

## REFLEXIONES PARA EL ACOMPAÑAMIENTO CLÍNICO-TERAPÉUTICO DEL PACIENTE CHAGÁSICO

Edgardo Schapachnik \* Jorge Fernando Yanovsky \*\*

Desde hace más de 40 años una polémica biológica, médica y social tiñe las acciones que han procurado “curar” la enfermedad de Chagas. La convicción que la extinción de la infección por *T. cruzi* constituía la clave para restituir la normalidad en salud, condujo a posiciones terapéuticas y de monitoreo terapéutico diversas, con frecuencia extremas. Tal el caso del destacado científico Zigman Brenner quien sostuvo que no se podía hablar de “cura” mientras no existiese extinción del parasitismo. Su postura estaba dirigida a cuestionar la envergadura de los resultados obtenidos en el tratamiento con el fármaco Premiun de los años '70: el Nifutimox de Bayer<sup>(1)</sup>.

Más recientemente en una postura opuesta que podríamos calificar como “**más humilde**” se ha puesto énfasis en la necesidad de flexibilizar la meta, ajustándola a la aptitud de provocar, no necesariamente extinción, sino decrementos de la masa parasitaria<sup>(2)</sup>. Esta propuesta expuesta desde los propulsores de la “cura” por Benznidazol procura asimilarse al modelo evolutivo-terapéutico instalado en HIV, donde las mejorías clínicas acompañan la incidencia de los fármacos antivirales con decrementos en la masa del agente infeccioso cuantificado por PCR. Ocurre sin embargo en Chagas que hasta ahora este último dato no está asociado a mejoras clínicas.

Es interesante destacar que las posturas precedentes conciben la evolutividad desde el determinismo parasitológico. Para su monitoreo médico sería suficiente la cuantificación parasitaria. A este fin serían relevantes tanto las mediciones biomoleculares (PCR) como las valoraciones inmunoserológicas, que para el caso han sido en extremo exigentes pretendiendo alcanzar como desiderátum de éxito la total extinción de la reactividad contra antígenos del *T. cruzi*. Ello implicaría el agotamiento del estímulo promotor de la respuesta inmune, señal inequívoca de la desaparición de todos los parásitos.

En la reciente comunicación sobre el estudio de la efectividad del Benznidazol en pacientes con manifestaciones de alteraciones en la esfera cardiovascular (PROYECTO BENEFIT)<sup>(3)</sup>, con seguimiento clínico cardiológico esmerado durante los cinco años post-tratamiento, se puso de manifiesto que el fármaco demostró ser de una sustantiva acción parasiticida, pero careció de significación su aptitud para evitar la evolutividad y la muerte<sup>(4)</sup>. La cantidad de sujetos que fallecieron, al cabo de cinco años de seguimiento post-tratamiento, era el mismo para tratados y no tratados. Los resultados del BENEFIT han instalado entre todos los involucrados en la temática una gran desorientación amen de una notable confusión.

Surgen interpretaciones diversas para justificar la ineficacia de la droga en relación a la morbimortalidad. Las iniciativas que proponen para superar el status de adversidad se orientan principalmente a protocolos terapéuticos que priorizan un tratamiento a temprana edad evolutiva de la infección y otros a tratamientos más prolongados.

La argumentación para anticipar el tratamiento parasiticida a las edades más próximas a la primo infección, se han fundado en la “esterilización” parasitológica que se logra en una alta proporción de infecciones agudas o “recientes”. Esto se ha verificado en el tratamiento de los casos de transmisión transplacentaria o perinatal del parásito y en niños con cuadros de infección con tripanosomas de muy corta evolución. Los logros terapéuticos para estos casos llevaron a recomendar que las acciones parasiticidas se extendieran en jóvenes de hasta catorce años, luego ampliada a 18 años con la consigna el “Chagas tiene cura” que tuvo como matriz de aval científico los logros más arriba descriptos. **Sin embargo la aseveración que la extinción parasitaria es sinónimo de capacidad para abortar la enfermedad no pudo ser**

**establecida.** No hubo evaluación evolutiva para períodos sistemáticos muy prolongados. Esto es lo que suele requerir el seguimiento del infectado hasta que se ponen de manifiesto de manera notoria las alteraciones más frecuentes en la enfermedad.

Ahora bien a pesar de lo anteriormente expuesto, se debe tener siempre entendido, como obvio, que la enfermedad solo se instala como tal en sujetos que han sufrido una infección por *T.cruzi* y que no está presente en los sujetos que nunca se infectaron con este parásito. También debe admitirse que la evolución de la infección hasta que se producen manifestaciones de patología fácilmente demostrable puede ser muy prolongada. En un período que se contabiliza por décadas, la infección puede provocar alteraciones biológicas que devengan en agentes de patologías independientes del parasitismo.

Es a la luz de estas eventualidades, como en el caso de los fenómenos autoinmunes, admitidos como uno de los posibles mecanismos patogénicos, que se deberían interpretar y evaluar los resultados de estudios como el BENEFIT y el TRAENA.

Cuando se diseñó el estudio del BENEFIT se adoptó una estrategia de evaluación terapéutica parasiticida sobre estadios de la enfermedad cuyo desenlace podría ocurrir en plazos cortos. Se actuó sobre sujetos con patología cardíaca ya instalada y se monitoreó su evolución durante los cinco años posteriores al tratamiento con el Benznidazol. Esta propuesta fue consistente con la necesidad médica y social de contener la morbimortalidad. También de hacerlo en el menor tiempo posible habida cuenta la dimensión de la endemia y la premura por encontrar rápida solución terapéutica fácilmente extendible al conjunto de los afectados. En relación a su diseño el estudio resultó exitoso. Sin embargo la capacidad para evitar la morbimortalidad dejó latente la inquietud que resaltamos más arriba. La introducción de la terapia parasiticida en un estadio evolutivo en el que ya los fenómenos que provocan patología podrían haberse independizado del parasitismo, no es eficaz en lograrlo. No es que esta cuestión no fue contemplada pero el peso de las convicciones parasitológicas siempre llevó a considerar que aun existiendo mecanismo de agresión inmunológica la presencia de la parasitosis resultaba necesaria para su sustentación.

En el estudio llevado a cabo por el Instituto Nacional de Parasitología Dr. Mario Fatale Chaben<sup>(5)</sup>, con diez años de seguimiento postterapéutico, se concretó en sujetos mayoritariamente sin patología demostrada en un sentido clásico (básicamente alteraciones electrocardiográficas). Al cabo de los 10 años de seguimiento las manifestaciones de lesiones por la infección no fueron significativamente diferentes entre tratados y no tratados. Al igual que en el BENEFIT se pudo establecer la efectividad parasiticida del Benznidazol monitoreado por PCR. En este caso también podrían incidir en los resultados complejidades de diseño habido cuenta el prolongado período de evolución sin patología demostrada. La selección azarosa de los pacientes en una población con diferentes tiempos evolutivos no resulta homogénea y en consecuencia su acompañamiento por 10 años puede resultar insuficiente. El estudio debería haber sido más prolongado si se procuraba hacer más significativa la cantidad de afectados que cambió de status de **sin** a **con** patología demostrada. La cantidad de pacientes ostensiblemente afectados está en el orden de las expectativas que describió Joao Carlos Pinto Dias para la población de Bambuí en los primeros 10 años de infectados. A los 40 años de infección la cantidad de afectados ostensiblemente alcanza ser del 62%<sup>(6)</sup>.

La sospecha que la evolutividad puede independizarse, en cualquier etapa de la acción parasitaria, representa un fuerte cuestionamiento a sustentar como prioridad monitoreos terapéuticos parasitológicos que hasta hace pocos años resultaban incuestionables.

En el libro sobre Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas (1997). Una abordagem prática para o Clínico Geral. Organizado por Joao Carlos Pinto Dias e Jose Rodriguez Couras, J.R. Cançado<sup>(7)</sup> autor del capítulo sobre Terapêutica de Chagas, escribió dos sentencias:

- 1) Objetivo de la terapéutica específica:

Erradicar la infección e ipso facto curar la enfermedad.

Es evidente que al destruir el tripanosoma cruzi en el organismo del paciente, el medicamento cura la infección extinguiendo el agente etiológico, lo que se traducirá en cura clínica de la enfermedad. De acuerdo con este raciocinio toda la patogénica de la enfermedad de Chagas transcurre por la presencia del parásito.

## 2) Criterio de cura

En este trabajo la palabra cura solo tiene esta significación, reversión postoperatoria definitiva y negatividad de los exámenes parasitológicos y serológicos.

En enfermedad parasitaria humana cura presupone cura parasitológica, serológica y clínica, siendo las dos últimas consecuencia de la primera.

La influencia del dogma parasitológico ha sido tal que los infectados tratados en la fase aguda y que resultaron esterilizados parasitológicamente con negativización serológica incluida se consideraron **curados definitivamente** y no se diseñaron seguimientos de largo plazo para asegurar la capacidad de abortar también definitivamente los daños que promueven la morbimortalidad en los que cursan la infección sin tratamiento parasiticida. Es por este motivo que resultan tan sorprendentes los resultados recientemente publicados por Añez et<sup>(8)</sup> que ponen en evidencia patología cardíaca ostensible en sujetos tratados con Benznidazol en la etapa aguda y fueron considerados parasitológica y serológicamente curados a décadas de su primo infección. Más allá de estos resultados **que contradicen el axioma de cura de la enfermedad cuando se logra la negativización serológica**, los resultados del follow-up venezolano son más perturbadores aún. En principio reconocen que a pesar del tratamiento efectivizado en la etapa aguda no se encontraron diferencias significativas entre tratados y no tratados en relación a la instalación de patología cardíaca demostrada con ECG y ECHO. Si bien el grupo control (infectados que no fueron fortuitamente tratados) era pequeño apenas ocho pacientes, no cabe duda que el resultado es consistente con las prevalencias de patología que se observan entre los infectados en general.

En relación a los resultados del BENEFIT, TRAENA y Agudos Tratados y monitorizados hasta 20 años postratamiento, cabe preguntarse. **La afirmación que la cura parasitológica biológica y serológica debe admitirse como sinónimo de cura de la enfermedad ¿habrá sido tan solo un deseo o una ilusión?**

Se torna relevante una amplia reconsideración de las estrategias y protocolos para un acompañamiento terapéutico precoz de la infección cuyo monitoreo se oriente a aquellos marcadores clínicos directamente relacionados con expresión de lesiones o desvíos fisiopatológicos en la regulación de sistemas vitales y cuya instalación resulta igualmente precoz.

En la dirección antes expuesta, se deben privilegiar los siguientes objetivos:

- 1) Abortar, reprimir o deprimir los marcadores asociados directa o indirectamente con las manifestaciones patológicas.
- 2) Que los marcadores sean mensurables precozmente.
- 3) Que las cuantificaciones puedan ser realizadas sistemáticamente y con facilidad.
- 4) Que se propenda a minimizar los efectos secundarios adversos con tratamientos prolongados, privilegiando la extensión de la acción terapéutica por sobre la cantidad de agente terapéutico utilizado.

- 5) Propender a **acrecentar la calidad y la extensión de la vida** de los pacientes propiciando acciones que eviten instalación de patología por sobre la aspiración de “curar etiopatogénicamente” la enfermedad.

A los efectos de los objetivos antes enunciados, describiremos señales evolutivas de la enfermedad (no son los únicos) que más precozmente se expresan asociados con patología y pueden ser objeto de control.

### 1) La disautonomía y los fenómenos disautonómicos

La disautonomía, el desbalance entre los sistemas simpático y parasimpático, siempre fue enunciada entre los cuatro mecanismos participantes en la fisiopatología de la enfermedad de Chagas, en conjunción o siendo el factor predominante en la génesis de la misma, al lado de la disfunción endotelial, los mecanismos autoinmunes y el rol directo del parásito.

Un metaanálisis publicado en 2010 que analizó 7 estudios incluyendo 396 pacientes chagásicos sin cardiopatía demostrada por los métodos usuales de evaluación, consideró la simple maniobra de Valsalva alterada como indicador precoz de disfunción vagal.<sup>(9)</sup>

Esta publicación actual viene a refrendar un viejo conocimiento establecido desde antaño en el estudio de la enfermedad. Fue el investigador brasileño F. Köeberle quien introdujo el concepto de denervación parasimpática<sup>(10)</sup> ya esbozado en comunicaciones previas de la década del 50’.

Y desde entonces, en 1968 y hasta la actualidad esta noción se reitera y adquiere relevancia, en función de las nuevas técnicas que permiten su evaluación más refinada.

Así, en 1968 Amorin publica en *Circulation* los efectos de la elevación aguda de la TA como estímulo bradicardizante y la inyección de atropina, como bloqueador de dicho efecto para concluir que en los pacientes chagásicos, no se observa una respuesta opuesta de la atropina, como sería de esperar, y concluye que en los mismos este fenómeno puede atribuirse a la denervación parasimpática<sup>(11)</sup>.

Los mismos autores publican al año siguiente su hipótesis de la degeneración de los nervios cardíacos en la enfermedad<sup>(12)</sup>, en 1970 cómo realizar la evaluación clínica del sistema nervioso parasimpático del corazón.<sup>(13)</sup> y en sucesivos trabajos, cómo realizar el estudio funcional de estos pacientes.<sup>(14,15)</sup>

Años más tarde, enfocados en los efectos del SN autónomo sobre el corazón de estos pacientes, en estadios precoces de la enfermedad, utilizan la ergometría para terminar afirmando que sus resultados son acordes con los postulados de la denervación neuronal y el deterioro autonómico, al encontrar una respuesta pobre al ejercicio en cuanto al incremento de la FC y una respuesta anormal al bloqueo farmacológico y en la que categorizan como “*resistencia vascular sistémica*”<sup>(16)</sup>. Idénticas afirmaciones en cuanto al compromiso nervioso autónomo extraen utilizando la prueba del tilt test.<sup>(17, 18)</sup>

En nuestro país, el grupo cordobés de Caeiro, Palmero e Iosa, aportan sus hallazgos confluyentes con los del grupo brasileño<sup>(19, 20)</sup>, al punto que años más tarde, Iosa propone utilizar el término de “*cardioneuromiopatía*” sintetizando que la disautonomía sería el principal responsable de la progresión de la enfermedad, medible por un progresivo bloqueo del receptor alfa.<sup>(21)</sup>

Estos investigadores argentinos, sin embargo, llegan a conclusiones opuestas a las del grupo brasileño, ya que utilizando también el tilt test, concluyen que la vía alterada sería

la simpática y no la parasimpática. <sup>(22)</sup>

Esta es tan solo una aparente contradicción. La relación simpático –parasimpático es muy compleja, como para afirmar con un único test dónde localizar la disautonomía, sobre todo si se presta atención a diferentes actores, cuáles podrían ser la FC (nódulo sinusal) y la respuesta presora (reflejo baroreceptor). Muy posiblemente ambas conclusiones son válidas y requieren una reflexión meticulosa que permita dar cuenta de tal aparente contradicción. Es posible, al analizar el rol de los anticuerpos antimuscarínicos y la distinta distribución de los receptores M2 en aurículas y ventrículos, se avance en la comprensión de este intrincado fenómeno, que por ahora nos permite afirmar, que **la disautonomía compromete a ambas ramas del SN autónomo: la simpática y la parasimpática.**

El grupo venezolano de Carrasco y cols, estudiando la función del nódulo sinusal y la conducción A-V en 143 pacientes chagásicos cursando distintos estadios de la enfermedad (desde aquellos sin manifestaciones clínicas, hemodinámicas y angiográficas, hasta aquellos otros con avanzado daño) encuentran evidencias crecientes de alteración en la inervación autonómica, desde el 3 al 33% respectivamente) <sup>(23)</sup>

Todos estos hallazgos llevan a Amorim y cols a afirmar ya en 1982, que la enfermedad de Chagas es un modelo de denervación espontánea que puede ser usado para evaluar en el hombre el control autonómico de la función cardíaca. <sup>(24)</sup>

Pereira y cols postulan que la anormal respuesta cronotrópica ante el ejercicio, como manifestación precoz de disautonomía, podría ser un indicador indirecto de la presencia de Enfermedad de Chagas en sujetos provenientes de área endémica. <sup>(25)</sup>

Una vez más, el grupo de Amorim postula el uso de la sensibilización del reflejo baroreceptor mediante la infusión de fenilefrina y nitritos para evaluar la presencia de disautonomía parasimpática cuando los test convencionales (maniobra de Valsalva u otros) no los ponen en evidencia, postulando entonces la existencia de una **disautonomía latente.** <sup>(26)</sup>

En 1985, Oliveira y cols proponen un modelo post-mortem para evaluar la capacidad del árbol coronario mediante inyección standarizada de un compuesto de barrio gelatinoso en corazones normales, cardiopatías chagásicas y corazones hipertróficos, observando que los correspondientes a los pacientes chagásicos presentaban un significativo incremento de la capacidad del árbol coronario que atribuyen a predominio simpático por denervación parasimpática. <sup>(27)</sup>

Pires y Pereira inyectando isoproterenol en ratas previamente infectadas con T. Cruzi, observan que al cabo de 180 días, -cuando ya se estaría cursando un estadio crónico de la infección-, una hiperreactividad producto de aquella inyección que hablaría, -según postulan los autores- de un cambio cuanti o cualitativo en los receptores beta auriculares inducidos por el parásito. <sup>(28)</sup>

Sousa y cols, del grupo de Amorim, estudian el efecto del ejercicio isométrico (handgrip) en pacientes portadores de la forma digestiva de la enfermedad y observan que la respuesta cronotrópica es significativamente menor que en el grupo control lo cual es interpretado una vez más como manifestación de disautonomía a nivel cardíaco en pacientes sin manifestaciones visibles de daño en el corazón. <sup>(29, 30)</sup>

La década del 90' se inicia en este campo con una publicación de Junqueira Jr. que

muestra en su trabajo como variados grados de disautonomía pueden ser evaluados mediante la maniobra de Valsalva, midiendo las variaciones del intervalo R-R; una vez más el autor subraya la denervación parasimpática como responsable de estos hallazgos. (31)

**Este mismo autor, llama la atención por primera vez en la literatura referente a enfermedad de Chagas, sobre la relación entre la disautonomía y la Muerte Súbita. (32)**

Dávila, por el contrario, no deja de hallar manifestaciones de denervación por destrucción de las sinapsis postganglionares vagales, aunque atribuye estos hallazgos como mecanismo compensador que aparecería posteriormente a la instauración de las más tempranas manifestaciones de dilatación ventricular izquierda. (33)

Chapadeiro y cols, en un estudio experimental en ratas, encuentra ganglionitis, aunque no significativa reducción en el número de neuronas parasimpáticas. (34)

En 1991, desde la Universidad de Milán, Italia, Mallani y cols llaman la atención sobre la importancia de evaluar el control neurogénico sobre la función cardíaca, observando la variabilidad tanto de la FC como de la TA subrayando que los componentes de baja frecuencia serían marcadores de modulación simpática, mientras que los de alta frecuencia lo serían de la modulación vagal, e incluyen en su serie de entidades donde estos preceptos deberían ser aplicados, a la diabetes, los corazones trasplantados y la Enfermedad de Chagas. (35)

Marin Neto, en 1992, por primera vez **relaciona el anormal control parasimpático con las alteraciones de la microcirculación**, en un estudio de perfusión miocárdica utilizando Talio 201 en 23 pacientes chagásicos portadores de dolor precordial. (36)

Junqueira Jr, también en 1992, muestra por primera vez en un modelo experimental en ratas infectadas cursando la fase crónica de la enfermedad, la disautonomía manifestada por disminución de la bradicardia baroreceptora refleja, similar a lo observado en los pacientes chagásicos, lo cual se debió a un compromiso de la rama eferente vagal por lesión neuroganglionar intrínseca. (37)

Incluso la denervación parasimpática del iris fue sugerida por Idiaquez al observar una exagerada respuesta dilatadora a la pilocarpina en 45 pacientes chagásicos. (38)

Davila, pregunta, si no correspondería la utilización de drogas “simpaticolíticas” al inferir un predominio simpático secundario a la denervación parasimpática. (39)

Entre 1994 y 1997, Sterin-Borda y Borda y cols publican varios trabajos donde ponen de manifiesto el rol que juegan anticuerpos contra receptores ya sea beta adrenérgicos o M2, antimuscarínicos, con capacidad, aún en sujetos parasitados sin manifestaciones de enfermedad de bloquear los receptores específicos de los linfocitos y de las células miocárdicas, con propiedades farmacodinámicas, que en el caso de los anticuerpos anti M2 tendrían un efecto similar al que produce la infusión de acetilcolina y son bloqueados por la inyección de atropina. (40-43). Estos autores, en 1999 señalan la relación entre la detección de anticuerpos anti M2 con la presencia de bradicardia y otras manifestaciones disautonómicas. Plantean una relación lineal entre fenómenos de autoinmunidad y la patogenia de la que –tomando el término propuesto por losa- llaman cardioneuromiocardopatía chagásica. (44) Y además, dejan entrever, que la “denervación simpático y parasimpática” sería un fenómeno inmunológico de bloqueo de los correspondientes receptores por anticuerpos antireceptor beta y muscarínico

respectivamente. <sup>(45)</sup>

Baroldi y cols presentan en 1997 sus interesantes hallazgos de anatomía patológica de los corazones de 34 sujetos chagásicos fallecidos en forma súbita sin que previamente manifestaran manifestaciones de enfermedad, es decir, tomado la propia denominación usada por los autores, en la fase “silente” de la enfermedad. El análisis cuantitativo de estos corazones mostró extensos infiltrados linfocíticos y daño miocárdico típico de cardiotoxicidad catecolaminérgica. Los autores explican estos hallazgos como debidos a una denervación parasimpática focal, con asinergia regional y consecutiva respuesta hiperadrenérgica compensadora, con miotoxicidad y desencadenamiento de arritmias malignas. <sup>(46)</sup>

Simões y cols, utilizando yodo-123 (I-123) metayodobencilguanidina (MIBG) y talio-201, en estudios de perfusión Spect concluyen de acuerdo a los hallazgos encontrados tanto en grupos de pacientes chagásicos sin y con signos de cardiopatía manifiesta, una asociación significativa entre la perfusión, la inervación autonómica y anomalías de la movilidad parietal. <sup>(47)</sup>

Estudiando la relación espiración – inspiración en relación a la arritmia sinusal respiratoria y la variabilidad de la frecuencia cardíaca mediante Holter de 24 horas, en pacientes chagásicos sin disfunción ventricular izquierda, comparados con sujetos normales, Ribeiro y cols concluyen que la disautonomía parasimpática demostrada en el grupo chagásico **es un fenómeno precoz que precede a la disfunción ventricular**. <sup>(48)</sup>

En 2003, este mismo autor propone utilizar el análisis de la **turbulencia de la frecuencia cardíaca** para evaluar la función autonómica concluyendo que el inicio de la turbulencia (Turbulence onset, TO) se halla alterado en todos los grupos de pacientes incluidos en su investigación. <sup>(49)</sup> La utilidad de esta evaluación en la Enfermedad de Chagas también es propuesta por Bauer y Schmidt, Francis y cols y el grupo italiano de Tundo y cols. <sup>(50-52)</sup>

Cunha y cols, estudiaron los niveles de norepinefrina circulante y la variabilidad de la frecuencia cardíaca evaluada por Holter concluyendo que dichos niveles en los pacientes portadores de Enfermedad de Chagas en un estadio avanzado de la afección cardíaca (grupo III) no se incrementaron tanto como acontece en los pacientes cardiopatas de otras etiologías con un grado similar de afectación cardíaca, lo que podría interpretarse como un deterioro del sistema nervioso simpático, pero simultáneamente el aumento en los niveles en los grupos IA y IB (estadios precoces) puede ser interpretado como un deterioro temprano del sistema nervioso autónomo (simpático). **La VFC se redujo en los pacientes, pero el índice que refleja la actividad parasimpática (pNN50 y rMSSD) se preservaron en casi todos los pacientes. Sin embargo, el índice pNN50 se redujo en el grupo IA, lo que sugiere que la disautonomía parasimpática puede ser un fenómeno temprano y puede preceder a disfunción sistólica ventricular izquierda**. <sup>(53)</sup>

El mismo autor, presenta una review del conocimiento sobre la disfunción autonómica hasta el año 2003 en la misma publicación, sintetizando los aportes, no todas las veces concordantes de las escuelas brasilera, argentina y venezolana. <sup>(54)</sup>

Utilizando variados test para evaluar el SNA, como la VFC, la hiperventilación, el test de frío sobre la cara y el puño, la maniobra de Valsalva y el reflejo baroreceptor sensibilizado con inyección de nitroprusiato y fenilefrina, Villar y cols concluyen que es posible detectar precoces manifestaciones de disautonomía vagal en los pacientes chagásicos y proponen estas evaluaciones para la detección de lo que denominan

“enfermedad subclínica”.<sup>(55)</sup>

También midiendo los cambios producidos en el ECG durante el test de ortostatismo, Ribeiro y cols concluyen que en los pacientes chagásicos con FV preservada hay una significativa reducción en los índices vagales.<sup>(56)</sup>

Molina y cols, en 2006, estudian la relación entre la VFC medida por Holter e índices de FV derecha e izquierda en un grupo de pacientes “indeterminados” y llegan a la conclusión que los pacientes estudiados presentan alterada la VFC y muestran signos precoces de disfunción diastólica del VI, pero no del VD, siendo para ellos, estos hallazgos independientes entre sí.<sup>(57)</sup>

La función cronotrópica fue evaluada en un protocolo que incluyó pacientes chagásicos ambulatorios en los que se descartó la disfunción ventricular izquierda por la medición del péptido natriurético cerebral (BNP). El estudio incluyó la realización de test ergométrico, ecocardiograma Doppler, evaluación de la VFC mediante Holter. En todos los pacientes chagásicos se detectó un déficit cronotrópico, más importante en los pacientes con formas clínicas más avanzadas, interpretándose, los hallazgos como una temprana manifestación de disfunción autonómica.<sup>(58)</sup>

Una vez más, Ribeiro y cols aportan al estudio de la disfunción autonómica realizando una correlación entre el hallazgo de anticuerpos antireceptor M2 y la VFC. Al finalizar su estudio, concluyen que existe una fuerte correlación negativa entre ambos factores, lo cual es altamente sugestivo de un efecto inhibitor de los anticuerpos sobre la función parasimpático.<sup>(59)</sup>

La frondosa bibliografía que es citada, muestra la reiterada evidencia de presencia de **disfunción autonómica**, que como es conocido puede ser el **sustrato de arritmias ventriculares malignas y MS** en pacientes hasta ahora catalogados como “portadores sanos” o denominaciones sinónimas.

Sin embargo, Adrián Baranchuk, en una discusión llevada a cabo en el FIAI (Foro Iberoamericano de Arritmias en Internet) restaba poder de asociación a la VFC como factor de riesgo de MS, señalando que *“la VFC ha fracasado como predictor de MS y NINGÚN estudio randomizado utilizando VFC .... resultó exitoso para identificar pacientes de alto riesgo”*.<sup>(60)</sup>

En idéntico sentido se expresaba el Dr. Andrés R. Pérez Riera<sup>(61)</sup> haciendo mención a un reciente consenso coordinado por el Dr. Malek Marik<sup>(62)</sup>

En el mismo debate se aportó acerca del distinto peso a los efectos de generar evidencias que tienen los estudios aleatorizados, los consensos y los estudios observacionales, señalándose que estos últimos, si bien no constituyen evidencia de peso, no deben ser descartados del análisis, a lo cual se agregó un breve análisis de un reciente estudio observacional que correlacionó la sensibilidad del reflejo baroreceptor (SRB) con la presencia y complejidad de arritmias ventriculares<sup>(63)(64)</sup>

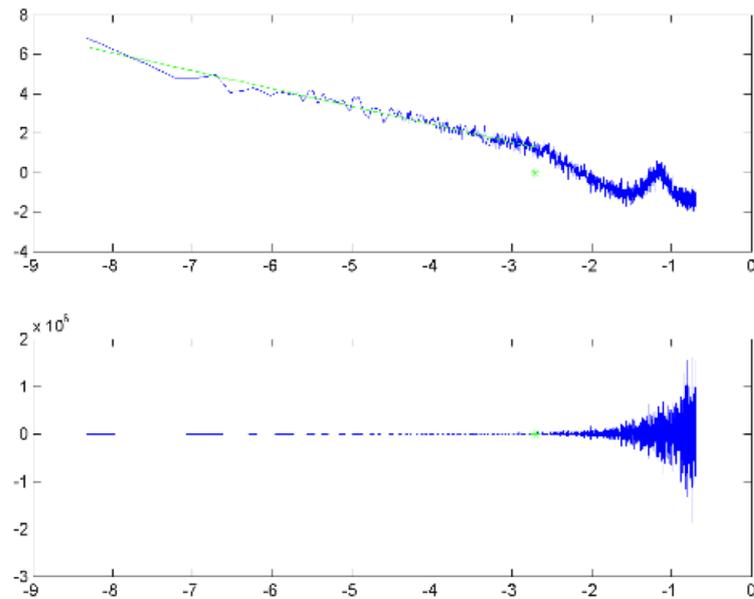
### **Análisis de los fenómenos no lineales asociados a la VFC**

Asimismo, existe abundante evidencia científica<sup>(65-71)</sup> que indica que la propagación del impulso eléctrico a través del músculo cardiaco es un fenómeno no-lineal que tiene lugar en un medio extendido de características excitables. Se acepta que la interacción o acoplamiento de este sistema autónomo con otros sistemas de control (hormonal, neuronal, etc) subyace como causa de la alta complejidad que presenta la variabilidad de

la frecuencia cardíaca (VFC). Una manifestación inmediata de tal complejidad puede verse en el espectro de potencias de la VFC,  $S(f)$ , que exhibe propiedades de escala expresadas como:

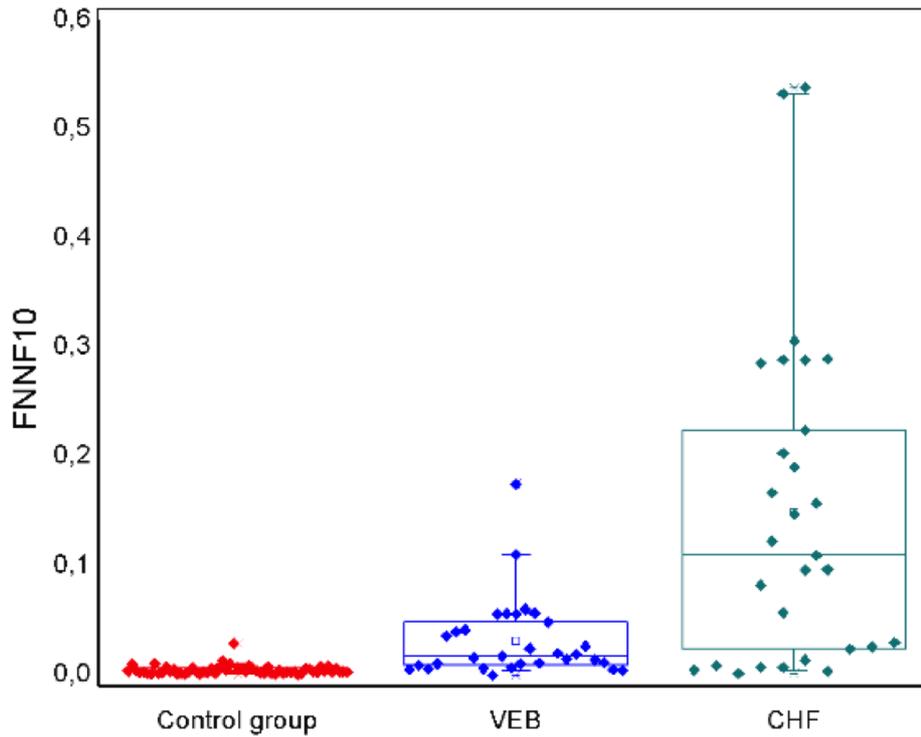
$$S(f) \propto f^{-\beta}$$

(ver Gráfico 1). El parámetro  $\beta$  se ha utilizado para caracterizar las propiedades de escala de la VFC, encontrándose variaciones significativas en ciertas patologías como Insuficiencia Cardíaca, Miocardiopatía Chagásica, etc .



**Gráfico 1:** Arriba: Comportamiento de Ley de escala del espectro de potencias de la VFC de un individuo sano. Abajo: Método para determinar  $\beta$ .

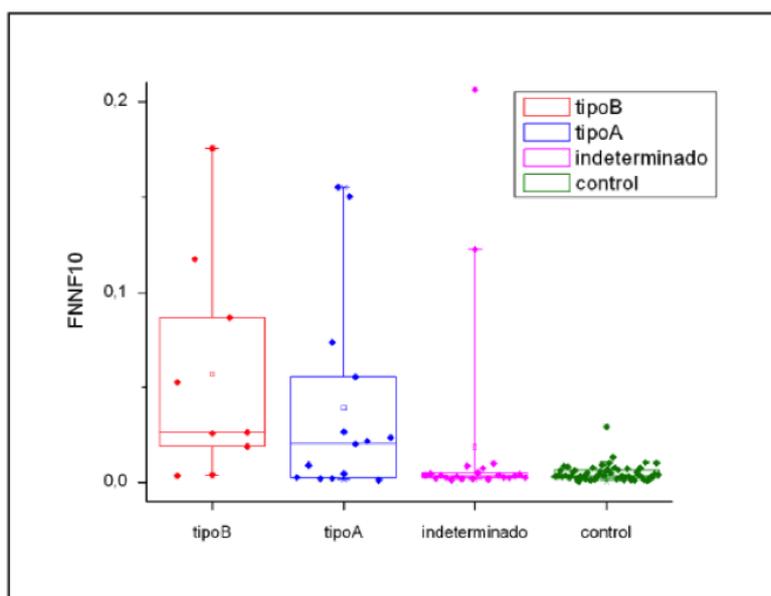
El Grupo de Sistemas Complejos del Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas realiza desde hace unos 15 años investigaciones relacionadas con el estudio de las propiedades complejas de la Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca. Se ha demostrado una relación entre el número de extrasístoles ventriculares y la dimensión de encaje (EDIM) de la VFC, una magnitud que refleja el grado de aleatoriedad de la señal electrocardiográfica. La dimensión de encaje está alterada también en pacientes con Insuficiencia Cardíaca Congestiva. En base a estos resultados se ha desarrollado un indicador de disautonomía, el FNNF10, obtenido a partir del monitoreo Holter. El índice FNNF10 ha sido testeado en pacientes con insuficiencia cardíaca, extrasistolia ventricular y extrasistolia supraventricular (ver Gráfico 2)



**Gráfico 2:** Comportamiento del índice FNNF10 para individuos con arritmia ventricular e individuos con Insuficiencia Cardíaca Congestiva.

En Chagas encuentran que el índice FNNF10 muestra una progresión con el avance de la enfermedad (Gráfico 3).

Estos hallazgos, así como investigaciones en curso sobre población pediátrica permiten postular que el índice FNNF10 es sensible a desbalances autonómicos. Y que particularmente podría utilizarse como indicador precoz de disautonomía chagásica.



**Gráfico 3:** Comportamiento del índice FNNF10 para individuos chagásicos cursando la fase crónica sin evidencias de patología demostrada (ex fase indeterminada) y con patología demostrada definidas como Tipo A (alteraciones eléctricas) y tipo B (alteraciones estructurales)

El cálculo de las características Complejas de la VFC puede realizarse en forma robusta sobre registros electrocardiográficos dinámicos (Holter) en intervalos de 24 horas. Los registros deben satisfacer controles de calidad previamente establecidos que incluyen criterios de calidad del material y equipamiento utilizados, análisis de los registros y calidad final de la serie temporal utilizada, criterios de calidad del software utilizado en el cálculo, etc.

En la misma orientación se expresa el grupo de estudio del Laboratorio de Fisiología Autónoma de la Fundación Cardiovascular de Colombia a la sazón dirigido por Carlos Morillo. En la introducción a su trabajo "Alteraciones en la dinámica no lineal de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en diferentes estadios de la enfermedad de Chagas"<sup>(72)</sup> afirman: "Estudios previos realizados en nuestro laboratorio se ha documentado alteraciones tempranas importantes en el balance autonómico cardiaco caracterizadas inicialmente por un incremento relativo del tono simpático con una disminución progresiva del tono vagal que termina en una denervación total con alteración de los reflejos cardiovagales. Esta alteración en la modulación de los reflejos cardiovagales contribuye a la manifestación clínica de arritmias ventriculares malignas y muerte súbita.

Recientemente la evaluación de la dinámica de la periodicidad del intervalo RR, basada en el análisis de la dinámica no lineal de la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC) usando modelos matemáticos, ha mostrado ser una herramienta útil para la estratificación y predicción muerte súbita en enfermedad cardiovascular. La pérdida de la complejidad de la VFC puede ser explicada por severas alternaciones en la modulación que ejerce el sistema nervioso autónomo sobre la actividad eléctrica del corazón"

Todo lo comentado hasta aquí sustenta la necesidad de desarrollar nuevos protocolos para evaluar la función autonómica que permitan detectar marcadores precoces de riesgo de Muerte Súbita.

## 2) Los anticuerpos antimuscarínicos

Representan una respuesta inmune contra antígenos del parásito que mimetizan secuencias peptídicas del segundo loop del receptor muscarínico. Se ha podido demostrar que anticuerpos monoclonales contra fracciones antigénicas del *T. curzi* cruzan reactivamente con secuencias peptídicas del M2. In-vivo – in-vitro se ha establecido que tanto en corazón aislado de rata o por perfusión de las coronarias de corazón aislado de conejo, los Ac anti-M2 se comportan como un agonista de tipo acetilcolínico cuya acción puede ser bloqueada por la atropina<sup>(73,74)</sup>.

La aparición de Ac M2 y su persistencia no serían triviales a los efectos del deterioro evolutivo en la infección:

2.1 Está demostrado experimentalmente que su neutralización reactiva en ratones infectados, por suministro intraperitoneal del péptido que representa mejor la antigenicidad del M2, impide la instalación o promueve la regresión de los fenómenos inflamatorios que caracterizan el período agudo y crónico de la enfermedad experimental<sup>(75)</sup>.

2. Ha sido descrito que su aparición es tan precoz como la de los anticuerpos específicos contra el parásito alcanzando a estar presente rápidamente, hasta en el 60% de los infectados recientes<sup>(76)</sup>. Descenderían en la fase crónica temprana y volverían a crecer en la fase crónica tardía<sup>(77)</sup>.
3. Está asociado a alteraciones precoces en la variabilidad de la frecuencia cardíaca<sup>(78)</sup>.
4. Está asociado a trastornos de la repolarización expresados en los incrementos del QT<sup>(79-80)</sup>. El 95% de los que padecen esta alteración se detectan anticuerpo Anti M2.

Está asociado a la aparición e incremento de las áreas eléctricamente inactivas que se observan en el corazón de los enfermos de Chagas crónicos.

Está descrito su asociación con el **agravamiento evolutivo** de la enfermedad<sup>(81-82)</sup>.

5. Está demostrado en la miocardiopatía idiopática dilatada y/o hipertrófica una enfermedad que cursa con mucha similitud a la miocardiopatía chagásica, que la sustracción de los anticuerpos antireceptores a neurotransmisores, tanto muscarínicos como adrenérgicos mejoran los desvíos hemodinámicos, **en pocas horas**. Esto revela indirectamente su actuación de tipo humoral farmacológica<sup>(83)</sup>.
6. Su presencia crece con la evolución de la infección llegando a encontrarse en algunos grupos de infectados en más del 50% de los individuos afectados<sup>(80)</sup>.
7. Datos recientes sugieren que su susceptibilidad a la acción de los fármacos parasiticidas es significativamente mayor que la de los anticuerpos específicos contra el parásito. La serología para anti M2 se negativizaría más rápidamente luego del tratamiento con Benznidazol. Esto podría deberse a la baja afinidad del anticuerpo por el péptido que lo hace fácilmente dissociable con sales de amonio cuaternario (cloruro de colina)<sup>(84)</sup>. Las moléculas reactivas de baja afinidad disminuyen rápidamente su interacción con el antígeno cuando cae la persistencia de la infección o el estímulo antigénico que lo promueve. En una reciente presentación de Andrés Ruiz y Col. sobre 38 niños infectados con *T. cruzi* con edades entre 2 y 14 años, tratados con Benznidazol, 5mg/Kg 60 días, pudo detectarse antes del tratamiento anticuerpos antimuscarínicos M2 en 16/38 de ellos (42%). En el monitoreo posterior al suministro del fármaco, el número de niños reactivos fue solamente de 3/38 (7,8%) entre los 6 y los 24 meses postratamiento <sup>(85)</sup>.
8. En una carta al editor del International Journal of Cardiology Anissa Daliry y et al del grupo conducido por A.C. Campos de Carvalho, informan que el tratamiento con Benznidazol en perros experimentalmente infectados con tripomastigotes de *T. cruzi* logra modular la respuesta de anticuerpos para receptores a neurotransmisores tanto beta adrenérgicos como muscarínicos. Afirman que la regresión de los títulos de estos anticuerpos es convergente con mejoras en el electrocardiograma en el período crónico de la infección de los canes. Entretanto si la respuesta de anticuerpos no decae tampoco se modifica el cuadro electrocardiográfico <sup>(86)</sup>

Las expresiones disautonómicas con hiperactividad relativa simpática y depresión parasimpática, sumada a la presencia de anticuerpos antireceptores de tipo muscarínicos M2, se constituyen en signos precoces de patología. Ambos dos son aptos para provocar alteraciones fisiopatológicas en los sistemas neurovegetativo y cardiocirculatorio. Este cuadro permite afirmar su uso como marcadores evolutivos de la infección y de las modificaciones que puede traer aparejada la corrección del desvío, sea este por supresión, depresión o sustracción de los mecanismos o moléculas actuantes.

En el caso particular de los anticuerpos antimuscarínicos es pertinente recordar las modificaciones en los títulos de estos anticuerpos cuando se actúa sobre ello directa o indirectamente. Probablemente el hecho más notorio sea la propensión a la negativización reactiva de la actividad antireceptor muscarínicos M2 en los pacientes infectados tratados con Benznidazol especialmente perceptible en niños con infección crónica temprana. Destacamos la comunicación de esta modulación en perros experimentalmente infectados y su correlato en la mejora evolutiva del electrocardiograma.

Respecto de la misma respuesta, que podría entenderse, como ya describimos, contra el parásito pero que mimetiza contra secuencias peptídicas del segundo loop de los receptores a neurotransmisores. Esta reactividad cruzada no específica explicaría la baja afinidad para el antígeno neurovegetativo y su fácil disociación/negativización. Se puede suponer que la persistente interacción entre anticuerpos anti M2 y este antígeno conlleve a su liberación en la circulación, acompañada de una ruptura de la tolerancia inmunológica del propio receptor y un posible hallazgo tardío de anti M2 de mayor afinidad y especificidad con el receptor pertinente.

La sustracción de la circulación de las inmunoglobulinas mediante columnas de afinidad con el fragmento FC de IgG como señalamos, ya ha sido exitosa en el caso de la miocardiopatía idiopática dilatada, permite suponer que lo mismo se podría lograr en el caso de Chagas.

El alto costo de estas columnas, estimadas al presente en unos 20.000 dólares y su uso restringido a un solo paciente, aunque se pueda desorber y reactivar el absorbente muchas veces, la hace por ahora casi inviable para su uso en pacientes chagásicos. Aun así la sustracción de autoanticuerpos se puede lograr con un elevado nivel de eficiencia mediante la plasmaféresis. Esta metodología ha sido ampliamente utilizada para sustraer anticuerpos contra receptores a acetilcolina en la miastenia gravis y también autoanticuerpos diversos en el Guillain Barre.

Estamos sugiriendo la elaboración de protocolos terapéuticos, que monitoreados mediante los dos mencionados marcadores, estén diseñados para:

- 1) El empleo aislado de las drogas parasiticidas,
- 2) la sustracción de los anticuerpos por plasmaféresis y
- 3) la combinación con uso simultáneo de ambas.

#### **Bibliografía:**

1 –Brener Z, Cancado JR. Terapeutica en Tripanosoma cruzi e Doenza de Chagas, Zigman Brener e Zilton A. Andrade, 1997. Pág. 407. Guanabara Koogan.

2 – Sguassero Y, Cuesta CB, Roberts KN, Hicks E, Comandé D, Ciapponi A, Sosa-Estani S. Course of chronic trypanosoma cruzi infection after treatment based on parasitological and serological tests: A systematic review of follow-up studies – PLOS ONE, DOI:10.1371 October 5,2015.

3 –Morillo CA,Marin-Neto JA,Avezum A,Spsa-Estani S,Rassi Jr A,çRosas F,Villena E, Quiroz R – Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas´cardiomyopathy – The New England Journal of Medicine p1-12 September 1,2015.

4 -Morillo CA,Marin-Neto JA,Avezum A,Spsa-Estani S,Rassi Jr A,çRosas F,Villena E, Quiroz R – Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas´cardiomyopathy – The New England Journal of Medicine p1-12 September 1,2015.

- 5 - Riarte A, Velazquez E, Prado N, Schijman AG, Ramirez JC, De Rissio AM, Hernandez Y, Esteva MI, Luna C, Sinagra A, **Ruiz AM**. (2012). TRAENA: Tratamiento en pacientes Adultos. Una evaluación preliminar de un ensayo clínico aleatorizado con Benznidazol en la enfermedad de Chagas crónica. ISGlobal, Barcelona Institute for Global Health. VIII Taller sobre la enfermedad de Chagas importada. Avances en el tratamiento antiparasitario: [www.isglobal.org](http://www.isglobal.org). pág: 30-37.
- 6 – Díaz JC P Doença de Chagas em Bombui. Minas Gerais. Brasil. Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda entre 1940 a 1982. Tese de doutorado. Faculdade de Medicina UFMG. Belo Horizonte. MG 376 p 1982
- 7- J.Romeu Cancado . Terapeutica específica em Clinica e Terapeutica Da Doença de Chagas. Organizadores Joao Carlos Pinto Dias e José Rodrigues Coura.
- 8- Añez A, Crisante G, Rojas A, Araujo S, Liuzza A, Mezza J, Parada H. A Follow-Up Study of Chagasic Patients with Special Reference to Trypanosoma cruzi Persistence and Criteria of Chagas Disease Cure. International Journal of Clinical Medicine Research 2015;2(3):20-29
- 9- Ribeiro AL, Campos MS, Baptista LM, de Sousa MR. The Valsalva maneuver in Chagas disease patients without cardiopathy. Clin Auton Res. 2010 Apr;20(2):79-83. Epub 2009 Nov 26.
- 10- Köberle F. Chagas' disease and Chagas' syndromes: the pathology of American trypanosomiasis. Adv Parasitol. 1968;6:63-116.
- 11- Amorim DS, Godoy RA, Manço JC, Tanaka A, Gallo L Jr. Effects of acute elevation in blood pressure and of atropine on heart rate in Chagas' disease. A preliminary report. Circulation. 1968 Aug;38(2):289-94.
- 12- Manço JC, Gallo L Jr, Godoy RA, Fernandes RG, Amorim DS. Degeneration of the cardiac nerves in Chagas' disease. Further studies. Circulation. 1969 Dec;40(6):879-85.
- 13- Manço JC, Gallo L Jr, Amorim DS Clinical evaluation of the parasympathetic nervous system in chronic Chagasic heart disease. Arq Bras Cardiol. 1970 Apr;23(2):79-84.
- 14- Amorim DS, Manço JC, Gallo L Jr. Functional study of the circulation in chronic Chagas' heart disease. I. Arq Bras Cardiol. 1971 Feb;24(1):43-53
- 15- Amorim DS, Manço JC, Gallo L Jr. Functional study of the circulation in chronic Chagas' heart disease. 3. Arq Bras Cardiol. 1971 Jun;24(3):53-75.
- 16- Gallo L Jr, Neto JA, Manço JC, Rassi A, Amorim DS. Abnormal heart rate responses during exercise in patients with Chagas' disease. Cardiology. 1975;60(3):147-62.
- 17- Neto JA, Gallo L Jr, Manço JC, Rassi A, Amorim DS. Postural reflexes in chronic Chagas's heart disease. Heart rate and arterial pressure responses. Cardiology. 1975;60(6):343-57.
- 18- Marin Neto JA, Gallo L Jr, Manco JC, Rassi A, Amorim DS. Mechanisms of tachycardia on standing: studies in normal individuals and in chronic Chagas' heart patients. Cardiovasc Res. 1980 Sep;14(9):541-50.
- 19- Caeiro TF, Palmero HA, Iosa D. Baroreceptor reflex in Chagas disease. Medicina (B Aires). 1980;40 Suppl 1:27-32.
- 20- Palmero HA, Caeiro TF, Iosa DJ. Distinctive features of the cardiomyopathy in Chagas disease. Medicina (B Aires). 1980;40 Suppl 1:234-6.
- 21- Iosa D, DeQuattro V, Lee DD, Elkayam U, Palmero H. Plasma norepinephrine in Chagas' cardioneuromyopathy: a marker of progressive dysautonomia. Am Heart J. 1989 Apr;117(4):882-7.

- 22- Palmero HA, Caeiro TF, Josa DJ. Distinctive abnormal responses to tilting test in chronic Chagas' disease. *Klin Wochenschr.* 1980 Dec 1;58(23):1307-11
- 23- Carrasco HA, Mora R, Inglessis G, Contreras JM, Marval J, Fuenmayor A. Study of sinus node function and atrioventricular conduction in patients with chagas disease. *Arch Inst Cardiol Mex.* 1982 May-Jun;52(3):245-51.
- 24- Amorim DS, Manço JC, Gallo L Jr, Marin Neto JA. Chagas' heart disease as an experimental model for studies of cardiac autonomic function in man. *Mayo Clin Proc.* 1982 Jul;57 Suppl: 48-60.
- 25- Pereira MH, Brito FS, Ambrose JA, Pereira CB, Levi GC, Neto VA, Martinez EE. Exercise testing in the latent phase of Chagas' disease. *Clin Cardiol.* 1984 May;7(5):261-5.
- 26- Junqueira Júnior LF, Gallo Júnior L, Manço JC, Marin-Neto JA, Amorim DS. Subtle cardiac autonomic impairment in Chagas' disease detected by baroreflex sensitivity testing. *Braz J Med Biol Res.* 1985;18(2):171-8.
- 27- Oliveira JS, dos Santos JC, Muccillo G, Ferreira AL. Increased capacity of the coronary arteries in chronic Chagas' heart disease: further support for the neurogenic pathogenesis concept. *Am Heart J.* 1985 Feb;109(2):304-8.
- 28- Pires JG, Pereira FE. *Trypanosoma cruzi* (CL strain) infection in mice changes the chronotropic effect of isoproterenol in vitro. *Braz J Med Biol Res.* 1987;20(3-4):445-7.
- 29- Sousa AC, Marin-Neto JA, Maciel BC, Gallo Júnior L, Barreto-Martins LE, Amorim DS. Use of isometric exercise to demonstrate cardiac parasympathetic impairment in the digestive form of Chagas' disease. *Braz J Med Biol Res.* 1987;20(6):781-3.
- 30- Sousa AC, Marin-Neto JA, Maciel BC, Gallo L Jr, Amorim DS. Cardiac parasympathetic impairment in gastrointestinal Chagas' disease. *Lancet.* 1987 Apr 25;1(8539):985.
- 31- Junqueira Júnior LF. Ambulatory assessment of cardiac autonomic function in Chagas' heart disease patients based on indexes of R-R interval variation in the Valsalva maneuver. *Braz J Med Biol Res.* 1990;23(11):1091-1102.
- 32- Junqueira Júnior LF. Possible role of autonomic heart dysfunction in sudden death associated with Chagas disease. *Arq Bras Cardiol.* 1991 Jun;56(6):429-34.
- 33- Davila DF, Donis JH, Torres A, Gottberg CF, Rossell O. Cardiac parasympathetic innervation in Chagas' heart disease. *Med Hypotheses.* 1991 Jun;35(2):80-4.
- 34- Chapadeiro E, Florêncio RF, Afonso PC, Beraldo PS, de Jesus PC, Junqueira Júnior LF. Neuronal counting and parasympathetic dysfunction in the hearts of chronically *Trypanosoma cruzi*-infected rats. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 1991 Sep-Oct;33(5):337-41.
- 35- Malliani A, Pagani M, Lombardi F. Neurovegetative regulation and cardiovascular diseases. *Ann Ital Med Int.* 1991 Oct-Dec;6(4 Pt 2):460-9.
- 36- Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C, Gallo Júnior L, Maciel BC, Bellina CR, L'Abbate A. Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas' disease as detected by thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol.* 1992 Mar 15;69(8):780-4.
- 37- Junqueira Júnior LF, Beraldo PS, Chapadeiro E, Jesus PC. Cardiac autonomic dysfunction and neuroganglionitis in a rat model of chronic Chagas' disease. *Cardiovasc Res.* 1992 Apr;26(4): 324-9.
- 38- Idiaquez J. Parasympathetic denervation of the iris in Chagas' disease. *Clin Auton Res.* 1992 Aug;2(4):277-9.

- 39- Davila DF, Bellabarbra G, Donis JH, Torres A, Rossell OJ, Figueroa O, Amaro M, Vasquez CJ. Cardiac autonomic control mechanisms in Chagas' heart disease. Therapeutic implications. *Med Hypotheses*. 1993 Jan;40(1):33-7.
- 40- Sterin-Borda LJ, Borda ES. Participation of autonomic nervous system in the pathogenesis of Chagas disease. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam*. 1994;44(4):109-23.
- 41- Goin JC, Pérez Leirós C, Borda E, Sterin-Borda L. Interaction of chagasic autoantibodies with the third extracellular domain of the human heart muscarinic receptor. Functional and pathological implications. *Medicina (B Aires)*. 1996;56(6):699-704.
- 42- Borda ES, Sterin-Borda L. Antiadrenergic and muscarinic receptor antibodies in Chagas' cardiomyopathy. *Int J Cardiol*. 1996 May;54(2):149-56.
- 43- Goin JC, Leiros CP, Borda E, Sterin-Borda L. Interaction of human chagasic IgG with the second extracellular loop of the human heart muscarinic acetylcholine receptor: functional and pathological implications. *FASEB J*. 1997 Jan;11(1):77-83.
- 44- Goin JC, Borda ES, Auger S, Storino R, Sterin-Borda L. Cardiac M(2) muscarinic cholinergic activation by human chagasic autoantibodies: association with bradycardia. *Heart*. 1999 Sep;82(3):273-8.
- 45- Sterin-Borda L, Borda E. Overview of molecular mechanisms in chagasic cardioneuromyopathy and achalasia. *Medicina (B Aires)*. 1999;59 Suppl 2:75-83.
- 46- Baroldi G, Oliveira SJ, Silver MD. Sudden and unexpected death in clinically 'silent' Chagas' disease. A hypothesis. *Int J Cardiol*. 1997 Feb;58(3):263-8
- 47- Simões MV, Pintya AO, Bromberg-Marin G, Sarabanda AV, Antloga CM, Pazin-Filho A, Maciel BC, Marin-Neto JA. Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2000 Nov 1;86(9):975-81.
- 48- Ribeiro AL, Moraes RS, Ribeiro JP, Ferlin EL, Torres RM, Oliveira E, Rocha MO. Parasympathetic dysautonomia precedes left ventricular systolic dysfunction in Chagas disease. *Am Heart J*. 2001 Feb;141(2):260-5.
- 49- Ribeiro AL, Schmidt G, Sousa MR, Lombardi F, Gomes ME, Perez AA, Barros MV, Machado FS, Rocha MO. Heart rate turbulence in Chagas disease. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2003 Jan; 26(1 Pt 2):406-10.
- 50- Bauer A, Schmidt G. Heart rate turbulence. *J Electrocardiol*. 2003;36 Suppl:89-93.
- 51- Francis J, Watanabe MA, Schmidt G. Heart rate turbulence: a new predictor for risk of sudden cardiac death. *Ann Noninvasive Electrocardiol*. 2005 Jan;10(1):102-9.
- 52- Tundo F, Lombardi F, Rocha MC, Botoni F, Schmidt G, Barros VC, Muzzi B, Gomes M, Pinto A, Ribeiro AL. Heart rate turbulence and left ventricular ejection fraction in Chagas disease. *Europace*. 2005 May;7(3):197-203.
- 53- Cunha AB, Cunha DM, Pedrosa RC, Flammini F, Silva AJ, Saad EA, Kopiler DA. Norepinephrine and heart rate variability: a marker of dysautonomia in chronic Chagas cardiomyopathy. *Rev Port Cardiol*. 2003 Jan;22(1):29-52
- 54- da Cunha AB. Chagas' disease and the involvement of the autonomic nervous system. *Rev Port Cardiol*. 2003 Jun;22(6):813-24.
- 55- Villar JC, León H, Morillo CA. Cardiovascular autonomic function testing in asymptomatic *T. cruzi* carriers: a sensitive method to identify subclinical Chagas' disease. *Int J Cardiol*. 2004 Feb; 93(2-3):189-95.

56- Ribeiro AL, Ferreira LM, Oliveira E, Cruzeiro PC, Torres RM, Rocha MO. Active orthostatic stress and respiratory sinus arrhythmia in patients with Chagas' disease with preserved left ventricular global systolic function. *Arq Bras Cardiol.* 2004 Jul;83(1):40-4; 35-9. Epub 2004 Aug 18.

57- Molina RB, Matsubara BB, Hueb JC, Zanati SG, Meira DA, Cassolato JL, Paiva SA, Zornoff LA. Dysautonomia and ventricular dysfunction in the indeterminate form of Chagas disease. *Int J Cardiol.* 2006 Nov 10;113(2):188-93. Epub 2006 Jan 10.

58- Rocha AL, Lombardi F, da Costa Rocha MO, Barros MV, Val Barros Vda C, Reis AM, Ribeiro AL. Chronotropic incompetence and abnormal autonomic modulation in ambulatory Chagas disease patients. *Ann Noninvasive Electrocardiol.* 2006 Jan;11(1):3-11.

59- Ribeiro AL, Giménez LE, Hernández CC, de Carvalho AC, Teixeira MM, Guedes VC, Barros MV, Lombardi F, Rocha MO. Early occurrence of anti-muscarinic autoantibodies and abnormal vagal modulation in Chagas disease. *Int J Cardiol.* 2007 Apr 12;117(1):59-63. Epub 2006 Jul 21.

60- Baranchuk, A.

<https://listserv.rediris.es/cgi-bin/wa?A2=ind1510&L=ARRITMIAS&F=&S=&X=C1DA6F616F448F1E44&Y=curso%40schapachnik.com.ar&P=41959>

61- Pérez Riera, AR.

<https://listserv.rediris.es/cgi-bin/wa?A2=ind1510&L=ARRITMIAS&D=0&X=C1DA6F616F448F1E44&Y=curso%40schapachnik.com.ar&P=44164>

62- Roberto Sassi, Sergio Cerutti, Federico Lombardi, Marek Malik (Chair of the writing committee), Heikki V. Huikuri, Chung-Kang Peng, Georg Schmidt, and Yoshiharu Yamamoto. *Advances in heart rate variability signal analysis: joint position statement by the e-Cardiology ESC Working Group and the European Heart Rhythm Association co-endorsed by the Asia Pacific Heart Rhythm Society Jun 2015*

63- Schapachnik, E.

<https://listserv.rediris.es/cgi-bin/wa?A2=ind1510&L=ARRITMIAS&D=0&X=C1DA6F616F448F1E44&Y=curso%40schapachnik.com.ar&P=44396>

64- Santos AM, Scanavacca MI, Darrieux F, Ianni B, Melo SL, Pisani C, Santos Neto F, Sosa E, Hachul DT. Baroreflex sensitivity and its association with arrhythmic events in Chagas disease.

*Arq Bras Cardiol.* 2014 Jun;102(6):579-87. Epub 2014 May 27.

65- Detecting subclinical alterations in early stages of Chaga's Disease through Holter. D S Andrés, I M Irurzun, M M Defeo, E E Mola, J Mitelman, L Gimenez, G Ranchilio, P Velazco, J Amentano. *Circulation.* 2008. Vol.117 19 (Suppl) DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.189874.

66- Increase in the embedding dimension in electrocardiograms of adult and pediatric patients with ventricular arrhythmia and congestive heart failure. D S Andrés, I M Irurzun, M M Defeo, J Bleiz, E E Mola, D Perez Casal, J Paul. *Circulation.* 2008. Vol.117 19 (Suppl) DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.189874.

67- A non-linear HRV index used as an indirect measure of left ventricular function. D S Andrés, I M Irurzun, M M Defeo, E E Mola, J Mitelman, L Gimenez, C DE Luca, M Marcia, P Velazco. *Circulation.* 2008. Vol.117 19 (Suppl) DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.189874.

- 68- A novel mechanism of arrhythmia development. I. M. Irurzun, D. S. Andrés, M. M. Defeo, E. E. Mola.
- 69- Increase in the embedding dimension in the Heart Rate Variability Associated with Left Ventricular Abnormalities. D. S. Andrés, I. M. Irurzun, E. E. Mola, J. Mitelman. *Applied Physics Letters*, 89, 2006, 144111-1-144111-3..
- 70- Análisis de la fracción de la variabilidad del ritmo cardíaco en el diagnóstico precoz de la disautonomía chagásica. D. Andrés, J. Mitelman, I. M. Irurzun, M. Defeo, L. Giménez, L. Costa, E. E. Mola. *Revista Brasileña y Latinoamericana de Marcapasos y Arritmias. (REBLAMPA)*, 19(1), 2006, 14-19.
- 71- Non Linear Properties of R-R Distributions as a Measure of Cardiac Heart Rate Variability. I.M Irurzun, P.Bergero, M. Defeo, C.Cordero, E.E.Mola, J.L.Vicente. *Chaos, Solitons and Fractals*. 16, 2003, 699-708.
- 72- Leon H, Guzman JC, Morillo C, Alteraciones en la dinámica no lineal de la variabilidad de la frecuencia cardíaca en diferentes estadios de la enfermedad de chagas. *Revista Iberoamericana de Arritmología-ria Sep09Vol1 No.1 Pag.48*
- 73- Leonor Sterin-Borda an Enri Borda-Role of neurotransmitter autoantibodies in the pathogenesis of Chagasic peripheral dysautonomia – *Annal of the New York Academy of Sciences* 2000, 917(1), 273-280
- 74- Cremaschi G, Fernandez M.M, Gorelik G, Goin J.C, Fossati C.A, Zwirner N.W, Malchiodi E.L- Modulatory effects on myocardial physiology induced by an anti-Trypanosoma cruzi monoclonal antibody involve recognition of major antigenic epitopes from b1-adrenergic and M2-muscarinic cholinergic receptors without requiring receptor cross-linking- *Journal of Neuroimmunology* 2004, 153,99-107
- 75- Sterin-Borda L, Joensen L, Bayo-Hanza C, Esteva M, Borda E.-Therapeutic use of muscarinic acetylcholine receptor peptide to prevent mice Chagasic cardiac dysfunction. *J Mol Celi Cardiol* 34,1645-1654 2002
- 76- Cutrullis R, Ballering G, Altchek J, Moscatelli G, Coral R, Petray P, FreilijH. Anti – M2muscarinic receptor autoantibodies in Trypanosoma cruzi-Infected pediatric patients treated with benznidazole- *Revista de Patología Tropical* 2007, 36(2), 141-148
- 77- Yanovsky JF- Prevalencia de anticuerpos contra receptores muscarínicos en grupos de pacientes con infección por Tripanosoma cruzi en distintos centros de América Latina. 6º Congreso Internacional de Cardiología por Internet. - 2009
- 78- Pinho Ribeiro A, Diaz Gimenez L, Quintero Hernández C, Campos de Carvalho A, Teixeira M, Costa Guedes V, Lins Barros M, Lombardi F, Costa Rocha M. Early occurrence of anti-muscarinic autoantibodies and abnormal vagal modulation in Chagas disease. *International Journal of Cardiology* 117 (2007) 59-63
- 79- Mitelman J, Jiménez L, Acuña L, Tomasella M, Cicarelli F, Pugliese O, Sturgeon C, Carradori J.- Anticuerpos antirreceptores a neurotransmisores y su correlación con la alteración de la dispersión del QT y de la variabilidad de la frecuencia cardíaca. *Reblampa* 2006,19(3)
- 80- MitelmanJ, Gimenez L, Ruiz A, Bonzón G, Schapachnik E, Yanovsky J. La evolutividad de los anticuerpos anti M2 en pacientes con enfermedad de Chagas Crónica. *Sociedad Interamericana de Cardiología. Chagas, consejos editoriales* . Abril 22, 2014.
- 81 –Auger S, Gomez G, Dionisio G, Oliva M, Goin J.C- Influencia de la presencia de anticuerpos antimuscarínicos M2 , en el desarrollo de disautonomía y enfermedad cardiovascular en pacientes Chagásicos- XXXVI Congreso Argentino de Cardiología . Octubre 2010

82 Medei E, Pedrosa R.C, Benchimol Barbosa P.R, Costa P.C, Hernández C.C, Chaves E.A, Linhares V, Masuda M.O, Nascimento J.H, Campos de Carvalho A.C. Human antibodies with muscarinic activity modulate ventricular repolarization: Basis for electrical disturbance. *Int journal of Cardiology* 115(2007) 373-380.

83- Hershko A,Y, Naparstek Y. Removal of pathogenic autoantibodies by immunoadsorption. *Ann N.Y. Acad.Sci* 2005, 1051:635-646.

84- Yanovsky J F , observación personal .

85- Ruiz A.M, De Rissio A.M, Riarte A, Velazquez E, Esteva M, Fusco O, Yanovsky J- Disminución de la presencia de anticuerpos antireceptores muscarínicos (M2) en menores de 14 años y adultos con infección por *Trypanosoma cruzi*, tratados con Benznidazol-XXVI Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología . 24-25 de octubre 2013. Universidad Nacional de Rosario-Argentina –Página 83.

86- Daliry A, Santana Caldas I, Figueiredo Diniz L, Morais Torres R, Talvani A, Bahia M.T, Campos de Carvalho A.C- Anti-adrenergic and muscarinic receptor autoantibodies in a canine model of Chagas disease and their modulation by benznidazole. *International Journal of Cardiology* 170(2014) e66-e67