

**ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO
ESQUELÉTICO DEBIDO A LA INFECCIÓN
EXPERIMENTAL POR *Trypanosoma cruzi*.**

**PATHOLOGICAL ASPECTS OF SKELETAL MUSCLE IN
EXPERIMENTAL *Trypanosoma cruzi* INFECTION.**

Lugo de Yarbuh, A.¹; Colasante, C.²

1. Profesora titular. Laboratorio de Investigaciones Parasitológicas José Francisco Torrealba. Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida, Venezuela. E-mail: ana@ciens.ula.ve

2. Profesor titular. Centro de Microscopia Electrónica. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

RESUMEN

En este estudio se muestran los signos clínicos desarrollados por ratones durante la fase aguda de la infección producida por tres cepas de *Trypanosoma cruzi*. Los ratones infectados con la cepa Dm74 sufrieron alteración de la movilidad de los miembros posteriores y murieron durante la fase aguda de la infección. El análisis histológico del músculo esquelético mostró infiltrado inflamatorio de leucocitos mononucleares y polimorfonucleares, fibroblastos, eritrocitos libres y depósitos de IgG en el espacio intersticial del Gastrocnemius (G). La desintegración de las micro ti brillas y cambios en la microvasculatura, fibras nerviosas y en la unión neuromuscular del G fueron también observados. Estos resultados indican que la infección aguda producida por *T. cruzi* causa daño progresivo en la fibra muscular esquelética y alteración de la actividad motora.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, músculo esquelético, fibra nerviosa, placa motora.

ABSTRACT

Clinical observations were made of mice in the acute stage of infection produced by three *Trypanosoma cruzi* strains. Mice infected with Dm74 suffered

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

complete paralysis of the rear limbs followed by death, while still in the acute stage of Chagas' disease. Hystological analysis of skeletal muscle showed intense inflammatory infiltrates of mononuclear and polymorphonuclear leukocytes, fibroblasts, free red blood cells and IgG deposits in the interstitium of *Gastrocnemius* (G). Local miofibrillic disintegration and changes in microvessels, nerve fibers and the neuromuscular junction of G were also observed. These results indicate that the acute infection with *T. cruzi* may cause progressive damage in parasite infected muscle fiber and lead to loss of mobility.

Key words: Chagas' disease, skeletal muscle, nerve fibers, motor activity.

INTRODUCCIÓN

Trypanosoma cruzi es un parásito que se encuentra ampliamente distribuido en el continente americano, y en Venezuela ha sido reconocido en casi todo el territorio¹⁰, por lo que desde el mismo momento en que se produce la descripción de *T. cruzi* como agente etiológico de la tripanosomiasis americana,¹¹ el cual infecta sectores poblacionales rurales y suburbanos³² a través de insectos de la familia Reduviidae, y de la detección de las formas intracelulares del parásito,³¹ numerosos trabajos han centrado su atención en el estudio de las lesiones producidas en los tejidos cardíaco, digestivo, nervioso y muscular esquelético de animales experimentalmente infectados con *T. cruzi*.^{2,5,18,20}

Algunos autores⁹ sugieren considerar a la parasitemia producida por *T. cruzi* como un parámetro que se relaciona con la virulencia, tropismo y ruta de inoculación; en estas condiciones el daño celular ha sido atribuido al parasitismo celular, el cual puede ocurrir en pocos días en humanos quienes se han infectado con *T. cruzi* a través del insecto vector, así como en conejos,²⁰ ratas,²¹ hámsters²⁵ y ratones¹⁵ experimentalmente infectados con distintos aislados de *T. cruzi* provenientes de diferentes áreas geográficas donde el parásito circula entre reservorios silvestres y domésticos, triatomíneos vectores y humanos.⁵

Las alteraciones en el tejido muscular esquelético, asociadas a la infección aguda chagásica, conforman un patrón similar en humanos descrito como polimiositis y dermatomiositis con atrofia perivascular, área de necrosis¹⁴ y

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

vasculitis¹⁹. Otras investigaciones interpretaron los cambios degenerativos de las células endoteliales de la micro vasculatura intramiocardial en perros con miocarditis chagásica aguda, como una consecuencia de la interacción producida entre los linfocitos, las células endoteliales y la liberación localizada de citosinas. Otros estudios han relacionado los cambios en la integridad estructural de los capilares sanguíneos, no sólo con el proceso de sensibilización de los animales debido a la presencia del parásito en el tejido muscular, sino también con el resultado de una respuesta a los constituyentes antigénicos, y a la absorción de fracciones antigénicas derivadas de amastigotes, las cuales reaccionarían con la musculatura esquelética durante la evolución de la infección experimental por *T. cruzi* en animales tales como equinos, perros y ratones.^{17,24,30} Otras observaciones han determinado que el paso de anticuerpos circulantes a través del endotelio vascular, de las células de Schwann y de las neuronas,¹⁶ producen reacciones autoinmunes, las cuales se encuentran implicadas en la patología de la enfermedad de Chagas aguda, debido al daño tisular producido por el parásito y a la absorción de antígenos de *T. cruzi* por células no infectadas.² En la infección con *T. cruzi* se ha considerado la utilización de modelos experimentales para comprender los mecanismos que participan en el desarrollo de las lesiones tisulares y la mortalidad en sus hospedadores.³² En este trabajo estudiamos los aspectos clínicos y patológicos de la enfermedad de Chagas aguda por microscopia de luz y electrónica de transmisión del músculo esquelético de ratones experimentalmente infectados con *T. cruzi*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de aislados de *T. cruzi*

1) M/DID/Ve94 Dm74 y 2) M/DID/Ve/98 Dm98.

Los parásitos fueron aislados de *D. marsupialis*; uno capturado en la región central del estado Barinas (Dm74) y el otro del sector Este de la ciudad de Caracas (Dm98). Ambos animales silvestres fueron sometidos a xenodiagnóstico utilizando ninfas de *Rhodnius prolixus* del III estadio de desarrollo.

Las deyecciones recolectadas de los triatominos a los 30 días después de la ingesta sanguínea, y que presentaron un gran número de tripomastigotes metacíclicos fueron diluidas en solución salina, y un volumen de 0,5 mL de esta

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

suspensión fue inoculado intraperitonealmente en tres ratones machos NMRI por cada aislado de parásito. La sangre caudal de estos animales fue revisada diariamente a partir de los 5 días post-inoculación (pi) para la detección de parasitemias patentes. Como control utilizamos la cepa "Y" de *T. cruzi*, aislada por xenodiagnóstico de un caso agudo humano con enfermedad de Chagas,²⁹ inoculando 6 ratones machos NMRI con estos parásitos y revisados como se describió anteriormente.

Inoculación de ratones receptores

Los ratones que mostraron los mas altos niveles de parasitemia entre los 10 y 20 días pi con las cepas Dm74, Dm98 e "Y" de *T. cruzi*, respectivamente, fueron sangrados por cardiopuntura y la sangre recibida en una solución de citrato de sodio al 3.8%. Un inoculo de 50.000 tripanosomas/0.5 mL de sangre fue estimado y utilizado para realizar subinoculaciones intraperitoneales de estos parásitos en tres grupos de 6 ratones por cada cepa de parásito.

Estimación de la parasitemia

Los niveles de parasitemia en cada animal infectado fueron evaluados entre 5 y 50 días pi. Para el examen microscópico 5 µL de sangre fue separada de la región caudal de cada uno de los ratones infectados y luego cuantificados.⁷ Cuando en , estos animales se registró una parasitemia elevada, tres ratones de cada grupo experimental fueron sacrificados por cardiopuntura y la sangre fue transferida a tubos conteniendo el medio de cultivo NNN.

Identificación y caracterización de los parásitos de *T. cruzi*

A los 20 días del cultivo en el medio NNN, los parásitos de las cepas Dm74, Dm98 e "Y" de *T. cruzi*, fueron lavados tres veces con solución salina al 0.8% a pH 7.2 por centrifugación a 4000 rpm durante 10 min. a 5 °C. El empaqueo final de parásitos fue nuevamente lavado con la misma solución salina y EDTA 0.1 M a pH 7.4. La suspensión resultante se incubó con 100 µL de proteinasa K durante 1-1/2 horas a 65 °C y luego a 94 °C durante 10 min., y centrifugada a 12.000 g durante 10 min. a temperatura ambiente. El sobrenadante final se extrajo una sola vez con un volumen de fenol cloroformo 1:1 centrifugando a 12.000 g durante 10 min., recuperándose la fase acuosa y precipitándose con

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

un volumen de isopropanol. Esta suspensión se incubó a -20°C durante 45 min., luego se centrifugó a 12.000 g durante 10 min. El precipitado de ácido nucleico resultante se lavó con etanol, se centrifugó a 12.000 g durante 10 min., se eliminó el sobrenadante y el producto resultante, una vez seco, se resuspendió en 40 µL de agua megapura. El ADN resultante se mantuvo a -20 °C hasta su uso en la técnica de PCR.

Reacción en cadena de la polimeras (PCR)

A 2 µL de cada ADN purificado se agregó una mezcla de reacción formada por 0.5µL de dNTPs; 1.0 µL del primer F1 (5'GTCGGAGCAGGGACAGC3'); 1.0 µL del primer F2 (5'ACATCTGGAACCTCTCCC3'); 5.0 µL de MgCl₂ 25 mM; 5.0 µL de buffer 10X; 0.2 µL de la enzima Taq Polimerasa (5 U/µL) y agua megapura hasta 50 µL. La mezcla se incubó en un termociclador (Perkin Elmer Gene Amp PCR System 2400) con el siguiente perfil de temperatura: 1x5 min a 95°C, 10x (1 min. a 94 °C; 1 min. a 55 °C; 1-1/2 a 72 °C); 20x (1 min. a 92 °C; 1 min. a 55 °C; 1-1/2 a 72 °C); 1x7 min a 72 °C. El producto de la PCR fue procesado por electroforesis en geles de agarosa al 2% y el amplificado único de 130 pares de bases (pb) específico para *T. cruzi* se visualizó con Bromuro de Etidio. Como marcador de peso molecular (PM) se utilizó Pgem (Promega) con los siguientes PM como patrón: 2645; 1605; 1198; 676; 517; 460; 396; 350; 222; 179; 126; 75; 65; 51 y 36 pb.

Procesamiento del músculo esquelético

Estudio histológico

Dados los signos clínicos y la muerte durante la fase aguda de los ratones infectados con la cepa Dm74, separamos de estos animales además del *Gastrocnemius* fragmentos del corazón, esófago, estómago, bazo, hígado, riñón, intestino grueso, intestino delgado, vejiga urinaria y testículos. De los otros dos grupos experimentales separamos tres ratones por grupo para sobreenestresarlos con cloroformo y remover fragmentos de G. El G de ratones sanos también fue removido. Las muestras de tejido fueron fijadas con formalina al 10% en buffer fosfato salino a pH 7.2, deshidratadas, procesadas para la inclusión en parafina y seccionadas a 7µ. Las secciones fueron desparafinadas con xilol, hidratadas en alcohol isopropílico en concentraciones decrecientes y agua y coloreadas con

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

Giemsa-Colofonio.⁶

Estudio inmunológico

Las secciones de G de los tres grupos experimentales y de los ratones sanos fueron desparafinadas, hidratadas, fijadas con acetona a 4 °C y procesadas como sigue: a) lavadas en una solución de 0.15 M de NaCl y Tritón X-100 al 0.1% en buffer fosfato 50 mM a pH 7.4 (solución A) durante 30 min.; b) suero normal de cabra al 20% diluido en la solución A (solución B) por 30 min.; c) incubación toda la noche con antisuero de conejo anti-*T. cruzi* diluido 1:32 con la solución B; d) lavado durante 30 min. con la solución A; e) incubación durante 30 min. con suero de cabra antirratón IgG conjugado con fluoresceína (FITC); f) lavado 2 hrs con la solución A. Las secciones fueron cubiertas a solución de glicerina al 90% en PBS a pH 7.2 y examinadas en un microscopio con focal láser para amplificar la observación de antígeno de *T. cruzi*.⁸

Estudio ultraestructural

El Gastrocnemius de los ratones infectados con *T. cruzi* y de los ratones sanos fue cortado en fragmentos de 1mm³ en regiones cercanas a los tendones, y fijados en una solución de glutaraldehído al 2.5% en buffer Cacodilato de Sodio 0.1 M a pH 7.4 durante 2 horas, lavados 3 veces con el mismo buffer durante 5 min., postfijados por 3 horas con Tetroxido de Osmio al 2% en buffer Cacodilato de Sodio 0.1 M a pH 7.4, deshidratados en alcohol etílico desde 30% hasta 100% e incluidos en resina EPON 812. Los cortes de 8 nm fueron coloreados con acetato de uranilo al 2.5% y citratode plata al 0.5%^{22,26,33} y examinados en un microscopio electrónico Hitachi H-500.

RESULTADOS

Identificación de los aislados de *T. cruzi*

En la identificación de los aislados de *T. cruzi* por PCR, la utilización de los primeros F1 y F2 dentro de los elementos repetitivos del espaciador ribosomal permitió la obtención de una banda única de 130 pares de bases (pb) de amplificación específica para *T. cruzi* en todos los aislados. (Figura 1).

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

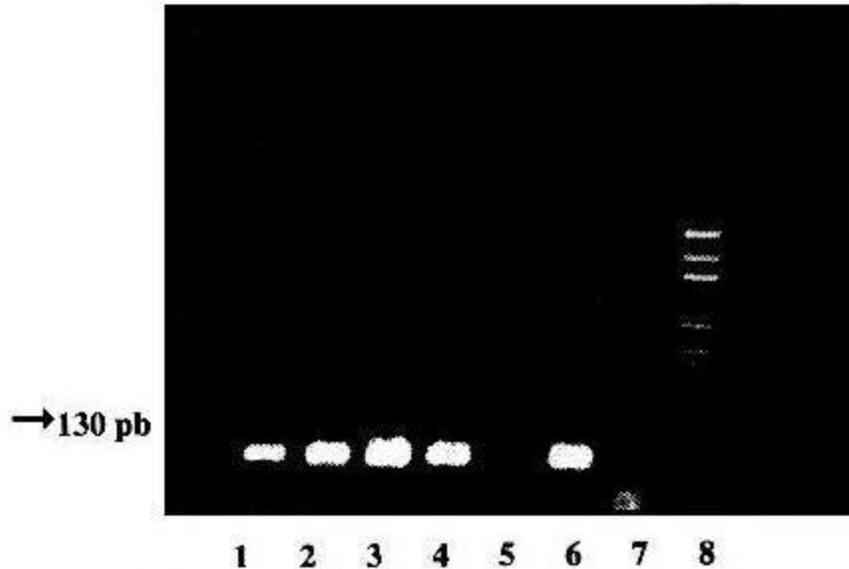


Figura N°1. Gel de electroforesis al 2% de Sagarosa. Amplificación por PCR banda única de 130 pb. Canal 1 cepa Dm74, canal 2 cepa Dm98 y canal 3 cepa "Y" de *T.cruzi*. Canales 4, 6 y 7 controles positivos. Canal 5 control negativo. Canal 8 p-GEM marcador de peso molecular.

Niveles de parasitemias

El recuento de tripomastigotes sanguíneos en los ratones infectados con la cepa Dm74 mostró parasitemias patentes de corta duración entre los 6 y 40 días pi, con cantidades de parásitos que oscilaron entre 455 y 628 tripomastigotes/mm³ de sangre, respectivamente. Los animales infectados con la cepa Dm98 mostraron parasitemias patentes a partir de los 21 días y hasta 50 días pi, con niveles entre 204 y 283 tripanosomas/mm³ de sangre, respectivamente, mientras que la cepa "Y" produjo discreta parasitemia y de más larga duración entre los 10 y 57 días pi, con cantidades de parásitos que oscilaron entre 317 y 471 tripanosomas/mm³ de sangre en cada día pi.

Patología clínica de la infección aguda

Los ratones infectados con los tripomastigotes de la cepa Dm74 presentaron inflamación abdominal, edema asociado con prolucción rectal, aumento del tránsito intestinal, disminución del peso corporal, pérdida de la movilidad del miembro posterior izquierdo al inicio de la parasitemia, este signo se hizo bilateral durante la fase aguda de la infección lo que produjo la pérdida de la actividad motora de este grupo animal, con distensión de las patas posteriores y muerte

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

durante la fase aguda chagásica. La necropsia de estos animales reveló un intenso infiltrado intraperitoneal, hepatoesplenomegalia, así como inflamación del estómago y de la vejiga urinaria (Figura 2). Los ratones infectados con las otras dos cepas de *T. cruzi* (Dm98 e "Y") sobrevivieron a la fase aguda de la infección y no presentaron signos clínicos relevantes al compararlos con los ratones infectados con la cepa Dm74.

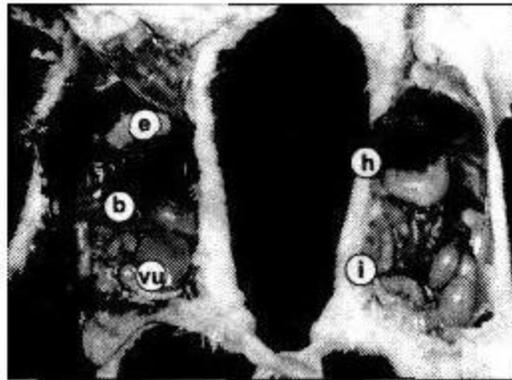


Figura N°2. Necropsia de los ratones infectados con la cepa Dm74 de *T. cruzi* que muestra inflamación del estómago (e), hígado (h), bazo (b), vejiga urinaria (vu) e intestino (i).

Hallazgos histopatológicos e inmunocitoquímicos

El estudio histopatológico de los tejidos separados de los ratones infectados con tripanosomas de la cepa Dm74 reveló parasitismo en todos los tejidos estudiados, acompañado o no de un infiltrado inflamatorio de células polimorfonucleares, linfocitos y monocitos. En el G de estos animales los nidos de parásitos estuvieron concentrados dentro de la fibra muscular junto a focos inflamatorios, degeneración y destrucción de la fibra muscular esquelética, e intensa reacción fluorescente en el espacio intersticial muscular (Figura 3). Las secciones de G de los ratones infectados con las cepas Dm98 e "Y" de *T. cruzi*, revelaron escasos nidos de parásitos, pudiendo estar o no acompañados de un proceso inflamatorio, y con escaso depósito de IgG en la fibra muscular esquelética.

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

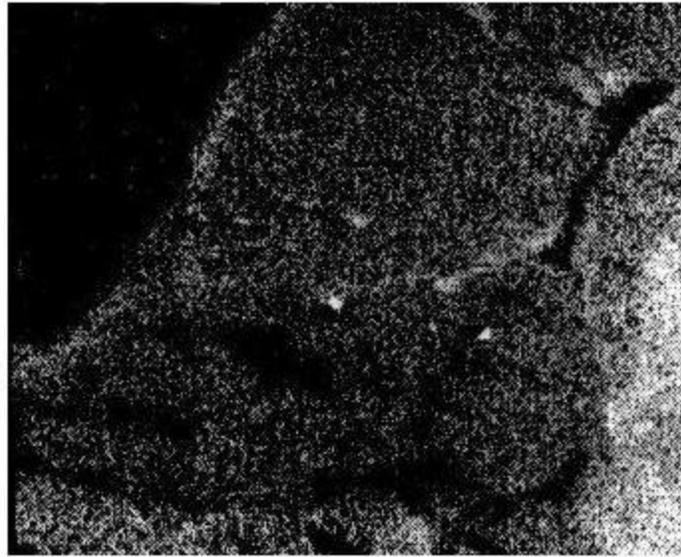


Figura N°3. Inmunioglobulina G en el músculo esquelético de los ratones con infección aguda producida por la cepa Dm74 de *T.cruzi* (Aumento 1000X).

Alteraciones ultraestructurales de G

Las secciones de G de los ratones infectados con la cepa Dm74 mostraron las mayores alteraciones ultraestructurales del tejido muscular esquelético. Las micrografías electrónicas del G de estos ratones revelaron: un prominente parasitismo con pseudoquistes de parásitos dentro de la fibra muscular (Figura 4), un estrecho contacto entre los parásitos y los vasos sanguíneos musculares (Figura 5). En el intersticio muscular inflamado fue frecuente observar parásitos, eritrocitos y fibroblastos libres así como restos celulares. El proceso degenerativo de la microvasculatura estuvo representado por la dilatación o adelgazamiento de las paredes vasculares con puntos de discontinuidad celular (Figura 6). Estas alteraciones usualmente coincidieron con el estrecho contacto entre el parásito y las células endoteliales. Las preparaciones neuromusculares del G mostraron cambios estructurales tales como: una reducción en el calibre del axón del nervio motor determinado por una retracción de la vaina de mielina, mitocondrias edematizadas, aumento de filamentos de actina y de microtúbulos en el axoplasma y signos de edematización de las células de Schwann (Figura 7). La unión neuromuscular del G mostró aumento del perímetro del terminal nervioso, el axoplasma se hizo más electrón denso y con abundantes vesículas

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

sinápticas cerca de la zona presináptica activa y escasas en el axoplasma, al compararla con las terminaciones nerviosas del G de los ratones infectados con las otras dos cepas de *T. cruzi* y con el G de los ratones sanos (Figura 8).

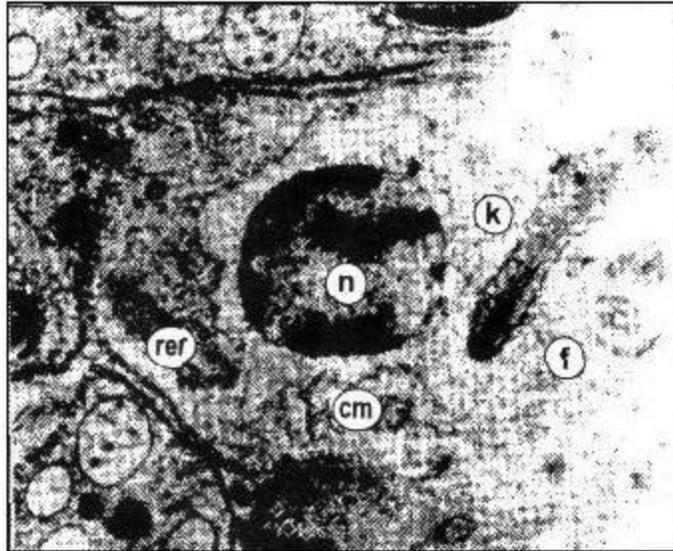


Figura N° 4. Micrografía electrónica del Gasstrocnemius de ratón infectado con *T.cruzi* con un pseudoquiste de amastigotos dentro de la célula muscular, Núcleo (n), retículo endoplasmico rugoso (rer), cuerpos multivesiculares (cm), kinetoplasto (k) y flagelo (f), (Aumento 35.600X).

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

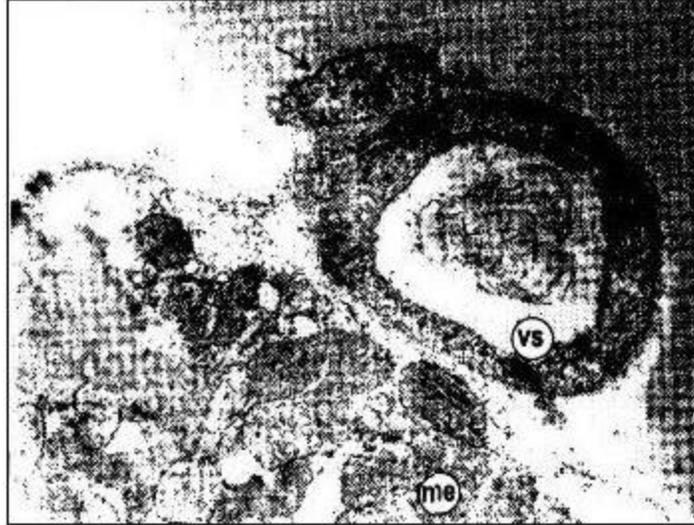


Figura N° 5. Micrografía electrónica que muestra un parásito (R) de *T. cruzi* en contacto con un vaso sanguíneo (vs) del músculo esquelético (me). (Aumento 5.200X).

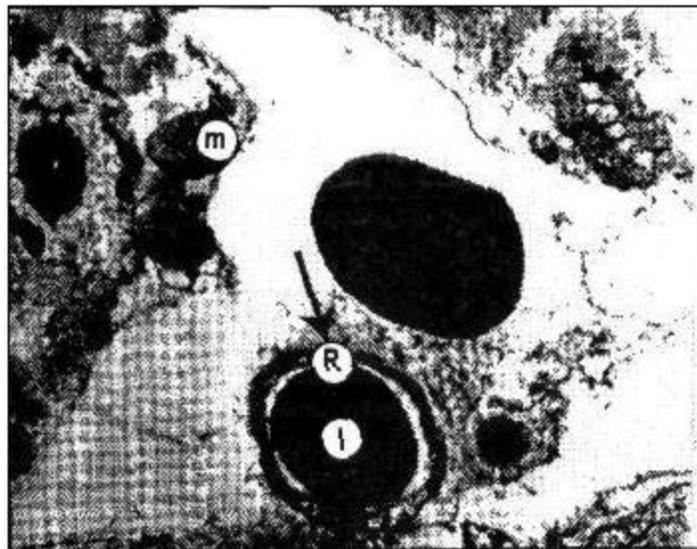


Figura N°6. Micrografía electrónica que muestra: un linfocito (l), mitocondrias inflamadas (m) y adelgazamiento de la pared vascular con puntos de discontinuidad celular (R) en el Gastrocnemius. (Aumento 6.000X).

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

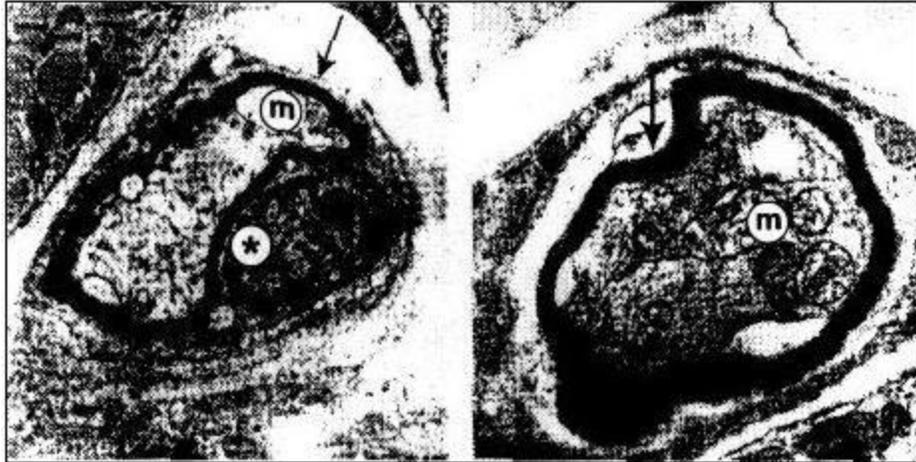


Figura N°7. Fibras nerviosas del *Gastrocnemius* de ratón infectados con *T. cruzi* que muestran reducción en el calibre del axón. Mitocondrias (m) y célula de Schwann inflamadas (*). (Aumento 8.400X).

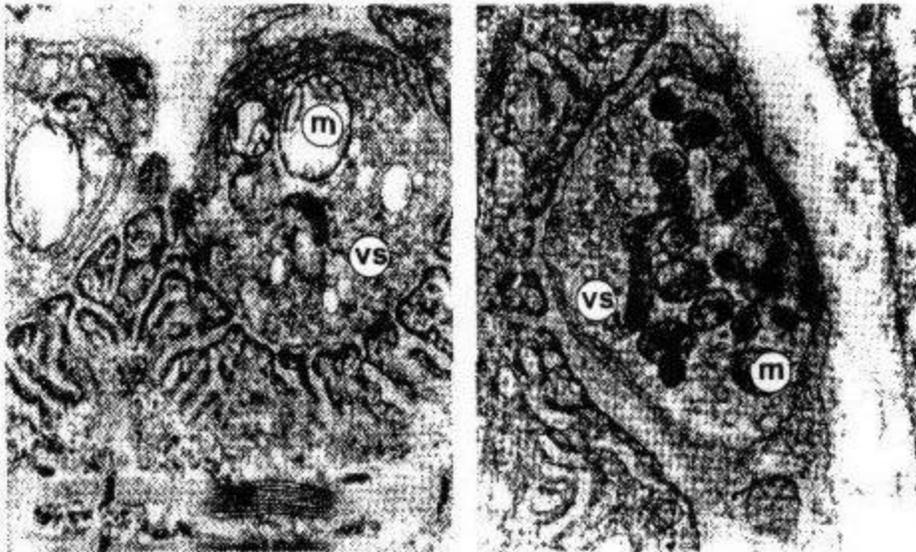


Figura N° 8. Unión neuromuscular del *Gastrocnemius* de ratón infectado con *T. cruzi*; a) mitocondrias edematizadas con crestas irregulares (m), escasas vesículas sinápticas en un sarcolema más electrón denso y abundantes cerca de la zona presináptica activa (vs). (Aumento 32.500X); b) nervio terminal de un ratón sano que muestra: axoplasma con distribución regular de las vesículas sinápticas y de mitocondrias. (Aumento 28.000X),

DISCUSIÓN

Algunos trabajos han mostrado los pseudoquistes de *T. cruzi* sin que ocurra

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

ninguna alteración de las fibras musculares,⁴ mientras que otros autores han relacionado la presencia de estos nidos de parásitos con los procesos degenerativos de las células musculares,¹³ considerando más importante la reacción del hospedador en el desarrollo de la patología chagásica. En este estudio mostraremos la alteración estructural de las miofibrillas con intenso parasitismo tanto intracelular como intersticial así como los cambios en la microvasculatura del músculo esquelético, alteraciones que estuvieron relacionadas con la inflamación de las células endoteliales y la presencia de puntos de discontinuidad del citoplasma endotelial. Por otro lado, la presencia de leucocitos mononucleares y polimorfonucleares infiltrando el intersticio muscular, parecen estar mediadas inmunológicamente por los efectos citotóxicos y citolíticos de los linfocitos y macrófagos, por lo que la adhesión de estas células efectoras inmunes a las células endoteliales de los capilares y vénulas iniciarían el daño endotelial y la formación de fibrina y microtrombina en estos tejidos, lo que probablemente sea debido más a las características intrínsecas de los parásitos que a la respuesta del hospedador.

En este estudio, las parasitemias producidas por los aislados Dm74, Dm98 e "Y" de *T. cruzi* han permitido detectar un comportamiento biológico distinto en los ratones infectados, lo que podría interpretarse por las diferencias en las manifestaciones clínicas durante la enfermedad chagásica aguda en estos animales. En este estudio, hemos detectado que el músculo esquelético de los ratones infectados con la cepa Dm74 de *T. cruzi*, sufre severas alteraciones estructurales, las cuales se combinan con la presencia de un intenso infiltrado inflamatorio, signos de fibrosis y vasculitis, miositis aguda, hialinización, vacuolización del citoplasma, fragmentación de los núcleos, abundantes nidos de amastigotos, al compararlo con el G de los ratones infectados con las otras dos cepas de *T. cruzi*. Estos hechos señalan la importancia del parásito durante la fase aguda de la infección cuando el parasitismo es máximo y es el momento en que se encuentra más comprometido el sistema nervioso con el desarrollo de la enfermedad de Chagas, como lo revelan las observaciones de otros investigadores, cuando describen los intensos procesos inflamatorios dispuestos alrededor de pseudoquistes rotos y la destrucción de células nerviosas.^{1,2}

Algunos autores han considerado la coexistencia de los amastigotos y del infiltrado inflamatorio como un argumento para soportar el papel del parásito en

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

la elaboración de la inflamación local, por lo que pudiera pensarse que la proliferación de fibroblasto activos cerca de las formas de tripomastigotes en el intersticio muscular inflamado de algunas secciones de G, acompañados sólo de linfocitos y en otras de monocitos y linfocitos, probablemente se deba a la liberación de citocinas fibrogénicas por los macrófagos, los cuales también se han detectado en las áreas de inflamación muscular. [3,19](#)

En este estudio consideramos que los desórdenes musculares consistentemente encontrados en el G de los ratones durante la infección aguda chagásica producida por la cepa Dm74 de *T. cruzi* los cuales estuvieron representados por los nidos de amastigotos dentro de la fibra muscular, la presencia de parásitos libres en el intersticio muscular inflamado, la reducción en el calibre del axón del nervio motor determinada por la retracción de la vaina de mielina, la edematización de las células de Schwann, así como las alteraciones de la placa motora, la cual mostró aumento del perímetro del nervio terminal con abundantes vesículas sinápticas cerca de la zona perisináptica activa y escasas en el axoplasma junto a mitocondrias edematizadas, soportan la posibilidad de la alteración o pérdida de la conducción nerviosa, por lo que no se produciría el proceso terminal nervioso con pérdida de la contracción y relajación muscular. Estos hechos provocados no sólo por el parasitismo de las miofibrillas [17,19](#) o su inervación [30](#) y por las lesiones en los vasos intramusculares, las cuales afectarían la microcirculación del G, consecuentemente determinarían el estado patológico representado por la disminución irreversible de la actividad motora de los ratones infectados con *T. cruzi*. En estas condiciones la infección por *T. cruzi* provocaría en los animales infectados severos cuadros patológicos, principalmente a nivel de los terminales nerviosos, produciéndose variaciones en el fenómeno de plasticidad de la placa motora, caracterizado por el debilitamiento muscular externo, debido posiblemente a que los receptores colinérgicos del sarcolema son bloqueados por anticuerpos anti-*T. cruzi*, reduciéndose los sitios acetilcolina funcionales y por lo tanto la fibra muscular sólo puede responder muy débilmente al estímulo nervioso. [12,23,28](#)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, S. G. & ANDRADE, Z. A. (1966). *Doença de Chagas e alterações neuronas no plexo de Auerbach*. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo; 8:219-224.

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

2. ANDRADE, Z. A. & ANDRADE, S. G. (1979). Patología. p. 199-248. In Brener, Z. Andrade (eds). *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. Guanabara, Koogan. Rio de Janeiro.

3. ANDRADE, Z. A.; CORREA, R.; SADIGURSKY, M. & FERRANS, V. J. (1994). *Myocardial changes in acute Trypanosoma cruzi infection. Ultrastructural evidence of immune damage and the role of microangiopathy*. Am. J. Pathol; 144:1403-1411.

4. ANDRADE, S. G. & FREITAS, L. A. R. (1987). *Trypanosoma cruzi: Cardiac myocells alterations due to spontaneous induced intracellular parasite desintegration*. Ce. Mo. Biol; 33:797-805.

5. BONECINI ALMEIDA, M.; GALVAO CASTRO, B.; PESSOA, M. H. R.; PIRMEZ, C. & LARANJA, F. (1990). *Experimental Chagas' disease in Rhesus monkey. L. Clinical, parasitological, hematological and anatomo-pathological studies in the acute and indeterminate phase of the disease*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 85:163-154.

6. BRAY, R. & GARNHAM, P. C. C.: (1962). *The Giemsa Colophonium method for staining protozoan tissue section*, J. Maraiiol; 16:152-155.

7. BRENER, Z. (1962). *Observacoes sobre a imunidade a superinfecoes em camundongos experimentalmente inoculados con Trypanosoma cruzi e submetidos a tratantento*. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo; 4:119-123.

8. CHACÍN, J. H. (1987). *Parasitología*. Edil. Luz. Sexta edición. 181 pp.

9. CHAGAS, C. (1909). *Nova trypanosomiase humana. Estudo sobre a morfología o ciclo evolutivo de Schizotrypanum cruzi: n.gen:n.sp; agente etiológico de nova entidade mórbida no humen*. Men. Inst. Oswaldo Cruz; 1:159-218.

10. COLASANTE, C.; BROUARD, M. O. & PECOT-DECHAVASSINE, M. (1994). *Synaptophysin (p38) immunolabelling al the mucose neuromuscular junction*. Neuromusc. Disord.; 3:395-400.

11. COURA, J. R. (1988). *Determinantes epidemiológicos da doença de Chagas no Brasil A infeccao a doença sus morbi-mortalidade*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 83:392-402.

12. DE SOUZA, M.; ANDRADE, S.; BARBOZA, A.; MACEDO, R.; FERREIRA, V. & ANDRADE, Z. (19%). *Trypanosoma cruzi strains and autonomic nervous system pathology in experimental Chagas' desease*. Men. Inst. Oswaldo Cruz; 91:217-

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

224.

13. FIFE, E.H. (1977). *Trypanosoma Schizotrypanum cruzi*. In: Parasitic protozoa (Kreier J. P., ed). Academic Press, New York. 135-173.

14. FRENKEL, J.H.; VOIGT, W. P. & TARASCHEWSKI, H. (1988). Important pathologic \ effects of parasitic infections of man. In: Mehlhom H. (ed) Parasitology in focus. Springer verlag, Berlin; 551-557 pp.

15. GUILLEN, B. (1993). Estudios radiológicos e histopatológicos de mega síndromes en ratones inoculados con cepas autóctonas de *Trypanosoma cruzi*. Trabajo de Ascenso. Facultad de Medicina. Universidad de los Andes; 36 pp.

16. KHOURY, E. L.; RITACCO,V.; COSSIO, P.M.; LANGUENS, R. P.; SZAFMAN, A.; DÍAZ, C. & ARANA, R. M. (1979). Circulating antibodies lo peripheral nerve in American tripanosomiasis (Chagas' disease). Clin. Exp. Immunol.; 36:8-15.

17. LOSAVIO, A.; JONES, M.C.; SANZ, O.P.; MIRKIN, G.; GONZALEZ-CAPPA, S.M.; MUCNIK, S.& SICA, E.R.P. (1989). A sequential study of the peripheral nervous system involvement in experimental Chagas' disease. Am. J. Trop. Med. Hyg.; 41:59-547.

18. MIRKIN, G.A.; JONES, M.C.; SANZ, O.P.; REY, R.; SICA, R. E. P. & GONZÁLEZ, S.M. (1994). Experimental Chagas' disease: Electrophysiology and cell composition of the neuromyopathic inflammatory lesions in mice infected with a myotropic and a pantropic strain of *Trypanosoma cruzi*. Clin. Immunol. Immunopathol; 73:69-79.

19. MOLINA, H. A. & KLERSZANBAUM, F. (1988). Kinetic of development of inflammatory lesion in myocardial and skeletal muscle in experimental *Trypanosoma cruzi* infection, J. Parasit.; 74:370-374.

20. MOREIRA DA SILVA, A.; RAMÍREZ, L.E.; VARGAS, M.; CHAPADEIRO, E. & BRENER, Z. (1996). Evaluation of the rabbit as a model for Chagas' disease. II. Histopathologic studies of the heart, digestive tract and sketetal muscle. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; 91:199-206.

21. MORENO, E.A.; GUILLEN, B.; RIVERA, I.; ALARCÓN, M.; LUGO DEYARBUH, A. & AÑEZ, N. (1997). Biological and isoenzyme characteristics of Venezuelan strains of *Trypanosoma cruzi*. Am. J. Trop. Med. Hyg; 37:155.

22. PALADE , E. & PALAY, S. (1959). Electron microscope observation of interneuronal and muscular synapsis. Anst. Res; 118:335-336.

23. PESTRONK, A. & DRACHMAN, B.D. (1985). Polymiosis reduction of

ASPECTOS PATOLÓGICOS DEL MÚSCULO

acetylcholine receptors in skeletal muscle. *Muscle & Nerve*; 8:223-239.

24. QUIÑONES, M.E.; PINOL, H.J.; SUCRE, L.; GARCÍA, F. & ORTEGA, A. (1990). Anormalidades en los capilares intramusculares del equino infectado con *Trypanosoma evansi* (Steel, 1885). Memorias de las IV jornadas de Microscopia Electrónica, SVME. Cumaná. 127-128 pp.

25. RAMÍREZ, L.E.; LAGES-SILVA, E. & CHAPADEIRO, E. (1991). Infecção do hamster pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop*; 24:119-120.

26. REYNOLDS, E. (1963). The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscope. *J. Cell. Biol.* 17:208-212.

27. RIBERIO DOS SANTOS, R. & HUDSON, L. (1980). *Trypanosoma cruzi* binding of parasite antigens to mammalian cell membranes. *Parasite Immunol*; 2:1-10.

28. SANZ, O.P.; CARDÓNI, R.L.; CELENTANO, A.M.; RIMOLDI, M.T.; SICA, R.E. & GONZÁLEZ, S. M. (1991). *Trypanosoma cruzi*. Inducción de alteraciones del sistema nervioso periférico en diferentes cepas de ratones. *Rev. Arg. Microbiol.*; 23:30-34.

29. SILVA, L. P. H. & NUSSENZWEIG, V. (1953). Sobre una cepa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo bronco. *Folia; Clin. Biol. (S. Paulo)*; 20:191-208.

30. TONINO, P.; PINOL, H.J. & CAMPO-AASEN, L. (1992). Un modelo marino para el estudio de los efectos a distancia del *Toxoplasma gondii* sobre el músculo esquelético. Memorias del primer Congreso Atlántico de Microscopia Electrónica. SVME, Mérida. 68-69 pp.

31. VIANNA, G. (1991). Contribucoes para o estado da anatomia patologica de Carlos Chagas. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro*; 3:276-294.

32. W.H. O. (1991). Control of Chagas' disease. Technical Report Series. 811.

33. WATSON, M. (1958). Staining of sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol*; 4:475-478.