

## ALTERAÇÕES DA MOTRICIDADE DO ÍLEO ISOLADO DO CAMUNDONGO CHAGÁSICO

Arnaldo ZANOTTO (1) e Masayuki OKUMURA (2)

### RESUMO

Os Autores fizeram um estudo comparativo das respostas motoras de íleos terminais, isolados, retirados de camundongos normais e chagásicos, ensaiados simultaneamente e estimulados por uma droga de ação colinérgica (acetilcolina) e por outra, de ação direta sobre o músculo liso (bradicinina). Posteriormente, submeteram a exame histopatológico os segmentos ileais utilizados. Os resultados, obtidos durante os dez primeiros meses da moléstia de Chagas experimental, foram representados por experiências realizadas no 12.º, 24.º, 46.º, 138.º e 266.º dias após a inoculação dos camundongos. No 12.º e no 24.º dia, situados na fase aguda histopatológica, encontraram depressão acentuada das respostas do íleo chagásico, principalmente para a estimulação direta da musculatura lisa. Concluíram haver comprometimento direto da musculatura lisa ileal. No 46.º dia, fase subaguda, registraram aumento da excitabilidade do íleo chagásico, principalmente pela estimulação colinérgica. Atribuíram essa hiperexcitabilidade à hipersensibilidade de desnervação, conseqüente à despopulação neuronal parcial dos plexos intramurais. No 138.º e no 266.º dia, fase crônica, encontraram ainda hiperexcitabilidade do íleo chagásico, maior que anteriormente, com predominância das respostas à estimulação direta da musculatura lisa sobre a estimulação colinérgica. Concluíram haver, além de maior despopulação neuronal, hipertrofia das camadas musculares, com irritabilidade aumentada, provávelmente conseqüente às lesões iniciais.

### INTRODUÇÃO

Diversos Autores demonstraram a existência de lesões histopatológicas que comprometem os plexos nervosos de Meissner e de Auerbach e a própria musculatura lisa do tubo digestivo de indivíduos portadores de moléstia de Chagas <sup>1, 2, 3, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 25</sup>. Por outro lado, há referências de estudos funcionais, tanto por registro da pressão intraluminal <sup>9, 22, 23, 27, 28</sup> como radiológicos <sup>7, 8, 10, 11, 14, 19, 24, 26, 27</sup>, das alterações da motricidade do tubo digestivo.

Em que pese a importância de se conhe-

cer a evolução dessas alterações da motricidade em função do tempo, no decorrer das diversas fases da moléstia de Chagas, assim como a contribuição, em separado, do comprometimento da inervação intrínseca e da musculatura lisa, na gênese da disfunção motora do tubo digestivo, não há estudos nesse sentido. O presente trabalho destina-se a analisar ambos os aspectos da fisiopatologia da moléstia de Chagas e mostra os resultados preliminares, considerados importantes pela sua variação qualitativa.

Trabalho realizado no Departamento de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Prof. Alberto Carvalho da Silva), São Paulo, Brasil.

- (1) Instrutor do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas e Biológicas de Botucatu (Serviço do Prof. William Saad Hossne), São Paulo, Brasil
- (2) Assistente da 1.ª Clínica Cirúrgica do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (Serviço do Prof. Alípio Corrêa Netto), São Paulo, Brasil

Pretendem os Autores, em futuro próximo, realizar estudo mais detalhado, sob o crivo da análise estatística.

#### MATERIAL E MÉTODOS

A reatividade de segmentos de íleos, retirados de camundongos nas diversas fases da infecção chagásica, foi testada segundo os princípios da técnica de perfusão de intestino isolado, descrita por um de nós<sup>4</sup>.

Utilizamos camundongos brancos, de diferentes idades e de ambos os sexos, alimentados "ad libitum" com dieta comercial. Um lote foi inoculado, subcutaneamente no abdôme, com 0,2 ml de sangue citratado, contendo formas sanguícolas de *Trypanosoma cruzi*, cepa Y, na concentração de 600 tripanossomos/mm<sup>3</sup>, e outro lote serviu de controle. Os camundongos foram sempre utilizados aos pares, um inoculado, apanhado ao acaso e outro controle, de igual sexo e pêso. Periódicamente se sacrificava um par de camundongos, por pancada na cabeça; em seguida, após a abertura da cavidade abdominal, retirava-se o íleo terminal de cada membro do par. Depois de lavados em solução de Ringer-Tyrode a 37,0°C, os íleos eram cortados em segmentos iguais, em fase de relaxamento, 9 cm a partir da válvula íleo-cecal. Ao todo analisamos a reatividade ileal de 30 pares de camundongos, assim distribuídos: 15 pares do 1.º ao 30.º dia da moléstia, 8 pares do 31.º ao 90.º dia e 7 pares do 91.º ao 301.º dia.

O registro das contrações de ambos os íleos era feito simultaneamente, permitindo a comparação da reatividade do patológico com a do normal em condições rigorosamente iguais. Para isso utilizamos um aparelho de banho, com temperatura regulada a 37,0°C por um termóstato. Cada segmento de íleo era fixado por sua extremidade distal a uma haste de vidro e, por sua extremidade proximal, a um fio de linha ligado a uma alavanca inscritora frontal. O conjunto era mergulhado em cerca de 80 ml de solução de Ringer-Tyrode a 37,0°C, contida em um cálice cilíndrico. Sua oxigenação era garantida por borbulhamento de ar partindo da extremidade das duas hastes no fundo do cálice. As duas alavancas frontais eram previamente calibradas, ambas com

multiplicação de  $1 \times 2,5$  e de igual pêso, alinhadas verticalmente. As contrações eram inscritas quimograficamente.

As preparações de íleo eram, então, submetidas à ação de uma droga colinérgica, o cloreto de acetilcolina (Acetyl-Choline Roche), e de outra de ação direta sobre o músculo liso, a bradicinina sintética (Bradykinin Sandoz). Cada droga era gotejada, em dose determinada, no cálice que continha a preparação, agindo, pois, simultaneamente sobre ambos os segmentos. A estimulação farmacológica era feita a intervalos de 6 minutos, entre os quais a solução de Ringer-Tyrode era renovada. Procuramos, assim, proporcionar condições iguais para ambos os segmentos ileais.

Os efeitos das drogas eram avaliados pela média aritmética das contrações provocadas, em cada íleo, por doses idênticas. A reatividade do íleo chagásico podia, portanto, ser determinada em relação à do normal para cada droga e concentração (amplitude média do íleo chagásico/amplitude média do íleo controle).

Após o estudo de sua reatividade os segmentos ileais eram mergulhados em solução de formol a 10% para fixação e ulterior exame histopatológico. Diversos trabalhos<sup>3, 12, 16, 17, 20, 21, 25</sup> tratam da histopatologia da moléstia de Chagas experimental em camundongos. Aplicamos a técnica usada por OKUMURA<sup>16</sup> para o exame dos íleos tratados farmacologicamente; depois da fixação, os íleos eram enrolados em espiral, e cortados longitudinalmente em lâminas de 5  $\mu$  de espessura, de modo a atingir toda a extensão do segmento ileal. Em seguida, os cortes eram corados com hematoxilina-eosina e toluidina. Contavam-se, então, todos os neurônios identificáveis na margem mesentérica, desde a extremidade proximal até as vizinhanças da válvula ileocecal. Ao mesmo tempo, verificavam-se as demais lesões histopatológicas.

#### RESULTADOS

Baseados nas alterações físi e histopatológicas encontradas neste trabalho, tomamos como representativas, as experiências realizadas no 12.º, 24.º, 46.º, 138.º e 266.º dias após a inoculação.

1) 12.º dia

No Gráfico da Fig. 1 observamos depressão intensa das respostas motoras do íleo chagásico, em relação ao íleo controle, tanto para a estimulação colinérgica, pela acetilcolina, como para a estimulação direta da musculatura lisa, pela bradicinina. Tal depressão persiste mesmo para doses máximas de acetilcolina e de bradicinina e é mais acentuada para esta. Estabelecida a relação

de amplitudes médias entre o íleo chagásico e o íleo controle, obtivemos os seguintes índices: 0,23 para a bradicinina e 0,48 para a acetilcolina.

Ao exame histopatológico, o segmento ileal chagásico mostrou: 1) nos plexos nervosos intramurais, discreto parasitismo e reação inflamatória; 2) nas fibras e interstícios musculares, intenso parasitismo, reação inflamatória e edema; 3) edema acentuado da mucosa e submucosa.

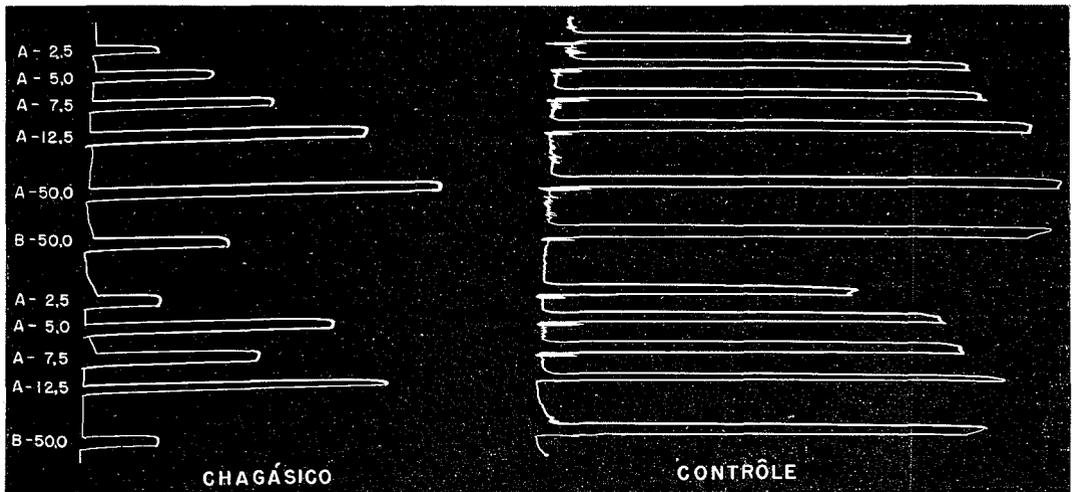


Fig. 1 — Contracções de íleos terminais isolados. Camundongos machos de 24 g de peso. 12.º dia pós-inoculação. A = acetilcolina, B = bradicinina. Quantidades em unidades gama.

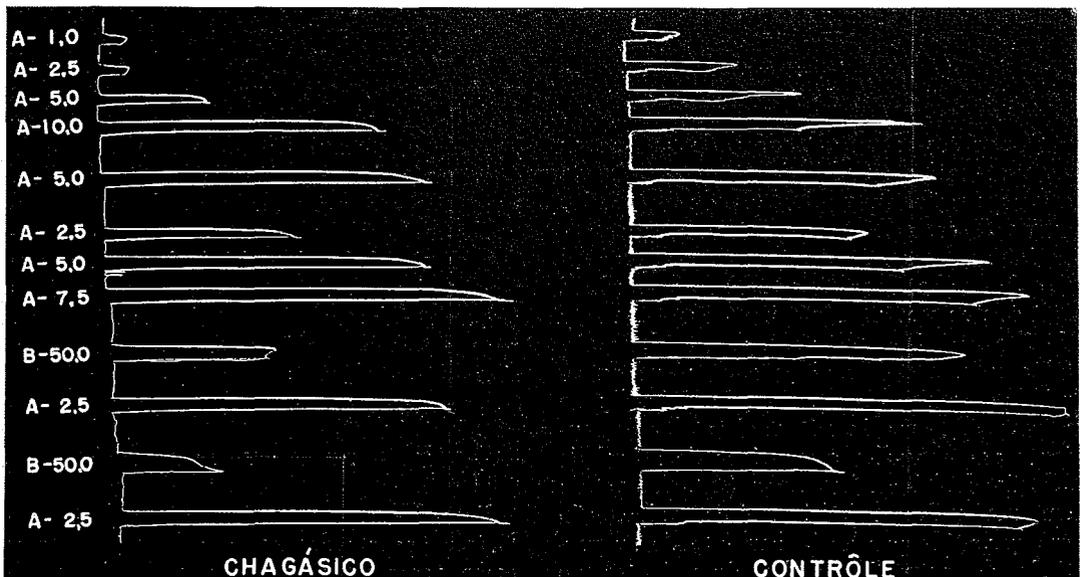


Fig. 2 — Camundongos machos, de 16 g de peso. 24.º dia pós-inoculação.

Contagem de neurônios: 1.220 para o íleo controle e 1.005 para o íleo chagásico.

2) 24.º dia

No Gráfico da Fig. 2 observamos, também, depressão da reatividade do íleo chagásico, tanto para a acetilcolina como para a bradicinina, menos intensa do que a do 12.º dia. Encontramos aqui os seguintes índices: 0,51 para a bradicinina e 0,87 para a acetilcolina.

Histopatologia: 1) presença de leishmânias apenas na camada muscular; 2) reação inflamatória dos plexos nervosos; 3) mio-site aguda moderada; 4) edema discreto da camada muscular, mucosa e submucosa.

Contagem de neurônios: 1.287 para o íleo controle e 1.109 para o íleo chagásico.

3) 46.º dia

No Gráfico da Fig. 3 observamos que as amplitudes das contrações dos íleos chagásicos são maiores que as do íleo controle. Esta maior reatividade do íleo chagásico é mais intensa para a estimulação colinérgica do que para a estimulação direta do mús-

culo liso. Os índices encontrados são: 1,05 para a bradicinina e 1,40 para a acetilcolina.

Histopatologia: 1) ausência de leishmânias; 2) aumento de infiltrado inflamatório linfo-histiocitário nos plexos, proliferação de fibroblastos e tendência à formação de granulomas; 3) neurônios lesados; 4) mio-site com tendência à regressão; 5) desaparecimento do edema; 6) início de fibrose em certas áreas da musculatura; 7) presença de infiltrado inflamatório justa-vascular.

Contagem de neurônios: 764 para o íleo controle e 765 para o íleo chagásico.

4) 138.º dia

Na Fig. 4 verificamos também que as amplitudes das contrações do íleo chagásico são maiores que as do íleo controle. Por outro lado, notamos que as respostas para a estimulação direta da musculatura são maiores do que para a estimulação colinérgica. Os índices são: 2,25 para a acetilcolina e 2,75 para a bradicinina.

Histopatologia: 1) ausência de infiltrado inflamatório nos plexos nervosos e na musculatura; 2) aumento do número de neurônios lesados; 3) discreta hipertrofia da

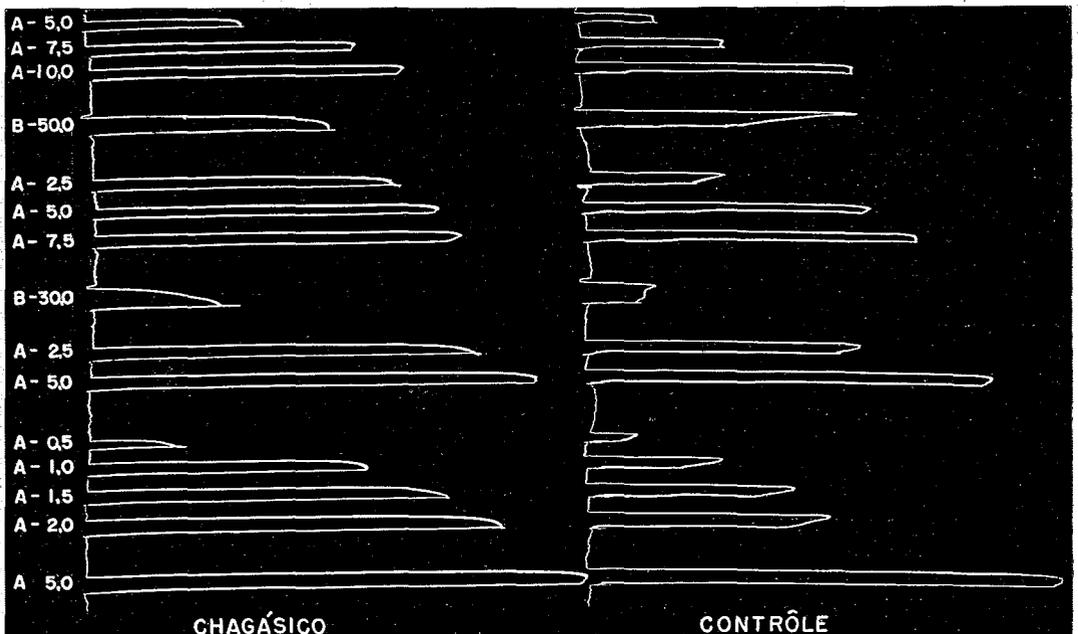


Fig. 3 — Camundongos fêmeas, de 22 g de peso. 46.º dia pós-inoculação.

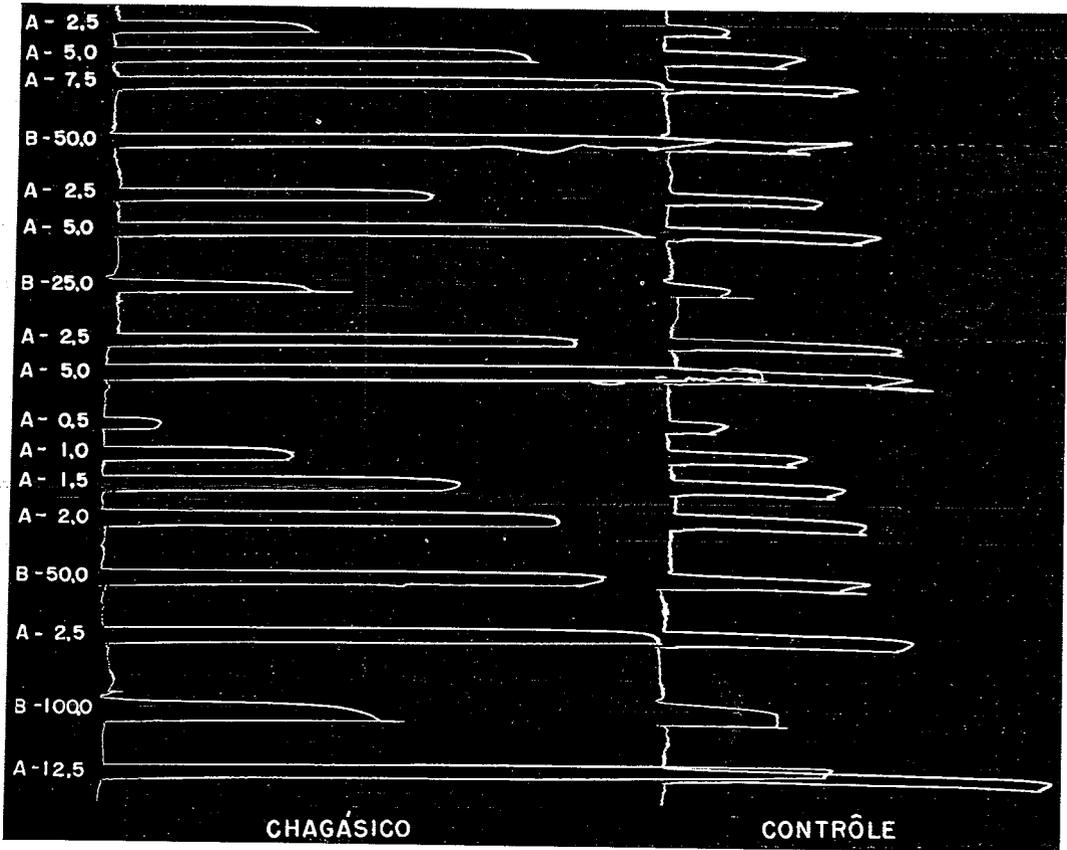


Fig. 4 — Camundongos fêmeas, de 28 g de peso. 138.º dia pós-inoculação.

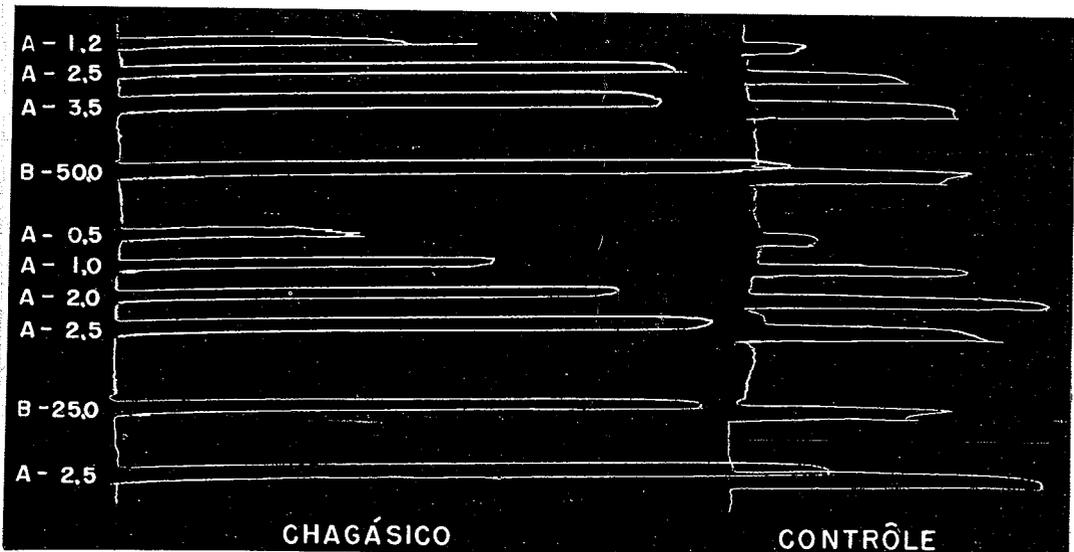


Fig. 5 — Camundongos machos, de 32 g de peso. 266.º dia pós-inoculação. Megaileo no camundongo chagásico.

musculatura, principalmente à custa da camada circular.

Contagem de neurônios: 922 para o íleo controle e 737 para o íleo chagásico.

#### 5) 266.º dia

Notamos no Gráfico da Fig. 5 que as amplitudes de contração do íleo chagásico são também, maiores que as do íleo controle. A estimulação pela bradicinina mantém ainda a sua predominância sobre a da acetilcolina. Índices: 2,41 para a acetilcolina e 3,00 para a bradicinina.

Anátomo-patologia: megaíleo e megacolo visíveis no camundongo chagásico. Histopatologia: 1) diminuição acentuada dos neurônios; 2) miosite crônica; 3) hipertrofia muscular acentuada, predominando a camada circular.

Contagem de neurônios: 1.096 para o íleo controle e 799 para o íleo chagásico.

### DISCUSSÃO

Segundo OKUMURA & col.<sup>15, 16, 17, 20, 21</sup>, a parasitemia surge depois do 5.º dia de inoculação e vai progressivamente aumentando, atingindo o máximo ao redor do 30.º dia, a partir do qual começa a regredir, para tornar-se mínima no final do 2.º mês, desaparecendo completamente da circulação (pela contagem do sangue periférico), no 87.º dia. Nos primeiros 30 dias, período inicial, agudo, que podemos chamar de "agressão", verificamos o seguinte: a musculatura lisa e o plexo nervoso são sede de instalação e reprodução dos tripanossomos, que sob a forma de leishmânias, isoladas ou em ninho, parasitam as fibras musculares e os elementos ganglionares. Posteriormente, os ninhos se rompem, verificando-se a presença de elementos mononucleares linfocitocitários que procuram destruir os parasitas. Ainda nesta fase, ao lado do intenso processo celular reacionário, verifica-se edema intersticial, dissociando as fibras musculares e os elementos constituintes dos gânglios nervosos.

A partir do 30.º dia, verifica-se a predominância do elemento reacional sobre o agressor, caracterizada pela diminuição do edema e paralelamente, aumento da reação linfo-histiocitária, proliferação de fibroblastos

que procuram circunscrever a área lesada e formação de granuloma linfo-, histio-, ou gigantocitário. Neste período, verifica-se intensificação da periarterite. A partir do 60.º dia, quando a parasitemia regride, há reação orgânica, com escasso parasitismo, predominância de elementos figurados do sangue e reação tecidual. Começam a surgir reações vasculares, caracterizadas pela presença de arterites, trombozes e processos de hipersensibilidade, como arterites necrosantes<sup>5, 17</sup>. É uma fase que do ponto de vista histopatológico, pode ser classificada como subaguda ou como "reação orgânica".

Depois do 90.º dia, passada a fase subaguda histopatológica, entramos na fase crônica, caracterizada pela reabsorção do edema, desaparecimento quase completo do processo inflamatório agudo e presença de reação inflamatória crônica; completada a lesão nervosa, começa a surgir a hipertrofia da musculatura lisa, predominantemente da camada circular. Seria o período de "seqüela" do processo parasitário. Com a evolução do processo, verifica-se a hipertrofia da parede intestinal, acompanhada de aumento da luz da víscera e despopulação neuronal, caracterizando-se o "mega". Esta evolução histopatológica revela sensíveis correlações com as variações da reatividade intestinal, registradas no presente trabalho. No 12.º dia, verificamos intensa depressão da motricidade do íleo chagásico, mesmo para doses máximas de acetilcolina e de bradicinina. Além disso, nota-se que a depressão é maior para a estimulação direta da musculatura lisa, pela bradicinina. Isto nos leva a pensar que a depressão do íleo chagásico ocorre principalmente à custa da musculatura lisa. De fato, os achados histopatológicos mostram, além de pequena agressão plexular nervosa, intensa agressão muscular, com edema e dissociação das fibras musculares. No 24.º dia, observamos também depressão da reatividade do íleo chagásico, porém menos acentuada que a do 12.º dia. Ainda aqui, a depressão é maior para a bradicinina do que para a acetilcolina. O resultado do exame histopatológico coincide com o achado gráfico, revelando diminuição da intensidade de agressão à musculatura. No 46.º dia, verificamos uma inversão das respostas do íleo chagásico, passando da depressão inicial para uma hiperexcitabilidade. As respostas motoras são maiores que as do

íleo contrôle, tanto para a acetilcolina como para a bradicinina. Verifica-se, ainda, predomínio da excitabilidade para a acetilcolina. No exame histopatológico verificamos que a miosite está em regressão, havendo, por outro lado, despopulação neuronal dos plexos nervosos. Baseados nisto, interpretamos a maior excitabilidade do íleo chagásico para a acetilcolina como decorrente das lesões nervosas, o que é explicado pela “lei da desnervação”, estabelecida por CANNON<sup>6</sup>, nos seguintes termos: “Quando, em uma série de neurônios eferentes, uma unidade é destruída, desenvolve-se uma irritabilidade aumentada para os agentes químicos, na estrutura ou estruturas isoladas, sendo o efeito máximo na parte diretamente desnervada”. No 138.º dia, encontramos hiperexcitabilidade do íleo chagásico mais intensa que anteriormente, mas com inversão das excitabilidades, isto é, as respostas para a bradicinina tornam-se maiores que para a acetilcolina. Histopatologicamente, verifica-se o início do processo inflamatório crônico, ainda com despopulação neuronal em andamento e hipertrofia da camada muscular. O fato de a musculatura responder mais ao estímulo direto do que ao estímulo colinérgico nos leva a pensar que, além da hipertrofia, que representa uma massa mus-

cular efetora aumentada, há também hiperexcitabilidade das próprias fibras musculares, o que pode ser explicado pelas alterações por elas sofridas, no período agudo da doença. No 266.º dia, as respostas do íleo chagásico foram semelhantes às do 138.º dia. Observaram-se apenas amplitudes relativamente maiores, acompanhadas de hipertrofia muscular mais acentuada (megaíleo).

De acordo com os resultados desta experiência, podemos construir uma representação gráfica que nos dá uma idéia de conjunto, resumindo a reatividade do íleo chagásico à acetilcolina e à bradicinina, em função do tempo após a inoculação dos animais (Fig. 6).

Acompanhando-se o traçado gráfico observa-se que a depressão da reatividade do íleo chagásico permanece aproximadamente até o 30.º dia, o que coincide com a fase aguda histopatológica, também chamada de “agressão”, em que se verifica intenso comprometimento da musculatura lisa. A partir do 30.º dia, observamos hiperexcitabilidade do íleo chagásico, predominando a excitabilidade por estimulação colinérgica até aproximadamente o 90.º dia. Histopatologicamente há coincidência com a fase subaguda da doença, chamada também de “reação”. Em seguida, a partir do 90.º dia aproxima-

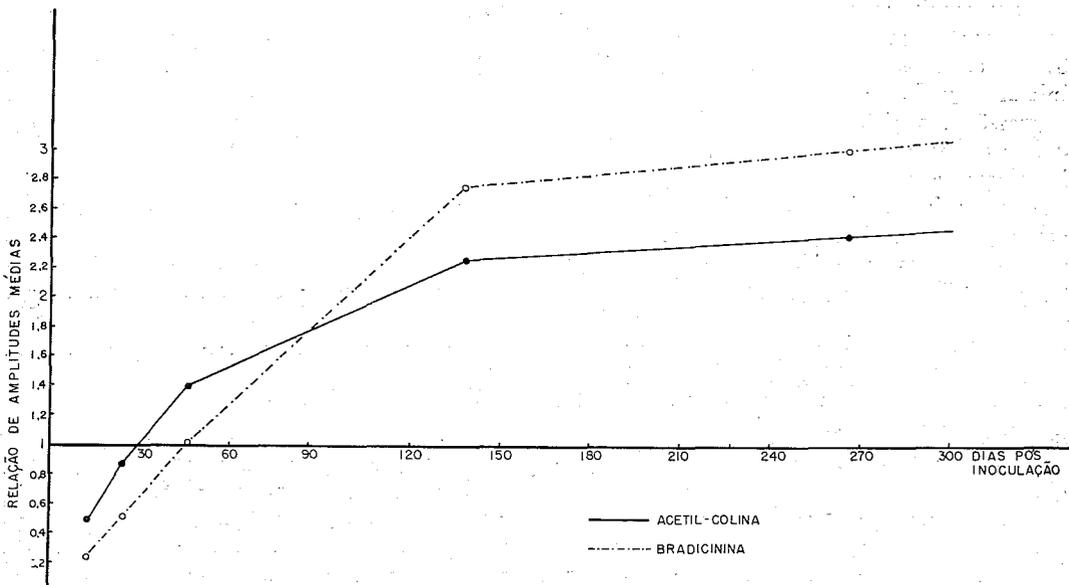


Fig. 6 — Representação gráfica construída com os índices das relações de amplitudes médias, entre os íleos chagásicos e os íleos controles, em função do tempo de inoculação dos camundongos.

damente, verificamos ainda maior excitabilidade do íleo chagásico, mas com predominância da excitabilidade muscular direta sobre a causada pela estimulação colinérgica. Isto coincide com a fase crônica da doença, também chamada de "seqüela".

Dos fatos acima considerados, pode-se concluir, por ora, que: 1) na fase aguda histopatológica da moléstia, que vai aproximadamente até o 30.º dia, verifica-se depressão intensa da reatividade do íleo chagásico, devida provavelmente a um comprometimento direto da musculatura lisa (miosite aguda); 2) entre o 30.º e o 90.º dia da moléstia (fase subaguda histopatológica), registra-se hiperexcitabilidade do íleo chagásico, predominantemente à estimulação colinérgica, causada por lesões neuronais parciais dos plexos intramurais (lei da deservação de CANNON); 3) a partir do 90.º dia (fase crônica), verifica-se ainda hiperexcitabilidade do íleo chagásico, predominantemente à custa da musculatura lisa, mostrando que além da hipertrofia, deve existir uma hiperexcitabilidade própria das fibras musculares, talvez conseqüente a lesões sofridas na fase aguda.

#### SUMMARY

##### *Motricity alterations of the isolated ileum of chagasic mice*

A comparative study of the motor responses of segments of terminal ileum obtained from normal mice and from animals with experimentally induced Chagas' disease was performed. Intestinal segments from these groups were analysed through paired assays *in vitro*, as to their responses toward cholinergic action (acetylcholine) and with respect to their responses toward bradykinin, which acts directly on the smooth muscle fiber. These segments were subsequently submitted to histopathological examination. Results concern the assayed responses within the first ten months of the disease, i.e., on the 12th, 24th, 46th, 138th and 266th day after inoculation. On the 12th and 24th day, corresponding to a histopathological picture of acute involvement, a marked depression of the motor responses was found, especially toward direct stimulation of the muscle fiber. This might be due to direct

involvement of the ileal muscle fiber. On the 46th day, corresponding to a subacute picture, there occurred an increase of the excitability of the chagasic ileum, especially toward cholinergic stimulation. This hiperexcitability was attributed to the denervation of muscle fibers due to an observed reduction in the neuronal population of the intramural nervous plexuses. On the 138th and 266th days, corresponding to the chronic phase of the disease, hiperexcitability was still found, but to a greater degree than in the previous phase. The responses toward direct stimulation were greater than those toward cholinergic agents. The Authors conclude that in the latter circumstances, besides a greater reduction in neuronal population, a hypertrophy of the muscular layers with increased irritability of the fibers might be the cause of these changes.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, que nos proporcionou os meios materiais indispensáveis à realização deste trabalho. Ao Biotério Central da Faculdade de Medicina da U.S.P., pelo fornecimento dos camundongos. Ao corpo docente e aos funcionários do Departamento de Fisiologia, por toda a colaboração prestada. À Srta. Elisa Lamparelli Carvalho, pelo preparo das lâminas histológicas.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ALCANTARA, F. G.; COSTA, R. B. & OLIVEIRA, J. A. M. — Desnervação dos plexos intramurais do tracto digestivo, em *Rattus norvegicus albinus* chagásicos crônicos. *Rev. Brasil. Med.* 21:560-562, 1964.
2. ALCANTARA, F. G.; OLIVEIRA, J. A. M. & OLIVEIRA, J. S. M. — Parassimpático do tracto digestivo no camundongo com infecção chagásica aguda experimental. *Hospital (Rio)* 68:1189-1199, 1965.
3. ANDRADE, S. G. & ANDRADE, Z. A. — Doença de Chagas e alterações neuronais no plexo de Auerbach (Estudo experimental em camundongos). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8:219-224, 1966.
4. BERALDO, W. T. & ZANOTTO, A. — A ganglion stimulating principle present in peptone. *Brit. J. Pharmacol.* 15:224-229, 1960.

5. BRITO, T. de & VASCONCELOS, E. — Necrotizing arteritis in megaesophagus. Histopathology of ninety-one biopsies taken from the cardia. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 1:195-206, 1959.
6. CANNON, W. B. — A law of denervation. *Amer. J. Med. Sci.* 198:737-750, 1939.
7. CHAGAS, C. — Tripanosomiase americana, forma aguda da moléstia. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 8:37-60, 1916.
8. FONSECA, L. C. — O aparelho digestivo na doença de Chagas. (Contribuição para o estudo das "discinésias" e dos "megas"). *Rev. Brasil. Radiol.* 3:1-14, 1960.
9. GAMA, A. H. — *Motilidade do cólon sigmóide e do reto. (Contribuição à fisiopatologia do megacólon chagásico)*. Tese. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1966.
10. GODOY, R. A. & HADDAD, N. — Tempo de trânsito esofágico em portadores de moléstia de Chagas. *Anais do Congresso Internacional sobre a Doença de Chagas*, Rio de Janeiro, 1959, 2:591-601, 1961.
11. HAASE, H. B. — *Tempo de trânsito gastrintestinal em ratos chagásicos*. Tese. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, 1962.
12. KOBERLE, F. — Patogenia da moléstia de Chagas; estudo dos órgãos musculares ócos. *Rev. Goiana Med.* 3:155-180, 1957.
13. KOBERLE, F. — Quantitative pathologie des vegetativen nervensystems. *Wien Klin. Wschr.* 74:144-151, 1962.
14. LAUAR, K. M.; OLIVEIRA, A. R. & REZENDE, J. M. — Valor do tempo de esvaziamento esofágico no diagnóstico da esofagopatia chagásica. (Prova de retenção). *Rev. Goiana Med.* 5:97-102, 1959.
15. OKUMURA, M. — Moléstia de Chagas e "megas". In VERONESI, R. — *Doenças Infecciosas e Parasitárias*. 3.ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara - Koogan, 1964, pp. 622-629.
16. OKUMURA, M. — *Contribuição para o estudo das lesões dos neurônios do plexo mientérico do colo na moléstia de Chagas experimental no camundongo branco. (Mus musculus L.)*. Tese. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1966.
17. OKUMURA, M.; BRITO, T. de; SILVA, L. H. P.; SILVA, A. C. & CORRÊA NETTO, A. — The pathology of experimental Chagas's disease in mice. I — Digestive tract changes, with a reference to necrotizing arteritis. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 2: 17-28, 1960.
18. OKUMURA, M. & CORRÊA NETTO, A. — Produção experimental de "megas" em animais inoculados com *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. Univ. São Paulo* 16:338-341, 1961.
19. OKUMURA, M.; FONSECA, L. C. & CORRÊA NETTO, A. — A patologia da doença de Chagas experimental em camundongos brancos. III — Contribuição ao estudo radiológico dos colos. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. Univ. São Paulo* 18:73-78, 1963.
20. OKUMURA, M.; FRANÇA, L. C. M. & CORRÊA NETTO, A. — Comentários sobre a patogenia da moléstia de Chagas, especial referência à infecção experimental em camundongos. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. Univ. São Paulo* 18:151-164, 1963.
21. OKUMURA, M. & CORRÊA NETTO, A. — Etiopatogenia do megacolo chagásico, contribuição experimental. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. Univ. São Paulo* 18:351-360, 1963.
22. PESSÔA, J. & MESQUITA, C. — Alterações da dinâmica esofágica na fase crônica da moléstia de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 9: 29-44, 1963.
23. PINOTTI, H. W. — *Contribuição para o estudo da fisiopatologia do megaeosôfago*. Tese. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 1964.
24. REZENDE, J. M. — Forma digestiva da moléstia de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 5: 193-227, 1959.
25. TAFURI, W. L. & BRENER, Z. — Lesões do sistema nervoso autônomo do camundongo albino na fase crônica da tripanosomiase *cruzi* experimental. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8:177-183, 1966.
26. TOLEDO, P. A. & FONSECA, L. C. — Radiologia do intestino delgado na acalásia. *Hospital (Rio)* 44:317-329, 1953.
27. VASCONCELOS, E. & BOTELHO, G. — *Cirurgia do Megaeosôfago*. São Paulo, Cia. Editora Nacional, 1937.
28. VIEIRA, C. B.; GODOY, R. A.; MENEZES, U. G. & CARRIL, C. F. — Resposta do colon sigmóide não ectásico à metacolina na forma crônica da moléstia de Chagas. *Arq. Gastroent.* 3:21-26, 1966.

Recebido para publicação em 30/1/1967.