

Variabilidade da frequência cardíaca em pacientes chagásicos com e sem hipertensão arterial

Dalmo Correia, Adriana de Nazaré Miziara, Rodrigo Juliano Molina, Bruno Doriguetto Couto Ferreira, Carlos José Dormas G. Barbosa, Valdo José Dias da Silva e Aluizio Prata

RESUMO

Avaliamos a função autonômica cardíaca de pacientes chagásicos, hipertensos, e chagásicos portadores de hipertensão arterial e comparamos com o grupo controle, por meio do estudo computadorizado da variabilidade da frequência cardíaca no estado basal de repouso supino, esfriamento facial (estímulo parassimpático) e ortostatismo passivo (tilt test). Foram estudados 80 indivíduos em quatro grupos de 20: chagas (CHG), hipertenso (HAS), chagas-hipertenso (CHG-HAS) e controle (CONT), com idade entre 21 a 60 anos. Todos foram avaliados por eletrocardiograma, ecocardiograma, radiografia de tórax, bioquímica do sangue, sorologia para doença de Chagas e, nos chagásicos, estudo radiológico contrastado de esôfago e cólons para caracterização quanto à forma clínica. Não houve diferença entre os grupos quanto à idade, gênero, e uso de medicamentos, índices de desempenho ventricular esquerdo e diâmetros cavitários cardíacos. Os grupos CHG e CHG-HAS não diferiram quanto ao número de pacientes pertencentes a cada forma clínica da doença. Os níveis pressóricos dos pacientes hipertensos e chagásicos-hipertensos foram semelhantes e significativamente maiores do que os níveis dos chagásicos e controles. Na condição basal e durante o ortostatismo não se observou diferença estatística quanto aos índices temporais. As respostas autonômicas ao esfriamento facial não foram diferentes entre os grupos, sugerindo preservação da resposta vagal.

Palavras-chaves: Doença de Chagas. Hipertensão arterial. Variabilidade da frequência cardíaca.

INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma enfermidade endêmica altamente prevalente no Brasil. Descrita por Carlos Chagas, é causada por um protozoário hemoflagelado, o *Trypanosoma cruzi*^{1,2}. Estima-se que 4 a 6 milhões de brasileiros estejam acometidos pela doença, e, apesar dos avanços obtidos no controle da transmissão vetorial, grande número de doentes crônicos permanece^{3,4,5,6}.

A disfunção autonômica cardíaca em pacientes chagásicos vem sendo estudada por meio da análise computadorizada da variabilidade da frequência cardíaca e tem sido evidenciada por vários pesquisadores^{7,8,9,10,11}.

A atividade simpática pode estar aumentada devido a fatores atuando no controle central, emoções, atividade física, ou devido a uma retroalimentação (*feedback*) negativa pouco eficiente. Estudos indicam uma depressão do mecanismo barorreflexo em determinadas condições patológicas, como na doença de Chagas¹².

Há evidências de que esta atividade simpática faça parte não só de mecanismos fisiológicos e da fase inicial da hipertensão arterial, como também da fase de manutenção dos níveis pressóricos elevados, junto aos mecanismos de longo prazo relacionados ao balanço hidroeletrólítico¹³.

Associando-se o estudo eletrocardiográfico contínuo para a análise dos intervalos RR e provas clínico-funcionais que desafiam o sistema nervoso autônomo, o registro da modulação autonômica se torna mais sensível, permitindo estudar as alterações existentes em determinadas condições patológicas, como na doença de Chagas^{10,11,14,15} e no *diabetes mellitus*.¹⁶ Entretanto, dados de estudos das alterações encontradas na função autonômica cardíaca de pacientes chagásicos portadores de hipertensão arterial são conflitantes. Palmero e colaboradores (1979)¹⁷ descreveram menor prevalência de hipertensão arterial sistêmica nos chagásicos crônicos quando comparados com a população geral. Postularam que tal achado poderia se relacionar a um menor débito cardíaco ou a uma possível disfunção autonômica simpática associada à doença de Chagas. Já Guariento (1993)¹⁸ e colaboradores descreveram uma maior prevalência de hipertensão arterial em pacientes chagásicos em relação aos não chagásicos de sua população de estudo, mais evidente em pacientes acima da quarta década de vida. Estudos experimentais apontam para a possibilidade de redução dos níveis tensionais em ratos espontaneamente hipertensos após a infecção pelo *T. cruzi*.¹⁹

Acreditamos que o estudo da função autonômica cardíaca dos pacientes puramente Chagásicos e hipertensos, comparado ao estudo da função autonômica cardíaca de pacientes chagásicos portadores de hipertensão arterial sistêmica possa contribuir para compreensão da fisiopatogenia da disfunção autonômica nestes doentes.

Pretendemos, desta forma, analisar comparativamente a função autonômica cardíaca destes grupos de doentes e identificar padrões de modulação autonômica em cada grupo isoladamente e se há efeito aditivo quando da interação destas duas condições patológicas entre si.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Local do estudo. No período de março de 2002 a setembro de 2003, foi conduzido um estudo prospectivo no ambulatório de doença de Chagas da Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro (FMTM).

População do estudo. Foram selecionados e convidados a participar do estudo pacientes chagásicos e hipertensos que preencheram os critérios de inclusão. Os pacientes foram pareados entre si e com indivíduos saudáveis, segundo critérios epidemiológicos, de idade, gênero, atividade física e uso de medicamentos.

Excluímos as patologias que pudessem interferir na função autonômica cardíaca como: Insuficiência renal aguda ou crônica, insuficiência coronariana antiga ou recente insuficiência cardíaca congestiva, hipertrofia miocárdica moderada a importante, diabetes mellitus, etilistas, portadores de marcapasso cardíaco artificial, pacientes acima de 60 anos, portadores de arritmias freqüentes e bloqueios de ramo, uso de medicamentos (antiarrítmicos, beta-bloqueadores, anti-hipertensivos de ação central, bloqueadores dos canais de cálcio, ansiolíticos, antidepressivos e contraceptivos orais) e obesidade.

Caracterização dos grupos. Foram formados quatro grupos de pacientes com 20 indivíduos em cada. GRUPO I (Pacientes chagásicos): Diagnóstico confirmado por pelo menos duas reações sorológicas diferentes positivas: HAI, IFI e/ou ELISA. Não portadores de *diabetes mellitus* e hipertensão arterial. GRUPO II (Pacientes hipertensos): Diagnóstico confirmado por pelo menos 3 medidas consecutivas de pressão arterial sistêmica. Hipertensão essencial com ou sem níveis tensionais sob controle satisfatório em uso de inibidor de enzima conversora de angiotensina (IECA) e/ou diuréticos e vasodilatadores como medicamentos anti-hipertensivos ou através de tratamento não-farmacológico. Não portadores de *diabetes mellitus* ou sorologia positiva para doença de Chagas. GRUPO III (Pacientes chagásicos portadores de hipertensão arterial): Pacientes que apresentem as duas condições clínicas previamente descritas. GRUPO IV (Indivíduos controles): Indivíduos saudáveis sem antecedente de cardiopatia e/ou hipertensão arterial sistêmica, com níveis pressóricos dentro da faixa de normalidade e sorologia negativa (nas três técnicas testadas), para doença de Chagas.

Protocolo de estudo. Todos os indivíduos que participaram do estudo foram previamente esclarecidos e orientados, em linguagem acessível, quanto ao tipo de avaliação a ser realizada bem como sobre os seus objetivos. Somente foram submetidos à rotina de investigação diagnóstica após concordância e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido pós-informação. Todos os pacientes foram submetidos a anamnese detalhada dirigida para cada patologia em estudo, exame físico criterioso seguindo as normas propedêuticas usuais. Na anamnese foi dada especial atenção à história epidemiológica para doença de Chagas, hipertensão arterial de qualquer etiologia e uso de medicamentos. Foram realizadas aferições de pressão arterial empregando esfigmomanômetro modelo "Tycos", nas

posições supina e decúbito dorsal, em ambos os braços seguindo as recomendações do III Consenso Brasileiro de Hipertensão Arterial (1998).

Todos os pacientes foram submetidos à coleta de sangue para realização de sorologia para doença de Chagas segundo técnicas padronizadas.^{20 21 22}

A forma clínica da doença foi caracterizada através de estudo radiológico simples do tórax, radiografias contrastadas do esôfago e cólon, e eletrocardiograma de repouso de 12 derivações. O grau de acometimento cardíaco foi avaliado através de ecocardiograma bidimensional e Doppler. Considerou-se como portador da forma indeterminada, aquele paciente que apresentava reação sorológica positiva para *T. cruzi*, ausência de sinais e sintomas relacionados à doença de Chagas, eletrocardiograma convencional de 12 derivações normal e estudo radiológico do tórax, esôfago e cólon normais.

Os pacientes hipertensos procediam do Ambulatório de Cardiologia e do Departamento de Ecocardiografia, onde já tinham o seu diagnóstico confirmado pelos critérios correntes, ou foram recrutados a partir do atendimento ambulatorial e emergencial em que a hipertensão foi diagnosticada, devidamente documentada, investigada e encaminhada para seguimento regular.

Avaliação da função autonômica cardíaca. Para estudo da função autonômica cardíaca a partir da análise linear da variabilidade dos intervalos RR obtidos do eletrocardiograma, utilizou-se o protocolo experimental padronizado por JUNQUEIRA JR & SOARES (2002)¹¹. Todos os indivíduos foram esclarecidos quanto aos objetivos, dinâmica, duração e riscos do estudo. Não foram excluídos do atendimento ou discriminados de qualquer forma os pacientes que se negaram a participar do estudo.

Foram dadas orientações aos pacientes para se absterem de café, chocolate, bebidas alcoólicas e fumo por um período mínimo de 12 horas antes da realização dos testes clínico-funcionais e alimentarem-se até duas horas antes do exame. Estes testes foram realizados no Laboratório de Função Autonômica (LAFA) da FMTM.

Inicialmente foi registrado o eletrocardiograma (ECG) basal. Em seguida registrou-se continuamente a derivação DII em três condições experimentais distintas: repouso supino (condição basal), durante o esfriamento facial (estímulo parassimpático) e durante o ortostatismo passivo-"Tilt Test" (estímulo simpático). O esfriamento facial foi realizado colocando-se duas bolsas de água gelada (0-4 °C) sobre as faces do paciente. O sinal eletrocardiográfico foi registrado dez minutos na condição basal e por cinco minutos durante o esfriamento facial e "Tilt Test". Os dados foram adquiridos e armazenados num microcomputador através de uma placa conversora analógico-digital (DI-194 Starter Kit, Dataq Inst., Akron, OH), com uma taxa de aquisição de 240 amostras por canal por segundo.

As séries de intervalos RR geradas a partir dos registros eletrocardiográficos em cada condição experimental foram gravadas e, em seguida, foi realizada a análise temporal da variabilidade da freqüência cardíaca. A variância foi estimada como um marcador de variabilidade total no domínio do tempo. Todos

os parâmetros temporais foram quantificados na condição basal. Alterações percentuais do basal para o esfriamento facial e "Tilt Test", foram calculadas.

Análise estatística. empregamos a análise de variância (one way ANOVA) e os testes de Turkey, Kruskal-Wallis ANOVA e o teste de Dunn quando necessário. A distribuição quanto ao gênero e o uso de medicamentos foram analisados pelo teste do Chi-quadrado. Diferenças foram consideradas estatisticamente significantes, quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

1. Análise da função autonômica cardíaca nos quatro grupos estudados no período basal.

Índices temporais avaliados: Não se observou diferença estatística significativa dos intervalos RR, da variância, do desvio-padrão e do coeficiente de variação entre os grupos no período basal. A mediana dos intervalos RR no estado basal foi 931,000ms no chagásico, 803,500ms no hipertenso, 850,000ms no chagásico-hipertenso e 860,500ms no grupo controle (Tabela 1 e Figura 1).

2. Análise da função autonômica cardíaca nos quatro grupos estudados no esfriamento facial.

Índices temporais avaliados: No grupo Chagas, diante do esfriamento facial, a duração média dos intervalos RR passou de 919,233 ms para 933,667 ms. No grupo hipertenso, variou de 830,500 a 855,500 ms. No grupo Chagas-hipertenso, foi de 850,0 ms a 884,0 ms e no controle, de 860,5 a 869,5 ms. Não houve diferença estatística significativa da alteração percentual dos índices temporais com o esfriamento facial, em relação ao basal. A alteração percentual do coeficiente de variação também não apresentou diferença entre os grupos, com $p = 0,592$ (tabela 2, figura 2).

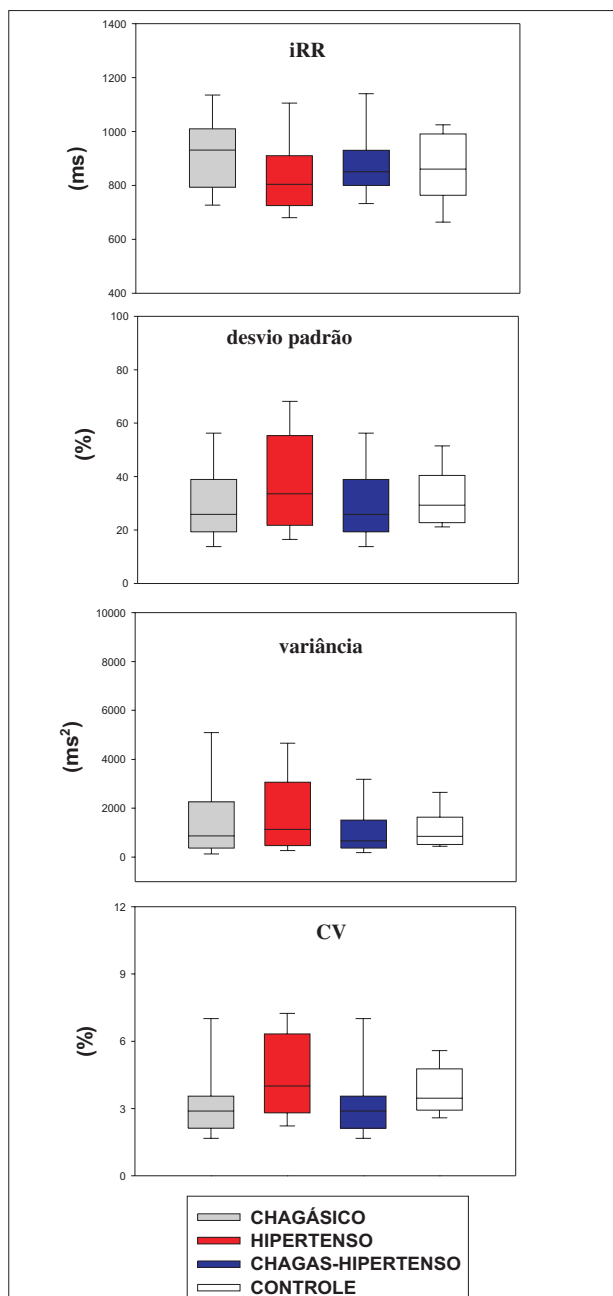


Figura 1 - Valores amostrais dos índices temporais (mediana, P25 e P75) na condição basal nos quatro grupos estudados.

Tabela 1 - Distribuição dos valores amostrais dos índices temporais observados na condição basal nos quatro grupos estudados.

Índices Temporais	CHG	HAS	CHG-HAS	Controle	P
	ME	ME	ME	ME	
IRR (ms)	931,000	803,500	850,000	860,500	0,234
	793,000-1010,000	725,000-910,000	800,000-930,000	763,000-991,000	
VAR (ms ²)	867,950	1138,800	669,550	856,050	0,376
	374,900-2268,000	471,200-3061,000	373,000-1515,000	517,700-1636,000	
DP (ms)	29,309	33,522	25,876	29,258	0,376
	19,362-47,624	21,707-55,326	19,329-38,923	22,753-40,447	
CV (%)	3,149	3,999	2,887	3,459	0,121
	2,160-4,864	2,805-6,331	2,122-3,552	2,929-4,762	

IRR-Intervalo RR, VAR-Variância, DP- desvio-padrão, CV- coeficiente de variação. Valores expressos em medianas (percentis 25 e 75). p-nível de significância pela ANOVA de Kruskal-Wallis.

Tabela 2 - Alteração percentual dos índices temporais observados no esfriamento facial em relação ao estado basal nos quatro grupos estudados.

Índices Temporais	CHG	HAS	CHG-HAS	Controle	P
	ME	ME	ME	ME	
	P25 – P75	P25 – P75	P25 – P75	P25 – P75	
IRR (ms)	1,861 -0,837-4,341	2,138 0,0-4,762	2,679 0,248-5,244	3,591 1,895-5,825	0,076
VAR (ms ²)	-16,670 -39,330-7,130	-4,280 -45,070-27,850	-0,340 -31,160-37,240	3,820 -31,920-43,730	0,384
DP (ms)	-8,718 -22,110-3,503	-2,193 -25,884-13,071	-0,183 -17,030-17,151	1,864 -17,489-19,888	0,384
CV (%)	-11,324 -24,266-2,133	-4,838 -26,866-12,948	-5,182 -16,972-13,107	1,132 -20,196-14,678	0,592

IRR-Intervalo RR, VAR-Variância, DP- desvio-padrão, CV- coeficiente de variação. Valores expressos em medianas (percentis25 e 75). p-nível de significância pela ANOVA de Kruskal-Wallis.

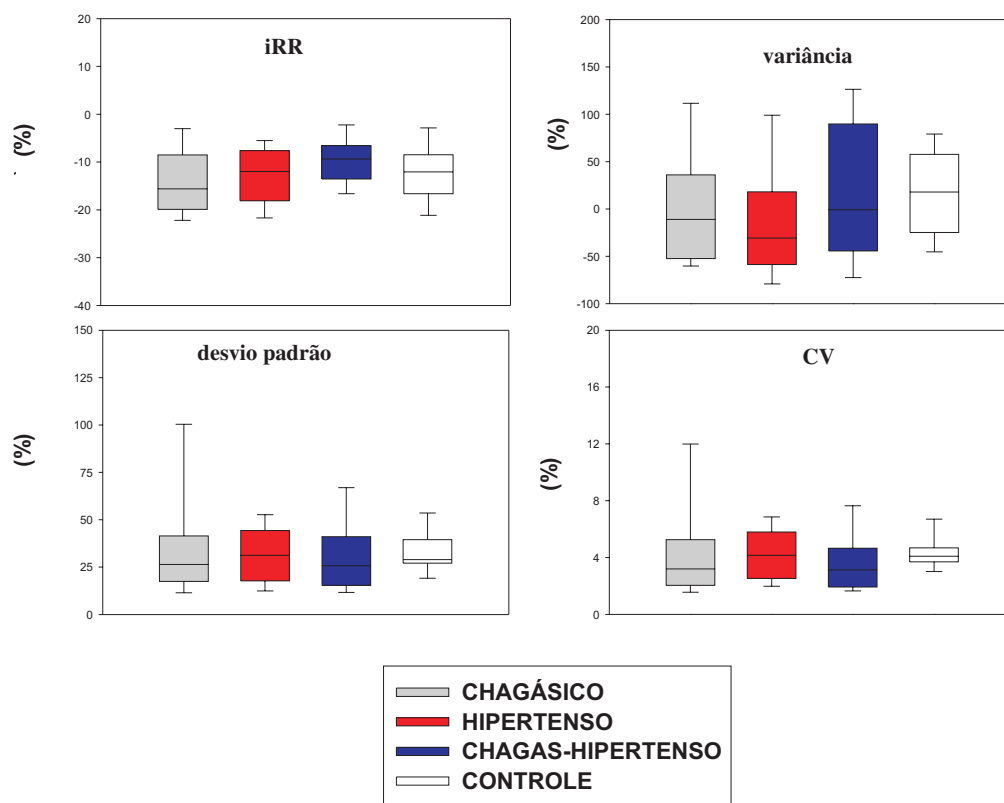


Figura 2 - Alterações percentuais (mediana, P25 e P75) no esfriamento facial para os índices temporais: iRR, Variância, Desvio Padrão e CV, nos quatro grupos estudados.

3. Análise da função autonômica cardíaca nos quatro grupos estudados à manobra de ortostatismo passivo ("Tilt Test").

Índices temporais avaliados: Com a manobra de ortostatismo passivo, a mediana dos intervalos RR passou do basal de 931,000ms para 764,500ms no grupo Chagas. No grupo hipertenso, a mediana diminuiu de 803,500ms para 707,500ms. No grupo Chagas-hipertenso, a mediana passou de 850,000ms no basal para 780,000ms no ortostatismo, e no grupo controle, passou de 860,500ms para 742,500 ms. Observou-se, diante do estímulo simpático, queda na duração dos intervalos RR em todos os grupos, e, conseqüentemente, das variâncias.

Contudo, não houve diferença estatística significativa entre os grupos quanto a esses índices (Tabela 3 e Figura 3).

DISCUSSÃO

O presente trabalho considerou a associação de duas patologias altamente prevalentes na América Latina a doença de Chagas e a hipertensão arterial sistêmica,^{4 5 23} procurando estudá-las com a abordagem do método de variabilidade da frequência cardíaca, no intuito de evidenciar alterações na modulação autonômica nos doentes portadores das mesmas.

A modulação autonômica vem sendo objeto de grande interesse, já que cada vez mais estudos mostram o papel de disautonomia na gênese e no agravamento de diferentes condições patológicas²⁴. A função autonômica cardíaca na doença de Chagas^{8, 17, 25} e na hipertensão arterial¹² vêm sendo exaustivamente estudada em separado, estando bem definidos

Tabela 3 - Alteração percentual dos índices temporais observados no ortostatismo passivo em relação ao estado basal nos quatro grupos estudados.

Índices Temporais	CHG	HAS	CHG-HAS	Controle	P
	ME	ME	ME	ME	
	P25 - P75	P25 - P75	P25 - P75	P25 - P75	
IRR(ms)	-15,622	-11,989	-9,392	-12,069	0,183
VAR(ms ²)	-19,866—8,535	-18,108—7,644	-13,518—6,566	-16,611—8,459	0,100
	-11,105	-30,580	-0,950	17,825	
DP(ms)	-52,41-35,95	-58,64-18,14	-44,28-89,73	-24,73-57,50	0,100
	-5,722	-16,681	-0,492	8,539	
CV(%)	-31,016-16,599	-35,685-8,693	-25,355-37,742	-13,242-25,500	0,174
	6,274	-7,347	8,968	25,006	
	-13,477-41,190	-21,586-22,443	-19,727-49,087	-1,625-42,408	

IRR-Intervalo RR, VAR-Variância, DP- desvio-padrão, CV- coeficiente de variação. Valores expressos em medianas (percentis25 e 75). p-nível de significância pela ANOVA de Kruskal-Wallis.

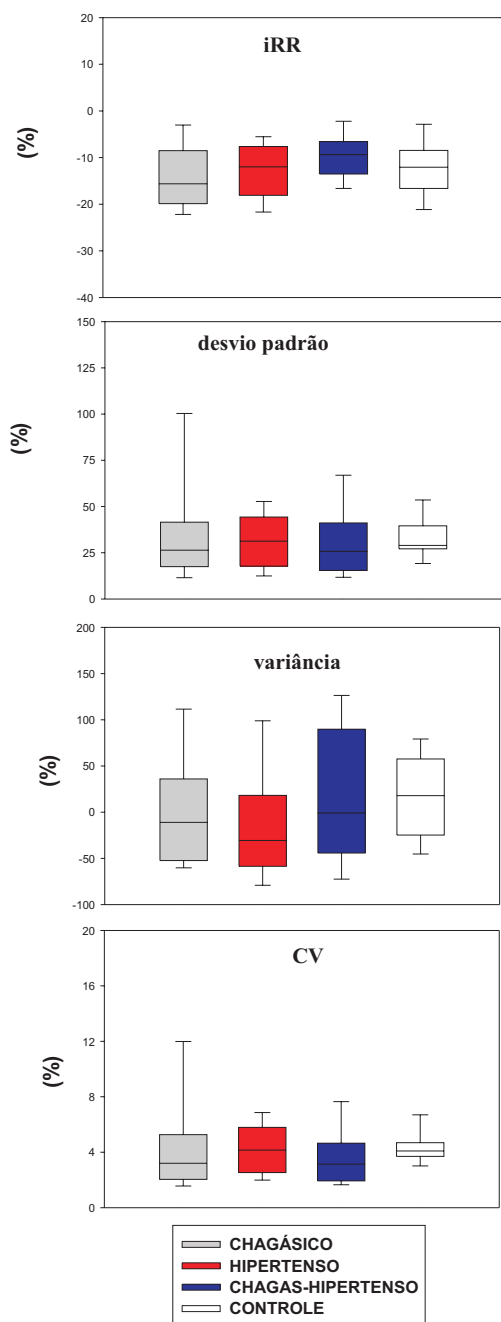


Figura 3 - Alterações percentuais (mediana, P25 e P75) no ortostatismo passivo para os índices temporais iRR, Variância, Desvio Padrão e coeficiente de Variação nos quatro grupos estudados.

aspectos das alterações simpáticas e parassimpáticas nos doentes portadores destas condições empregando diferentes métodos de análise. Porém, quando a doença de Chagas e a hipertensão arterial coexistem, faltam dados na literatura que revelem o comportamento do equilíbrio autonômico nesses doentes.

Os níveis pressóricos aferidos no repouso supino dos pacientes hipertensos e chagásicos-hipertensos foram significativamente maiores do que nos demais grupos, tanto quanto à pressão sistólica, quanto à diastólica e 'a média, o que também revela a adequação desta amostra de pacientes para que a comparação desejada fosse feita. Os níveis pressóricos dos pacientes hipertensos e chagásicos-hipertensos foram semelhantes, contrariando, pelo menos nesta amostra de doentes, as idéias de Palmero e colaboradores (1979)²⁶ de que nos chagásicos a prevalência da hipertensão arterial sistêmica deveria ser menor por estar associada disfunção simpática e menor débito cardíaco. Esses dados precisam ser interpretados com cautela, já que a doença de Chagas apresenta diferentes graus individuais de acometimento autonômico e funcional, mesmo em se analisando os pacientes agrupados por formas clínicas. Também, na nossa amostra, não havia pacientes com disfunção cardíaca aparente, ou moderada a severa documentada pelos exames complementares. Os níveis pressóricos dos pacientes chagásicos foram semelhantes aos níveis do grupo controle.

Em se considerando a duração dos intervalos RR (ms), na condição basal, os quatro grupos em estudo apresentaram comportamento semelhante, significando que, em repouso, todos expressaram frequências cardíacas equivalentes. Os demais índices temporais não foram diferentes estatisticamente entre os quatro grupos.

Diante do esfriamento facial, a duração média dos intervalos RR aumentou em todos os pacientes como esperado, ou seja, diante do estímulo parassimpático, a bradicardia reflexa foi desencadeada e, conseqüentemente, houve o aumento da duração dos intervalos RR em todos os grupos. A alteração percentual no esfriamento facial dos índices temporais em relação ao estado basal não foi diferente entre os grupos, traduzindo uma resposta preservada ao estímulo parassimpático em todos eles.

Ao se desafiar a subunidade simpática com o ortostatismo passivo ("Tilt Test"), a análise dos índices temporais não demonstrou diferença estatística entre os grupos.

Existem dados na literatura mostrando redução da variabilidade da frequência cardíaca em pacientes hipertensos comparados ao grupo controle normotensos²⁷.

Podemos concluir que a análise temporal da variabilidade da frequência cardíaca, não detectou disautonomia cardíaca no grupo de pacientes portadores das duas condições patológicas (doença de Chagas e hipertensão arterial sistêmica).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Chagas C. Nova espécie mórbida do homem produzida por um trypanozoma (*Trypanosoma cruzi*). Nota prévia. (A new disease caused by a trypanosoma (*T. cruzi*). Preliminary study). *Brasil-med.*, 23: 161, 1909.
2. Chagas C. Nova entidade mórbida do homem. Resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 3: 219-275, 1911.
3. Schumuñis GA. Iniciativa del Cono Sur. Proceedings of the II International Workshop on Population Genetics and Control of Triatominae, Tegucigalpa, Honduras, 26-31, 1999.
4. World Health Organization. *Weekly epidemiological record*, 75 2: 9-16, 2000.
5. Dias JCP, Silveira AC, Schpfield CJ. The impact of Chagas Disease Control in Latin America – A Review. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(5): 603 – 612, 2002.
6. Moncayo A. Progreso en la interrupcion de la transmission de la enfermedad de Chagas en los paises del cono sur. *Medicina (Buenos Aires)*. 59 (supl. 11): 120-124, 1999.
7. Guzzetti S, Iosa D, Pecis M, Bonura L, Prosdociami M, Malliani A. Effects of sympathetic activation on heart rate variability in Chagas' patients. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 30: S79-S81, 1990.
8. Guzzetti S, Iosa O, Pecis M, Bonura L, Prosdociami M, Malliani A. Impaired heart rate variability in patients with chronic Chagas' disease. *American Heart Journal*, 121: 1727-1734, 1991.
9. Endim M, Marin-Neto JA, Carpegiani C. Heart rate variability and cardiac denervation in Chagas' disease. *Journal of Ambulatory Monitoring*, 5: 251-257, 1992
10. Ribeiro ALP, Lombardi F, Sousa MR, Barros MVL, Porta A, Barros VCV, Gomes MED, Machado FS, Rocha MOC. Power-Law Behavior for Heart Rate Variability in Chagas' Disease. *The American Journal of Cardiology*.89: 414 – 418, 2002.
11. Junqueira Jr. L F, Soares JD. Impaired autonomic control of heart interval changes to Valsalva manoeuvre in Chagas' disease without overt manifestation. *Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical* 97: 59-67, 2002.
12. Consolim-Colombo FM, Barreto-Filho JA, Lopes EF, Sobrinho CRR, Otto MS, Riccio GMG, Mady C, Krieger EM. Decreased cardiopulmonary baroreflex sensitivity in Chagas' Heart Disease. *Hypertension*. 36:1035-1039, 2000.
13. Malliani A. Principles of cardiovascular neural regulation in health and disease. USA: Kluwer Academic Publishers, 222, 2000.
14. Gallo Jr L, Neto JA, Manço JC, Rassi A, Amarin DS. Abnormal heart rate responses during exercise in patients with Chagas' disease. *Cardiology*. 60: 147- 162, 1975.
15. Junqueira JR LF, Veiga JPR. Avaliação ambulatorial da função autonômica cardíaca nas diversas formas clínicas da moléstia de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 17: 19, 1984.
16. Stevens MJ, Raffel DM, Allman KC. Cardiac sympathetic dysinnervation in Diabetes: Implications for enhanced cardiovascular risk. *Circulation*. 98: 961 – 968, 1998.
17. Palmero HA, CAEIRO TE, JOSA DJ. Distinctive abnormal responses to tilting test in crônica Chagas disease. *Klin Wochenschr*, 58: 1307-1311, 1980.
18. Guariento MA. et al. Doença de Chagas e Hipertensão Arterial Primária. *Arq.Bras. Cardiol*.60: 71 - 75, 1993.
19. Dias da Silva VJ. et al. Doença de Chagas Experimental em Ratos Espontaneamente Hipertensos. Projeto de pesquisa. *Disciplina de Fisiologia, Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro – FMTM, Uberaba, MG*, 2002.
20. CAMARGO M E. Fluorescent antibody test for the diagnosis of American trypanosomiasis. Technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 8:227-234, 1966.
21. Camargo M E, Hoshino-Shimizu S, Correa NS, Peres BA. Hemagglutination test for Chagas' disease chromium chloride, formalin-treated erythrocytes, sensitized with *Trypanosoma cruzi* extracts. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 13: 45-50, 1971.
22. Voller A, Draper C, Bidwell D E, Bartlett A. A microplate enzymelinked immunosorbent assay (ELISA) for Chagas disease. *The Lancet*, 1 : 426-429, 1975.
23. Kaplan NM. Hypertensive and atherosclerotic cardiovascular disease: Systemic Hypertension - Mechanisms and Diagnosis. In: Braunwald E, Zipes DP, Libby P. *Heart Disease-A textbook of Cardiovascular Medicine*. Chap 28, 6th ed, H.I.E Saunders, 941-958, 2001.
24. Junqueira Jr LF. Sobre o possível papel da disfunção autonômica cardíaca na morte súbita associada a doença de Chagas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 56:429-434, 1991.
25. Junqueira Jr LF, Veiga JPR. Avaliação ambulatorial da função autonômica cardíaca nas diversas formas clínicas da moléstia de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 17:19, 1984.
26. Palmero HA, Caeiro TE, Iosa DJ. Effect of Chagas' Disease on Arterial Blood Pressure. *Am. Heart J*, 97: 38-42, 1979.
27. Menezes-Júnior AS; Moreira HG; Daher MT. Analysis of heart rate variability in hypertensive patients before and after treatment with angiotensin II-converting enzyme inhibitors. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 83: 169-172, 2004.