

**POSSIBILIDADE DE TRANSMISSÃO DO *TRYPANOSOMA CRUZI* ATRAVÉS DE
TRANSFERÊNCIA DE TECIDO RENAL EM MODELO MURINO**
*POSSIBILITY OF TRANSMISSION THE TRYPANOSOMA CRUZI THROUGH
KIDNEY TISSUE TRANSFER IN A MOUSE EXPERIMENT*

Rafael Pauletti Gonçalves¹, Carolina Guilherme Prestes Beyrodt², Vanda Aparecida Gavino Castro²

RESUMO

A Doença de Chagas, cujo agente etiológico é o protozoário *Trypanosoma cruzi*, é uma das endemias de maior importância no continente americano. Esta infecção pode levar a diversos distúrbios orgânicos nos seres humanos, o que leva à necessidade de diversos cuidados do ponto de vista médico-assistencial. O propósito deste estudo foi avaliar a possibilidade de transmissão do *Trypanosoma cruzi* através da transferência de tecido renal entre camundongos BALB/c. Para tanto, 20 animais com testes sorológicos e histológicos positivos para a presença do protozoário foram sacrificados, seus órgãos (coração e rim) foram removidos e foi produzido um macerado a partir destes. Este macerado foi injetado em dois grupos (controle/coração e experimental/rim), cada um com 15 camundongos. Cada um dos grupos foi dividido em três subgrupos: animais imunossuprimidos com ciclosporina ou hidrocortisona e animais que não receberam imunossuppressores. Ao fim de dois meses após a inoculação do macerado, os animais foram sacrificados e submetidos a teste sorológico. Foi observada uma alta taxa de mortalidade dos animais inoculados com 100.000 formas de parasitas da cepa Y; assim como se pode estabelecer uma relação inversa quanto à cronicidade e o número de formas inoculadas. Também se constatou após sorologia, a presença de anticorpos contra *Trypanosoma cruzi* nos imunossuprimidos que receberam macerado de tecido cardíaco e renal de animais previamente contaminados com o parasito. Descritores: Doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, rim, camundongos.

ABSTRACT

The Chagas' Disease, whose etiologic agent is the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi*, is one of the most important endemic diseases in the American continent. This infection can take the diverse organic routes in the human beings, what it takes the necessity of diverse cares of the point of view medical-assistance. The main objective of this study was to evaluate the possibility of transmission of the *Trypanosoma cruzi* through the renal tissues transference between BALB/c mice. For in such a way, 20 animals with serological and histological positive tests for the presence of the protozoan had been sacrificed, its organs (heart and kidney) had been removed, and were produced one macerated from these. This macerated was injected in two groups (control/heart and experimental/kidney), each one with 15 mice. Each one of the groups was divided in 3 sub-groups: animals immunosupressed with cyclosporine or hydrocortisone and animals that had not received immunosuppressive drugs. To the end of two months of the inoculation of macerated the animals had been sacrificed and submitted the serological test. One high tax of mortality of the animals inoculated with 100.000 forms of parasites of Y strain was observed; as well as if it can establish an inverse relation how much to the cronicity and the

number of inoculated forms. Also serology was evidenced after the presence of antibodies against *Trypanosoma cruzi* in the immunosupressed ones that they had received macerated from cardiac and renal tissue of animals previously contaminated with the parasite.

Key-words: Chagas disease, *Trypanosoma cruzi*, kidney, mice.

INTRODUÇÃO

O *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* é o agente etiológico causador da Doença de Chagas, ou tripanosomíase americana, descoberta em 1909 pelo cientista brasileiro Carlos Chagas.¹ Sua descoberta é considerada até hoje fato inédito na história da Medicina, pois pela primeira vez um pesquisador descreve uma doença até então desconhecida, identifica seu agente etiológico, sua morfologia e biologia no hospedeiro vertebrado e invertebrado, seus reservatórios naturais e diversos aspectos da patogenia e sintomatologia da doença.^{2,3}

A Doença de Chagas é uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade em países do continente americano, abrangendo uma área que se estende do sul dos Estados Unidos da América até a Argentina.⁴ Atualmente, existem 17 milhões de pessoas infectadas pelo *Trypanosoma cruzi*, 120 milhões de pessoas estão expostas ao risco de infecção e uma taxa de incidência anual de 200.000 casos segundo a organização Pan-Americana de Saúde (OPAS), o que torna a Doença de Chagas uma das mais importantes endemias do Brasil e da América.⁵

No Brasil, estima-se que a área endêmica da Doença de Chagas seja de, aproximadamente, 3,5 milhões de quilômetros quadrados, o que representa uma população de mais de 35 milhões de pessoas em risco, sendo que atualmente no País existem mais de 7 milhões de pessoas infectadas pelo *Trypanosoma cruzi*, sendo a grande maioria composta de moradores da zona rural e pertencente às classes mais inferiores da população.^{4,6,7}

A transmissão da Doença de Chagas pode ocorrer através da transmissão vetorial, congênita, transfusão sanguínea, aleitamento materno, transplantes de órgãos sólidos e acidentes de laboratório.^{8,9} Pode evoluir através de três fases distintas. A primeira fase é a aguda, que pode iniciar com manifestações locais (sinal de Romanã ou chagoma de inoculação), febre, edema generalizado ou localizado, hepatoesplenomegalia e com intensa presença de formas tripomastigotas no sangue, podendo levar o paciente ao óbito, especialmente crianças.^{10,11}

Rev. Fac. Ciênc. Méd. Sorocaba, v. 10, n. 4, p. 13 - 17, 2008

1 - Acadêmico do curso de Medicina - CCMB/PUC-SP

2 - Professora do Depto. de Morfologia e Patologia - CCMB/PUC-SP

Recebido em 26/11/2007. Aceito para publicação em 9/4/2008.

Contato: rafapauletti@uol.com.br

A seguir, o paciente passa por uma fase assintomática ou indeterminada, que pode durar até 30 anos, o que não significa que o parasita esteja em estado de latência ou sem causar lesões ao organismo. Significa apenas que o hospedeiro conseguiu desenvolver imunidade parcial contra o parasita.⁴

Por fim, o paciente começa a mostrar sintomas clínicos, os quais podem ser decorrentes da cardiopatia chagásica, manifestações digestivas (megacólon e megaesôfago) e alterações neurais, o que caracteriza a fase crônica da doença.¹²

A cardiopatia chagásica crônica é a mais importante e freqüente manifestação da Doença de Chagas, afetando dez milhões de pessoas na América Latina, a maior incidência observada na população entre 15 e 50 anos de idade, e pode ser dividida em três fases de evolução.^{2,13}

No estágio inicial, o paciente pode ser assintomático ou apresentar sintomas relacionados a distúrbios de ritmo.¹⁴ No estágio intermediário, as manifestações clínicas persistem ou se intensificam e pode ser detectado aumento do coração, de grau leve a moderado.¹⁵ No estágio final, as mais significativas manifestações clínicas incluem insuficiência cardíaca congestiva, fenômenos tromboembólicos, arritmias graves e morte súbita.^{4,10}

Há mais de 20 anos, já foi documentada a transmissão da Doença de Chagas através de transplantes cardíacos de doadores sabidamente chagásicos e com a visualização do parasita no órgão transplantado.^{3,10} Já em relação ao transplante renal, existem diversos relatos de casos, porém, nunca foi visualizada a presença do ninho de amastigotas ou de reações inflamatórias no parênquima renal.^{3,16,17}

MATERIAIS E MÉTODOS

Para a realização do trabalho, 20 camundongos fêmeas da espécie BALB/c, com idade de quatro semanas e peso entre 13 g e 19 g, foram utilizados para a realização da infecção por *Trypanosoma cruzi* utilizando a cepa Y.

Foram infectados 20 camundongos BALB/c com a cepa Y. Estes camundongos foram divididos em três grupos: 5 camundongos foram inoculados com 1x10⁴ formas tripomastigotas, 5 com 5x10³ formas tripomastigotas e 10 com 1x10² formas tripomastigotas.

As formas tripomastigotas para a inoculação foram obtidas do sangue de camundongos Swiss-55 contaminados com 1x10⁴ tripomastigotas. A inoculação das formas tripomastigotas nos camundongos BALB/c foi realizada por via intraperitoneal após a realização do cálculo das formas, através do método de Brener.

A parasitemia dos camundongos BALB/c foi constatada através da realização de esfregaço de sangue fresco a partir da coleta de uma gota de sangue da cauda do animal.

Os 30 camundongos que não haviam sido contaminados com o *Trypanosoma cruzi* foram separados em dois grandes grupos de 15 animais cada.

O primeiro grupo foi escolhido como grupo controle, e os camundongos foram inoculados com macerado de tecido cardíaco. O segundo grupo foi escolhido como grupo experimental, e os camundongos foram inoculados com macerado de tecido renal. Cada um desses dois grandes grupos, experimental e controle, foram subdivididos em três outros grupos de cinco animais em cada um. Assim sendo, foi estabelecido que um subgrupo seria tratado com ciclosporina, outro subgrupo seria tratado com hidrocortisona e o terceiro subgrupo não receberia imunossupressor.

A imunossupressão dos animais foi iniciada 24 horas antes de se realizar a inoculação do macerado de tecido renal e cardíaco. Os subgrupos tratados com ciclosporina receberam injeções diárias de 0,1 mL de concentração 10mg/mL. Os subgrupos tratados com hidrocortisona receberam injeções diárias de 0,1 mL de concentração 1mg/mL.

A transferência de tecido foi realizada através da remoção dos órgãos dos camundongos infectados. Os órgãos foram colocados em pistilos, onde foram cortados e macerados até adquirirem uma consistência homogênea. O material homogeneizado foi misturado com solução de Ringer lactato e aspirado por agulha. Cada camundongo do grupo controle foi inoculado com 0,1mL do macerado obtido de tecido cardíaco, assim como o grupo experimental recebeu o mesmo valor de tecido renal.

Para determinar a ocorrência da transmissão de formas tripomastigotas através da transferência de macerado de tecido renal e cardíaco, foi realizada semanalmente a coleta de uma gota de sangue da cauda de um camundongo, escolhido aleatoriamente, de cada um dos seis diferentes subgrupos. Também foi realizado o teste sorológico por hemaglutinação (Teste Chagas - HAI - Ebram) de todos os camundongos que receberam o macerado de tecidos.

Foi realizado o levantamento sistemático da literatura a respeito da transmissão da Doença de Chagas em transplantes de órgãos sólidos, em humanos e em modelos experimentais animais pela base de dados da BIREME e do portal CAPES, no período de 1970 aos dias atuais.

RESULTADOS

Foi observada através da visualização direta em microscópio óptico, a presença de formas tripomastigotas sanguíneas em 100% dos camundongos BALB/c (20 animais) inoculados com as formas parasitárias provenientes do sangue dos camundongos Swiss-55 contaminados.

A respeito da infecção, tivemos como resultado uma mortalidade de 100% no grupo no qual os camundongos foram inoculados com 1x10⁴ formas tripomastigotas após 15 dias de infecção. No grupo em que os camundongos foram inoculados com 5x10³ formas tripomastigotas, a mortalidade foi de 60% após 30 dias de infecção. E no último grupo, no qual os camundongos foram inoculados com 1x10² formas tripomastigotas, observou-se 100% de sobrevivência após dois meses de infecção (gráfico 1).

Em todos os 12 animais sobreviventes foi realizada a coleta de gota de sangue da cauda do animal semanalmente e observou-se que nos dois camundongos inoculados com 5x10³ formas tripomastigotas, após 38 dias de infecção, poucas ou nenhuma forma tripomastigota sanguínea foi visualizável. Nos dez camundongos inoculados com 1x10² formas tripomastigotas o mesmo evento ocorreu após 56 dias de infecção. Foram visualizados ninhos de amastigotas em três lâminas de tecido cardíaco do grupo inoculado com 1x10⁴ formas tripomastigotas (figura 1). As outras duas lâminas do grupo inoculado com 1x10⁴ e as duas lâminas do grupo inoculado com 5x10³ formas tripomastigotas, de tecido cardíaco, foram visualizados infiltrados inflamatórios fortemente sugestivos de miocardite (figura 2). Nas lâminas de tecido cardíaco do grupo controle, camundongos BALB/c não-contaminados, não foram visualizadas alterações inflamatórias ou de qualquer outra natureza que sugerisse a presença do *Trypanosoma cruzi* no tecido cardíaco destes animais (figura 3).

Quanto aos cortes histológicos de tecido renal, tanto as lâminas dos camundongos BALB/c que faleceram do grupo inoculado com 1×10^4 e com 5×10^3 formas tripomastigotas quanto a dos camundongos BALB/c não-contaminados, não foram observadas alterações inflamatórias ou de qualquer outra espécie que sugerisse a presença do *Trypanosoma cruzi* no parênquima renal (figura 4).

Em relação aos testes sorológicos realizados observou-se 80% de positividade nos grupos que receberam macerado de coração e de rim tratados com hidrocortisona. Também se

obteve 80% de positividade no grupo que recebeu macerado de tecido cardíaco e que foi tratado com ciclosporina. Porém, o teste para o grupo que recebeu macerado de tecido renal e tratado com ciclosporina foi inconclusivo (tabelas 1 e 2).

No grupo de camundongos que não recebeu tratamento imunossupressor, o teste sorológico mostrou uma positividade em 50% dos animais que receberam macerado de tecido cardíaco e negativo para todos os animais que receberam macerado de tecido renal (tabelas 1 e 2).

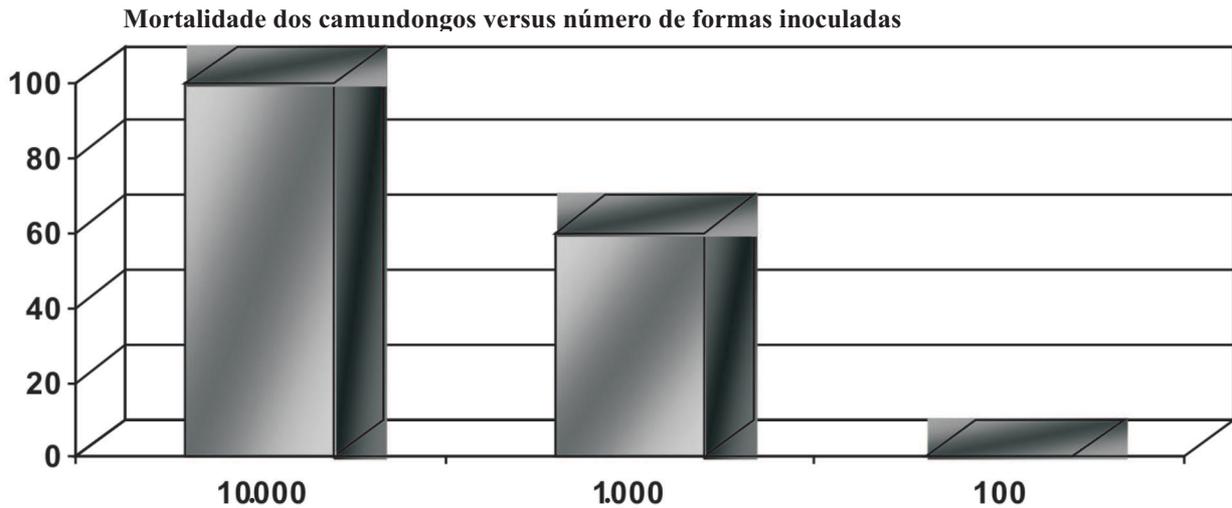


Gráfico 1. Mortalidade em % dos camundongos observada em relação ao número de formas tripomastigotas inoculadas

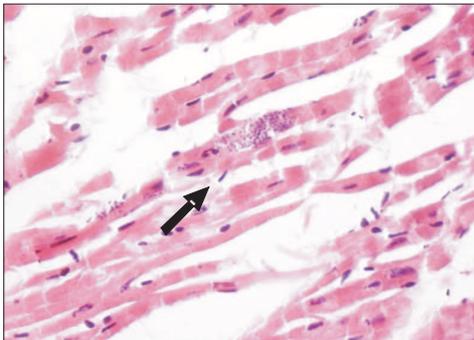


Figura 1

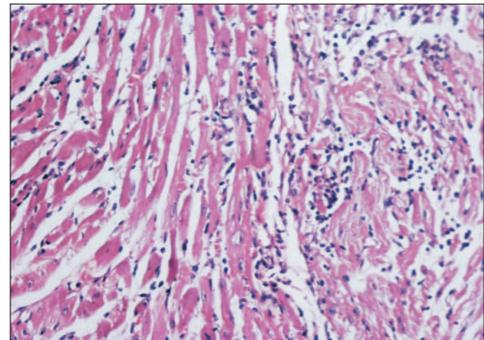


Figura 2

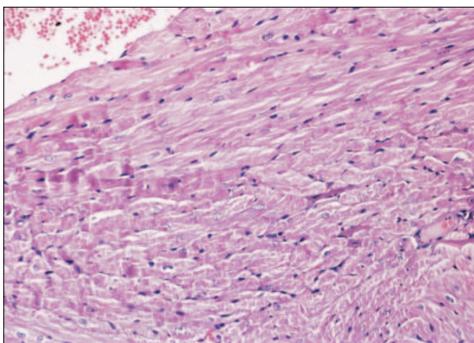


Figura 3

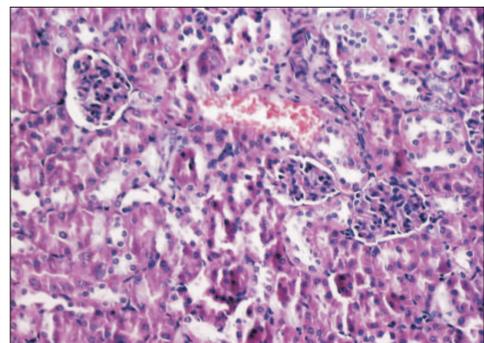


Figura 4

Figura 1. Lâmina de coração mostrando um ninho de amastigotas dentro de uma fibra cardíaca do grupo de camundongos que foi inoculado com 1×10^4 tripomastigotas. Figura 2. Lâmina de coração mostrando um intenso infiltrado inflamatório do miocárdio do grupo de camundongos que foi inoculado com 1×10^3 tripomastigotas. Figura 3. Lâmina de coração sem alterações histológicas do grupo de camundongos que recebeu macerado de tecido cardíaco e que foi tratado com ciclosporina. Figura 4. Lâmina de rim sem alterações histológicas do grupo de camundongos que recebeu macerado de tecido renal e foi tratado com hidrocortisona. Todas as lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina e fotografadas com aumento de 200 X, exceto a figura 1, com aumento de 400X.

Tabela 1. Resultado do teste sorológico dos camundongos que receberam macerado de tecido cardíaco

Ciclosporina	/	/	/	/
Hidrocortisona	+	+	+	+
Sem imunossupressão	-	-	/	/

Tabela 2. Resultado do teste sorológico dos camundongos que receberam macerado de tecido renal / amostras de soro não-testadas

Ciclosporina	+	+	+	+
Hidrocortisona	+	+	+	+
Sem imunossupressão	+	+	/	/

DISCUSSÃO

No presente estudo foi utilizado a cepa Y do *Trypanosoma cruzi* ao invés de outras variedades. Essa decisão se baseou no fato da cepa Y possuir maior virulência, pico de parasitemia e miotropismo que as demais. Isto pode ser constatado pela alta mortalidade dos camundongos que foram inoculados com um grande número de formas de parasitas. Sendo assim, nos vimos forçados a achar um hospedeiro que fosse mais resistente à cepa Y, pois dados anteriores revelaram ser o Swiss-55 pouco resistente à infecção pela cepa Y. Com isso, introduzimos os camundongos Balb/c no estudo, mesmo assim se constatou que inoculações com 100.000 formas causavam 100% de mortalidade, obrigando-nos a trabalhar com inoculações de 10.000 formas.

O comportamento da cepa Y e a escolha dos camundongos Balb/c para o experimento foi de acordo com o trabalho de Nunes, Pinto e Takami.⁹

O número de formas inoculadas parece estar altamente relacionado com a cronicidade, o que se assemelha à natureza, onde um pequeno número de formas irá contaminar o hospedeiro e este levará um período de tempo relativamente grande para entrar na fase crônica da doença, dado semelhante ao de Andrade *et al.*¹⁸

No estudo, o critério estabelecido para a cronicidade foi a não visualização de tripomastigotas no sangue dos camundongos; este período foi de 56 dias. Cabe aqui ressaltar que a presença de formas tripomastigotas no sangue também foi critério para confirmar a infecção. Critérios semelhantes ao do estudo de Amato Neto *et al.*¹⁰

Quanto aos critérios histológicos, decidimos manter uma classificação simples, diferente de outros estudos, classificando os achados em quatro categorias: presença de ninho de amastigotas, infiltrado inflamatório intenso, infiltrado inflamatório leve e ausência de alterações histológicas. Tal decisão visa a simplificação da análise e futuras replicações do experimento bem como a comparação com os estudos de Pontes de Carvalho *et al.*¹⁹

O intrigante da Doença de Chagas é que mesmo após 100 anos da sua descoberta e de seu agente etiológico ainda não se conseguiu estabelecer as bases fisiopatológicas das alterações orgânicas.

Nosso estudo mostrou que camundongos que receberam tecido cardíaco ou renal passaram a apresentar anticorpos anti-*T. cruzi*, apesar das formas sanguíneas não terem sido observadas. Carvalho, Franco e Soares¹⁷ verificaram, além da sorologia positiva, a presença de parasitos no sangue dos animais transplantados. Tal divergência de resultados pode ser resultante do protocolo de transferência de tecido utilizado no nosso estudo, não podendo ser descartada a chance dos parasitas estarem inviáveis após o tratamento anterior à inoculação nos animais.

Estudos recentes têm mostrado que é possível o desenvolvimento de miocardite chagásica em camundongos sem a doença através da transferência de linfócitos ativados de camundongos infectados com o *T. cruzi*, demonstrando o papel do sistema imunológico na patogenia chagásica. Sendo assim, é possível que órgãos e tecidos pelos quais o *T. cruzi* não possui afinidade, possam causar uma reação positiva cruzada devido à ativação do sistema imune e não pela presença do parasita.^{12,19,20}

Permanece, ainda, a dúvida com relação à transmissão do parasita por transplante renal, uma vez que a presença de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi* pode ser resultante da ativação do sistema imune por antígenos do parasita. Portanto, somente com o aprofundamento do conhecimento do sistema imunológico é que conseguiremos compreender com mais clareza todos os mecanismos de transmissão e patogenia desta doença tipicamente sul-americana.

Agradecimentos

Este trabalho foi realizado com auxílio de bolsa PIBIC-CNPq. Agradecemos ao professor doutor Pedro Luis da Silva Pinto pelo apoio científico; a participação da professora doutora Maria Lourdes Peris Barbo, equipe de preparação, análise e interpretação dos cortes histológicos e aos técnicos do Laboratório de Imunologia pela manutenção dos animais.

REFERÊNCIAS

- Amato Neto V, Amato VS, Higuchi MI. Ausência de lesão cardíaca atribuível ao *Trypanosoma cruzi* pelo menos após dezessete anos de decurso de doença de chagas transfusional. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1995; 28(4):415-7.
- Amato JGP, Amato Neto V, Amato VS, Boulos M, Uip DE, Duarte MIS. Lesões cutâneas como únicas manifestações de reativação da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* em receptora de rim por transplante. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1997; 30(1):61-3.
- Amato Neto V, Chocair PR, Góes GM, Sabbaga E, Shiroma M. Kidney transplantation: a new way of chagas' disease transmission. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1981; 23:280-2.
- Dias J. Doença de Chagas: epidemiologia e prevenção. *Arq Bras Cardiol.* 1994; 63(5):451-5.
- Organização Pan-Americana da Saúde [homepage na Internet]. Brasília: OPAS; [atualizada em 06 set 2006; acesso em 13 jul 2006]. Disponível em: <http://www.opas.org.br/mostrant.cfm?codigodest=312>.
- Caetano MA, Fonseca JA, Lurdez C, Sabbaga E. Renal transplantation in patients with Chagas' disease: a long term follow up. *Transplant Proc.* 1992; 24:1878-9.
- Caliendo A, Heffron TG, Jackson D, Martinez EJ, Perlino C, Zayas C, et al. Chagas disease after organ transplantation – United States. *MMWR.* 2002; 51(10):210-2.
- Costa JC, Ferraz AS, Figueiredo JF, Martinez R, Moyses M. Transmission of Chagas' disease through renal transplantation: report of a case. *Trans Royal Soc Trop Med Hyg.* 1990; 84:61-2.
- Nunes EV, Pinto PLS, Takami R. Life cycle of *Trypanosoma cruzi* (Y strain) in mice. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo.* 1999; 54(5):141-6.
- Amato Neto V, Bocchi EA, Lanura PNB, Matsubara L, Okumura M. Caracterização de cepas do *Trypanosoma cruzi* isoladas de doentes nos quais foi realizado transplante de coração. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1995; 28(4):351-6.
- Kierszenbaum F. Chagas' disease and the autoimmunity hypothesis. *Clin. Microbiol Rev.* 1999; 12(2):210-23.
- Ferreira-Fernandez E, Mengel JO, Pontes-de-Carvalho LC, Postol E, Ribeiro-dos-Santos R, Soares MBP, et al. A heart-specific CD4+ T-cell line obtained from a chronic Chagasic mouse induces carditis in heart-immunized mice and rejection of normal heart transplants in the absence of *Trypanosoma cruzi*. *Parasite Immunol.* 2001; 23:93-101.
- Matsubara L, Moreira AAB, Nunes EV, Pinto PLS, Souza HBWT, Tolezano JE, et al. Avaliação da atividade terapêutica do itraconazol nas afecções crônicas, experimental e humana, pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1992; 34(2):177-80.
- Gattass CR, Gonçalves R, Paiva CN, Pyrrho AS, Ribeiro LJ, Soares MBP. *Trypanosoma cruzi*: requirements for induction and maintenance of protective immunity conferred by immunization. *Exp Parasitol.* 2002; 102: 89-98.
- Ferraz AS, Figueiredo JF. Transmission of Chagas' disease through transplanted kidney: occurrence of the acute form of the disease in two recipients from the same donor. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1993; 35(5):461-3.
- Cantarovich F, Cantrovich L, Castro L, Davalos M, Saucedo G. Should cadaveric donors with positive serology for chagas' disease be excluded from kidney transplantation? *Transplant. Proc.* 1991; 23:1367-8.
- Carvalho MF, Franco MF, Soares VA. Amastigotes forms of *Trypanosoma cruzi* detected in a renal allograft. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 1997; 39(4):54-8.
- Andrade SG, Andrade ZA, Carneiro Filho A, Lima ES, Souza AJM. Influence of treatment with immunosuppressive drugs in mice chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. *Int J Exp Path.* 1997; 78:391-9.
- Cunha Neto E, Oliveira GGS, Pontes de Carvalho L, Santana CC, Soares MBP, Ribeiro dos Santos R. Experimental chronic Chagas' disease myocarditis is an autoimmune disease preventable by induction of immunological tolerance to myocardial antigens. *J Autoimmunity.* 2002, 18:131-8.
- Baldy JL, Brandina L, Chieffi PP, Gordan PA, Mocelin AJ. Immunosuppression and circulating *Trypanosoma cruzi* in a kidney transplant recipient. *Transplantation.* 1977; 23:163.

AGRADECEMOS A CONTRIBUIÇÃO FINANCEIRA DOS DOCENTES DO CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E BIOLÓGICAS DA PUC-SP

Alexandre Eduardo F. Vieira
Alfredo Bauer
Antônio A. R. Argento
Antônio Matos Fontana
Antônio Rozas
Ayrton de Andrea Filho
Carlos von Krakauer Hübner
Celeste Gomez Sardinha Oshiro
Celso Augusto N. Simoneti
Cibele Isaac Saad Rodrigues
Clodair Carlos Pinto
Deborah Regina Cunha Simis
Diana Tannos
Edie Benedito Caetano
Eduardo Álvaro Vieira
Eduardo Martins Marques
Enio Márcio Maia Guerra
Erezil Gomes de Freitas
Fatima Ayres de Araújo
Scattolin
Fernando Biazzi
Gilberto Santos Novaes
Gladston Oliveira Machado

Godofredo Campos Borges
Hamilton Aleardo Gonella
Hudson Hübner França
Izilda das Eiras Tâmega
Jair Salim
João Alberto H. de Freitas
João Edward Soranz Filho
João Luiz Garcia Duarte
Joe Luiz Vieira Garcia Novo
José Augusto Costa
José Carlos Menegoci
José Carlos Rossini Iglezias
José Eduardo Martinez
José Francisco Moron Morad
José Jarjura Jorge Júnior
José Mauro S. Rodrigues
José Otávio A. Gozzano
José Roberto Maiello
José Roberto Pretel Pereira Job
Júlio Boschini Filho
Kouzo Imamura
Luiz Antônio Guimarães Brondi
Luiz Antônio Rossi

Luiz Ferraz de Sampaio Neto
Magali Zampieri
Maria Cecília Ferro
Maria Cristina P. Fontana
Maria Helena Senger
Marilda Trevisan Aidar
Neil Ferreira Novo
Nelmar Tritapepe
Nelson Brancaccio dos Santos
Ronaldo D'Ávila
Rubem Cruz Swensson
Rudecinda Crespo
Samuel Simis
Sandro Blasi Esposito
Saul Gun
Sérgio Borges Bálamo
Sérgio dos Santos
Sônia Chebel Mercado Sparti
Sonia Ferrari Peron
Vicente Spinola Dias Neto
Walter Barrella
Walter Stefanuto
Wilson O. Campagnone