

TEMAS DE ACTUALIDAD

Megacolon chagásico en Paraguay: aspectos quirúrgicos y perspectivas futuras**Chagasic megacolon in Paraguay: surgical aspects and futures perspectives*****Fretes Zárate R, Medina Gutiérrez J, Muñoz Rodas D**

Departamento de Coloproctología, Primera Cátedra de Clínica Quirúrgica, Sala X, Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción, Paraguay

RESUMEN

La constipación severa o las complicaciones del megacolon chagásico fueron clásicamente de resolución quirúrgica. Numerosos estudios fueron hechos, como así también muchas técnicas quirúrgicas fueron descritas para el abordaje de esta patología. La progresiva disminución del número de pacientes tratados quirúrgicamente es el resultado de la aplicación de las políticas públicas de salud, que evitan los nuevos casos y las complicaciones crónicas de esta entidad.

Palabras clave: constipación, megacolon chagásico, tratamiento quirúrgico.

ABSTRACT

Severe constipation and other complications of chagasic megacolon were classically of surgical resolution. Several studies were made and many surgical techniques were applied to approach of this pathology. The progressive decrease in the number of patients treated surgically is the result of the application of public health policies that avoid the appearance of new cases and the chronic complications of this entity.

Keywords: constipation, chagasic megacolon, surgical treatment.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud estima que existen 15 millones de personas afectadas por la Enfermedad de Chagas en Latinoamérica, con una incidencia anual de 41.200 casos nuevos y 12.500 muertes anuales debido a afectación cardíaca y a complicaciones digestivas. Con el incremento en el movimiento de las poblaciones la Enfermedad de Chagas se convirtió en un reto de resolución global, áreas no endémicas como Europa y Japón han reportado casos de esta enfermedad y está estimado que actualmente están afectadas más de 300.000 personas con infección por *Trypanosoma Cruzi* en los Estados Unidos (1).

El megacolon chagásico es una afección caracterizada por un cuadro de constipación crónica provocada por una alteración en el funcionamiento de la musculatura de la pared colónica como consecuencia de la reducción o destrucción de las neuronas de los plexos nerviosos intramurales, con el consecuente alargamiento, dilatación e hipertrofia de una porción del colon comprometiendo preferentemente el recto y el sigmoides, sin que exista ninguna causa mecánica intrínseca o extrínseca de obstrucción (2 - 8).

El megacolon chagásico es la segunda causa más frecuente de manifestación de las formas digestivas de la Enfermedad de Chagas, la cual es encontrada en el 5 - 10% de los pacientes con manifestaciones crónicas de la Enfermedad de Chagas en la región central del Brasil (Figura 1). La forma digestiva de la enfermedad de Chagas representa el modelo de denervación intestinal que afecta la motilidad del tracto digestivo (9).

*Autor Correspondiente: **Dr. Ricardo Fretes Zárate**. Departamento de Coloproctología, Primera Cátedra de Clínica Quirúrgica, Sala X, Hospital de Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción. Email: ricardof@rieder.net.py

Fecha de recepción: marzo de 2013, Fecha de aceptación: octubre de 2013



Figura 1. Dolicomegacolon, megacolon chagásico, sigmoides elongado y dilatado.

En el Paraguay, Rosner et al. (10) sobre 325 pacientes infectados con *T. cruzi*, encontraron 39 casos de megacolon chagásico, correspondiendo al 9% del total de pacientes.

El megacolon chagásico es una enfermedad adquirida que se manifiesta en la etapa crónica de la enfermedad de Chagas, secundaria a la alteración y destrucción de las células ganglionares, preferentemente de aquellas de los plexos nerviosos mientéricos. Los trastornos del peristaltismo conducen a la hipertrofia muscular y la dilatación del segmento colónico, sobre todo el distal, pudiendo causar complicaciones como la obstrucción por fecaloma, ulceraciones y perforaciones (11).

Kasamatsu et al. (12) reportan en un estudio de recuento de células ganglionares en 10 pacientes con megacolon chagásico (diagnóstico clínico – radiológico y serológico) una hipoganglionosis severa en el margen distal de las piezas operatorias en el plexo de Auerbach. En el resto de las porciones los resultados fueron variables, el plexo de Meissner también mostró hipoganglionosis más acentuada en el margen distal y en menor grado en otras localizaciones, aunque de menor intensidad que la observada en el plexo de Auerbach. La distribución multifocal de las áreas de aganglionosis e hipoganglionosis severa a lo largo del segmento, que son más extensas en el margen distal y zona dilatada. En las zonas no dilatadas y el margen proximal estas áreas se observaron en menor extensión, a veces contiguas a áreas de número de células ganglionares normales o de hiperganglionosis.

Los cambios degenerativos en las células ganglionares del plexo de Auerbach fueron frecuentes en las zonas de hipoganglionosis.

Asumiendo que el colon dilatado era la principal causa de esta enfermedad, los cirujanos practicaron sigmoidectomías, resecano solo la parte dilatada del colon, dejando el recto y la porción del colon que se presentaban macroscópicamente normales (13).

En 1930, en el período de la teoría de la acalasia esfinteriana, Correa Neto era favorable a la resección del llamado esfínter colónico funcional (4).

La operación inicial basada en el concepto de acalasia secciona el ano interno o el esfínter pelvi-rectal. El concepto de acalasia fue gradualmente sustituido por el de "disquinesia intestinal distal" considerando la obstrucción rectal o distal, la que difiere de la acalasia por la mayor extensión del segmento intestinal afectado. Desde 1947 hasta 1952, la rectosigmoidectomía fue la cirugía de elección, pero fue sustituida años después, hasta 1958, por la rectosigmoidectomía abdominoperineal con anastomosis colorectal

inmediata. Desde 1959, la rectosigmoidectomía abdominoperineal con anastomosis colorrectal retardada (Cirugía de Cutait) fue el procedimiento utilizado. La técnica no solo fue popular en el Brasil sino también en toda Latinoamérica. El aumento en la resección del recto disquinético apunta a disminuir los índices de recurrencia y prevenir o reducir a un mínimo la posibilidad de dehiscencia de la línea de sutura anastomótica, un fenómeno inmediato frecuente en la anastomosis colorrectal. El mejoramiento de la función de la musculatura perineal, constituido por los elevadores y los esfínteres anales interno y externo se consideró en el desarrollo de la operación de Cutait, que además evitó la colostomía transversa y disminuyó la estancia hospitalaria(14,15).

La operación propuesta por Duhamel para el megacolon congénito fue divulgada por Bernardes de Oliveira como tratamiento quirúrgico para el megacolon chagásico (16).

La operación de Duhamel fue modificada parcialmente por Haddad, Raia y Correa Neto y desde 1966, utilizando la variación propuesta por Haddad, fue la técnica principal utilizada por los cirujanos brasileños (17).

Aspectos quirúrgicos del tratamiento del megacolon chagásico

Es consenso general que el tratamiento del megacolon chagásico es quirúrgico. El tratamiento conservador se reserva a oligosintomáticos, casos con moderada ectasia, funcionalmente compensada y con evacuaciones intestinales espontáneas o con la ayuda de cuidados higiénicos-dietéticos o el uso juicioso de los laxantes. El tratamiento clínico también está indicado cuando la cirugía está contraindicada, como en los casos de cardiopatías descompensadas, embarazo, caquexia secundaria a la desnutrición por megaesófago (18-20).

Hay que recordar que el tratamiento quirúrgico a instaurarse cualquiera sea la técnica a emplearse no cura la enfermedad, solo estamos tratando un síntoma que es la constipación.

NUMEROSAS TÉCNICAS SE HAN EMPLEADO EN EL TIEMPO Y EN LOS DIVERSOS PAÍSES DONDE ESTA ENFERMEDAD ES ENDÉMICA, NINGUNA HA DADO EL RESULTADO IDEAL, SEGUIMOS EN BUSCA DE LA METODOLOGÍA QUIRÚRGICA IDEAL, PUES TODAS PRESENTAN SU ÍNDICE DE RECIDIVA EN EL TIEMPO.

En nuestro medio se han empleado también numerosas técnicas, pasando por la hemicolectomía izquierda, la resección anterior baja, la colectomía total hasta la operación de Duhamel-Haddad modificada que es la que más resultados favorables nos ha dado y es la que actualmente empleamos en nuestro servicio, además de la técnica de Duhamel con sutura mecánica.

Pasaremos a describir algunas de las técnicas más empleadas en nuestro servicio en el transcurso del tiempo.

La operación de Cutait, o rectosigmoidectomía abdominoperineal con anastomosis colorrectal retardada, consiste en extirpar el rectosigmoides, exteriorizar el manguito rectal a través del ano y realizar la anastomosis colorrectal afuera del ano y dejarla expuesta durante 2 semanas y una vez comprobada la viabilidad de la sutura, se la reintroduce a la cavidad pelviana.

Esta cirugía era demasiada intervención para una patología benigna, disecar todo el recto con las consiguientes complicaciones urinarias (vejiga neurogénica) y sexuales (impotencia), incontinencia anal, dehiscencia de la anastomosis, necrosis o retracción del colon descendido, infección pélvica, lo que hizo que vaya perdiendo adeptos.

Nuestros maestros también emplearon la operación de Soave, que consistía en que después de extirpar el rectosigma, se procedía a la extirpación de toda la mucosa del recto hasta el límite superior del canal anal, descendiendo posteriormente el colon no dilatado a través del manguito rectal desprovisto de mucosa. Con esto se evitaba la extirpación del recto, el mismo quedaba *in situ*, pero la técnica era muy engorrosa y

sangrante, y el recto que es la porción más enferma quedaba *in situ*, el cual de una u otra forma seguía siendo un obstáculo al progreso de las heces.

Igualmente se ha empleado la técnica de Swenson, en la que se realiza la rectosigmoidectomía con anastomosis término-terminal prácticamente colo-anal. La misma se realiza afuera del ano, para lo cual se revierte el recto por fuera del mismo y se practica la anastomosis por fuera del ano, posteriormente se reintroduce la misma a la cavidad pelviana de manera inmediata. Esta técnica también era demasiada cirugía para una patología benigna y presentaba una morbilidad alta, por lo que fue dejándose de lado (21).

Posteriormente, hace pocos años se empezó a utilizar la técnica de Duhamel, que consiste en realizar la sigmoidectomía con cierre del muñón rectal cuidando de no dejar un muñón muy largo. Lo ideal es que a nivel o un poco por debajo del promontorio, se realiza simplemente una disección retrorrectal, y se desciende el colon no dilatado a través de una rectotomía posterior, que se realiza a 3 cm por encima de la línea pectínea y se realiza la sutura término-lateral entre la cara posterior del colon descendido y el labio inferior de la rectotomía. Luego, se colocan 2 pinzas de Kocher que abrazan el labio superior de la rectotomía y la cara anterior del colon descendido, estas pinzas caen espontáneamente a partir del octavo día. Actualmente, realizamos variantes con suturas mecánicas circulares y lineales cortantes.

La técnica videolaparoscópica más utilizada por los cirujanos brasileños para el tratamiento quirúrgico del megacolon chagásico es justamente la de Duhamel, posibilitando la resolución en un solo acto quirúrgico (22).

Esta operación tampoco estaba exenta de complicaciones, sobre todo por la dehiscencia de la anastomosis; la cual tenía una mortalidad muy alta, amén de las fístulas y las estenosis de la boca anastomótica. Es así que iniciamos en la Sala X del Hospital de Clínicas la variante de la técnica de Duhamel, que es la Duhamel- Haddad, variante en la que se obvia la anastomosis, pues se exterioriza el colon descendido a través de la rectotomía como una colostomía perineal, la cual es resecada 2 semanas después, y como no hay anastomosis no puede haber dehiscencia, y el paciente queda con la protección de una colostomía perineal (Figura 2).



Figura 2. Colostomía perineal. Cirugía de Duhamel – Haddad.

Pero esta técnica también tiene sus complicaciones como ser la necrosis de la colostomía perineal y la sepsis pélvica. De 1991 al 2009 tuvimos 220 casos operados, 140 mujeres y 80 varones, en los que las complicaciones inmediatas más frecuentes fueron el absceso de pared y la necrosis de la colostomía, 7% y 6,2% respectivamente.

Entre las complicaciones tardías, las más comunes fueron el fecaloma del muñón rectal (8%) y la estenosis de la boca anastomótica (6%). Garcia et al. (22) refieren

complicaciones tardías de fecaloma de muñón rectal en un 14,28% y estenosis anastomótica en 5,36%.

De todos modos, es la técnica que en el tiempo mejor resultado nos ha dado y es la que actualmente realizamos en nuestro servicio. La recurrencia luego de esta cirugía es rara y las complicaciones, como retención urinaria, disfunción eréctil, ano húmedo y fecaloma, ocurren en un rango similar, pero a la vez son más raras que en otros procedimientos de descenso tipo pull-through (técnicas de Cutait y Swenson) (8,16).

En la revisión de Garcia et al. (22) concluyeron que la hemicolectomía izquierda mostraba la más alta recurrencia de constipación en comparación con las demás técnicas. La resección anterior muestra en comparación con la Duhamel-Haddad menos complicaciones pero una recurrencia de constipación mayor.

En el 2006, Nahas et al. (23) comunicaron los resultados de la rectosigmoidectomía con inmediato engrapado posterior término-lateral y refirieron una tasa de 4% de dehiscencia anastomótica y ningún absceso pélvico.

Perspectivas futuras de la enfermedad de Chagas y de la cirugía del megacolon chagásico en Paraguay

La enfermedad de Chagas es un problema de salud pública y totalmente erradicable dependiendo de la seriedad de las políticas de salud pública de los países comprometidos en la problemática. Uno de los beneficios traídos por el Mercosur ha sido la creación en el área de salud de la Iniciativa del Cono Sur para el control y erradicación de la Enfermedad de Chagas (INCOSUR – Chagas), entidad intergubernamental de los países asociados y adherentes en la lucha de la erradicación de la enfermedad de Chagas. La perspectiva y la seriedad con la que se han trazado dichos esquemas de erradicación harán que probablemente en varios países regionales el megacolon chagásico dejara de ser territorio de la cirugía y una problemática reducida a un carácter informativo en los programas de residencia médica quirúrgica (24).

Como antecedentes, el Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS) de la Universidad Nacional de Asunción, se dedicó desde sus inicios (1982) a la investigación de la Enfermedad de Chagas en el Paraguay, con el aporte de nuevos conocimientos publicados en más de 170 artículos en revistas nacionales e internacionales (25). Entre las investigaciones se destacan el desarrollo de un modelo animal, el control de la enfermedad a través del mejoramiento de la vivienda, la producción local de un reactivo para la detección serológica de anticuerpo anti *T. cruzi*, la búsqueda de productos naturales con actividad tripanocida sobre *Trypanosoma cruzi*, estudios de epidemiología molecular y Chagas congénito (26–28). En relación al megacolon, se citan los artículos sobre la denervación en el megacolon y la identificación de *T. cruzi* en tejido de pacientes con megacolon chagásico (29,30).

En los años 90, el IICS conjuntamente con el Programa Nacional de Chagas del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social y la Organización Panamericana de la Salud (OPS/OMS) participó activamente en la INCOSUR "Iniciativas intergubernamentales para el Control de la Enfermedad de Chagas" en las Américas. En el período 1999 – 2009, Paraguay se destacó por sus acciones operativas de control químico y de la vigilancia entomológica, lo que permitió la obtención de la "Certificación internacional de la interrupción de la transmisión vectorial del *Trypanosoma cruzi* por el *Triatoma infestans* en la Región Oriental del Paraguay", emitida por la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa Subregional Cono Sur en el año 2008 (31).

Los trabajos realizados en los diferentes países en el área de la salud pública para el control de la Enfermedad de Chagas demuestran una considerable disminución de la incidencia y la prevalencia de la enfermedad, pero aún queda toda una generación de infectados por cuidar.

Se siguen investigando actualmente diferentes aspectos anatómicos e histopatológicos como el número de células neuronales e intersticiales.

Alonso Araujo et al. (32), demuestran una población reducida de células intersticiales de Cajal en especímenes resecados de colon de pacientes con megacolon chagásico comparados con pacientes con cáncer, pero no pueden demostrar la asociación directa entre la severidad de la constipación y el número de células de Cajal. Aún con todas estas investigaciones no se puede esclarecer el mecanismo de destrucción de las células musculares y de las células intersticiales de Cajal, (33).

Morais da Silveira et al., demuestran que los pacientes con megacolon chagásico tienen una disminución en la densidad de PGF 9.5 IR fibras neuronales en la muscular externa cuando son comparados con un grupo control o inclusive con pacientes chagásicos sin megacolon. Creen que el proceso inflamatorio y las alteraciones en las células gliales en el colon de los pacientes chagásicos producen una disrupción en el sistema entérico neuronal, contribuyendo al desarrollo de esta patología (34).

Adad et al. (35) concluyen que enfermedades con desórdenes de motilidad tienen un reducido número de neuronas y células intersticiales de Cajal. Aunque el desarrollo de megacolon chagásico requiere de denervación severa y la reducción de las células intersticiales de Cajal puede ser en parte consecuencia de esa denervación, por lo que el análisis cuantitativo de las células intersticiales de Cajal debe ser asociada al conteo de las neuronas.

Líneas de investigación actuales enfocan el esclarecimiento de mecanismos inmunológicos relacionados con las alteraciones motoras halladas en los pacientes con megacolon chagásico. La expresión de genes reguladores de homeostasia inmunológica, como el FOXP3, expresadas específicamente en células T reguladoras CD 4+ y CD 25+, controlando su crecimiento, desarrollo y función (36). Morais da Silveira A et al. (37) sugieren que estas células FOXP3 pueden representar un mecanismo usado en pacientes chagásicos que previene la exacerbación del proceso inflamatorio y consecuentemente la aparición de megacolon chagásico.

Ante estas evidencias que aclaran paulatinamente el mecanismo íntimo de lesión del sistema entérico neuronal, el Dr. Enio Chaves de Oliveira (de Goiania, Goiás, Brasil) está pregonando actualmente solamente hacer cirugías de descenso colónico (Duhamel o Duhamel Haddad) en aquellos pacientes con megarrecto y resecciones anteriores estándar en los que no hay megarrecto con anastomosis primaria, ya que la enfermedad tiene una evolución natural independientemente de la técnica quirúrgica utilizada en el tratamiento quirúrgico del megacolon chagásico, como lo expuso recientemente en septiembre de este año en el IX Congreso Paraguayo de Coloproctología (38).

Futuros estudios en la caracterización de moléculas marcadoras involucradas en el intercambio de información entre las células del sistema entérico neuronal, incluyendo citocinas, neurotransmisores y factores neurotróficos van a ayudar a comprender la patogénesis de esta enfermedad y por ende a la instauración de tratamientos más específicos.

En conclusión, el enfoque correcto de la problemática del megacolon chagásico es la prevención a través de las políticas de salud pública para cortar la transmisión de la enfermedad por lo que podemos afirmar que probablemente en el futuro.

EL MEGACOLON CHAGÁSICO DEJARÁ DE SER TERRITORIO DE LA CIRUGÍA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Coura JR, Viñas PA. Chagas disease: a new worldwide challenge. *Nature* 2010 465(7301):S6-S7.
2. Amarillo H. Vólculo Sigmoideo. *Prens. Med. Arg.* 60:503, 1973.
3. Bomfim Pinheiro H. Complicações do megacolon chagásico. Padronização de tratamento. *Rev Bras Colo-Proct.* 1981, 1(1):2-15.
4. Gomez Gotuzzo F. Megacolon del adulto. *Rev. Med. Uruguay* 1986; 2(2):155-178.
5. Bannura Cumsille G, Pisano V R. Aspectos clínicos, radiológicos e histopatológicos del megacolon del adulto en Chile: análisis de 100 casos. *Rev Chil Cir* 1996; 48(1):42-9.
6. Swenson O, Sherman JO, Fisher JH, Cohen E. The treatment and postoperative complications of congenital megacolon: a 25 year followup. *Ann Surg* 1975; 182 (3):266-73.
7. Halbrech PJ, Fry DE. recurrence of volvulus after sigmoidectomy. *Diseases of the Colon & Rectum* 1979; 22(6):420-24.
8. Morson B. Enfermedades del colon recto y ano. Ed. Jims, Barcelona, 291, 1972.
9. Meneghelli UG Chagasic enteropathy. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37:252-60.
10. Rosner T, Schinini A, Rovira T, Martínez J, Fresco MA, Rojas de Arias A et al. Morbilidad cardíaca y digestiva por *T. cruzi* en el Dpto. de Medicina Tropical del IICS. In : Rosner JM, Kawabata M. editores. Enfermedad de Chagas en el Paraguay. EFACIM - JICA. Memorias del IICS, No. 15, 1990, 88-96.
11. Rezende JM. Manifestaciones digestivas. In : Brenner Z, Andrade Z. Editores. *Trypanosoma cruzi* en doenza de Chagas. Guanabara Koogan, 1979, 228-30.
12. Kasamatsu E, Nunes MC, Machaín G, Vanuno D, Almiron M, Russomando G. Estudio cuantitativo de la denervación de los plexos nerviosos en el megacolon chagásico. *Annual Reports* 1994 ; 56 (2): 30-40.
13. Andrade JI, Queiroz AO, Sobrinho RC, Guimaraes VP, Ubinmha AF, Zanaga AR et al. A volvo do sigmóide: Consideracoes sobre o tratamento de 44 casos. *Rev Bras Cir.* 1980; 70:155-9.
14. Correa Rovelo JM, Tellez Reynoso O. Experiencia con la rectosigmoidectomía perineal y plastia de los elevadores del ano (procedimiento de Altemeier), en el tratamiento del prolapso rectal completo. *Cirujano General* 2000; 22(2):125-30.
15. Cutait D, Cutait R. Surgery of Chagasic Megacolon. *World Journal of Surgery* 1991; 15(2): 188-97.
16. Bannura C G, Jaime Contreras P J, Alejandro Barrera E A, Carlos Melo L C, Daniel Soto C D. Tratamiento quirúrgico del megacolon del adulto: análisis de 62 pacientes. *Rev Chilena de Cirugia* 2004; 56 (3):248-54.
17. Pedroso M, Arioni Lupinacci R, Beani Junior A, Micelli Lupinacci R, Farah F. Tratamiento Laparoscópico do Megacolon Chagásico pela Técnica de Duhamel Modificada. Experiência de 30 Casos. *Rev bras videocir*, 2003. 1(2): 55-9.
18. Moreira H. Tratamiento cirúrgico do megacolo chagásico pela técnica de Duhamel-Haddad. Experiência pessoal. *Arq Gastroenterol.* 1971; 185-90.
19. Moreira H, Rezende JM, Sebba F, Azevedo LF Leite ACA, Soares EP. Megacolo chagásico. *Rev Bras Colo-Proct.* 1980; 3:152-62.
20. Moreira H. Bases fisiopatológicas para o tratamento cirúrgico do megacolo chagásico. *Rev Goiana Med.* 1986; 32:73-8.
21. Araujo Sea. Recurrence of chagasic megacolon after surgical treatment. *CLINICS* 2007; 62(1):89-92.
22. Garcia RLS, Meyer R. de Matos B, Féres O, Ribeiro da Rocha JJ. Surgical treatment of Chagas megacolon. Critical analysis of outcome in operative methods. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2008; 23 Supplement 1: 83-92.
23. Nahas SC, Habr-Gama A, Nahas CS, Araujo SE, Marques CF, Sobrado CW, et al. Surgical Treatment of Chagasic Megacolon by Abdominal Rectosigmoidectomy With Immediate Posterior End-to-Side Stapling (Habr-Gama Technique) *Dis Colon Rectum* 2006; 49:1371-78.
24. Organización Panamericana de la Salud. XVII Reunión de la Comisión Intergubernamental de la Iniciativa Subregional Cono Sur. Transmisión Transfusional de la Tripanosomiasis Americana. Santiago: INCOSUR; 2010.
25. IICS, UNA. Bibliografías relacionadas con la Enfermedad de Chagas publicadas por el IICS, período 1983-2009. *Mem Inst Investig Cienc Salud* 2009; 5(2)71-80.
26. Vera de Bilbao N. Investigaciones sobre la Enfermedad de Chagas en el Departamento de Medicina Tropical del Instituto de Investigación en Ciencias de la Salud. Año 1982-20. *Mem Inst Investig Cienc Salud* 2009; 5(2) 65-9.

27. Kaspar P, Velázquez G, Monzón MI, Meza T, Vera ME, Pozzoli L. et al. Un nuevo kit para la determinación de anticuerpos anti - *Tripanosoma cruzi*. En: Rosner JM, Kawabata M, editores. Enfermedad de Chagas en el Paraguay. Asunción: Memorias del IICS. No. 15. EFACIM-JICA; 1990.240-9.
28. Russomando G. Transmisión congénita de la Enfermedad de Chagas en el Paraguay. Mem Inst Investig Cienc Salud 2009; 5 (2): 55-64.
29. Almirón M, Russomando G, Kasamatsu E, Guillén I, Tomassone MM, Cálcena MF. Detección de ADN de *Tripanosoma cruzi* en tejido parafinado de megacolon chagásico mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Annual Reports 1994; 74: 114-25.
30. Rojas de Arias A, Russomando G. In: OPS. El control de la Enfermedad de Chagas en los países del cono sur de América. Historia de una iniciativa internacional 1991/2001. Washington DC: PAHO/WHO; 2002.
31. Velázquez G. El IICS, 3 décadas investigando sobre la Enfermedad de Chagas. Mem Inst Cienc Salud 2009; 5 (2): 3-5.
32. Alonso Araujo SE, Dumarco RB, Rawet V, Seid VE, Bocchini SF, Nahas SC, et al. Reduced population of interstitial cells of Cajal in chagasic megacolon. Hepatogastroenterology. 2012 Oct;59(119):2147-50.
33. Jabari S, da Silveira AB, de Oliveira EC, Quint K, Wirries A, Neuhuber W, et al. Interstitial cells of Cajal: crucial for the development of megacolon in human Chagas disease ?. Colorectal Dis. 2013 Oct; 15(10):592-8.
34. Moraes da Silveira A, Lemos E, Adad SJ, Correa-Oliveira R, Furness JB, D'Avila Reis D. Megacolon in Chagas disease: a study of inflammatory cells, enteric nerves and glial cells. Human Pathology ,2007; 38, 1256-64.
35. Adad SJ, Barbosa e Silva G, Adad Jammal A. The significantly reduced number of interstitial cells of Cajal in Chagasic megacolon (CM) patients might contribute to the pathophysiology of CM. Virchows Arch ,2012; 461:385-92.
36. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4-CD25 regulatory T cells. Nat Immunol 2003; 4: 330-6.
37. Moraes da Silveira A, Fortes de Araujo F, Ribeiro Freitas M, Silva Gomes JA, Chaves AT, de Oliveira EC et al. Characterization of the presence and distribution of Foxp3 cells in chagasic patients with and without megacolon. Human Immunology 70, 2009; 65-7.
38. Chaves de Oliveira E. Conferencia: Manejo del megacolon chagásico. Jueves 19 Septiembre 2013. IX Congreso Paraguayo de Coloproctología. Sociedad Paraguaya de Coloproctología.