

PREVALENCIA DE ANTICUERPOS CONTRA RECEPTORES MUSCARINICOS EN GRUPOS DE PACIENTES CON INFECCION POR TRIPANOSOMA CRUZI EN DISTINTOS CENTROS DE AMERICA LATINA - 2007

Dr. Jorge Yanovsky

Introducción

La tripanosomiasis americana o Enfermedad de Chagas es una de las endemias mas importantes de América Latina estimándose los infectados por el T.cruzi en el orden de 15.000.000 de individuos. Un 25 a un 35% de ellos desarrollan una miocardiopatía con diferentes evoluciones en ritmo, lesiones y signos clínicos que cuando provocan la muerte lo hacen mediando una arritmia aguda con muerte súbita o una insuficiencia cardiaca progresiva.

La muerte súbita es el evento final mas frecuente entre los parasitados, siendo su anticipación un desafío científico, habida cuenta que aún en los chagásicos con inexistencia de signología clínica específica o de escasa relevancia para comprometer la subsistencia, mueren, dentro de los 10 años de haber sido detectados, súbitamente con significativa frecuencia, un 10% de ellos⁽¹⁾. Esto proyectado al universo de todos los infectados podría representar no menos de 100.000 mil muertes anuales entre adultos relativamente jóvenes (50 años de edad promedio) aparentemente “normales”. Esto es el doble de lo estimado previamente.⁽²⁾

En una revisión sobre muerte súbita en Chagas, Anis Rassi promueve el desarrollo de conocimientos sobre “marcadores de riesgo”, llamando la atención sobre los trastornos en el equilibrio simpático – parasimpático como los que surgirían de investigar los

incrementos en la dispersión del QT y la VFC.⁽²⁾ En 2003 Salles y Col. publican una ratificación de aquellas hipótesis asociando muerte súbita a dQT mayores a 65 milis.⁽³⁾

En 2006 dos grupos independientes publican una asociación significativa entre incrementos en la dispersión del QT en pacientes chagásicos y la presencia en ellos de anticuerpos contra receptores a neurotransmisores de tipo muscarínicos.^(4,5) En la presentación de Mitelman y Col. se destacan que entre aproximadamente 210 sujetos con serología reactiva para Chagas, tanto entre los 108 sin manifestaciones clínicas como entre los 102 con arritmias, la prevalencia de los anticuerpos era del orden del 30/35%. Por otra parte entre los que presentaban un incremento en la dispersión del QT la prevalencia de los anticuerpos era superior al 90%, mientras que el 50% de los que revelaban Ac anti M₂ tenían dispersión del QT mayor a 65 milisegundos. Borda y Col. ya habían encontrado una asociación superior al 80% entre AC antimuscarínico y disautonomía^(6,7,8).

Por otra parte los hallazgos de E. Medei y Col.⁽⁵⁾ muestran resultados muy similares entre pacientes chagásicos prolijamente evaluados. Estas investigaciones dirigidas por A.C. Carvalho ponen en evidencia que los sueros de los chagásicos, con incrementos en la dQT y niveles significativos de AC antimuscarínicos eran capaces de provocar por perfusión del corazón aislado de conejo, incrementos en los intervalos del QT en linealidad con las respectivas dispersiones del QT.

La relevante asociación, por una parte, entre anticuerpos antimuscarínicos y expresiones electro cardíacas vinculadas a muerte súbita, como las implicancias clínicas, que se derivan por otra parte, de una constante presencia de actividad muscarínica en la circulación sanguínea de sujetos con infección por T. cruzi, no estando esta gobernada en su intensidad y desempeño por el sistema nervioso autónomo constituyen fenómenos farmacopatológicos de alcances desconocidos y una singular novedad en infectología.

En razón de la elevada prevalencia de Ac anti M₂ que mostraban algunas evaluaciones preliminares en pacientes chagásicos, nos propusimos extender la detección de esa inmunoglobulina con actividad farmacológica a un universo mas amplio de infectados por T. cruzi realizando un muestreo en diferentes países de América Latina con la participación de instituciones dedicadas al tema. Se utilizó a tal fin una evaluación

descentralizada empleando un reactivo normatizado y producido industrialmente en forma regular.

Materiales y Métodos

Resultados

ARGENTINA

**HOSPITAL ALVAREZ
CIUDAD DE BUENOS AIRES
DR. JORGE MITELMAN
SERVICIO DE CARDIOLOGIA
N° DE PACIENTES: 504**

INDETERMINADOS	242	React. AC Anti M ₂	31,4%
ARRITMICOS	262	React. AC Anti M ₂	34,31%

**INSTITUTO NACIONAL PARA INVESTIGACION
DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO
ENFERMEDAD DE CHAGAS – MARIO FATALA CHABEN
DR. ANDRES RUIZ
DRA. ANA MARIA DE RISSIO
ADULTOS
N° DE PACIENTES: 438**

SIN CLASIFICAR	438	React. AC Anti M ₂	35,29%
----------------	-----	-------------------------------	--------

**INSTITUTO NACIONAL PARA INVESTIGACION
 DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO
 ENFERMEDAD DE CHAGAS - MARIO FATALA CHABEN
 DR. ANDRES RUIZ
 DRA. ANA MARIA DE RISSIO**

NIÑOS

Nº DE PACIENTES: 386 (ENTRE 9 MESES Y 16 AÑOS)

SIN CLASIFICAR	386	Reac. AC Anti M2	30,86%
-----------------------	------------	-------------------------	---------------

DISTRIBUCION ETAREA - FRECUENCIA - REACTIVIDAD SERICA

Nº ORDEN	FECHA	PROT	CONTROL	EDAD	CHAGACOR	TOTAL MUESTRAS	% MUEST.REAC	
							POR EDAD	C
1	22/08/2001	74031	BASAL	9M	0,312		33%	R
2	01/11/2006	145839	BASAL	1	0,787	6		E
3	11/08/2006	142479	BASAL	2	0,814		20%	A C T.
4	14/11/2006	146381	BASAL	2	1,185			
5	26/02/2004	108154	BASAL	2	0,385			
6	15/03/2006	136957	BASAL	2	1,337			
7	25/04/2006	138386	BASAL	2	1,669	24		
8	02/06/2005	125374	BASAL	3	0,289		34%	A S T A 7 A Ñ O S
9	29/05/2003	97980	BASAL	3	0,283			
10	05/08/2005	127981	BASAL	3	0,994			
11	26/02/2002	80579	BASAL	3	1,592			
12	14/12/1999	50032	BASAL	3	0,904			
13	26/05/2006	139489	BASAL	3	0,779			
14	11/02/2002	80019	BASAL	3	0,276			
15	27/02/2004	108207	BASAL	3	0,614			
16	06/07/2001	72429	BASAL	3	0,303			
17	29/10/2003	106678	BASAL	3	0,301	29		
18	17/11/2004	118148	BASAL	4	1,293		S	

19	28/11/2001	77824	BASAL	4	0,419		13%	
20	24/09/2001	75441	BASAL	4	1,240	23		D
21	07/04/2000	54717	BASAL	5	0,726		16%	E
22	29/08/2001	74401	BASAL	5	0,992			E
23	10/05/2000	55887	BASAL	5	1,710			D
24	24/02/2002	80388	BASAL	5	1,296	24		D
25	17/11/2004	118149	BASAL	6	1,087		19%	A
26	25/04/2002	82354	BASAL	6	1,206			D
27	05/12/2003	105258	BASAL	6	1,254			22%
28	23/02/2000	52825	BASAL	6	1,427			
29	23/06/2005	126055	BASAL	6	0,674	26		
30	23/03/2007	150725	BASAL	7	1,419		26%	
31	25/07/2000	58723	BASAL	7	0,374			
32	16/02/2001	67113	BASAL	7	0,419			
33	25/06/2001	71893	BASAL	7	0,613			
34	24/11/2005	132812	BASAL	7	0,691			
35	21/12/2005	133785	BASAL	7	0,489	23		
36	14/08/2006	142499	BASAL	8	0,242		46%	R E A C T I
37	11/06/2002	83995	BASAL	8	0,409			
38	11/01/2007	148201	BASAL	8	0,462			
39	01/02/2006	135294	BASAL	8	0,418			
40	06/04/2001	69266	BASAL	8	0,925			
41	21/09/2000	61247	BASAL	8	0,758			
42	03/01/2002	78672	BASAL	8	0,923			
43	05/12/2003	105257	BASAL	8	3,058			
44	07/01/2000	51177	BASAL	8	0,479			
45	23/12/2003	105829	BASAL	8	0,927			
46	06/01/2003	91813	BASAL	8	2,477			
47	04/11/2002	89623	BASAL	8	0,440			
48	12/11/2000	48663	BASAL	8	0,748			
49	14/05/2002	83092	BASAL	8	1,272	30		V
50	26/05/2006	139488	BASAL	9	2,138		26%	H
51	11/05/2000	55892	BASAL	9	0,436			
52	25/04/2002	82355	BASAL	9	0,465			
53	01/11/2002	89545	BASAL	9	0,507			
54	01/09/2000	60355	BASAL	9	0,460			
55	12/08/2004	114330	BASAL	9	1,167			
56	13/10/2000	62214	BASAL	9	2,867	26		A

57	22/11/2002	90444	BASAL	10	3,187		42%	S T A 16 A		
58	10/02/2004	107498	BASAL	10	0,262					
59	10/09/2003	101369	BASAL	10	0,485					
60	01/08/2006	142008	BASAL	10	0,261					
61	24/11/2003	104767	BASAL	10	0,242					
62	29/03/2005	122826	BASAL	10	1,057					
63	25/08/2004	114712	BASAL	10	0,532					
64	24/05/2002	83457	BASAL	10	0,965					
65	28/10/2005	131680	BASAL	10	1,686					
66	24/08/2005	128604	BASAL	10	0,841					
67	12/11/2003	104298	BASAL	10	0,443					
68	20/05/2005	124908	BASAL	10	1,004					
69	03/04/2006	137575	BASAL	10	0,268					
70	25/07/2001	73019	BASAL	10	0,387	33			Ñ	
71	29/05/2000	56502	BASAL	11	0,259				23%	O S D
72	02/08/2002	85945	BASAL	11	3,000					
73	24/09/2003	102082	BASAL	11	0,405					
74	31/10/2005	131763	BASAL	11	0,508					
75	04/01/2000	50660	BASAL	11	0,493					
76	02/07/2004	112724	BASAL	11	2,752					
77	13/02/2003	93259	BASAL	11	1,419					
78	21/02/2006	136086	BASAL	11	1,208	34				
79	10/09/2003	101366	BASAL	12	0,672		52%	E E D A D 36%		
80	13/02/2002	80114	BASAL	12	0,252					
81	04/06/2002	83810	BASAL	12	0,384					
82	01/03/2000	53201	BASAL	12	0,737					
83	29/11/2002	90701	BASAL	12	0,900					
84	03/03/2000	53301	BASAL	12	0,599					
85	24/09/2001	75453	BASAL	12	0,398					
86	04/09/2006	143331	BASAL	12	1,931					
87	13/09/2002	87546	BASAL	12	0,721					
88	28/08/2006	142837	BASAL	12	2,837					
89	31/07/2002	85770	BASAL	12	2,573					
90	14/05/2004	111063	BASAL	12	1,120					
91	16/03/2004	108883	BASAL	12	0,790					
92	06/09/2001	74720	BASAL	12	0,483					
93	21/02/2003	93627	BASAL	12	1,621					
94	02/07/2004	113893	BASAL	12	1,171					

95	14/02/2001	66990	BASAL	12	0,252				
96	25/08/2000	60063	BASAL	12	1,130				
97	18/12/2001	78427	BASAL	12	0,257				
98	17/12/2002	91378	BASAL	12	0,533	38			
99	13/06/2006	140146	BASAL	13	1,036		37%		
100	25/07/2005	127457	BASAL	13	2,323				
101	29/07/2002	85702	BASAL	13	1,051				
102	07/03/2003	94165	BASAL	13	0,270				
103	19/04/2000	55176	BASAL	13	0,370				
104	25/06/2004	112475	BASAL	13	0,296				
105	11/03/2004	108754	BASAL	13	1,474				
106	18/07/2002	85199	BASAL	13	0,297				
107	21/09/2001	75385	BASAL	13	2,015				
108	21/02/2000	52652	BASAL	13	0,441	27			
109	15/12/2006	147584	BASAL	14	0,525		25%		
110	19/04/2007	151409	BASAL	14	0,697				
111	20/09/2002	87831	BASAL	14	0,652				
112	09/06/2003	97399	BASAL	14	3,116				
113	17/09/2002	87676	BASAL	14	0,668				
114	04/10/2004	116391	BASAL	14	1,601				
115	20/04/2005	123769	BASAL	14	0,527				
116	20/11/1999	53772	BASAL	14	0,305	31			
117	02/03/2005	121875	BASAL	15	0,259		28%		
118	01/03/2004	108293	BASAL	15	0,287	7			
119	11/09/2006	143612	BASAL	16	2,431		40%		
120	21/01/2004	106694	BASAL	16	2,325	5			
					120	TOTAL 386			

CUTT-OFF DO 0.240

BRASIL

**HOSPITAL DE CLINICAS
UNIVERSIDAD FEDERAL DE GOIAS
DR. ALEJANDRO LUQUETTI
LABORATORIO DE CHAGAS
N° DE PACIENTES: 543**

NORMALES (50 de región endémica, 7 megacolon, 3 cardiopatías no Chagas)	55	React. AC Anti M ₂ 0	0%
INDETERMINADOS	80	React. AC Anti M ₂ 14	17,5%
CARDIOPATIA GRAVE	157	React. AC Anti M ₂ 39	24,8%
CARDIOPATIA LEVE	61	React. AC Anti M ₂ 17	27,8%
MEGACOLON + MEGAESOFAGO	86	React. AC Anti M ₂ 20	23,2%
CARDIOPATIA + MEGAVIS CERAS	15	React. AC Anti M ₂ 5	33,0%

BOLIVIA

**HOSPITAL JAPONES SANTA CRUZ
DR. JUAN JUSTINIANO
SERVICIO DE CARDIOLOGIA
N° DE PACIENTES: 89**

NORMALES	10	React. AC Anti M ₂ 0	0%
INDETERMINADOS	50	React. AC Anti M ₂ 15	30,0 %
CARDIOPATIA GRAVE	29	React. AC Anti M ₂ 10	34,48%

MEXICO

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGIA
DR. RAMON REYES
N° DE PACIENTES: 112**

CCCH	34	React. AC Anti M ₂ 16		47,0%
INDETERMINADOS	10	React. AC Anti M ₂	3	30,0 %
MIOCP. D. IDIOP.	28	React. AC Anti M ₂	4	14,0%
NORMALES	10	React. AC Anti M ₂	0	0%
DADORES DE SANGRE	14	React. AC Anti M ₂	0	0%
DIABETICOS	16	React. AC Anti M ₂	0	0%

Discusión

Los resultados obtenidos por diferentes instituciones confirman la alta prevalencia que presentan entre infectados por *T. cruzi* los anticuerpos antimuscarínicos.

Los Ac anti M₂ están presentes con una frecuencia que es común en los diferentes grupos estudiados y con independencia de las formas clínicas que dividen a los infectados como indeterminados o cardiopatas. Más aún la aparición de estos anticuerpos en el curso de la infección es muy temprana como lo demuestra la elevada prevalencia en niños, similar a la de los adultos. Estos resultados reafirman lo publicado por Pinho Ribeiro A.L. y Col.⁽⁹⁾ que detectan la presencia de Ac anti M₂ antes que cualquier señal de disfunción ventricular izquierda, aún reconociendo en estos pacientes alteraciones en la modulación vagal, exteriorizada por anomalías en los estudios sobre variabilidad de la frecuencia cardíaca.

La demostración temprana de anticuerpos antimuscarínicos sumado a los hallazgos recientes de Cutrullis y Col.⁽¹⁰⁾ en el sentido que en niños chagásicos el tratamiento con benznidazol negativiza los Ac anti M₂ alienta a suponer que el diagnóstico precoz de la

infección y el tratamiento parasiticida podrían abortar la instalación de lesiones viscerales principalmente cardíacas. Datos en esa misma orientación fueron revelados por García S. y Col.⁽¹¹⁾ durante la infección experimental crónica en ratones tratados con benznidazol. Otros estudios que evidencian en el ratón el rol de los anticuerpos anti M₂ en la aparición de lesiones cardíacas experimentales surgen del efecto preventivo que obtuvieron Borda Sterin L. y Col.⁽¹²⁾ mediante la inyección repetida durante el curso de la infección, de moléculas representativas del péptido receptor de acetilcolina. Se debe resaltar que Andrade y Col.⁽¹³⁾ encuentran que niños con una edad promedio de 10, 4 años muestran signos precoces de alteraciones electrocardiográficas en el 11.3% cuando están infectados con *T. cruzi*.

La desaparición prolongada de la reactividad sérica contra M₂ en niños en que el tratamiento parasiticida fue considerado exitoso, instala la necesidad de revisar las hipótesis dominantes sobre la condición de Ac anti M₂ por inducción endógena⁽¹⁴⁾. Los resultados comentados afianzan la condición adjudicada a los Ac anti M₂ como de respuesta a estímulos miméticos. Esto está reafirmado por los hallazgos de Cremaschi y Col.⁽¹⁵⁾ que demostraron que anticuerpos monoclonales contra *T. cruzi* reconocen epitopes antigénicos de receptores de M₂ muscarínico colinérgico y B₁ adrenérgico. Llama sin embargo la atención que en la serie tratada presentada por Cutrullis y Col.⁽⁹⁾ se visualizan dos muestras que mantienen una reactividad que está por encima del cut-off que separa población no reactiva de reactiva. Se trataría de niños que negativizaron para Ac contra *T. cruzi*, según surge de la propia publicación. La evolutividad de esta situación no es trivial porque la persistencia de Ac anti M₂ en niños presuntivamente curados abriría interrogantes sobre los alcances exitosos del tratamiento o sobre la curva de desaparición de esas inmunoglobulinas agonistas. Cabe también la posibilidad que el tratamiento tardío o condicionamientos genéticos faciliten que la parasitosis conduzca en algunos individuos a otras vías de respuesta autónoma y entonces sí podrían presentar Ac anti M₂ por estímulos endógenos⁽¹⁴⁾.

La alta prevalencia de los Ac anti M₂, su rápida aparición, su asociación con alteraciones precoces en la modulación vagal de la FC y trastornos de la repolarización reflejan una perturbación en el equilibrio autónomo. Esta situación a nivel cardíaco nos obliga a direccionar la preocupación sobre la presencia de tan singular molécula a su rol de naturaleza inmunofarmacológica toda vez que las propiedades agonistas simil -

acetilcolina han sido consistentemente establecidas inicialmente por Goin y Col. en corazón aislado de rata⁽⁸⁾ y mas recientemente por Oliveira SP y Col⁽⁶⁾., Madei E. y Col.⁽⁵⁾ por perfusión de corazón aislado de conejo⁽¹⁶⁾.

La significativa importancia de la funcionalidad molecular, ha motivado que en la detección de Ac anti M₂ se destacará la necesidad de su correlación con las propiedades agonistas⁽⁵⁾. En el presente estudio todos los sueros fueron evaluados con un equipo diagnóstico que emplea como molécula reactiva una configuración diseñada en base al segundo loop del receptor muscarínico pero seleccionado por su máxima capacidad de inhibir el efecto agonista colinérgico que los sueros de los pacientes chagásicos manifiestan sobre corazón aislado de rata. Esta modalidad de concepción del antígeno primó al seleccionarse la molécula antigénica por su poder funcional y con esa fundamentación, el principio y el producto, fueron objeto del depósito de patentes reconocidas en la Argentina en 2002 y en trámite en otros países⁽¹⁷⁾.

La elevada prevalencia de moléculas anticuerpo con función simil acetilcolina no puede resultar trivial al intentar una explicación mas abarcativa de la fisiopatología que involucra la infección por T. cruzi. Está demostrado que la parasitosis provoca daño del endotelio arterial coronárico y está también demostrado que moléculas con actividad agonista acetilcolínica son vasoconstrictoras de arterias en esos endotelios dañados⁽¹⁸⁾. En esta orientación resulta de interés los resultados obtenidos por Perez Baliño y Col.⁽¹⁹⁾ en el sentido que pacientes chagásicos sin manifestaciones previas de disfunción ventricular izquierda mostraron en un 56% de los casos (25 pacientes) respuesta vasoconstrictora al test del frío con inducción similar a la prueba de la acetilcolina. Es importante tener presente que los estímulos colinérgicos tipo I que provocan inhibición del cronotropismo y del inotropismo son mediados por receptores muscarínicos y se suprimen con atropina. Sin embargo ha sido demostrado que en la infección por T. cruzi los mismos anticuerpos agonistas muscarínicos se unen a los receptores y a la par que los activan los bloquean⁽⁶⁾. En estas condiciones las moléculas acetilcolina simil, al encontrar los receptores muscarínicos bloqueados, podrían actuar confirme su tipo II, provocando inotropismo y cronotropismo **positivo** mediante activación de receptores nicotínicos y liberación de noradrenalina como sugieren Buccino y Col. ⁽²⁰⁾

Conclusión

La presencia regular en la circulación de aproximadamente un tercio de la población infectada con T. Cruzi, aún entre los niños, de moléculas agonistas de tipo acetilcolínico, no permita soslayar sus efectos fisiopatológicos persistentes. Debería prestarse especial atención al agravamiento evolutivo que la presencia de agonistas muscarínicos provocan en los pacientes con infección por T. cruzi como señalan Medei y Col⁽⁵⁾. La acción de moléculas con propiedades agonistas de cualquier naturaleza con potencialidad de instalar eventos agudos, especialmente vasoconstrictores, deberían estimular la búsqueda de mediadores o mecanismos que las contrarresten, las bloqueen inhiban las secuestren de la circulación como está siendo realizado mediante la inmunoabsorción de autoanticuerpos patogénicos en la miocardiopatía dilatada idiopática⁽²¹⁾.

Bibliografía

1. Anis Rassi, Jr., Anis Rassi, William C. Little, Sérgio S. Xavier, Sérgio G. Rassi, Alexandre G. Rassi, Gustavo G. Rassi, Alejandro Hasslocher-Moreno, Andrea S. Sousa and Mauricio I. Scanavacca – Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease – *The New England Journal of Medicine* 2006; 355: 799-808
2. Rassi Jr. A., Rassi S., Rassi A. – Sudden Death in Chagas' Disease. - *Arq. Bras. Cardiol.* 2001; 76: 86-96.
3. Salles G., Xavier S., Sousa A., Hasslocher-Moreno A., Cardoso C. – Prognostic value of QT interval parameters for mortality risk stratification in Chagas' disease: Results of a long-term follow-up study – *Journal of the American Heart Association* 2003; 108: 305-312.
4. Mitelman J., Gimenez 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): XX-XX
5. 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 – *International Journal of Cardiology* 2007; 115, 373-380.
6. Leonor Sterin-Borda and Enri Borda – Role of neurotransmitter autoantibodies in the pathogenesis of Chagasic peripheral dysautonomia - *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000; 917 (1), 273–280.
7. Goin J.C., Borda E., Perez Leiros C., Storino R., Sterin-Borda L. – Identification of antibodies with muscarinic cholinergic activity in human Chagas' disease: pathological implications – *Journal of the Autonomic Nervous System* 1994; 47:45-52.
8. Goin J.C.; Perez Leiros C.; 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 - *The FASEB Journal* 1997; 11, 77-83
9. Pinho Ribeiro A.L.; Díaz Giménez L.E.; Quintero Hernández C.C.; Campos de Carvalho, A.C., Martins Teixeira M.; Costa Guedes V.; Lins Barros M.V.; Lombardi F.; da Costa Rocha M.O. – Early occurrence of anti-muscarinic autoantibodies and abnormal vagal modulation in Chagas disease – *Internal Journal of Cardiology* 2007; 117, 59-63.
10. Cutrullis R.; Ballering G.; Altcheh J.; Moscatelli G.; Corral R.; Petray P.; Freilij H. – Anti-M2 muscarinic receptor autoantibodies in Trypanosoma cruzi-Infected pediatric patients treated with benznidazole – *Revista de Patología Tropical* 2007; 36(2), 141-148.
11. Garcia S.; Ramos C.O.; Senra J.F.V.; Vilas-Boas F., Rodrigues M.M.; Campos-de-Carvalho A.C.; Ribeiro-dos-Santos R.; Soares M.B.P. – Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations – *American Society of Microbiology* 2005; 49(4), 1521-1528.
12. 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.Cell Cardiol.* 2002; 34, 1645-1654.
13. Andrade AL de; Zicker F.; Rassi A.; Rassi AG.; Oliveira RM.; Silva SA.; de Andrade SS.; Martelli CM. – Early electrocardiographic abnormalities in Trypanosoma cruzi-seropositive children – *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59, 530-4
14. Kierszenbaum F. – Views on the autoimmunity hypothesis for Chagas' disease pathogenesis – *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2003; 37, 1-11.
15. Cremaschi G.; Fernández 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 β_1 -adrenergic and M₂-muscarinic cholinergic receptors without requiring receptor cross-linking – *Journal of Neuroimmunology* 2004; 153, 99-107.
16. Farias de Oliveira S.; Coury Pedrosa R.; Nascimento J.H.M.; Campos de Carvalho A.C.; Masuda M.O. – Sera from chronic chagasic patients with complex cardiac arrhythmias depress electrogenesis and conduction in isolated rabbit hearts - *American Heart Association. Circulation* 1997; 96, 2031-2037.
17. Yanovsky J.F. Polychaco SAIC; Sterin-Borda L.; Borda E.S.; Goin J.C.; Perez Leiros C.; Cremaschi G.A. – Un reactivo serológico para establecer cuali-cuantitativamente en pacientes con infección por Tripanosoma cruzi (Enfermedad de Chagas) la presencia de inmunoglobulinas-anticuerpo que tienen in vivo una actividad fisiológico-farmacológica sobre los receptores cardíacos muscarínicos colinérgicos y β adrenérgicos del paciente y el procedimiento serológico respectivo – *Patente de Invención AR02278B1 INPI - República Argentina* 2002.
18. Acquatella H. – Estado actual de la enfermedad de Chagas en Venezuela y de su manejo terapéutico – *Gaceta Médica de Caracas* 2003; 111(2), 136-156.
19. Perez Baliño N.A.; Masoli O. Redruello M. – Perfusión Miocárdica. Estudios funcionales con cámara gamma en: Miocardiopatía chagásica un enfoque actual Mitelman J.E.; Jiménez L. – *Biblioteca Médica Sanofi-Aventis.* 2007; 6.A, 99-107.
20. Buccino y col. – *Circulation Research* 1966; 11: 1097. Citado en *Acción del sistema neurovegetativo sobre el corazón.* María Cristina Camilión de Hurtado – *Fisiología Humana de Houssay* – Editorial Ateneo. 2004
21. Hershko A.Y., Naparstek Y. – Removal of pathogenic autoantibodies by immunoadsorption – *Ann. N.Y.Acad.Sci* 2005; 1051, 635-646