se à pesagem do papel. Após, recortam-se os traçados das glândulas mucosas que também são pesados. Em seguida, estabelece-se um índice que nada mais é que a relação entre o peso do papel correspondente às glândulas mucosas, sobre o peso do papel correspondente à mucosa total.

Nas glândulas salivares esta avaliação foi feita pela simples contagem do número de ácinos glandulares por campo microscópico (Oc. 10 x, Obj. 100 x), método este recomendado por REID⁶.

TABELA I

Número de "hits" para os ácinos puramente neutros, mistos ou ácidos e para o interstício da glândula sub-lingual, num total de 250 "hits" por caso, em 6 indivíduos não chagásicos e em 6 chagásicos crônicos. Oc. integradora Kpl 8x — (Zeiss) e Obj. 40x, em 10 campos microscópicos escolhidos ao acaso. AB/PAS (pH 2,5).

		C = Chagásico				NC = Não chagásico			
Caso	N.º	Neutros		Mistos		Ácidos		Interstício	
		NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
39	41	0	17	130	135	42	7	78	91
40	45	0	10	123	148	41	0	86	92
47	51	0	22	8	105	135	58	107	65
48	52	0	14	35	133	149	12	66	91
49	53	18	56	44	89	119	0	69	105
52	54	0	0	26	125	160	65	64	60
\bar{x}		3	19,8	61	122,5	107,6	20,2	78,3	67,3

Utilizamos 47 casos, sendo 21 de não chagásicos e 26 de chagásicos crônicos, variando a idade entre 17 e 84 anos, de ambos os sexos. Os cortes foram corados pela hematoxilina e eosina.

RESULTADOS

Os resultados obtidos com a ocular integradora na glândula sub-mandibular não foram significativos.

A Tabela I mostra os resultados conseguidos com este método biométrico na coloração combinada AB/PAS (pH 2,5), na glândula sub-lingual, em apenas 6 casos dos 10 propostos, em virtude de imprevistos técnicos e da autólise.

Os resultados para o interstício foram praticamente iguais. Porém, no que diz a respeito às proporções relativas em que participam os ácinos neutros, mistos e ácidos na composição glandular, verifica-se uma discrepância acentuada que nos parece dispensar qualquer análise estatística mais acurada. A Fig. 1 representa estas diferenças.

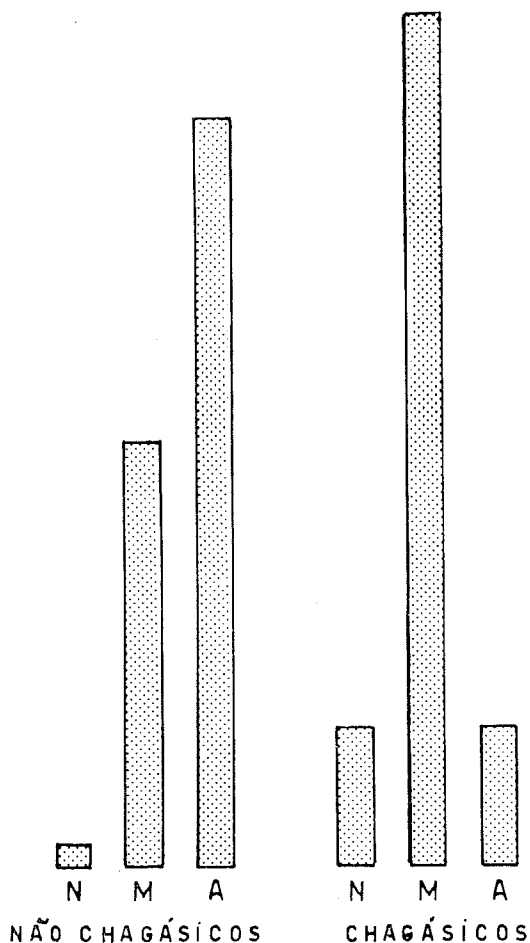


Fig. 1 — Representação das proporções relativas dos números de ácinos neutros, mistos e ácidos da glândula sub-lingual obtidos com Oc. Integradora Kpl 8x (Zeiss) e Obj. 40x, num total de 250 "hits", nos dois grupos, não chagásico e chagásico

TABELA II

Número médio de ácidos por campo, contados em 10 campos microscópicos (Oc. 10x, Obj. 100x), na glândula sub-lingual, nos dois grupos estudados, não chagásico (NC) e chagásico (C)

Caso	N.º	N.º de ácidos por campo	
		NC	C
NC	C	NC	C
39	51	9,6	13,0
40	54	11,3	13,5
48	52	12,1	17,4
49	53	12,2	17,4
52	45	13,3	18,0
46	41	14,2	18,5
47	—	14,4	—
	\bar{x}	12,4	16,3

A coloração AB/PAS (pH 0,4) deu resultados iguais para ambos os grupos.

A Tabela II mostra os resultados médios da contagem de ácidos por campo microscópico (Oc. 10 x, Obj. 100 x), da glândula sub-lingual, nos dois grupos estudados, não chagásico e chagásico.

Embora as duas médias apresentem uma diferença relativamente grande, estes resultados não foram significativos, estatisticamente. Isto deveu-se muito provavelmente, ao pequeno número de casos utilizados.

A Tabela III e as Figs. 2 e 3 representam os resultados obtidos nas glândulas mucosas

TABELA III

Porcentagem de ácidos vazios, neutros, mistos e ácidos das glândulas mucosas do esôfago de 7 casos de indivíduos não chagásicos e 7 de chagásicos crônicos, corados pelo método combinado AB/PAS (pH 2,5 e 0,4)

NC = Não chagásicos
pH — 2,5

C = Chagásicos

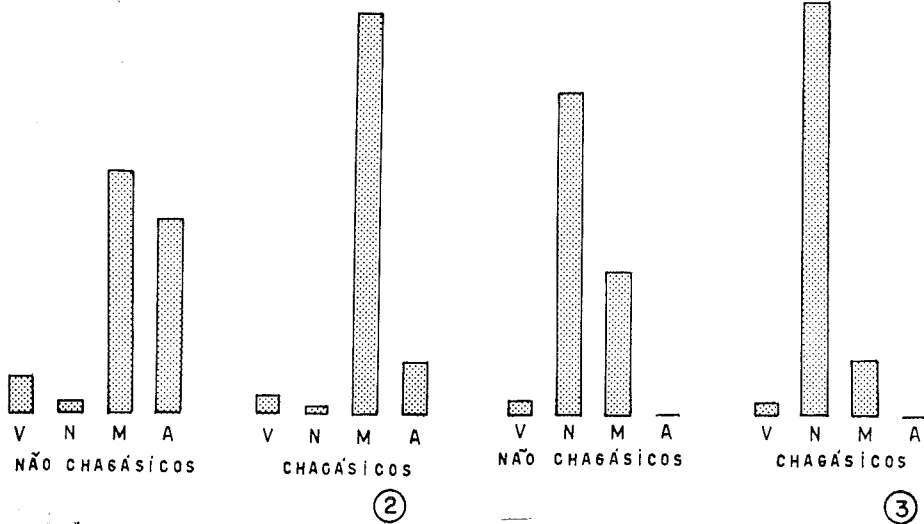
Caso	N.º	Porcentagem de ácidos							
		Vazios		Neutros		Mistos		Ácidos	
		NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
35	42	0	15	7	0	83	81	10	4
39	44	29	1	1	0	42	99	28	0
43	45	12	5	0	6	0	87	88	2
46	46	0	3	7	0	86	95	7	2
47	48	0	0	0	5	66	89	34	6
48	49	5	0	0	0	75	35	20	65
50	53	10	3	0	0	0	96	90	1
	\bar{x}	8	3,8	2,1	1,5	50,3	83,1	39,5	11,4

pH — 0,4

Caso	N.º	Porcentagem de ácidos							
		Vazios		Neutros		Mistos		Ácidos	
		NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
NC	C	NC	C	NC	C	NC	C	NC	C
35	43	0	12	98	88	2	0	0	0
39	44	12	0	83	78	5	22	0	0
43	45	8	3	92	97	0	0	0	0
46	46	1	1	59	89	40	10	0	0
47	48	1	0	28	71	71	29	0	0
48	49	0	0	46	79	54	21	0	0
50	53	0	2	63	98	37	0	0	0
	\bar{x}	3,1	2,5	67	85,7	29,8	11,7	0	0

do esôfago, com a coloração combinada AB/PAS (pH 2,5 e 0,4). Neste nível não sendo possível usar a ocular integradora, apenas contamos 100 ácinos, de cada caso, separando-os em quatro grupos: vazios (que não continham secreção), neutros (que continham

somente secreção neutra), mistos (que continham secreção de cor púrpura) e ácidos (que continham somente secreção ácida). Utilizamos apenas 7 dos 10 casos, em virtude das mesmas razões expostas anteriormente.



Figs. 2 e 3 — Percentuais médios do número de ácinos vazios (V), neutros (N), mistos (M) e ácidos (A) das glândulas mucosas do esôfago em 7 casos de indivíduos não chagásicos e 7 de chagásicos crônicos (AB/PAS — pH 2,5 e 0,4, respectivamente)

Este mesmo estudo feito para as glândulas mucosas dos brônquios embora mostrasse achados semelhantes, estes o foram de menor intensidade.

Entretanto, os resultados do método da pesagem recomendado por HARTUNG & col.¹ revelaram um fato bastante interessante.

A Tabela IV representa estes resultados.

A Fig. 4 mostra estes resultados em ordem de grandeza.

Análise dos resultados:

Temos:

- 21 não chagásicos (m) e
- 26 chagásicos (n) e
- 14 chorrilhos.

Vamos testar:

H_0 — as duas distribuições são iguais.

H_1 — as duas distribuições são diferentes.

Se $m = n = 21$, o número crítico de chorrilhos, ao nível de 5%, seria 16.

Como n é diferente de m , este número é um pouco maior que 16.

Sendo, o número de chorrilhos igual a 14, menor do que 16, que por sua vez é menor que o valor crítico, rejeitamos H_0 , pois temos menos chorrilhos do que seria previsto se as distribuições fossem iguais.

Uma análise feita através da ocular integradora mostrou que a proporção ácinos

TABELA IV

Resultados do índice glândulas/mucosa total obtido da pesagem do papel correspondente, nos brônquios dos 21 casos de não chagásicos (NC) e dos 26 de chagásicos (C)

Caso	N.º	Índice	
		NC	C
NC	C	NC	C
35	43	0,080	0,200
20	39	0,185	0,207
47	41	0,234	0,210
23	55	0,236	0,262
50	10	0,246	0,266
44	17	0,249	0,275
53	49	0,254	0,283
21	20	0,276	0,285
22	45	0,279	0,295
40	22	0,293	0,331
18	21	0,295	0,352
54	23	0,297	0,364
43	44	0,304	0,369
52	15	0,307	0,372
49	46	0,316	0,386
45	50	0,322	0,386
19	51	0,324	0,401
17	53	0,327	0,408
46	48	0,329	0,421
48	52	0,389	0,434
39	11	0,467	0,455
	42	—	0,460
	14	—	0,467
	40	—	0,525
	13	—	0,531
	24	—	0,537

glandulares/interstício foi igual nos dois grupos, não chagásico e chagásico. Isto significa que o aumento do índice obtido no método da pesagem do papel indica uma hipertrofia das glândulas brônquicas nos chagásicos.

O estudo histoquímico feito com as colorações propostas ao nível do estômago, duodeno, jejuno, íleo, cólon e ductos pancreáticos, embora não pudessem ser quantificados, mostraram, ao simples exame microscópico comparativo, alterações semelhantes àquelas encontradas na glândula sub-lingual, nas glândulas mucosas do esôfago e dos brônquios, ou seja, uma redução na quantidade de mucopolissacarídes ácidos e um aumento dos mistos e dos neutros no grupo dos chagásicos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

MCCARTHY & col.⁴ estudando a secreção das glândulas brônquicas humanas por métodos histoquímicos (AB/PAS, Aldeído fucsina e AB, antes e após a digestão pela neuraminidase, efeito do brometo de cetil-trietilamônio e da metilação-saponificação) sugeriram o seguinte ciclo de secreção:

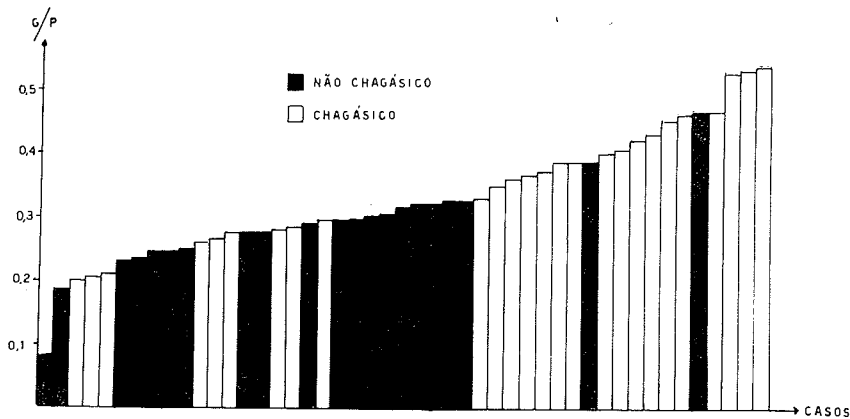
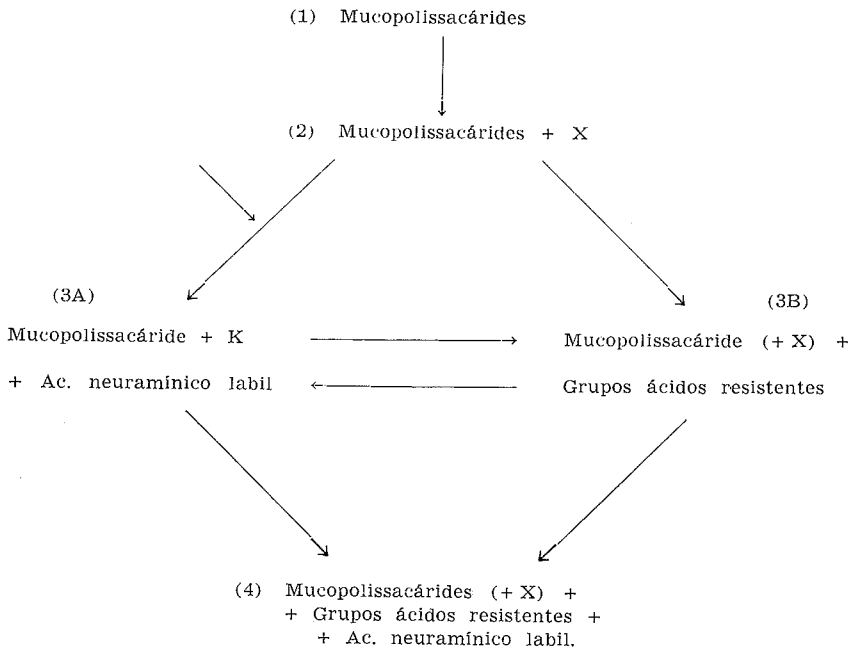


Fig. 4 — Índices representativos da relação glândulas/mucosa total dos brônquios principais, obtidos pelo método da pesagem do papel correspondente, dos 21 casos de não chagásicos e dos 26 chagásicos crônicos



A primeira fase (1) corresponderia as células contendo apenas grânulos de secreção vermelhos, ou seja, a forma mais simples de secreção.

Na segunda fase (2), X corresponderia a uma alteração no estado físico da secreção, que se torna hidratada, ou uma alteração química com a adição de ácido neuramínico numa forma não acessível ao Alcian Blue.

Nas fases seguintes outros grupos ácidos são adicionados, sensíveis ou resistentes à digestão pela neuraminidase.

Os resultados da presente investigação mostram que na fase crônica da moléstia de Chagas existe uma alteração na composição relativa dos vários tipos de mucopolissacarídeos secretados pelas glândulas mucosas do tracto digestivo e dos brônquios. Esta alteração consiste numa diminuição da quantidade de mucopolissacarídeos ácidos conseqüente, provavelmente, a um bloqueio parcial na síntese destas substâncias localizado entre as fases (2) e (3) do ciclo proposto por McCARTHY⁴.

Embora a secreção do muco pelas células caliciformes dos revestimentos epiteliais esteja na dependência direta de estímulos mecânicos ou químicos locais, sabe-se que a se-

creção das glândulas mucosas é controlada pelo sistema nervoso autônomo. Assim, a estimulação parassimpática aumenta a secreção, de um modo geral, e a estimulação simpática a diminui.

Ora, está sobejamente comprovado (KÖBERLE & col.³) que a infecção pelo *T. cruzi* provoca uma “desnervação” mais ou menos acentuada, principalmente no setor parassimpático do sistema nervoso autônomo.

É, pois, muito provável que os distúrbios observados na secreção mucosa dos indivíduos chagásicos crônicos estejam relacionados com deficiência na estimulação nervosa destas glândulas exócrinas.

O mesmo raciocínio vale para a hipertrofia das glândulas dos brônquios e acreditamos que este fenômeno teria sido significativo nas glândulas do tracto digestivo se dispuzéssemos de maior número de casos.

O importante papel desempenhado pelo muco na proteção das mucosas e na lubrificação dos alimentos faz-nos supor que as alterações observadas na secreção mucosa dos indivíduos chagásicos crônicos devam contribuir, de algum modo, na gênese da sintomatologia e mesmo das lesões das vísceras ocas na moléstia de Chagas.

Dadas as limitações impostas pelo material utilizado (material humano, de necrópsia), tornam-se necessárias novas investigações não só em material de biópsia como também em animais de laboratório onde as condições poderão ser melhor controladas. Acrescenta-se ainda que a indução de estímulos farmacológicos e o uso de maior número de reações histoquímicas, deverão ser utilizadas para melhor esclarecer o fenômeno.

S U M M A R Y

Mucous secretion in human Chagas' disease

Studying the mucous secretion of the digestive tract and bronchus of subjects affected by Chagas' disease through a dye combination of Alcian-Blue and P.A.S., the Authors have found a reduction in the amount of acid mucopolysaccharides as well as a hypertrophy of the bronchial mucous glands. Those alterations are attributed, by the Authors, to the disturbed autonomic regulation occurring in that disease.

A G R A D E C I M E N T O S

Agradecemos ao Prof. Dr. Constantino Mignone, Catedrático de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina de São Paulo por nos ter permitido obter parte do nosso material ("controles") em seu Departamento.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. HARTUNG, W. & MEYER-CARLSTÄDT, D. — Über den Reidschen Index zur Diagnose der chronischen Bronchitis. *Beitr. Path. Anat.* 137:85-98, 1968.
2. KÖBERLE, F. — Mucoembolia. *Rev. Goiana Med.* 4:221-229, 1958.
3. KÖBERLE, F.; BRITTO-COSTA, R.; MELLO DE OLIVEIRA, J. A. & MEIRA DE OLIVEIRA, J. S. — Patologia da Moléstia de Chagas. *Medicina (Rev. CARL e do Hosp. Clín. Fac. Med. Ribeirão Preto da USP* 5:5-45, 1972.
4. McCARTHY, C. & REID, L. — Intracellular mucopolysaccharides in the normal human bronchial tree. *Quart. J. Exp. Physiol.* 49: 85-94, 1964.
5. QUINTARELLI, G.; SCOTT, J. E. & DELLOVO, M. C. — The chemical and histochemical properties of Alcian Blue. II — Dye binding of tissue polyanions. *Histochemie* 4:86-98, 1964.
6. REID, L. — Measurement of bronchial mucous gland layer; a diagnostic yardstick in chronic bronchitis. *Thorax* 15:132-141, 1960.
7. VIEIRA, C. B.; CAMARA-LOPES, L. H. & MENEGUCCI, W. — Variações do volume das glândulas salivares e da amilaseemia em pacientes com megaesôfago chagásico operado. *Rev. Goiana Med.* 8:11-19, 1962.

Recebido para publicação em 1/11/1972.