

## PLEXOS SUBMUCOSO E MIENTÉRICO DO CÓLON HUMANO NA MOLÉSTIA DE CHAGAS

Reynaldo de Britto COSTA (1) e Euclides Custódio de LIMA FILHO (2)

### RESUMO

Os autores fazem um estudo quantitativo, comparativo do número de neurônios dos plexos de Auerbach e de Meissner em cólons humanos de indivíduos não chagásicos e de chagásicos crônicos sem e com megacólon. Para isso foram feitos cortes seriados numa extensão de 1 mm de cólon. Os resultados mostram uma diferença significativa entre grupos não chagásicos e chagásicos crônicos, para ambos os plexos, e parecem demonstrar maior destruição de células ganglionares no plexo mientérico.

### INTRODUÇÃO

Os estudos quantitativos dos neurônios intramurais dos órgãos musculares ôcos na moléstia de Chagas, realizados por KÖBERLE & col.<sup>1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 13</sup>, têm sido suficientes para elucidar a patogenia dos megas, apesar de sempre terem sido orientados para o plexo mientérico ou de Auerbach. A localização deste plexo, entre as duas camadas musculares, longitudinal e circular, facilita sobremaneira a contagem dos seus elementos nervosos, o que em absoluto quer dizer que a tarefa seja, por isso, menos árdua e cansativa. Assim, o número de trabalhos realizados neste sentido já se vai tornando elevado. Acrescente-se ainda que, segundo as concepções patogenéticas de KÖBERLE, a destruição neuronal estaria, em grande parte, condicionada à proximidade que os elementos nervosos mantêm com a musculatura parasitada.

O plexo de Meissner, de distribuição difusa e irregular na submucosa, área muito mais extensa, não oferecia atrativo aos pesquisadores, se bem que seu estudo se impu-

nha. Aliás, após sua descoberta pelo cientista germânico GEORG MEISSNER, de Göttingen, em 1857, pouco relativamente se tem acrescentado à sua morfologia e fisiologia.

Procurando, assim, preencher esta pequena lacuna nos estudos quantitativos da moléstia de Chagas, resolvemos fazer este trabalho, estudando os plexos intramurais em cólons sigmóides humanos não chagásicos e chagásicos, sem e com megacólon. A escolha deste segmento do cólon para os nossos estudos foi feita em virtude de ser o sigmóide a sede mais freqüente de megas na fase crônica da moléstia de Chagas. Não o fizemos com o esôfago porque este órgão só excepcionalmente apresenta raros neurônios no plexo de Meissner.

### MATERIAL E MÉTODOS

*Material* — Os cólons sigmóides usados nesta pesquisa foram obtidos de autópsias e de peças cirúrgicas (ressecção de megacólon chagásico), durante os anos de 1962

(1) Do Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

(2) Do Departamento de Higiene e Medicina Preventiva, Disciplina Estatística da mesma Faculdade.

e 1963. Estudamos ao todo 30 casos assim distribuídos: 10 não chagásicos, 10 chagásicos sem megacólon e 10 chagásicos com megacólon.

*Métodos* — Para estabelecer o diagnóstico de *megacólon chagásico* usávamos como norma o quadro abaixo, onde estão expostos os critérios adotados:

|                             |   |   |
|-----------------------------|---|---|
| 1 — <i>Anatômicos</i>       | { | Dimensões<br>Hipertrofia da musculatura<br>Ausência de obstáculos   |
| 2 — <i>Histopatológicos</i> | { | Redução numérica dos neurônios intramurais<br>Focos inflamatórios crônicos no plexo de Auerbach e na musculatura; fibrose<br>Hipertrofia da fibra muscular<br>Ninho de leishmânias (quando presentes) |
| 3 — <i>Clínicos</i>         | { | Prisão de ventre crônica<br>Procedência de zona endêmica<br>História de contacto com o "barbeiro"<br>Tumoração abdominal palpável   |
| 4 — <i>Sorológicos</i>      |   | Reação de Guerreiro-Machado positiva, com título superior a 1,9   |

Como *chagásicos sem mega* rotulamos aqueles casos em que a reação de Guerreiro-Machado era positiva, podendo ou não apresentar megaeosfago chagásico, cardiopatia chagásica etc., não sendo, porém, portadores de megacólon.

Eram considerados *não chagásicos* os casos em que a reação de Guerreiro-Machado era negativa e os dados clínicos, anatômicos e histopatológicos não faziam supor uma infecção chagásica.

Para contagem dos neurônios usamos a técnica preconizada por KÖBERLE. Assim realizávamos cortes seriados de 7  $\mu$  de espessura, usando-se sempre o sétimo corte até perfazer um total de 20 que eram usados para a contagem. Sempre que possível procurávamos incluir um anel completo do sigmóide, o que nos permitia um estudo comparativo mais acurado entre os plexos de Meissner e de Auerbach. Como é óbvio, nos casos de megacólon isto não era possível, obrigando-nos, assim, a dividir um anel completo do órgão dilatado em número variável de segmentos (arcos) que eram incluídos separadamente.

Os cortes eram corados pelo método da hematoxilina e eosina que revelou-se perfeitamente satisfatório para os fins almejados. Em seguida eram examinados com aumento

de 320 diâmetros de maneira tal a se evitar a contagem dos mesmos neurônios. Precauções eram tomadas também no sentido de não ficar qualquer área sem ser examinada.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos estão expostos no Quadro I e as Figs. 1, 2 e 3 representam, respectivamente, os números médios dos to-

tais de neurônios de ambos os plexos em anel de 1 mm nos três grupos estudados, a distribuição, em ordem decrescente, do número de neurônios por circunferência encontrados em um caso de não chagásico (caso 6) e de um chagásico com mega (caso 7), e a verificação cabal da hipótese de KÖBERLE, pois a figura nos dá a redução percentual em relação aos não chagásicos para os plexos de Auerbach e Meissner.

*Análise dos resultados* — Constituídos os grupos em que foram efetuadas as contagens de neurônios dos plexos de Auerbach e Meissner, interessávamos-nos, primordialmente, as comparações dos grupos chagásicos com o não chagásico. Esse problema já foi devidamente resolvido por DUNNETT<sup>3</sup>, quando podemos pressupor que as populações amostradas são distribuídas segundo a curva normal e tenham tôdas a mesma variância (homocedásticas). Para o caso particular em estudo, a pressuposição de normalidade poderia ser aceita, mas não a "homocedasticidade", pois por vários trabalhos anteriores<sup>4, 11 e 14</sup> conhecemos que uma das características fundamentais dos chagásicos é a variabilidade acentuada. Por esse motivo optamos pelo teste não paramétrico, que é uma extensão do teste de Wilcoxon, usados para duas populações, e que foi descrito por

QUADRO I

Resultado da contagem dos neurônios dos plexos de Auerbach e de Meissner num anel de 1 mm de comprimento de cólons sigmóides humanos nos três grupos estudados

| Caso nº | Não chagásicos |      |                   |                   |              | Chagásicos sem megacólon |                   |                   |              |      | Chagásicos com megacólon |                   |              |      |                   |                   |
|---------|----------------|------|-------------------|-------------------|--------------|--------------------------|-------------------|-------------------|--------------|------|--------------------------|-------------------|--------------|------|-------------------|-------------------|
|         | Idade (anos)   | Sexo | Plexo de Auerbach | Plexo de Meissner | Idade (anos) | Sexo                     | Plexo de Auerbach | Plexo de Meissner | Idade (anos) | Sexo | Plexo de Auerbach        | Plexo de Meissner | Idade (anos) | Sexo | Plexo de Auerbach | Plexo de Meissner |
| 1       | 50             | M    | 4557              | 3427              | 29           | M                        | 3891              | 2396              | 56           | M    | 1690                     | 1660              |              |      |                   |                   |
| 2       | 21             | M    | 6876              | 3975              | 50           | M                        | 3168              | 2347              | 41           | M    | 994                      | 404               |              |      |                   |                   |
| 3       | 66             | M    | 5325              | 3262              | 36           | M                        | 3618              | 3134              | 40           | M    | 3627                     | 3164              |              |      |                   |                   |
| 4       | 34             | M    | 5293              | 3427              | 48           | M                        | 4207              | 1797              | 42           | M    | 1526                     | 1045              |              |      |                   |                   |
| 5       | 8              | M    | 6584              | 3221              | 64           | M                        | 4522              | 3097              | 54           | M    | 280                      | 384               |              |      |                   |                   |
| 6       | 111            | F    | 5128              | 3716              | 26           | F                        | 4044              | 1780              | 52           | M    | 1448                     | 2586              |              |      |                   |                   |
| 7       | 39             | F    | 5168              | 3458              | 33           | F                        | 4163              | 1482              | 44           | F    | 1022                     | 2696              |              |      |                   |                   |
| 8       | 32             | F    | 8628              | 2457              | 55           | F                        | 3066              | 1821              | 33           | F    | 1133                     | 2256              |              |      |                   |                   |
| 9       | 44             | F    | 4444              | 3593              | 54           | F                        | 4863              | 3160              | 32           | F    | 2640                     | 2586              |              |      |                   |                   |
| 10      | 8              | F    | 5360              | 3906              | 27           | F                        | 4190              | 3188              | 38           | F    | 322                      | 1472              |              |      |                   |                   |
| Total   | —              | —    | 57363             | 34442             | —            | —                        | 39732             | 24202             | —            | —    | 14682                    | 18253             |              |      |                   |                   |
| Média   | —              | —    | 5736              | 3444              | —            | —                        | 3973              | 2420              | —            | —    | 1468                     | 1825              |              |      |                   |                   |

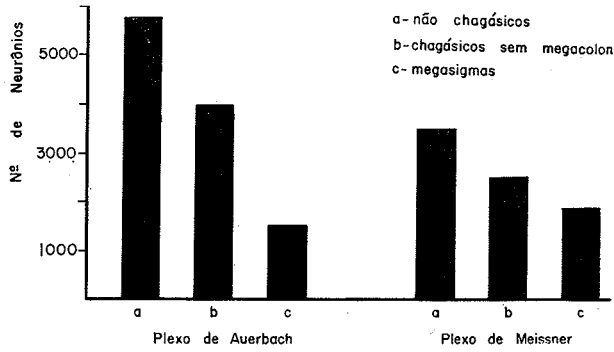


Fig. 1 — Número médios dos totais de neurônios dos plexos de Auerbach e de Meissner em anel de 1 mm de comprimento do cólon sigmóide de não chagásicos e de chagásicos sem e com megacólon.

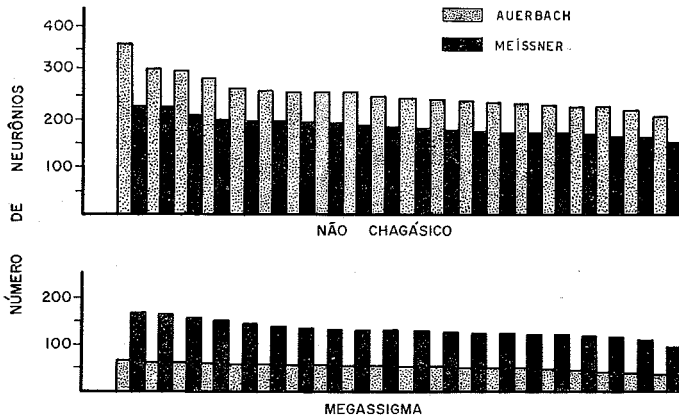


Fig. 2 — Distribuição, em ordem decrescente, do número de neurônios cólicos encontrados nos plexos de Auerbach e de Meissner, por circunferência, de um caso de não chagásico (caso 6) e de um chagásico com megacólon (caso 7).

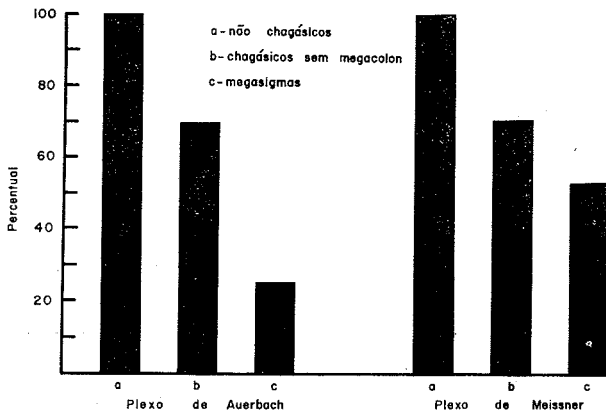


Fig. 3 — Percentual em relação aos não chagásicos para os plexos de Auerbach e Meissner.

STEEL<sup>16</sup>, podendo ser aplicado somente a amostras de mesmo tamanho.

Para esses testes de “graduatória” (postos) a hipótese nula é a que as observações provêm de uma mesma população. A pressuposição usada para esses testes é que as variáveis tenham distribuição acumulada contínua. As hipóteses alternativas usuais são baseadas na definição de “estocasticamente” maior. MANN & WHITNEY<sup>12</sup> descrevem uma variável aleatória contínua  $X$ , como estocasticamente maior que a outra  $Y$ , quando  $F(a) < G(a)$  para todo  $a$ , onde  $F$  e  $G$  são as distribuições acumuladas de  $X$  e  $Y$ , respectivamente. Assim, o teste é aplicado para determinar diferenças nos parâmetros posicionais populacionais.

Seja  $X_0$  e  $X_i$ ,  $i = 1, 2 \dots k$  variáveis aleatórias medindo alguma característica do controle e  $k$  outras condições.

Sejam suas distribuições acumuladas  $F_0$  e  $F_i$ ,  $i = 1, 2 \dots k$ . O teste que propomos é:

$$H_0 : F_0 = F_1 = F_2 \dots F_k$$

o qual inclui a igualdade de mediana e médias contra a alternativa,  $H_1 : F_0 < F_i$ , pelo

menos para algum  $i$ ; esta alternativa dizendo que a mediana (bem como outros percentis) de pelo menos uma das distribuições das outras condições é menor que a do controle.

Propomo-nos a testar essa hipótese a um nível de significância de 1% ( $\alpha = 1\%$ ). Tomando inicialmente as contagens de neurônios do plexo de Auerbach para os normais e chagásicos, fizemos a “graduatória” para normais e chagásicos sem megacólon e depois para normais e chagásicos com megacólon (Quadro II). Como a hipótese alternativa é monocaudal, e se verdadeira, tende a diminuir a soma dos postos para os chagásicos, adicionamos somente os postos dos chagásicos com ou sem megacólon. As somas deram-nos  $T_1 = 58$  e  $T_2 = 55$ . Para  $k = 2$  e  $n = 10$ , o ponto crítico tabelado<sup>16</sup> é 71. O mínimo dos  $T_1$  observado foi 55, o que nos leva a aceitar a hipótese alternativa, ou seja que a mediana e os percentis das populações de neurônios do plexo de Auerbach para chagásico com ou sem megacólon são significativamente menores que os dos normais.

#### QUADRO II

Totais, por indivíduo, de neurônios do plexo de Auerbach

| Não chagásicos  |  |  | Chagásicos sem megacólon |  | Chagásicos com megacólon |  |
|-----------------|--|--|--------------------------|--|--------------------------|--|
| Nº de neurônios | Ordem quando comparados com chagásicos sem megacólon | Ordem quando comparados com chagásicos com megacólon | Nº de neurônios          | Ordem quando comparados com não chagásicos | Nº de neurônios          | Ordem quando comparados com não chagásicos |
| 4557            | 11   | 12   | 3891                     | 4  | 1022                     | 4  |
| 6876            | 19   | 19   | 3168                     | 2  | 1690                     | 8  |
| 5325            | 16   | 16   | 4044                     | 5  | 1133                     | 5  |
| 5293            | 15   | 15   | 4159                     | 6  | 994                      | 3  |
| 6584            | 18   | 18   | 3450                     | 3  | 3627                     | 10   |
| 5128            | 13   | 13   | 3066                     | 1  | 1526                     | 7  |
| 5168            | 14   | 14   | 4863                     | 12   | 2640                     | 9  |
| 8628            | 20   | 20   | 4207                     | 8  | 323                      | 2  |
| 4444            | 9  | 11   | 4190                     | 7  | 290                      | 1  |
| 5360            | 17   | 17   | 4522                     | 10   | 1448                     | 6  |
| Soma das ordens | 152  | 155  | —                        | 58   | —                        | 55   |

As mesmas hipóteses e o mesmo raciocínio fizemos também para população de neurônios do plexo de Meissner para normais e chagásicos com ou sem megacólon (Quadro III). As somas dos postos observados foram  $T_1 = 59$  e  $T_2 = 59$ . Quando comparado com o ponto crítico que também é de 71, nos leva a aceitar a hipótese alternativa.

$H_1$ : A população de neurônios do plexo cólico de Auerbach é diferente da população de neurônios do plexo cólico de Meissner.

Consideramos um nível de significância de 1%.

A menor soma da graduatória das diferenças entre o número médio de neurônios

QUADRO III  
Totais, por indivíduo, de neurônios do plexo de Meissner

| Não chagásicos  |  |  | Chagásicos sem megacólon |  | Chagásicos com megacólon |  |
|-----------------|--|--|--------------------------|--|--------------------------|--|
| Nº de neurônios | Ordem quando comparados com chagásicos sem megacólon | Ordem quando comparados com chagásicos com megacólon | Nº de neurônios          | Ordem quando comparados com não chagásicos | Nº de neurônios          | Ordem quando comparados com não chagásicos |
| 3427            | 14,5   | 14,5   | 2396                     | 6  | 1660                     | 5  |
| 3975            | 20   | 20   | 2347                     | 5  | 404                      | 2  |
| 3262            | 13   | 13   | 3134                     | 9  | 3164                     | 11   |
| 3427            | 14,5   | 14,5   | 1797                     | 3  | 1045                     | 3  |
| 3221            | 12   | 12   | 3097                     | 8  | 384                      | 1  |
| 3716            | 18   | 18   | 1780                     | 2  | 2586                     | 8,5  |
| 3458            | 16   | 16   | 1482                     | 1  | 2696                     | 10   |
| 2457            | 7  | 7  | 1821                     | 4  | 2556                     | 6  |
| 3593            | 17   | 17   | 3160                     | 10   | 2586                     | 8,5  |
| 3906            | 19   | 19   | 3188                     | 11   | 1472                     | 4  |
| Soma das ordens | 151  | 151  | —                        | 59   | —                        | 59   |

Interessavam-nos também dentro de nossa pesquisa tirar conclusões a respeito de possíveis diferenças que poderiam ocorrer quanto ao número de neurônios dos plexos de Auerbach e de Meissner quando considerássemos os indivíduos sem ou com moléstia de Chagas, e dentro destes os sem ou com megacólon. O método estatístico utilizado para decidir a respeito das comparações foi o teste de WILCOXON<sup>15</sup> para populações dependentes.

Para o grupo não chagásico as hipóteses seriam:

$H_0$ : As populações neuronais dos plexos cólicos de Auerbach e de Meissner não diferem quanto ao número;

dos plexos de Auerbach e de Meissner foi zero. Comparada com o ponto crítico de 5 para  $\alpha = 1\%$  e 10 diferenças pareadas, nos leva a aceitar a hipótese alternativa.

Para o grupo de chagásicos sem megacólon temos a hipótese:

$H_0$ : As populações neuronais dos plexos cólicos de Auerbach e de Meissner não diferem quanto ao número;

$H_1$ : As populações diferem quanto ao número de neurônios.

Para um nível de significância de 1%, somos levados a aceitar a hipótese alternativa (valor observado zero, ponto crítico 5 para 10 diferenças).

Já para o grupo de chagásicos com megacólon não é significativa a diferença entre o número de neurônios das populações dos plexos de Auerbach e Meissner ( $\alpha = 1\%$ , valor observado igual a 12).

#### DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os resultados da presente pesquisa mostram, como era de se esperar, que houve uma redução numérica dos neurônios cólicos em ambos os plexos autônomos, submucoso e mientérico, dos grupos chagásicos. Esta redução parece ter sido maior no plexo mientérico.

Com efeito, nos 10 casos de não chagásicos foram contados os neurônios de 20 cortes escalonados em cada caso e em todos o número de células ganglionares computadas no plexo mientérico foi sempre superior àquela encontrada no plexo submucoso. Porém, nos casos de megacólon chagásico, em 50% dos casos, verificou-se o contrário, ou seja, o número de unidades nervosas encontradas no plexo mientérico era inferior ao do plexo submucoso, se bem que ambos estavam numericamente reduzidos.

Este fenômeno, bastante sugestivo, está ilustrado na Fig. 2 e mostra uma verdadeira "inversão" da relação numérica normal entre os dois plexos nervosos. Isto só seria possível explicar por um comprometimento maior do plexo mientérico.

Esta "inversão" corrobora com a hipótese que invoca a proximidade da musculatura como um fator importante no mecanismo de destruição neuronal na moléstia de Chagas.

#### SUMMARY

*Myenteric and submucous plexuses of the human bowel in Chagas disease.*

A quantitative-comparative study of the ganglion cells of the myenteric and submucous plexuses of the human bowel (sigmoid) was made in thirty cases distributed as follows: ten cases of not chagasic men, ten cases of chagasic men without megacolon and ten cases of chagasic men with megacolon. The results show significant dif-

ference between the not chagasic and the chagasic groups for both the plexuses, and seem to demonstrate a greater destruction of ganglion cells in the myenteric plexus when compared with the destruction of the same cells in the submucous plexus. This results are in consonance with the assumption that states a great importance to the relation of the ganglion cells with the musculature in the mechanism of destruction of these cells in Chaga's disease.

#### REFERÊNCIAS

1. ALCANTARA, F. G. — Experimentelle Chagas-Kardiopathie. *Zschr. Tropenmed. u. Parasitol.* 10:296-303, 1959.
2. BRANDÃO, H. J. S. — Moléstia de Chagas experimental. Estudo quantitativo de neurônios simpáticos e parassimpáticos. *O Hospital* 61:1013-1028, 1962.
3. DUNNETT, C. W. — A multiple comparison procedure for comparing several treatments with a control. *J. Amer. Stat. Assoc.* 50: 1096-1121, 1955.
4. HADDAD, N. & GODOY, R. A. — Valor da medida do tempo de trânsito esofágico como meio de diagnóstico precoce da disperistalse do esôfago em indivíduos chagásicos. *Rev. goiana Med.* 9:45-60, 1963.
5. KÖBERLE, F. — Chagas-Bronchiektasie. *Zschr. Tropenmed. u. Parasitol.* 10:304-308, 1959.
6. KÖBERLE, F. — Die Chagaskrankheit, eine Erkrankung der neurovegetativen Peripherie. *Wien. Klin. Wschr.* 68:333-339, 1956.
7. KÖBERLE, F. — Patogenia da moléstia de Chagas. *Rev. goiana Med.* 3:155-180, 1957.
8. KÖBERLE, F. — Patologia do megacólon adquirido. *Cong. Intern. de Proctologia*, São Paulo, 11 de setembro, 1960.
9. KÖBERLE, F. — Über Enteromegalie. *Zbl. Pathol.* 96:244-259, 1957.
10. KÖBERLE, F. — Zur Lehre von der Herzhypertrophie. *Münch. Med. Wschr.* 99:247-249, 1957.
11. LOMONACO, D. A. — *Estudo da função tireoideana na forma crônica da moléstia de Chagas*. Tese, Fac. de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 1962.
12. MANN, H. B. & WHITNEY, D. R. — On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *Ann. Math. Stat.* 18:50-60, 1947.

13. PENHA, P. D. & KÖBERLE, G. — Megaesôfago chagásico. *Rev. goiana Med.* 5:185-192, 1959.
14. REIS, L. C. F. — *Estudo sôbre anormalidades observadas em curvas glicêmicas na moléstia de Chagas.* Tese, Fac. de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, 1963.
15. SIEGEL, S. — *Non parametric statistics.* Mc Graw-Hill Book Co. Inc., pg. 75, 1956.
16. STEEL, R. R. D. — A multiple comparison rank sum test: treatment versus control. *Biometrics* 15:560-572, 1959.

---

Recebido para publicação em 6 maio 1964.