

Cardiopatía chagásica. Modelos experimentais

Dalmo S. Amorim

Muito embora sejam numerosos os estudos acerca da cardiopatía chagásica em sua forma crônica no ser humano, ainda não há um consenso relativo aos mecanismos fisiopatológicos exatos que levariam à sua expressão clínica. Diante das limitações das investigações diretas no homem, recorre-se à experimentação animal, que dá oportunidade de examinar a patogênese da doença, os mecanismos de adaptação do parasita ao hospedeiro, os mecanismos de respostas imunológicas e os efeitos dos agentes terapêuticos no tratamento da infecção. Mas, em seu conjunto, a dificuldade no entendimento global da moléstia ainda se deve à falta de um modelo experimental adequado que represente a situação humana.

As manifestações clínicas mais comuns da forma crônica humana da cardiopatía chagásica são a cardiomegalia, a insuficiência cardíaca e as alterações na condução elétrica e na fase de repolarização vistas no eletrocardiograma ¹.

A despeito da preponderância de doentes com doença cardíaca, há um número apreciável de pacientes com exclusivo envolvimento de outras vísceras ou de lesões orgânicas associadas ².

Nesta doença, a degeneração dos gânglios intramurais e as lesões dos nervos cardíacos constituem aspectos patológicos de especial relevância. Desde a primeira descrição sistematizada de observação fisiológicas ³, novos estudos vieram consolidar o conhecimento da interferência no controle da função autonômica cardíaca em doentes com a forma crônica da moléstia. As conclusões desses estudos são de que esta doença, na ausência de descompensação circulatória, constitui um modelo experimental para a avaliação do controle autonômico da função cardíaca no homem ⁴.

É importante notar que a presença de infecção pelo **T. cruzi** não significa necessariamente que cardiopatía (ou outra lesão orgânica visceral) será inevitável. É importante, também, notar que, não obstante serem bem conhecidas as alterações patológicas e as conseqüências fisiopatológicas desta doença, o mecanismo de patogênese ainda não foi claramente elucidado.

Dessa forma, é do maior interesse a criação de um modelo experimental adequado. Contudo, a des-

peito de diferentes espécies animais terem sido já usadas, persiste uma falta de consistência dos estudos experimentais. A dificuldade que se enfrenta na análise e comparação de um grande número de investigações, em parte reside na diversificação de objetivos de pesquisa e também dos métodos empregados pelos diferentes autores.

Nesses estudos, modelos animais podem ter objetivos tão distintos como a transmissão da doença, os aspectos clínicos, patológicos, parasitológicos e imunológicos e programas de testes terapêuticos. Mais ainda, a dificuldade é agravada pela espécie animal, sexo e idade do hospedeiro, via de inoculação, número e cepa ("strain") do parasita, tempo de infecção e métodos de estudo "in vivo" e "post mortem".

Por conveniência, ao longo deste trabalho usaremos a designação amostra para as cepas (strains) de parasita usadas pelos autores citados.

A despeito das repetidas descrições de diferenças no tropismo do **T. cruzi** por certos tecidos ou órgãos, a importância para a patogenia da doença, dessas diferenças, não é bem conhecida. Por conveniência, os parasitas inoculados em animais têm sido designados como cepas isoladas de seres humanos e de vetores naturalmente infectados.

Por exemplo, Miles e col. ⁵ compararam 3 amostras de **T. cruzi** radicalmente distintas, coletadas de 3 áreas geográficas: Venezuela, onde o envolvimento visceral digestivo é desconhecido; bacia amazônica brasileira, onde o **T. cruzi** é silvático e é

rara a infecção humana, e área do Brasil central e região leste onde a infecção chagásica está comumente associada com as síndromes ditas “megas”.

Apesar de que a relação pode ser mais complexa, é tentador especular que diferenças entre amostras de **T. cruzi** na Venezuela e Brasil são responsáveis por diferentes tropismos tissulares e portanto, pelas reconhecidas distintas manifestações clínicas de infecção nessas áreas geográficas. Dentro da mesma ordem de idéias, Ribeiro dos Santos ⁶ demonstrou que camundongos infectados com amostras “Y”, “BT” e “Bolívia” tiveram acentuada destruição neuronal, enquanto que esta não ocorria na mesma espécie animal, inoculada com a amostra “PF”.

A influência da idade do animal na resposta imunológica após infecção com **T. cruzi** foi bem observada nos experimentos de Kolodny ⁷. Ratos jovens de menos de 20 dias não responderam à infecção, a qualquer tempo antes da morte, com a produção de quantidades suficientes de anticorpos protetores. Já os animais adultos jovens com 60 dias e aqueles com 85 a 100 dias de idade produziram anticorpos cerca de 8 dias após a infecção. O autor concluiu que os títulos de anticorpos aumentam progressivamente, porém mais rapidamente nos animais adultos.

O número de tripanosomas inoculados influencia o tempo médio de sobrevida, como mostrado por Marsden ⁸ que usou a amostra “Peruvian” do **T. cruzi** para a inoculação de camundongos CFI machos, com 3 semanas de vida, pesando 9 a 10 g. O tempo médio de sobrevida pode ser relacionado ao número de organismos inoculados nos camundongos.

Marsden ⁹ usou o nível de parasitemia e o tempo médio de sobrevida como indicadores de avaliação de resultados de infecção provocada por uma variedade de vias de inoculação: pele, membrana mucosa e conjuntiva. Os cuidados experimentais adotados asseguravam a validade das comparações.

Não foi possível infectar um animal através de pele íntegra e o sucesso em causar infecção pela aplicação de **T. cruzi** a uma superfície cutânea recentemente raspada, provavelmente se explica pela penetração de organismos através de lesões locais mínimas decorrentes da raspagem. Nenhuma explicação satisfatória foi oferecida diante do baixo número de infecções detectadas quando os parasitas foram diretamente aplicados sobre a conjuntiva.

Das diversas espécies animais usadas para estudos sobre infecção pelo **T. cruzi**, o cão, o macaco e o coelho são considerados os mais adequados para um grande número de investigações.

A susceptibilidade do cão à infecção pelo **T. cruzi** foi logo reconhecida por Carlos Chagas ¹⁰. Em anos subsequentes, infecção chagásica experimental em cães foi objetivo de apreciável atenção. Por exemplo, em seu artigo, Goble ¹¹ se ocupa com as variações no período de incubação e patogênese influenciadas pela idade e sexo do cão, além de, naturalmente, da amostra de parasita e a

via de inoculação.

O modelo canino da doença de Chagas é aceito como adequado para um grande número de investigações, porque ele apresenta os estágios da infecção humana ¹². Contudo, devem ser esperadas variações e um provável comportamento não deve ser antecipado, a não ser em seus aspectos mais gerais. As razões são aquelas já mencionadas na diversidade de abordagem experimental e as que serão comentadas adiante.

Cães mestiços, com idade de 15 a 30 dias foram inoculados intraperitonealmente com tripanosomas obtidos de conteúdo intestinal de triatomíneos ¹³. Onze dos 20 cães morreram antes de apresentarem parasitemia. Todos os 4 animais que sobreviveram até alcançar a fase crônica de infecção mantiveram eletrocardiograma normal.

Miocardite aguda foi produzida em cães mestiços, com 2 a 3 meses de idade, mediante inoculação intraperitoneal de organismos (amostra “12 SF”) obtidos da corrente circulatória de camundongos ¹⁴. Os animais foram estudados por 19 a 29 dias. A histopatologia revelou lesões progredindo dos átrios para os ventrículos, com predominância nas cavidades cardíacas direitas. O sistema de condução estava envolvido e as lesões inflamatórias progrediam do nódulo atrioventricular para a periferia. O eletrocardiograma revelava diversos tipos de arritmias. O bloqueio cardíaco, na infecção terminal, estava associado com intensa lesão inflamatória e necrose do sistema de condução.

Laranja e col. ¹⁵ descreveram em cães mestiços, um tipo de cardiopatia, em muito semelhante àquela observada no homem na fase aguda e na forma crônica. Mas a descrição carecia de detalhes referentes ao número e idade do hospedeiro, à via de inoculação ao inóculo e ao tempo de sobrevida dos animais infectados. Os cães foram inoculados com o sangue de pacientes ou com o conteúdo intestinal de triatomíneos. Vários meses após a inoculação, os animais apresentavam cardiomegalia, arritmias cardíacas e manifestações de descompensação circulatória. As alterações eletrocardiográficas incluíam bloqueio do ramo direito, extra-sístoles ventriculares alterações na condução atrioventricular e na repolarização ventricular, complexos QRS atípicos e padrões de aumento de tamanho do ventrículo direito. A síndrome congestiva explicou a morte de alguns desses animais e, em outros, não inteiramente (morte súbita).

Anselmi e col. ¹⁶ inocularam, por via peritoneal, em 72 cães jovens, 2 a 6 meses de idade, o **T. cruzi** obtido de sangue periférico de um paciente com a forma aguda da moléstia. Em 2 meses, 41 dos 72 cães morreram com lesões miocárdicas. Em 87% dos 31 sobreviventes, a histopatologia revelou miocardite; em 74% desses animais o eletrocardiograma era anormal. Aqueles cães sem alterações histológicas do miocárdio tinham um eletrocardiograma

normal. Quinze cães foram estudados por período superior a um ano após a inoculação, tendo apresentado um número variável de reinfecções.

Fase aguda da doença, seguida por um período crônico assintomático variando de 8 meses a 3 anos, constituiu objeto de observação de Andrade e col.¹⁷ em cães mestiços. Nove animais, com 2 a 5 meses de idade, sofreram inoculação peritoneal com formas sanguíneas (“12 SF” ou “Colombian”) de **T. cruzi** obtidas de camundongos. Apesar de discretas alterações eletrocardiográficas, todos exibiram miocardite crônica focal. A histopatologia mostrou fibrose focal ou difusa em várias partes do sistema de condução, especialmente no nódulo AV, porção distal do feixe de His e porção inicial do ramo direito. Os autores destacaram que, além de caracterizarem as lesões da fase crônica (intermediária) da cardiopatia chagásica no modelo canino, esses achados sugerem que as lesões possam ser responsáveis pelas alterações eletrocardiográficas que são registradas em humanos com infecção crônica assintomática.

A amostra “Peru” do **T. cruzi** se revelou extremamente patogênica para cães muito jovens de raça “beagle”¹⁸, 9 de 10 animais infectados morreram dentro de 35 dias. A patogenicidade estava relacionada com o número de parasitas inoculados. Os animais foram infectados por via subcutânea ou por instilação da suspensão de tripanosomas no saco conjuntival; nesta última situação, a sobrevida foi mais prolongada. Presumivelmente, só uma pequena proporção de parasitas penetraram essa membrana. A despeito de 6 cães terem sofrido instilação de parasitas na conjuntiva ou pálpebra, só 1 desenvolveu edema periorbital. Infecção crônica foi produzida, com uma pequena dose de organismos obtidos de conteúdo fecal e inoculados per conjuntivam. A histopatologia, havia mais infiltração linfática e maior grau de formas tissulares (incluindo o coração e os lobos frontais) naqueles animais que sobreviveram mais tempo, do que nos que tiveram morte precoce causada pela infecção aguda. Desses estudos, derivaram os autores a conclusão de que a patogenicidade era dependente da dose e influenciada pela via de inoculação.

Doze cães “beagle”, de 2 a 4 meses de idade, receberam **T. cruzi** (amostra “B”), por via subcutânea. Todos apresentaram uma forma aguda de infecção, com um pico de parasitemia, 13 a 24 dias após a inoculação. Já aos 13 dias, infecção foi observada em vários tecidos, incluindo as estruturas cardíacas, os módulos linfáticos e a medula óssea. Foram sede precoce de infecção, e os nervos periféricos e os nervos vago, ciático e ótico. Os gânglios nervosos exibiam formas celulares do parasita ou exibiam sinais de invasão recente. Os autores deixaram claro que, inevitavelmente todos os cães teriam morrido de grave miocardite e extensa infecção do sistema nervoso central.

O interesse nos primatas como modelos experimentais advém dos trabalhos pioneiros de Carlos Chagas que inoculou o **Callithrix penicillata** e observou parasitemia 3 a 4 semanas após a inoculação¹⁰. É extensa a bibliografia relativa à infecção experimental de primatas pelo **T. cruzi**, mas merece ser abordada uma série de experimentos realizados no **rhesus**²⁰⁻²².

Seah e col.²⁰ descreveram o curso da infecção em 4 **rhesus (Macaca mullata)**, 2 dos quais foram antes vacinados com um extrato de formas mortas de **T. cruzi** acrescido de adjuvante de Freund. Solução isotônica foi aplicada no tecido subcutâneo da pálpebra superior. O parasita foi obtido de conteúdo intestinal de **Rhodnius prolixus** ou de sangue de camundongos. A fase aguda foi semelhante àquela observada em humanos, incluindo o sinal de Romaña.

É de interesse notar que nesses estudo²⁰, a vacinação produziu baixos níveis de anticorpos circulantes e induziu resposta atrasada de hipersensibilidade, mas não impediu o aparecimento de parasitemia.

Um dos animais não vacinados morreu 38 dias após a inoculação, revelando a histopatologia, esparsos ninhos de formas celulares no miocárdio. Três macacos sobreviveram, apesar de que também o animal não vacinado apresentou manifestações de insuficiência cardíaca durante os primeiros 2 meses de infecção. Os traçados eletrocardiográficos dos 3 animais sobreviventes 35 dias após a infecção inicial revelaram discretas alterações na fase de repolarização.

O artigo de Marsden e col.²¹ descreve os estudos subseqüentes até 1256 dias nesses três macacos sobreviventes²⁰ e até 937 dias em outro grupo de 4 macacos infectados. Todos estes últimos animais tiveram a inoculação via palpebral com **T. cruzi** obtido de **Rhodnius prolixus**. A amostra “Peru”, isolada de um doente em 1963 no Peru, foi o principal organismo usado. Todos os macacos apresentaram parasitemia somente durante a fase aguda, mas em nenhum houve parasitemia durante o período crônico da infecção. O aparecimento do sinal de Romaña parece indicar a inevitabilidade de infecção neste modelo animal, quando esta é promovida a partir da órbita ocular.

Nesse grupo de macacos **rhesus**^{20,22}, ocorreram duas mortes durante o primeiro ano, ambos infectados com a amostra “Peru”, reconhecidamente de alta patogenicidade, usualmente produzindo elevada mortalidade. Um animal morreu após 38 dias, na fase aguda, provavelmente de insuficiência cardíaca²⁰, e outro com **emaciação**, 166 dias após o desenvolvimento de megaesôfago.

Miles e col.²² estudaram 5 **rhesus** que sobreviveram à infecção por 6 a 8 anos, até que os animais foram sacrificados. Todos tinham xenodiagnóstico positivo e títulos elevados de anticorpos. Em 2, as anormalidades eletrocardiográficas eram

compatíveis com lesão miocárdica difusa, ainda que em um deles faltasse o substrato anátomo-patológico. Importantes alterações eletrocardiográficas, tais como bloqueio de ramo direito, que são comuns na forma crônica cardíaca humana, não foram observadas em qualquer dos macacos infectados. As alterações histopatológicas foram discretas em 4 animais. Contudo, um macaco exibiu acentuada degeneração da fibra miocárdica e miocardite, mais acentuadas no ventrículo esquerdo.

Nesses animais cronicamente infectados²², não foi possível demonstrar a presença de parasita no miocárdio apesar da minuciosa investigação. Megaesôfago e megacolon também não estavam presentes. Da mesma forma secções histológicas obtidas durante o exame **post mortem** não revelaram adenite ou degeneração ganglionar de qualquer parte do tubo digestivo.

Katzin e col.²³ referiram que a evolução da infecção no homem e no coelho guarda semelhança. Eles inocularam 25 coelhos com a amostra "AWP" de **T. cruzi**, por via peritoneal, com formas sangüíneas obtidas de camundongos ou de formas obtidas de conteúdo intestinal do **Triatoma infestans**, através de escarificação cutânea. Todos os animais foram acompanhados durante 3 anos após a inoculação.

Oito coelhos com um mês de idade receberam por via peritoneal formas tripomastigotas de virulento **T. cruzi** (amostra "Ernestina")²⁴. A despeito de todos os coelhos terem apresentado parasitemia, e manifestações de infecção aguda, nenhum morreu durante a fase aguda. Esses coelhos evoluíram para uma forma latente de infecção, caracterizada por parasitemia negativa com anticorpos persistentemente positivos, ou desenvolveram uma forma crônica e morreram. As lesões observadas **post mortem** eram similares àquelas conhecidas na forma crônica humana. Deve ser notado que múltiplas injeções de frações de **T. cruzi** resultaram em lesões microscópicas semelhantes àquelas observadas nos coelhos que não sobreviveram à infecção direta pelo protozoário.

Foram oferecidos elementos de apoio ao conceito de que, em mamíferos, uma resposta anitigênica antiparasitária poderia dar lugar a uma reação auto-imune envolvendo células não infectadas do hospedeiro²⁵. A superfície das células de mamíferos seriam alvos potenciais para a resposta imunológica do hospedeiro contra o parasita²⁶. Esta seria uma interpretação para a destruição de células não diretamente parasitadas na fase aguda da doença.

São inúmeras as demonstrações de alterações qualitativas e quantitativas do sistema nervoso autonômico do coração e de outros órgãos na infecção experimental e na infecção natural de etiologia chagásica.

O mecanismo envolvido na destruição neuronal permanece por ser determinado. O parasitismo direto dos neurônios não parece suficiente para explicar a extensão da lesão neuronal²⁷. Na fase aguda, foi sugerido que quando da ruptura de uma célula parasitada, ocorre

liberação de antígeno que se associa com a superfície da membrana das células vizinhas não parasitadas. Essas células poderiam ser lesadas por elementos da resposta imune anti-**T. cruzi**, liberando auto-antígenos capazes de lesar as células neuronais²⁸.

Resultados indicam que 83% dos pacientes chagásicos apresentam anticorpos IgG e 7% anticorpos IgM para neurônios²⁹. Todos os controles usados na mesma série eram negativos sob o aspecto sorológico enfocado. Esses anticorpos apresentavam reações cruzadas contra neurônios do sistema nervoso central e periférico (simpático e parassimpático) e também contra neurônios de outras espécies. Contudo, em coelhos, foi observada uma afinidade seletiva e aderência de linfócitos (**T. cruzi** - imune) a células ganglionares mioentéricas parassimpáticas, levando-as à lise. A destruição neuronal não ocorria quando linfócitos (não imunes) de coelhos de controle foram usados, ou quando linfócitos (**T. cruzi** - imune) eram expostos a células do sistema nervoso central. Esses achados foram interpretados como uma indicação do elevado grau de especificidade da destruição de neurônios parassimpáticos na doença de Chagas³⁰.

Summary

An experimental model embodies an evaluation procedure that helps the investigator to make choices among possible alternatives. In this paper considerations which include a variety of aspects related to the host-parasite relationship in **Trypanosoma cruzi** infection and disease are made. Although several animal species have been used, there is still a lack of consistent experimental studies. A few examples of investigations mainly in dogs, monkeys and rabbits are briefly reviewed showing the diversity of methodological approaches and, therefore, the difficulty experienced in comparing results and interpretations. Emphasis was given to the need to have a suitable model presenting all possible stages of the infection as in man, as well as the functional and organic disorders commonly seen in this disease. The alterations of the autonomic nervous system involving the heart and other organs in Chagas' disease were stressed.

Referências

1. Amorim, D. S. - Chagas' disease. *Prog. Cardiol.* 8: 235, 1979.
2. Amorim, D. S.; Manço, J. C.; Gallo, Jr. L.; Marin, Neto, J. A. - Chronic Chagas' heart disease: a clinical and functional study. In: Shekiguchi, M.; Olsen, E. G. J. (ed.) - *Cardiomyopathy: Clinical, Pathological and Theoretical Aspects*. Tokyo University Press, Tokyo, 1980. p. 317.
3. Amorim, D. S.; Godoy, R. A.; Manço, J. C.; Tanaka, A.; Gallo, Jr., L. - Effects of acute elevation in blood pressure and of atropine on heart rate in Chagas' disease: a preliminary report. *Circulation*, 38: 289. 1968.

4. Amorim, D. S.; Manço, J. C.; Gallo, Jr., L.; Marin Neto, J. A. - Chagas' heart disease as an experimental model for studies of cardiac autonomic function in man. *Mayo Clinic Proc.* 57: 48, 1982.
5. Miles, M. A. et al. - Do radically dissimilar *Trypanosoma cruzi* strains (Zymodemes) cause Venezuelan and Brazilian forms of Chagas' disease? *Lancet*, 1: 1338, 1981.
6. Ribeiro dos Santos, R. - Imunopatologia da destruição neuronal na doença de Chagas experimental. Tese, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 1977.
7. Kolodny, M. H. - Studies on age resistance against trypanosome infections. VII. The influences of age upon the immunological response of rats to infection with *Trypanosoma cruzi* *Am. J. Hyg.* 31 (Section C): 1, 1940.
8. Marsden, P. D. - *Trypanosoma cruzi* infections in CFI mice: I - Mortality with different doses of trypanosomes. *Ann. trop. Med. Paras.* 61: 57, 1967.
9. Marsden, P. D. - *Trypanosoma cruzi* infections in CFI mice: II - Infections induced by different routes. *Ann. trop. Med. Paras.* 61: 62, 1967.
10. Chagas, C. - Nova trypanosomiase humana. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 1: 159, 1909.
11. Goble, F. C. - Observations on experimental Chagas' disease in dogs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1: 189, 1952.
12. Andrade, Z. A.; Andrade, S. G. - A patologia da doença de Chagas experimental no cão. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 75: 77, 1980.
13. Magalhães, B. F.; Freire, S. A. - O eletrocardiograma na doença de Chagas experimental. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 42: 243, 1945.
14. Andrade, Z. A. et al. - Doença de Chagas experimental no cão. Relação morfológica e eletrocardiográfica na fase aguda da infecção. *Arq. Bras. Cardiol.* 35: 485, 1980.
15. Laranja, F. S.; Pellegrino, J.; Dias, E. - Experimental Chagas' heart disease. *Am. Heart J.* 37: 646, 1949.
16. Anselmi, A. et al. - Experimental *Schizotrypanum cruzi* myocarditis: correlation between histopathologic and electrocardiographic findings in experimental Chagas' heart disease. *Am. Heart J.* 70: 638, 1965.
17. Andrade, Z. A. et al. - Experimental Chagas disease in dogs. A pathologic and ECG study of the chronic indeterminate phase of the infection. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 105: 460, 1981.
18. Marsden, P. D.; Hagstrom, J. W. C. - Experimental *Trypanosoma cruzi* infection in beagle puppies. The effect of variations in the dose and source of infecting trypanosome and the route of inoculation on the course of the infection. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 62: 816, 1968.
19. Kramer Jr., A. W. - Experimental Chagas' disease in purebred beagle dogs acutely infected with *Trypanosoma cruzi* (B strain). *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo*, 14: 291, 1972.
20. Seah, S. K. K. et al. - Experimental *Trypanosoma cruzi* infection in rhesus monkeys. The acute phase. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 68: 63, 1974.
21. Marsden, P. D. et al. - Experimental *Trypanosoma cruzi* infection in rhesus monkeys. II - The early chronic phase. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 70: 247, 1976.
22. Miles, M. A. et al. - Experimental *Trypanosoma cruzi* infection in rhesus monkeys. III - The electrocardiographic and histopathological findings. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 73: 528, 1979.
23. Katzin et al. - Infection experimental del conejo com *Trypanosoma cruzi*: I - Estudios parasitológicos y serológicos. *Medicine (Buenos Aires)* 37: 507, 1977.
24. Teixeira, A. R. L. et al. - The immunology of experimental Chagas disease. IV - Production of lesions in rabbits similar to those of chronic Chagas' disease in man. *Am. J. Pathol.* 80: 163, 1975.
25. Santos-Buch, C. A.; Teixeira, A. R. L. - The immunology of experimental Chagas' disease. III - Rejection of allogenic heart cells in vitro. *J. Exp. Med.* 140: 38, 1974.
26. Ribeiro dos Santos, R. et al. - Chagas' disease. *Antibiotics Chemother.* 30: 115, 1981.
27. Koberle, F.; Alcântara, F. C. - Mecanismo da destruição neuronal do sistema nervoso periférico na moléstia de Chagas. *Hospital (Rio de Janeiro)*. 57: 1057, 1960.
28. Ribeiro dos Santos, R.; Santana da Silva, J. - Doença de Chagas: resposta imune humoral e celular. *Rer. Goiana Med.* 26: 115, 1980.
29. Ribeiro dos Santos, R. et al. - Antibodies against neurons in chronic Chagas' disease. *Tropenmed. Parasit.* 30: 19, 1979.
30. Teixeira, M. L. et al. - Chagas' disease: selective affinity and cytotoxicity of *Trypanosoma cruzi* - imune lymphocytes to parasymphathetic ganglion cells. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 75: 33, 1980.