

Biomédica 2003;23:462-75

## ARTÍCULO ORIGINAL

## Neurotriptanosomiasis americana: aspectos clínicos de un problema básico

Fidias E. León-Sarmiento <sup>1,3,6</sup>, Didier G. Prada <sup>2,6</sup>, Jaime Bayona-Prieto <sup>3,6</sup>,  
Vladimir Valderrama <sup>4,6</sup>, Ingrid García <sup>5</sup>, Marta E. León <sup>6</sup>, Dan Sunnemark <sup>7</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Neurología Clínica y Fisiología, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander, Colombia.

<sup>2</sup> Hospital de San Antonio, Rionegro, Santander, Colombia.

<sup>3</sup> Universidad de Pamplona, Pamplona, Norte de Santander, Colombia.

<sup>4</sup> Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>5</sup> Instituto Nacional de Salud, Bogotá, D.C., Colombia.

<sup>6</sup> *Neuro.net*-Instituto Colombiano de Neurociencias Aplicadas, Neurobiología Humana y Neurología Clínica y Funcional, Bucaramanga, Colombia.

<sup>7</sup> AstraZeneca AB Preclinical R&D, Molecular Sciences, Södertälje, Suecia.

*Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, patología que afecta principalmente estructuras cardíacas e intestinales. Sin embargo, las complicaciones neurológicas no han sido adecuadamente identificadas y estudiadas en Colombia, a pesar de existir allí áreas geográficas que presentan prevalencias de infección iguales o mayores de las informadas en otras latitudes, en donde se le ha dado una mayor atención a este tipo de complicaciones, desde hace ya varios años. Realizamos un metanálisis cualitativo sobre el tema, en la base de datos PubMed, en el motor de búsqueda Altavista y en las revistas colombianas indexadas por Colciencias, así como en tres libros que trataban el tópico de manera específica. Usamos las palabras claves: *Trypanosoma*, *Chagas' disease*, *nervous system*, *spinal cord*, *central nervous system*, *peripheral nervous system*, *neuromuscular junction*, *autonomic nervous system*, *muscle*, *muscle disorders*, *neuromuscular disease*, *neuromuscular disorders*, *synapticopathies* y *dysautonomia*. Como criterio de inclusión se debía haber realizado e informado la prueba de ELISA, inmunofluorescencia indirecta, presencia de parasitemia o presencia de parásitos en los tejidos, dependiendo de si se trataba de un estudio clínico-serológico o histopatológico. No tuvimos en cuenta como criterio de inclusión la realización de la prueba de reacción en cadena de la polimerasa, dado que sólo hasta épocas recientes se introdujo esta técnica en el estudio de esta patología en Colombia. Encontramos 116 manuscritos con los términos antes descritos; éstos incluían artículos originales, revisiones, informe de casos, editoriales y comunicaciones breves, así como conferencias y capítulos de libros que cumplieron con los requisitos planteados. En ellos se apreció claramente cómo la enfermedad de Chagas afecta todos los niveles del sistema nervioso central, periférico y autonómico, siendo este último sistema el que se ha estudiado con mayor profundidad en nuestro país. Consideramos que el compromiso neurossistémico producido por *T. cruzi* debe ser evaluado de una manera más profunda a partir de la fecha, dado que muchos de los pacientes pueden estar siendo diagnosticados, tratados y seguidos como portadores de enfermedades 'idiopáticas'. Dichas patologías pueden llegar a convertirse en una seria amenaza para la salud de muchos colombianos si no se toman las medidas de prevención y control adecuadas. Por tanto, es necesario que actuemos en consecuencia, de acuerdo con el espectro de anormalidades neurológicas que se presentan en estos pacientes, como lo demostramos en el presente trabajo.

**Palabras clave:** *Trypanosoma cruzi*, neurotriptanosomiasis, enfermedad de Chagas, enfermedad cerebrovascular, enfermedades neuromusculares, metanálisis cualitativo.

### Neurological effects of American trypanosomiasis: clinical aspects

*Trypanosoma cruzi*, causative agent of Chagas disease, affects not only cardiac and intestinal structures but also neurological structures. A high prevalence of *T. cruzi* infection occurs in Colombia, prompting the present study. First, a qualitative metaanalysis was undertaken using the PubMed database, the electronic internet engine Altavista, Colombian journals indexed by Colciencias, and three relevant textbooks. The following key words were used: *Trypanosoma*, Chagas disease, nervous system, spinal cord, central nervous system, peripheral nervous system, neuromuscular junction, autonomic nervous system, muscle, muscle disorders, neuromuscular disease, neuromuscular disorders, synapticopathies and dysautonomia. The documents analyzed numbered 116 and included original papers, reviews, case reports, editorials, brief communications, conferences and book chapters. At minimum, each document included data involving ELISA testing, indirect immunofluorescence, or parasitemia levels in the clinical, serological or histopathological studies. Polymerase chain reaction (PCR) studies were not included because of the recent introduction of PCR as a confirmatory technique for Chagas disease in Colombia. Chagas disease affects the central, the peripheral and the autonomic nervous system in humans, although its effects on the autonomic system is most commonly investigated in Colombia. Neurological lesions must be evaluated carefully, because patients may be misdiagnosed and treated as carriers of 'idiopathic' diseases. Neurological pathologies poses a serious threat in Colombia due to the prevalence of Chagas disease.

**Key words:** *Trypanosoma cruzi*, neurotrypanosomiasis, Chagas' disease, cerebrovascular disease, neuromuscular diseases, qualitative metaanalysis.

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas es producida por *Trypanosoma cruzi*, cuya prevalencia en Latinoamérica para 1985 era de 17,4 millones de casos, con altas tasas de morbilidad y mortalidad, según la más reciente publicación de la Organización Mundial de la Salud sobre el tema (1). Desde entonces, dicen los autores de dicho documento, se ha observado una continua reducción de los casos nuevos de infección debido a la interrupción de la transmisión vectorial en Uruguay, Chile y Brasil (1). Sin embargo, hay que mirar con mucha precaución estas cifras porque aún existen zonas en algunos de estos sitios, como en Brasil, en donde recientemente se ha encontrado un incremento considerable de la enfermedad de Chagas (2). Sorprende más ver cómo en dicho informe no aparecen datos de Colombia, lo cual da la sensación al lector desprevenido de que este problema de salud pública no existiera allí afectando, especialmente, a aquéllos que viven en condiciones de pobreza,

desnutrición y abandono social (2). Su transmisión suele ser por laceraciones cutáneas o conjuntivales, al tener contacto con las formas infecciosas del parásito, además de las vías hematógena, transplacentaria e, incluso, por accidentes de laboratorio, por vía oral o aún por vía sexual; esto último en animales de experimentación (3-6) llamando la atención en este punto también, la reciente descripción de enfermedad de Chagas detectada en el cuello uterino humano (7).

La enfermedad de Chagas se describe, usualmente, como una patología que afecta al corazón y las vísceras huecas y poco o nada se habla del daño neurológico primario, diferente al autonómico, que sufren estos pacientes. Es más, a pesar de la gran cantidad de estudios realizados en este tópic no se conoce, a la fecha, la prevalencia de la enfermedad neurológica a nivel central o periférico en pacientes infectados por *T. cruzi*, incluida la más reciente revisión sobre el tema comentada anteriormente (1), lo que confirma la poca atención que se le está dando a este tipo de complicaciones.

Sin embargo, como lo hemos comentado en trabajos anteriores y como lo sugería el mismo Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas, desde 1909,

#### Correspondencia:

Fidias E. León-Sarmiento, 10 Center Drive, Building 10 5N 226, Medical Neurology Branch, NINDS, National Institutes of Health, Bethesda, MD 20892, United States of America. Teléfono: (301) 402 2983; fax: (301) 480 2286  
leonf@ninds.nih.gov; feleoness@yahoo.com

Recibido: 21/04/03; aceptado: 3/10/03

la tripanosomiasis americana es responsable de gran cantidad de alteraciones neuronales, nerviosas, cerebrales, autonómicas, cerebrovasculares y neuromusculares, entre muchas otras más, a las que se les ha dado muy poca importancia en nuestro país (8-11). Dada la alta prevalencia de la enfermedad de Chagas en Colombia (12), consideramos muy importante poner en orden la más reciente evidencia informada en la literatura científica nacional e internacional sobre la infección por *T. cruzi* y sus efectos sobre el sistema nervioso central, periférico y autonómico, a lo que llamaremos de aquí en adelante 'neurotripanosomiasis americana', para lo cual realizamos este metanálisis cualitativo.

Cabe destacar que después de la explosión inicial que tuvieron los metaanálisis cuantitativos en el área de la salud y que se han utilizado para investigar, principalmente, los alcances de los diferentes tratamientos aplicados a determinados eventos clínicos, ha comenzado a tener auge la investigación cualitativa (13-16), la que ha demostrado ser útil no sólo para identificar las fallas de los métodos cuantitativos mencionados anteriormente, sino también para: 1) identificar y refinar la pregunta de investigación; 2) identificar los objetivos que realmente interesan a la investigación; 3) identificar las diferentes clases de participantes y las intervenciones hechas, verdaderamente relevantes; 4) aumentar la cantidad de datos que se deben incluir en un estudio cuantitativo; 5) proveer información para poder resumir la investigación en forma no numérica; 6) resaltar las falencias de los métodos usados en los estudios cuantitativos; 7) explicar los hallazgos de una síntesis cuantitativa; 8) asistir en la interpretación de la significación y aplicabilidad de la revisión cuantitativa; 9) asistir en la producción de recomendaciones a los trabajadores de la salud, acerca de cómo implementar las conclusiones de las revisiones sistemáticas, y, finalmente, 10) también se ha comprobado que este tipo de investigación es muy útil para generar hipótesis (13-16). Por tal motivo, se requiere de unos criterios mínimos para realizar este tipo de investigación los que deben incluir, al menos, lo siguiente: 1) preparación de un protocolo, 2) establecimiento de los criterios de

inclusión y de exclusión de los artículos que se van a evaluar, 3) realización de una búsqueda sistemática en literatura publicada y no publicada, 4) determinación de manera crítica de los artículos que se van a incluir, de acuerdo con los criterios preestablecidos y 5) extracción de la información y sus resultados, y realizar posibles análisis estadísticos, cuando fuere apropiado (13-16).

Dado que, como explicamos inicialmente, existe aún un desconocimiento de las complicaciones originadas por *T. cruzi*, principalmente las neurológicas y que, además, nunca se había realizado una investigación sobre dicho tópico usando las herramientas metodológicas modernas para comprender mejor este tipo de problemas biomédicos, decidimos realizar este trabajo, el cual podría ser la base de futuras investigaciones que a este respecto se desarrollen en el territorio colombiano.

### **Materiales y métodos**

Siguiendo las recomendaciones internacionales para realizar metanálisis cualitativos y revisiones sistemáticas (13-16), establecimos los pasos necesarios para este propósito.

En una primera fase, definimos las fechas de búsqueda del presente tema en la base de datos Medline, desde 1966 hasta junio de 2001. Luego, durante un año, nos dimos a la tarea de evaluar minuciosamente cada artículo seleccionado, y el manuscrito se escribió durante el segundo semestre de 2002. En una segunda fase y con el fin de responder al avance de las comunicaciones electrónicas, se amplió la revisión hasta el 31 de mayo de 2003.

Las palabras clave que utilizamos inicialmente fueron *Trypanosoma* y *cruzi*, a las que luego adicionamos la palabra *Chagas*. Posteriormente, cruzamos los términos *central nervous system*, *spinal cord*, *peripheral nervous system*, *neuromuscular junction*, *muscle*, *muscle disorders*, *neuromuscular diseases and disorders*, *synapticopathies*, *dysautonomia*, *autonomic nerve system*, y *pathophysiology* con los términos mencionados.

Entre los criterios de inclusión destacamos los siguientes: 1) el estudio debía describir claramente

el método serológico utilizado para diagnosticar la seropositividad contra *T. cruzi*, usualmente la prueba de ELISA, la que tienen una sensibilidad del 99% y una especificidad del 98% (17), debía explicar el método de identificación de parásitos en los órganos estudiados macro o microscópicamente, así como el nivel de parasitemia durante la fase aguda y el método de inoculación del parásito, según el tipo de investigación que se estuviera realizando. El método de reacción en cadena de la polimerasa no se tomó como criterio de selección de los artículos, dada la reciente adopción de esta técnica en el estudio de la enfermedad de Chagas.

De otro lado, seleccionamos las publicaciones científicas y tecnológicas colombianas indexadas por el Instituto Colombiano para el Desarrollo de la Ciencia y la Tecnología Francisco José de Caldas, Colciencias, y revisamos los manuscritos publicados allí, siguiendo los criterios empleados en el análisis de la base de datos internacional antes comentada. De la misma forma, y dada la creciente importancia que están teniendo las comunicaciones electrónicas, incluida el área de las ciencias biomédicas, realizamos también un tamizaje de dichas publicaciones, del tipo 'conferencia', en el motor de búsqueda Altavista, utilizando los mismos términos descritos anteriormente.

### Resultados

Durante la primera fase propuesta para la presente investigación, encontramos 116 trabajos que describían claramente los criterios de inclusión determinados en el protocolo establecido. Correspondieron a 67 artículos originales, 28 revisiones, 8 informes de casos, 2 conferencias, 1 editorial y 1 comunicación breve. Incluimos, además, 6 documentos encontrados en las revistas indexadas por Colciencias y un manuscrito de la base de datos electrónica investigada. Luego, durante la búsqueda manual entre las referencias de los artículos seleccionados, encontramos tres libros que trataban específicamente el tema, los cuales fueron también revisados, y se incluyó, también, la experiencia y las publicaciones personales de los autores sobre el tema. Estos documentos son

la base del presente trabajo. En la segunda fase, encontramos sólo un manuscrito que reafirmaba lo hallado inicialmente (18). Aunque un análisis de las deficiencias metodológicas aparecidas en los innumerables manuscritos revisados está más allá de los alcances y objetivos de este trabajo, sí nos sorprendió ver como aún en esta época de avances en la calidad de publicaciones científicas a nivel mundial, siguen apareciendo en revistas con un nivel de impacto alto, publicaciones de pacientes con una 'aparente' enfermedad de Chagas o una 'supuesta' infección por *T. cruzi*, sin ningún respaldo científico válido (19,20). Dada la cantidad de publicaciones que aparecen registradas en las bases electrónicas de artículos biomédicos con dichos sesgos resulta, por demás, imposible colocar tales referencias bibliográficas en una publicación como ésta. Sin embargo, sobre hechos como éstos es que tendrá también que seguir trabajando la comunidad científica, con el fin de ayudar a corregir este tipo de 'patologías' literarias, no sólo en esta enfermedad sino en otras más donde se presupone la etiología de algún agente infeccioso (21-24).

### Discusión

Con el fin de hacer más sencilla la comprensión de los trastornos que produce *T. cruzi* en el sistema nervioso de los humanos, discutiremos dichos eventos de acuerdo con su ubicación principal bien sea central, periférica o autonómica.

#### **Neurotripanosomiasis central**

Las lesiones del sistema nervioso central debidas a la infección por *T. cruzi* se dividen en aquéllas que se presentan en la fase aguda, o primoinfección, y en aquéllas que se presentan tardíamente en el transcurso de la enfermedad o en los pacientes que padecen la enfermedad de Chagas crónica (25).

*Forma aguda.* Suele afectar a niños, especialmente menores de dos años (26) y a pacientes inmunocomprometidos. Se ha descrito una forma meningoencefalítica, que se presenta con confusión, cefalea, vómito, signos meníngeos y, ocasionalmente, focalizaciones nerviosas; el papel que juega el interferón en la aparición de estas complicaciones en el cerebro es cada vez

más evidente (27). También puede presentarse con convulsiones y letargia, y progresar hasta un coma profundo. Tiene una alta morbimortalidad, la que se debe, generalmente, a las lesiones cerebrales *per se* o a la miocarditis chagásica, que casi siempre coexiste (28-30). En pacientes inmunosuprimidos o en aquéllos que han adquirido la enfermedad por transfusiones, como los pacientes hemofílicos (31,32), se han informado además de la meningoencefalitis aguda, formas clínicas que simulan un tumor cerebral (33-35). Llamó la atención en este punto, la forma como se ha incrementado el número de publicaciones que informan una asociación entre infección por *T. cruzi* y sida asociado con el VIH. Sin embargo, el hecho de que existan falsos positivos en las pruebas serológicas para el VIH, debido precisamente a reacciones cruzadas con proteínas de este parásito, dejan una gran duda sobre la confiabilidad de estos diagnósticos (36). Tal vez, el futuro aislamiento de los así denominados retrovirus humanos o de larga latencia podría, entonces, ayudar a clarificar definitivamente la inconsistencia de los resultados actuales en algunas de estas patologías (22,23,37).

Histopatológicamente, se encuentran en esta fase lesiones diseminadas en todo el sistema nervioso, especialmente en la sustancia gris, con vasculitis e infiltrados inflamatorios compuestos principalmente de linfocitos CD8, además de nidos de parásitos en los astrocitos (38), los que, al parecer, se forman durante la segunda mitad de la fase aguda (39). En los pacientes inmunosuprimidos, el parásito se puede llegar a aislar directamente del líquido cefalorraquídeo y suelen encontrarse cambios de meningoencefalitis necrosante focal (40-43).

*Forma crónica.* Esta forma de presentación es menos frecuente y se calcula que 1 de cada 1'000.000 de pacientes con cardiopatías secundarias a la infección por *T. cruzi* puede llegar a sufrir un cuadro encefalopático crónico, con estados de confusión y demencia, así como un sinnúmero de déficit sensitivos y motores de origen central, entre otros.

Sin embargo, esta cifra puede ser mayor, pues los estudios neurofisiológicos como los potenciales evocados multimodales han

demostrado un importante compromiso subclínico del tallo cerebral y de la vía óptica (44) en este tipo de pacientes; la onda P300 y el electroencefalograma muestran también que en este estadio de la enfermedad existe una disminución en la velocidad del procesamiento cortical, la cual no es evidente clínicamente (45). Además, las exploraciones neuropsicológicas han mostrado un bajo desempeño cognitivo y cierta lentitud para resolver situaciones nuevas, lo cual sugiere un daño subcortical (45-47). Otros estudios en los que se han empleado el examen mental mínimo, la escala de memoria y la escala Wechsler de inteligencia del adulto han tenido puntuaciones más bajas en los pacientes chagásicos crónicos que en los normales. Los autores de estos trabajos sugieren que por presentarse alteraciones en el razonamiento no verbal, así como disminución de la velocidad del procesamiento de información, en la resolución de problemas y en diversas pruebas de aprendizaje, la neurotripanosis americana crónica de tipo central sea definitivamente una enfermedad de la sustancia blanca (48).

Los hallazgos histopatológicos informados por Pittella *et al.* (49) en pacientes con cardiopatía chagásica crónica, muestran también un cuadro encefalítico con múltiples focos hasta en 8%, con procesos inflamatorios recientes que pueden contener parásitos hasta en 2% de ellos. Otros estudios muestran que la enfermedad de Chagas crónica puede producir desmielinización del sistema nervioso central, especialmente en el tracto espinocefalo y las columnas posteriores, disminución del número de células de Purkinje, pérdida neuronal de la sustancia nigra y del locus ceruleus, estado lacunar en los ganglios basales, infiltración tisular con cuerpos de Herring, porencefalia y engrosamiento meníngeo (50).

Otro hallazgo importante en la enfermedad de Chagas es la reciente asociación encontrada entre la enfermedad cerebrovascular y la seropositividad para *T. cruzi*, independiente del compromiso cardiovascular (51,52), convirtiéndose, así, este parásito en otro factor de riesgo para sufrir un ictus en cualquiera de sus estadios (53,54). Esto, al parecer, es producto de la disfunción endotelial y de una alteración en la regulación del metabolismo del óxido nítrico (55,56).

### **Neurotripanosomiasis periférica**

**Neuronopatía/neuropatía.** Inicialmente se consideraba que la neurotripanosomiasis periférica ocurría en el estadio crónico de la enfermedad; sin embargo, hasta 35% de los pacientes puede sufrir neuropatía durante la fase aguda (57). En los modelos animales se han encontrado infiltrados linfocíticos y macrófagos durante esta fase, así como parásitos intracelulares en los nervios periféricos. La destrucción neuronal, por su parte, se presenta en las astas anteriores de la médula torácica y lumbar hasta en 35% de los casos (58). Esta neuronopatía es más evidente en los plexos mioentéricos, y afecta especialmente las neuronas de mediano y gran tamaño que presentan, además, una actividad disminuida de la acetilcolinesterasa (59).

Una neuropatía sensitivo-motora, se encuentra en cerca de 10% de los pacientes con enfermedad de Chagas crónica (60). Los estudios realizados por Sica *et al.* (61) mostraron que estos pacientes refieren síntomas de neuropatía periférica mixta, como hipoestésias y parestesias distales, trastornos de la sensibilidad profunda e hiporreflexia osteotendinosa. Otros estudios informan que hasta 16% de los pacientes con enfermedad de Chagas crónica presentan sintomatología clínica de neuropatía sensitiva (62).

Histopatológicamente, se observa una denervación parcial que se compensa con reinervación proveniente de neuronas indemnes, lo cual produce síntomas muy leves que pueden pasar desapercibidos en las evaluaciones clínicas superficiales (63,64). Se observan, además, infiltrados granulomatosos perivasculares y lesiones desmielinizantes multifocales (65,66). Se ha detectado, también, una neuropatía desmielinizante con áreas de remielinización, tanto en los nervios motores como en los sensitivos (67-70), que confirman algunos de estos hallazgos con estudios de neuroconducción (70).

### **Sinapticopatía**

La lesión por *T. cruzi* en la unión neuromuscular se observó inicialmente en pacientes sin neuropatía. Allí se estimuló el nervio cubital con corrientes de intensidad supramáxima repetitiva; sorpresivamente, 48,3% mostró algún tipo de

alteración en la transmisión neuromuscular, lo que otros grupos han confirmado recientemente (71).

Además, en otros estudios realizados con microelectrodos aplicados sobre la unión neuromuscular en ratones, se encontró disminuida la amplitud de los potenciales de placa en miniatura, sin alteración de la secreción de neurotransmisores (72). Todo esto demuestra de manera irrefutable que las sinapticopatías son también parte del espectro neuropatológico producido por *T. cruzi*.

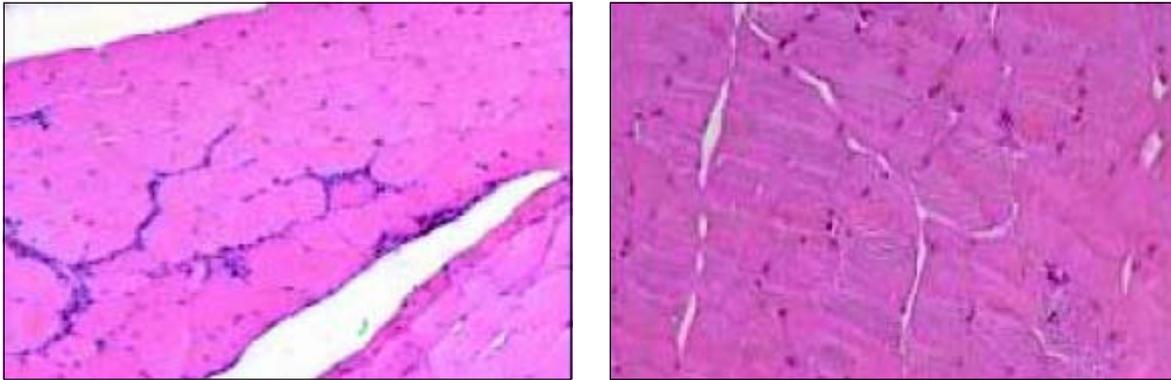
### **Miopatía**

Excepto por la miositis del músculo liso del sistema digestivo, se consideró inicialmente que no había compromiso muscular en la enfermedad de Chagas; sin embargo, aun pequeñas inoculaciones de parásitos a ratones susceptibles produjeron lesión muscular durante la fase aguda (73-75). En ellos se han encontrado infiltrados mononucleares múltiples, con predominio de células CD4 y CD8, necrosis de fibras musculares, agrupamiento de éstas y atrofia. La mayoría de estos infiltrados inflamatorios, con predominio de células T y macrófagos, se encuentran principalmente en áreas endomisiales y perivasculares (74). Otro estudio realizado con cepas de *Trypanosoma* CA-I produjo a los 4 meses de la primoinfección, miositis con compromiso perivascular en forma de arteritis. Estos estudios han confirmado el compromiso muscular informado en esta patología hace ya varias décadas, cuando se describieron los agrupamientos de las fibras musculares, tipo I y II, así como los cuadros similares a polimiositis (73-77) (figura 1).

Otro estudio encontró que se producía infiltración linfocítica interfascicular, con presencia de nidos de amastigotes, lesiones vasculares, degeneración y fibrosis (75); estos cambios se previnieron con la correspondiente inmunización, con lo que se evidenció su importancia para disminuir el daño tisular muscular (78).

### **Neurotripanosomiasis autonómica**

Son múltiples los cambios que se presentan en el sistema nervioso autónomo de los pacientes que padecen de enfermedad de Chagas. Se ha encontrado parasitismo neuronal con periganglionitis, anormalidades degenerativas de las



**Figura 1.** Biopsia tomada del músculo cuádriceps femoral de una rata hembra de la cepa CBA/J. Se aprecia una miopatía inflamatoria de 4 meses de evolución secundaria a la infección por *Trypanosoma cruzi* (izquierda), y una biopsia control (derecha), HE.

células de Schwann y despoblamiento neuronal autonómico, los que suelen ser muy acentuados en el corazón, el esófago y el colon; estos hallazgos se han descrito en pacientes aún sin signos de enfermedad clínica manifiesta. Puede haber, además, una neuritis autonómica periférica en focos, sin un patrón anatómico que pueda predecir su daño (79). La lesión es más prominente en el sistema parasimpático, pues afecta directamente las neuronas parasimpáticas cardiacas, y producen alteraciones más graves que las que ocurren en otras disautonomías (80).

Clínicamente se puede encontrar un síndrome disautonómico en pacientes con enfermedad de Chagas crónica. Ésta se caracteriza por pérdida de la estabilidad, mareos (81), presíncope y síncope, producto de la respuesta alterada al estrés ortostático, aumentado por un bloqueo de los receptores adrenérgicos y una falla en la liberación de norepinefrina (82). Además, puede ocurrir una alteración de la deglución y de la peristalsis (83).

La disautonomía chagásica representa, así, un excelente y único modelo de alteración autonómica sobre el corazón, pues ésta sucede muchas veces sin que ocurra una alteración estructural del órgano (84). En la mayoría de los casos, el daño miocárdico y la disfunción ventricular leve preceden a las anomalías parasimpáticas cardiacas, con una fuerte correlación entre el grado de disfunción autonómica y la dilatación ventricular izquierda

(85). Según algunos autores, éste sería un mecanismo compensatorio (86) que podría ser controlable y parcialmente reversible (87), especialmente si se suministran antagonistas de la activación neurohumoral (88).

Durante la fase aguda de la enfermedad se presenta una inflamación del sistema nervioso autónomo intracardiaco, al parecer, por extensión de la epicarditis, la que suele ser leve a pesar de la gravedad del cuadro (89). Posteriormente, se pueden encontrar múltiples focos inflamatorios en el sistema de conducción, nidos de parásitos dentro del nodo aurículo-ventricular, periganglionitis auricular importante y perineuritis (90). También se han encontrado anticuerpos circulantes contra receptores colinérgicos y adrenérgicos de linfocitos y de miocardio en los pacientes infectados por *T. cruzi* (91-93).

Más tarde, en la fase indeterminada, existe una denervación simpática en una alta proporción de pacientes que conduce a un movimiento anormal de las paredes del ventrículo izquierdo (94). Igualmente, existe una extensa alteración simpática cardíaca en el ventrículo en etapas tempranas de la cardiomiopatía chagásica, muy relacionado con las alteraciones de la perfusión focal, la cual ocurre antes de la aparición de anomalías en los movimientos de las paredes, lo que contribuye a la progresión de la disfunción ventricular (95). En este mismo sentido, se ha encontrado una denervación simpática subaguda de los ventrículos en los modelos animales (96).

Electrofisiológicamente, el sistema nervioso autónomo ha sido profundamente estudiado en la enfermedad de Chagas. Los ensayos experimentales y clínicos en pacientes con infección por *T. cruzi* mostraron anormalidades autonómicas en cerca del 30% de los pacientes, especialmente sobre el sistema parasimpático (97-100), lo cual se manifestó con múltiples pruebas (101,102) e independiente del daño visceral y cardíaco. Entre estas anormalidades neuro-fisiológicas se encuentra la bradicardia simpática refleja disminuida (103), la cual es, al parecer, el resultado del daño neuroganglionar intrínseco, que genera una eferencia parasimpática también disminuida, pues estos dos fenómenos parece que ocurren simultáneamente. Las respuestas simpáticas son exacerbadas por la estimulación de quimiorreceptores periféricos y disminuidas por la estimulación química central (104).

Los estudios piloto llevados a cabo en pacientes asintomáticos seropositivos de la región nororiental de Colombia demostraron que, a diferencia del megacolon y el megaesófago, estos individuos presentan disautonomía cardíaca de manera significativa (105). Una nueva prueba que permite evaluar la función autonómica, obtenida por medio del estudio del reflejo orbicular de los ojos (106), se está implementando actualmente por nuestro grupo para la detección precoz de estas anormalidades (107,108), la cual podría permitir la realización de un tamizaje más rápido y económico que el empleado actualmente en este tipo de pacientes.

### **Fisiopatología**

El daño al sistema nervioso en la enfermedad de Chagas sigue un proceso muy similar al que ocurre en la cardiopatía chagásica (109) y se divide en tres fases: la aguda o de parasitemia, la indeterminada o intermedia y la crónica (110).

Durante la fase aguda, el parásito ingresa al individuo y puede producir sintomatología en el paciente o no, lo que depende de factores como la cepa del parásito (111,112) y las características del huésped, que son las que modulan la reacción inicial (79). Por ejemplo, dependiendo de la cepa del parásito puede haber una mayor o menor lesión contra el sistema nervioso central, el músculo

esquelético o los nervios periféricos, la que es mediada especialmente por los linfocitos T del tipo CD4 (113). Con respecto al huésped, se puede originar una reacción inflamatoria que puede aumentar por la acción de la inmunidad celular (110).

Durante esta etapa, se puede presentar invasión de todo el sistema nervioso, incluido el central, si hay inmunosupresión o inmadurez inmunológica, pues la inmunidad celular restringe el paso del parásito a este sitio (114). Llama la atención que algunos estudios recientes demuestran que los infiltrados inflamatorios a este nivel en los pacientes inmunosuprimidos no se correlacionan con la presencia de antígenos de *T. cruzi*, lo que sugiere que existe un daño mediado por linfocitos, especialmente por CD8, que son los que con mayor frecuencia se encuentran en estas lesiones (115).

Durante la fase aguda se presentan, además, fenómenos como neuronolisis, bloqueo de receptores autonómicos y una denervación parcial del corazón, los vasos, las vísceras y los músculos estriados, así como alteraciones que conducen a una neuropatía aguda sensitiva y motora, que en muchas ocasiones se considera leve (116). En esta fase, el óxido nítrico juega un papel importante, pues su inhibición, a nivel experimental, mantiene indemnes las neuronas afectadas durante la parasitemia, pero aumenta el parasitismo tisular (117).

La fase intermedia es usualmente asintomática, y *T. cruzi* se ubica a manera de nidos en múltiples órganos, debido a una falla del huésped para liberarse de la infección parasitaria (118); parece que esto desencadena desde allí una cascada inflamatoria, en la cual interviene la inmunidad celular y humoral, así como factores inflamatorios que reaccionan contra los tejidos del huésped. Por ejemplo, el FI-160, un antígeno de la superficie del parásito, genera una inmunidad mediada por células T que reacciona contra una proteína de 48 kD encontrada en el nervio ciático, el cerebro y el plexo mioentérico intestinal (119). Otra reacción similar ocurre con los anticuerpos contra el sulfátido, un componente de las vainas de mielina y de los epimastigotes de *T. cruzi*, que reacciona contra el tejido neural homólogo,

posiblemente el responsable de las lesiones de la sustancia blanca y la desmielinización periférica mencionadas anteriormente (120).

Además, durante este periodo se crean anticuerpos tipo inmunoglobulina G que se ligan contra receptores  $\beta$ -adrenérgicos y colinérgicos muscarínicos tipo m2 cardíacos (121), lo que genera daño cardíaco intrínseco y denervación simpática y parasimpática progresiva (122). Los pacientes con niveles elevados de estos autoanticuerpos muestran un menor índice de variabilidad en la frecuencia cardíaca y una mayor bradicardia y disfunción autonómica, tanto cardíaca como esofágica (123). Dentro de los factores inflamatorios involucrados en este proceso se encuentran las prostaglandinas, el óxido nítrico, el superperóxido (123), las metaloproteinasas y algunas citocinas (124). Todo esto afecta los nervios periféricos, los cuerpos neuronales, la unión neuromuscular, las fibras musculares, el sistema nervioso autónomo y el sistema nervioso central.

Finalmente, la fase crónica es un estado clínico producto de todos estos procesos neuro-inmunoquímico-fisiopatológicos, los cuales suelen durar muchos años en aparecer. Esto da como resultado que el paciente presente síntomas secundarios a la cardiopatía, al daño autonómico o gastro-intestinal o que desarrolle diversas enfermedades neuromusculares. Las alteraciones autonómicas, sumadas a la miocarditis fibrosante crónica y la disfunción ventricular izquierda pueden llevar a la muerte súbita (125-127).

### Comentarios finales

Este trabajo se alejó de la revisión tradicional, la cual no tiene un protocolo estricto y se basa sólo en el juicio subjetivo de estudios individuales (128). La posibilidad de realizar los dos tipos de análisis cualitativos y cuantitativos, en revisiones sistemáticas, ha sido sugerida desde hace ya varios años por la comunidad científica internacional (129), siendo claro que las técnicas estadísticas pueden o no incluirse en cualquiera de estas metodologías (130). Cabe destacar que con la invasión matemática en la denominada 'medicina basada en la evidencia', se dio la sensación de que la elaboración de manuscritos

narrativos carecía de suficiente validez científica. Por ello, pretendemos con este trabajo rescatar la elaboración de dichos manuscritos, pero aplicando ahora metodologías más confiables que las usadas en épocas pasadas, siendo estimulante ver como los estudios cualitativos cuentan ya con un espacio propio en sitios como la prestigiosa Colaboración Cochrane (131).

Pretendimos, igualmente, llamar la atención sobre la necesidad de realizar trabajos futuros y, ojalá, mucho más elaborados en nuestro país y áreas circunvecinas, del tipo de los metanálisis cualitativos, sin que necesariamente tenga que acudir a los procesos matemáticos que aunque útiles, no dejan de ser complicados o intimidantes para algunos investigadores y de los cuales existen a la fecha, al menos, tres subclases (128). Cabe aclarar que las pruebas estadísticas tienen su espacio bien ganado en la investigación científica biomédica, principalmente en el análisis de las revisiones sistemáticas cuantitativas, pero vale la pena mencionar lo que decía Rutherford a este respecto que "(cuando se)... necesita la estadística para hacer sus resultados significativos, entonces lo que se necesita hacer es un mejor experimento" (131).

Esperamos, por todo lo anterior, que los conceptos emitidos como resultado de este metanálisis cualitativo abran nuevas ventanas a la autopista del conocimiento científico, incluido el bioestadístico y epidemiológico, y se genere una mayor atención por parte de las autoridades sanitarias en torno a una de las principales parasitosis de Colombia.

### Referencias

1. **WHO Expert Committee.** Control of Chagas disease. WHO Tech Rep Ser 2002;905:1-109.
2. **Coura JR, Junqueira AC, Fernandes O, Valente SA, Miles MA.** Emerging Chagas disease in Amazonian Brazil. Trends Parasitol 2002;18:171-6.
3. **Kirchoff LV.** *Trypanosoma* species (American trypanosomiasis, Chagas disease): Biology of trypanosomes. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editors. Principles and practice of infectious diseases. 14<sup>th</sup> edition. London: Churchill Livingstone; 1995.
4. **Méndez C, Torres N, Aguilar A.** The oral route: an access port for *Trypanosoma cruzi*. Rev Latinoam Microbiol 1992;34:39-42.

5. **Shikanai-Yasuda MA, Marcondes CB, Guedes LA, Siqueira GS, Barone AA, Dias JC, et al.** Possible oral transmission of acute Chagas' disease in Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1991;33:351-7.
6. **Herrera L, Urdaneta-Morales S.** Experimental transmission of *Trypanosoma cruzi* through the genitalia of albino mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:713-7.
7. **Concetti H, Retegui M, Pérez G, Pérez H.** Chagas' disease of the cervix uteri in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Hum Pathol* 2000;31:120-2.
8. **Pinto JC.** Evolución del conocimiento epidemiológico y situación epidemiológica actual. 1<sup>st</sup> Virtual Congress of Cardiology. Disponible en <http://pcvc.sminter.com.ar/cvirtual/cvirtesp/cientesp/ecesp/ecc4500c/cpinto/cpinto.htm>
9. **León-S FE.** Alteraciones neurológicas en pacientes chagásicos. En: Angulo VM, editor. *Memorias del Simposio Internacional sobre Trypanosoma cruzi*. Bucaramanga: UIS; 1999; p.12-6.
10. **León-S FE, Mendoza E, Pradilla G.** *Trypanosoma cruzi*: Un nuevo factor de riesgo en la apoplejía? *Salud UIS* 1999;31:14-5.
11. **Chagas C.** Les formes nerveuses d'un nouvelle trypanosomiase. *T. cruzi* inoculé par *Triatoma magista*. *Nov Iconogr Salpetriere* 1913;26:1.
12. **Gamarra G, Díaz J, León FS, León SY.** Prevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes tratados con diálisis crónica en Colombia. *Act Med Colomb* 1998; 23:50-6.
13. **Dixon-Woods M, Fitzpatrick R, Roberts K.** Including qualitative research in systematic reviews: opportunities and problems. *J Eval Clin Pract* 2001;7:125-33.
14. **Green J, Britten N.** Qualitative research and evidence based medicine. *BMJ* 1999; 316:1230-2.
15. **Jones T, Evans D.** Conducting a systematic review. *Aust Crit Care* 2000;13:66-71.
16. **Evans D, Kowanko I.** Literature reviews: evolution of a research methodology. *Aust J Adv Nurs* 2001;18:33-8.
17. **López MC, Duque S, Orozco LC, Camargo D, Gualdrón LE, Cáceres E, et al.** Inmunodiagnóstico de la infección chagásica por ELISA. *Biomédica* 1999; 19:159-63.
18. **Carod-Artal FJ, Vargas AP, Melo M, Horan TA.** American trypanosomiasis (Chagas' disease): an unrecognised cause of stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiat* 2003;74:516-8.
19. **Ferreira RC, Ianni BM, Abe LCJ, Buck P, Mady Ch, Kalil J, et al.** Increased plasma levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  in asymptomatic/"indeterminate" and Chagas disease cardiomyopathy patients. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2003;98:407-12.
20. **García SB, Aranha AL, García FRB Basile FV, Pinto AP, Oliveira EC, et al.** A retrospective study of histopathological findings in 894 cases of megacolon: what is the relationship between megacolon and colonic cancer? *Rev Inst Med Trop S Paulo* 2003;45:91-3.
21. **Alfonso H, León-Sarmiento FE, Brokate AM, Valderrama V, Parra JE.** Epidemiología del SIDA basada en la evidencia. En: León-Sarmiento FE, editores. *VIH y los virus de la imaginación humana*. Bogotá: Celsus; 2001. p.13-32.
22. **León-Sarmiento FE, Carpintero M.** Retrovirus, micotoxinas, inmunosupresión and neurodegeneración. *Rev Neurología (Barcelona)* 2002;35:562-71.
23. **León-S FE, Rodríguez CI, Prada DG.** Prions, infections and confusions in the "transmissible" spongiform encephalopathies. The other evidence-based science III. *Invest Clin* 2000;41:189-210.
24. **Baumann E, Bethell T, Bialy H, Duesberg PH, Farber C, Gesheker CL, et al.** AIDS proposal. *Science* 1995; 267:945-6.
25. **Villanueva MS.** Trypanosomiasis of the central nervous system. *Semin Neurol* 1993;13:209-18.
26. **Sica R.** Compromiso del sistema nervioso. En: Storino R, Milei J, editores. *Enfermedad de Chagas*. 1<sup>a</sup> edition. Argentina: Mosby/Doyma; 1994. p.303-20.
27. **Michailowsky V, Silva NM, Rocha CD, Vieira LQ, Lannes-Vieira J, Gazzinelli RT.** Pivotal role of interleukin-12 and interferon-gamma axis in controlling tissue parasitism and inflammation in the heart and central nervous system during *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Pathol* 2001;159:1723-33.
28. **Libonatti E, Maglio F.** Manifestaciones neurológicas agudas en la enfermedad de Chagas-Mazza. *Rev Neurol Arg* 1997;3:420.
29. **Pittella JE.** Central nervous system involvement in the chronic form of Chagas Disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 1996;29:291-2.
30. **Leiguarda R, Roncoroni A, Taratuto AL.** Acute CNS infection by *Trypanosoma cruzi* (Chagas' disease) in immunosuppressed patients. *Neurology* 1990;40:850-1.
31. **Ferreira MS, Nishioka S, Rocha A.** Acute fatal *Trypanosoma cruzi* meningoencephalitis in a human immunodeficiency virus-positive hemophiliac patient. *Am J Trop Med Hyg* 1991;45:723-7.
32. **Rosemberg S, Chaves CJ, Higuchi ML.** Fatal meningoencephalitis caused by reactivation of *Trypanosoma cruzi* infection in a patient with AIDS. *Neurology* 1992;42:640-2.
33. **Gluckstein D, Ciferri F, Ruskin J.** Chagas' disease: Another cause of cerebral mass in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med* 1992;92:429-32.
34. **Velásquez JN, Corti M, Pérez Blanco R.** Manifestaciones neurológicas en pacientes con

- enfermedad de Chagas y síndrome de inmunodeficiencia adquirida. *Medicina* 1997;57:41-2.
35. **Libaak NE, González MI, Gutfraind E.** Mielomeningoencefalitis candidiásica asociada a meningitis por tripanosoma cruzi en un paciente portador de SIDA. *Rev Asoc Med Argent* 1993;106:4-8.
  36. **Parra JE.** Controversias diagnósticas en las pruebas serológicas del VIH. En: Giraldo R, Alfonso H, León-Sarmiento FE, editores. SIDA sin VIH ¿Mito o realidad? Bogotá: Ecoe; en prensa.
  37. **Alfonso H, León-Sarmiento FE, Tapias EA, Camargo L.** ¿VIH o VIH? En: León-Sarmiento FE, editor. VIH y los virus de la imaginación humana. Bogotá: Celsus; 2001. p.3-12.
  38. **Hoff R, Teixeira RS, Carvalho JS.** *Trypanosoma cruzi* in the cerebrospinal fluid during the acute stage of Chagas' disease. *N Eng J Med* 1978;298:604-6.
  39. **Da Mata JR, Camargos MR, Chiari E, Machado CR.** *Trypanosoma cruzi* infection and the rat central nervous system: proliferation of parasites in astrocytes and the brain reaction to parasitism. *Brain Res Bull* 2000; 53:153-62.
  40. **Pagano MA, Segura MJ, Di Lorenzo GA, Garau ML, Molina HA, Cahn P, et al.** Cerebral tumor-like American trypanosomiasis in acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Neurol* 1999;45:403-6.
  41. **Jardim E, Takayanagui OM.** Chagasic meningo-encephalitis with detection of *Trypanosoma cruzi* in the cerebrospinal fluid of an immunodepressed patient. *J Trop Med Hyg* 1994;97:367-70.
  42. **Lazo J, Meneses AC, Rocha A, Ferreira MS, Márquez JO, Chapadeiro E, et al.** Chagasic meningoencephalitis in the immunodeficient. *Arq Neuropsiquiatr* 1998;56: 93-7.
  43. **Antunes AC, Cecchini FM, Bolli FB, Oliveira PP, Reboucas RG, Monte TL, et al.** Cerebral trypanosomiasis and AIDS. *Arq Neuropsiquiatr* 2002;60:730-3.
  44. **Genovese O, Sanz P, Correale J, Erro MG, Sica RE.** Cerebral potentials evoked in human chronic Chagas disease. *Arq NeuroPsiq* 1989;47:274.
  45. **Pereyra A, Mangone C, Segura E.** Neuropsychological impairment in chronic Chagas disease. *Neurology* 1992;42:278.
  46. **Pereyra SA, Mangone C, Segura E.** Rastreo cognitivo en pacientes con enfermedad de Chagas en estadio crónico: estudio preliminar. *Rev Neurol Arg* 1992;17: 37.
  47. **Prost JO, Morikone AM, Polo G, Bosch AM.** Evidence of cerebral involvement in the chronic stage of Chagas disease obtained using the P300 potential and quantified electroencephalography. *Arq Neuropsiquiatr* 2000;58:262-71.
  48. **Mangone CA, Sica RE, Pereyra S, Genovese O, Segura E, Riarte A, et al.** Cognitive impairment in human chronic Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1994; 52:200-3.
  49. **Pittella JE, Meneguette C, Barbosa AJ.** Histopathological and immunohistochemical study of the brain and heart in the chronic cardiac form of Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1993;51:8-15.
  50. **Jardim E, Takayanagui OM.** Chronic nervous form of Chagas disease: clinical course and anatomopathology of a case followed-up for 20 years. *Arq Neuropsiquiatr* 1993;51:537-40.
  51. **León-Sarmiento FE, Mendoza E, Prada J, Silva CA, Vera SJ, Castillo E, et al.** Enfermedad cerebrovascular y *Trypanosoma cruzi* en el oriente Colombiano. *Acta Neurol Colomb* 2001;17:171-7.
  52. **León-Sarmiento FE, Torres MH, Pinto N, Mendoza E, Prada J, Vera SJ, et al.** *Trypanosoma cruzi*-associated cerebrovascular disease: a case-control study. *J Neurol Sci*; en prensa.
  53. **León-S FE, Pradilla G, Chávez AM, Vega A, Mendoza E, Vera SJ, et al.** Enfermedad cerebrovascular y Enfermedad de Chagas en el HURGV de Bucaramanga. *Acta Med Colomb* 1998;23:256.
  54. **López ER, Márquez JO, Neto BD, da Costa Menezes AA, Chapadeiro ME.** Association of encephalic vascular accidents and Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 1991;24:101-4.
  55. **Machado FS, Martins GA, Aliberti JC, Menezes AA, Chapadeiro ME.** *Trypanosoma cruzi*-infected cardio-myocytes produce chemokines and cytokines that trigger potent nitric oxide-dependent trypanocidal activity. *Circulation* 2000;102:3003-8.
  56. **Pinto N, Torres M, Mendoza E, León-S FE.** Immune response, nitric oxide, autonomic dysfunction and stroke: a puzzling linkage on *T. cruzi* infection. *Med Hypoth* 2002;58:374-7.
  57. **Benavente OR, Patino OL, Pena LB, Lugones H, Kalala E, Meneclier CR, et al.** Motor unit involvement in human acute Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1989;47:283-86.
  58. **Vichi L.** Molestia de Chagas experimental: parasitismo na cadena ganglionar simpática, medula espinal, ganglio raquidiano e musculatura estriada. *Hospital* 1963;64: 131.
  59. **Maifrino LB, Liberti EA, Watanabe I, De Souza RR.** Morphometry and acetylcholinesterase activity of the myenteric neurons of the mouse colon in the chronic phase of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Am J Trop Med Hyg* 1999;60:721-5.
  60. **Genovese O, Ballario C, Storino R, Segura E, Sica RE.** Clinical manifestations of peripheral nervous system involvement in human chronic Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1996;54:190-6.

61. **Sica RE, González Cappa SM, Sanz OP, Sanz OP, Mirkin G.** Peripheral nervous system involvement in human and experimental chronic American trypanosomiasis. *Bull Soc Pathol Exot* 1995;88:156-63.
62. **Woodhouse JI.** The prevalence of clinical peripheral neuropathies in human chronic Chagas disease. *J R Army Med Corps* 1993;139:54-5.
63. **Pagano M, O'Neill E, Aristimuño G.** Electromiograma de detección en la enfermedad de Chagas. *Rev Neurol Arg* 1977;3:464.
64. **Pagano M, Aristimuño GG, Basso S, Colombi A, Sica RE.** Electromyographical findings in human chronic Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1978;36:316-8.
65. **Said G, Joscowicz M, Barreira AA, Eisen H.** Neuropathy associated with experimental Chagas' disease. *Ann Neurol* 1985;18:676-83.
66. **Segura MJ, Genovese OM, Segura E, Sanz OP, Sica RE.** Central motor conduction in human chronic Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1994;52:29-31.
67. **Sica EP, Genovese O, García E.** Peripheral motor nerve conduction studies in patients with chronic Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1991;49:405.
68. **Sica RE, Filipini D, Panizza M, Fumo T, Lazzari J, Molina HA.** Involvement of the peripheral sensory nervous system in human chronic Chagas disease. *Medicina (Buenos Aires)* 1986;46:662-8.
69. **Fazan VP, Lachat JJ.** Qualitative and quantitative morphology of the vagus nerve in experimental Chagas' disease in rats: a light microscopy study. *Am J Trop Med Hyg* 1997;57:672-7.
70. **Villela E, Margarinos CB.** Estudio histo-patológico do sistema nervoso central en paralisia experimental determinada pelo *Schizotrypanum cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1926;19:175.
71. **Erro MG, Genovese O, Correale J, Sica RE.** Neuro-muscular transmission studies in human chronic Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1989;47:279-82.
72. **Molina HA, Cardoni RL, Rimoldi MT.** The neuro-muscular pathology of experimental Chagas' disease. *J Neurol Sci* 1987;81:287-300.
73. **Taratuto A, Pagano MA, Fumo T, Sanz OP, Sica RE.** Histopathological and histochemical changes of the skeletal muscle in human chronic Chagas' disease. *Arq Neuropsiquiatr* 1978;36:327-31.
74. **Andersson J, Englund P, Sunnemark D, Dahlstedt A, Westerblad H, Nennesmo I, et al.** CBA/J mice infected with *Trypanosoma cruzi*: an experimental model for inflammatory myopathies. *Muscle Nerve* 2003;27:442-8.
75. **Mortatti-RC, Fonseca-LS, Coelho-J, Oliveira A, Moreno M.** Follow-up of patent and subpatent parasitemias and development of muscular lesions in mice inoculated with very small numbers of *Trypanosoma cruzi*. *Exp Parasitol* 1992;75:233-9.
76. **Laguens RP, Cossio PM, Diez C, Segal A, Vásquez C, Kreutzer E, et al.** Immunopathologic and morphologic studies of skeletal muscle in Chagas' disease. *Am J Pathol* 1975;80:153-62.
77. **Cossermelli W, Friedman H, Pastor EH, Nobre MR, Manzione A, Camargo ME, et al.** Polymyositis in Chagas's disease. *Ann Rheum Dis* 1978;37:277-80.
78. **Milei J, Storino RA, Beigelman R, Grana D, Basombrio MA.** Morphometry of skeletal muscle involvement in mice infected or preimmunized with live attenuated *Trypanosoma cruzi*. *Medicina* 1991;51:529-32.
79. **de Souza MM, Andrade SG, Barbosa AA Jr, Macedo Santos RT, Alves VA, Andrade ZA.** *Trypanosoma cruzi* strains and autonomic nervous system pathology in experimental Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1996;91:217-24.
80. **Alcântara FG.** Denervação dos gânglios cardíacos intramurais e cervicotorácicos na moléstia de Chagas. *Rev Goiana Med* 1970;16:159-77.
81. **Dávila Spinetti DF, Inglessis G, Mazzei de Dávila CA.** Chagas cardiomyopathy and the autonomic nervous system. Clinical studies. *Arch Inst Cardiol Mex* 1999;69:35-9.
82. **Iosa D, DeQuattro V, Lee DD, Elkayam U, Palmero H.** Plasma norepinephrine in Chagas' cardioneuro-myopathy: a marker of progressive dysautonomia. *Am Heart J* 1989;117:882-7.
83. **Amorim DD, Marin-Neto JA.** Functional alterations of the autonomic nervous system in Chagas' heart disease. *Rev Paul Med* 1995;113:772-84.
84. **Oliveira JS.** A natural human model of intrinsic heart nervous system denervation: Chagas' cardiopathy. *Am Heart J* 1985;110:1092-8.
85. **Dávila DF, Bellabarbra G, Donis JH, Torres A, Rossell OJ.** Cardiac autonomic control mechanisms in Chagas' heart disease. *Med Hypoth* 1993;40:33-7.
86. **Dávila DF, Donis JH, Torres A, Gottberg CF, Rossell O.** Cardiac parasympathetic innervation in Chagas' heart disease. *Med Hypoth* 1991;35:80-4.
87. **Dávila DF, Inglessis G, Mazzei de Davila CA.** Chagas' heart disease and the autonomic nervous system. *Int J Cardiol* 1998;66:123-7.
88. **Iosa D, Massari P, Dorsey F.** Chagas cardioneuro-pathology: effects of ganglioside treatment in chronic dysautonomic patients. A randomized, double blind parallel, placebo-controlled study. *Am Heart J* 1991;122:775.
89. **de Almeida-Ribeiro R, Lourenco Jr DM, Días JC, Shikanai-Yasuda MA, Chapadeiro E, Lópes ER.**

- Intracardial autonomous nervous system in a fatal case of acute Chagas' disease. *Rev Soc Bras Med Trop* 1993;26:35-8.
90. **Rocha A, Neves SA, Lopes ER, Macedo V de O.** Acute Chagas cardiopathy. A systematic study of the intracardiac excitatory-conduction and autonomic nervous systems in an autochthonous case in Acre. *Rev Soc Bras Med Trop* 1996;29:367-71.
  91. **Ribeiro dos Santos R, Marquez JO, Von Gal Furtado CC, Ramos de Oliveira JC, Martins AR, Koberle F.** Antibodies against neurons in chronic Chagas' disease. *Tropenmed Parasitol* 1979;30:19-23.
  92. **de Oliveira SF, Pedrosa RC, Nascimento JH, Campos de Carvalho AC, Masuda MO.** Sera from chronic chagasic patients with complex cardiac arrhythmias depress electrogenesis and conduction in isolated rabbit hearts. *Circulation* 1997;16:2031-7.
  93. **Leiros CP, Sterin-Borda L, Borda ES, Goin JC, Hosey MM.** Desensitization and sequestration of human m2 muscarinic acetylcholine receptors by autoantibodies from patients with Chagas' disease. *J Biol Chem* 1997;272:12989-93.
  94. **Simoes MV, Pintya AO, Bromberg-Marin G, Sarabanda AV, Antloga CM, Pazin-Filho A, et al.** Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2000;86:975-81.
  95. **Simoes MV, Pintya AO, Bromberg-Marin G, Sarabanda AV, Antloga CM, Pazin-Filho A, et al.** Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 2000;86:975-81.
  96. **Machado CR, Caliarí MV, de Lana M, Tafuri WL.** Heart autonomic innervation during the acute phase of experimental American trypanosomiasis in the dog. *Am J Trop Med Hyg* 1998;59:492-6.
  97. **Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C, Gallo Junior L, Maciel BC, Bellina CR, et al.** Myocardial perfusion defects in chronic Chagas disease. Assessment with thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol* 1992; 69:780-4.
  98. **Marin-Neto JA, Bromberg-Marin G, Pazin-Filho A, Simoes MV, Maciel BC.** Cardiac autonomic impairment and early myocardial damage involving the right ventricle are independent phenomena in Chagas' disease. *Int J Cardiol* 1998;65:261-9.
  99. **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;14:541-50.
  100. **Sousa AC, Marin-Neto JA, Maciel BC, Gallo L Jr, Amorim DS.** Cardiac parasympathetic impairment in gastrointestinal Chagas' disease. *Lancet* 1987; i: 985.
  101. **Guzzetti S, Iosa D, Pecis M, Bonura L, Prosdociami M, Malliani A.** Impaired heart rate variability in patients with chronic Chagas' disease. *Am Heart J* 1992;124: 1665-6.
  102. **Guzzetti S, Josa D, Pecis M, Bonura L, Prosdociami M, Malliani.** Effects of sympathetic activation on heart rate variability in Chagas' patients. *J Auton Nerv Syst* 1990;30:S79-S81.
  103. **Caeiro T, Iosa D.** Chronic Chagas' disease: possible mechanism of sinus bradycardia. *Can J Cardiol* 1994; 10:765-8.
  104. **Junqueira Jr LF, Beraldo PS, Chapadeiro E, Jesus PC.** Cardiac autonomic dysfunction and neuroganglionitis in a rat model of chronic Chagas' disease. *Cardiovasc Res* 1992;26:324-9.
  105. **Villar JC, Peña JL, Orozco LC, Vega A, Leon H, Contreras JP, et al.** Disfunción autonómica en sujetos seropositivos para *T. cruzi* asintomáticos. *Act Med Colomb* 1997;22:67-77.
  106. **León-S FE, Bayona J, Bayona E.** Una nueva evaluación autonómica. Parte I. *Salud UIS* 1999;3:73-5.
  107. **León-S FE, Torres M.** Obiculari oculi reflex (R3) and the Valsalva manoeuvre. *Rev Neurología (Barcelona)* 2001;32:1020-2.
  108. **León-S FE, Arimura K, Arimura Y, Sonoda Y, Osame M.** Contralateral early blink reflex in patients with HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci* 1995;128:51-7.
  109. **Greco OT, Ardito RV, Souza DR, Schaldach M.** Pacemaker with sensor of contractility regulated by autonomic nervous system variations in chronic Chagas cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol* 1998;71: 751-61.
  110. **Andrade ZA.** Immunopathology of Chagas disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1999;94:71-80.
  111. **Mirkin GA, Jones M, Sanz OP, Rey R, Sica RE, González Cappa SM.** Experimental Chagas' disease: electrophysiology and cell composition of the neuromyopathic inflammatory lesions in mice infected with a myotropic and a pantropic strain of *Trypanosoma cruzi*. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;73:69-79.
  112. **Machado EM, Camilo Jr DJ, Pinheiro SW, Lopez ER, Fernández AJ, Dias JC, et al.** Morphometry of submucous and myenteric esophageic plexus of dogs experimentally reinfected with *Trypanosoma cruzi*. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001;96:545-8.
  113. **Mirkin GA, Celentano AM, Malchiodi EL, Jones M, González Cappa SM.** Different *Trypanosoma cruzi* strains promote neuromyopathic damage mediated by distinct T lymphocyte subsets. *Clin Exp Immunol* 1997; 107:328-34.
  114. **Gallo P, Fabiao Neto OM, Suárez JM, Borba RP.** Acute central nervous system infection by *Trypano-*

- soma cruzi* and AIDS. *Arq Neuropsiquiatr* 1992;50:375-7.
115. **Silva AA, Marino AP, dos Santos PV, Quirico-Santos T, Paiva CN, Lannes-Vieira J.** Chagas' disease encephalitis: intense CD8+ lymphocytic infiltrate is restricted to the acute phase, but is not related to the presence of *Trypanosoma cruzi* antigens. *Clin Immunol* 1999;92:56-66.
  116. **Fernández A, Hontebeyrie M, Said G.** Autonomic neuropathy and immunological abnormalities in Chagas' disease. *Clin Auton Res* 1992;2:409-12.
  117. **García SB, Paula JS, Giovannetti GS, Zenha F, Ramalho EM, Zucoloto S, et al.** Nitric oxide is involved in the lesions of the peripheral autonomic neurons observed in the acute phase of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Exp Parasitol* 1999;93:191-7.
  118. **Tarleton RL, Zhang L.** Chagas disease etiology: autoimmunity or parasite persistence? *Parasitol Today* 1999;15:94-9.
  119. **van Voorhis WC, Eisen H.** A surface antigen of *Trypanosoma cruzi* that mimics mammalian nervous tissue. *J Exp Med* 1989;169:641-52.
  119. **Feldman S, García G, Svetaz MJ, Avila JL, Revelli S, Bottasso OA, et al.** Evidence that antisulfatide autoantibodies from rats experimentally infected with *Trypanosoma cruzi* bind to homologous neural tissue. *Parasitol Res* 1999;85:446-51.
  120. **Borda ES, Sterin-Borda LJ, Pascual JO, Gorelik G, Felix JC, von Kreuter BF, et al.** *Trypanosoma cruzi* attachment to lymphocyte muscarinic cholinergic and beta adrenergic receptors modulates intracellular signal transduction. *Mol Biochem Parasitol* 1991;47:91-100.
  121. **Sterin-Borda LJ, Borda ES.** Participation of autonomic nervous system in the pathogenesis of Chagas disease. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam* 1994;44:109-23.
  122. **Sterin-Borda L, Borda E.** Role of neurotransmitter autoantibodies in the pathogenesis of chagasic peripheral dysautonomia. *Ann NY Acad Sci* 2000;917:273-80.
  123. **Corbett CE, Laurenti MD, Nunes EV, Gama-Rodrigues JJ, Okumura M.** Cytokines and Chagas disease in mice. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 1998;53:1-2.
  124. **Díaz JO, Makikallio TH, Huikuri HV, Castellanos A, Myerburg RJ, Morillo CA, et al.** Heart rate dynamics before the spontaneous onset of ventricular tachyarrhythmias in Chagas' heart disease. *Am J Cardiol* 2001;87:1123-5.
  125. **Rossi MA, Bestetti RB.** The challenge of chagasic cardiomyopathy. The pathologic roles of autonomic abnormalities, autoimmune mechanisms, microvascular changes and therapeutic implications. *Cardiology* 1995;86:1-7.
  126. **Grubb BP, Vesga BE, Guzman JC, Silva FA, Morillo CA.** Síndromes de disfunción autonómica asociados con intolerancia ortostática. *Biomédica* 2003;23:103-14.
  127. **Blettner M, Sauerbrei W.** Meta-analysis of epidemiologic studies. *Med Klin* 1998;93:442-5.
  128. **Mulrow CD.** Rationale for systematic reviews. *BMJ* 1994;309:597-9.
  129. **Oxman AD.** Checklists for review articles. *BMJ* 1994;309:648-51.
  130. **Dixon-Woods M, Fitzpatrick R.** Qualitative research in systematic reviews has established a place for itself? *BMJ* 2001;323:765-6.
  131. **Eysenck HJ.** Meta-analysis and its problems. *BMJ* 1994;309:789-92.