

LEILA MARIA MAGALHÃES PESSOA DE MELO

**Estudo de fatores protrombóticos e proinflamatórios
na cardiomiopatia chagásica**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de concentração: Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Franchini Ramires

São Paulo

2009

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pessoa de Melo, Leila Maria Magalhães

Estudo de fatores protrombóticos e proinflamatórios na cardiomiopatia
chagásica / Leila Maria Magalhães Pessoa de Melo. -- São Paulo, 2009.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Departamento de Cardio-Pneumologia.

Área de concentração: Cardiologia.

Orientador: José Antônio Franchini Ramires .

Descritores: 1.Insuficiência cardíaca 2.Doença de Chagas 3.Inflamação
4.Coagulação sanguínea 5.Trombose

USP/FM/SBD-146/09

DEDICATÓRIA

Aos pacientes com insuficiência cardíaca, fonte inspiradora, especialmente os de etiologia chagásica, vítimas de condições sócio-econômicas precárias e que apesar das inúmeras dificuldades, participaram, de forma espontânea, deste estudo.

A Deus, presente sempre na minha vida.

Ao meu querido esposo, Germano Emílio Conceição Souza, que sempre me apoiou em todos os momentos. A nossa cumplicidade e companheirismo construíram esta Tese.

Aos meus pais, irmãos e sobrinhos, minha referência de vida, de valores e de família; o meu amor por eles suplanta qualquer obstáculo.

A minha avó, Maria dos Anjos, que me ensinou que nunca é tarde para aprender e que é preciso recomeçar sempre.

Ao meu amigo e Tio Cláudio, a minha profunda admiração profissional e pessoal.

AGRADECIMENTOS

Fonte Financiadora

FAPESP – FUNDAÇÃO DE AMPARO À
PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO

Ao Professor Dr. *José Antônio Franchini Ramires*, através da sua generosidade tive o prazer de ser sua pós-graduanda. Sua passagem na minha vida será sempre um marco.

Ao Professor Dr. *Edimar Alcides Bocchi*, enalteceu esta tese com suas críticas construtivas.

Ao Dr. *Germano Emílio Conceição Souza* sou profundamente grata. Para mim exemplo de profissional e caráter. Idealizador desta Tese me ajudou diretamente em todas as etapas desde a elaboração do Projeto à execução.

Ao Professor Dr. *Élbio Antônio D'Amico*, amigo querido e pessoa essencial para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Professor Dr. *Luiz Felipe Pinho Moreira*, por sua valiosa contribuição do planejamento inicial da Tese à análise dos dados.

Ao Professor Dr. *Antônio Carlos Pereira Barretto*, que propiciou o estudo dos pacientes com insuficiência cardíaca descompensados, no Hospital Auxiliar de Cotoxó.

A Professora Dra. *Célia Maria Cássaro Strunz* que prontamente concordou e simplificou a coleta de material para a execução desta Tese.

Ao Dr. *Marcelo Luiz Campos Vieira* que contribuiu na realização dos Ecocardiogramas.

A Dra. *Tânia Rúbia Flores da Rocha*, a sua generosidade em me ensinar, apoiar e ajudar a realizar todos os testes referentes à coagulação, mesmo nos dias mais atribulados, foi essencial para execução deste trabalho.

A *Cristina Simões Solon Soares e Silva* que desde o início me ajudou diretamente na realização dos exames de coagulação, sempre prestativa e solidária. A sua amizade será para toda a vida.

Aos Residentes de Cardiologia *Leandro Richa Valim e Milena Novaes Cardoso* que ajudaram na coleta de dados dos pacientes internados na Unidade Auxiliar de Cotoxó.

A todos os colegas do Laboratório de Coagulação do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo, dentre eles *Tânia Rúbia Flores da Rocha, Cristina Simões Solon Soares e*

Silva, Valéria de Oliveira, Diana Marli Fries, Regina Célia Tanzi e Francisco. Obrigada pela compreensão, amizade, apoio e de me dá o prazer de dividir este espaço com vocês.

Aos colegas da Unidade de Insuficiência Cardíaca e Transplante da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Minha gratidão aos que contribuíram de forma direta ou indiretamente nesta Tese.

Dr. Fernando Bacal, Dr. Paulo Chizzola, Dr. Victor Issa, Dra. Silvia Ayub, Dr. Sandrigo Mangini, Dra. Fabiana Marcondes, Dr. Guilherme Guimarães e Enfermeira Fátima das Dores Cruz.

A todos os funcionários do Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. A cada um meu profundo agradecimento e afeto. Vocês foram generosos em doar parte do tempo de trabalho para colaborar para a execução desta tese. *Cristina de Lourdes da Silva Cardoso, Marilza Aparecida de Farias, Marli Rafael Souza Cruz, Maria Eliza Pinheiro Aquino, Adriana Vicente, Amanda Rolim Búfalo, Ângela Maria Tieppo, Aparecida Regina Novaes, Christiane Maria G Moscan, Cláudia Regina Conceição, Edna Nogueira, Gisa Maria Batista Carvalho, José Stankevic Vasquez, Leandro Gonçalves da Silva, Luis Antônio dos Santos, Luzia Souza Cruz Paganini, Maria Aparecida Barbosa, Maria Rosinete*

Nasário, Maria Suzle Zebinato, Mercedes Perez Fortes, Nadia Aparecida F. Silva, Neusa Maria AP. Sipliano, Sebastiana Maria de Jesus, Antônio Giardina, Anderson Mantovani, Cláudia de Oliveira Santos, Cláudia Regina Santos Garcia, Flávio Cescon Barbero, José Luiz da Silva Cruz, Marco Aurélio Perella Resende, Mirian de Azevedo, Robson Willians Ferreira Guimarães, Solange Amaral Campos Nascimento e Wagner Almeida Campos.

Ao amigo *Edílson Diógenes Pinheiro Jr.* agradeço especialmente o apoio sincero, a amizade e confiança. A oportunidade de trabalharmos juntos foi um presente para mim.

A todos os colegas do Hospital A. C. Camargo muito obrigada pela amizade, compreensão e flexibilidade. Foi essencial para execução em tempo hábil deste projeto. *Garles Miller Matias Vieira, Marcello Ferretti Fanelli, Edílson Diógenes Pinheiro Jr, Celso Abdon Lopes de Mello, José Augusto Rinck Jr, Daniel Luiz Gimenes, Andrea Paiva Gadelha Guimarães, Solange Moraes Sanches, Ulisses Ribaldo Nicolau, Aldo Lourenço Abbade Dettino, Marcelo Rocha de Sousa Cruz, Maria Nirvana da Cruz Formiga e Débora de Arruda.*

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, símbolos e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Summary

1	INTRODUÇÃO	2
2	OBJETIVOS	15
3	MÉTODOS	16
3.1	Descrição do estudo.....	16
3.2	Casuística.....	16
3.3	Definições.....	17
3.4	CrITÉRIOS de inclusÃO.....	19
3.5	CrITÉRIOS de exclusÃO.....	20
3.6	Coleta do material.....	21
3.7	Metodologia.....	22
3.8	Análise estatística.....	32
4	RESULTADOS	34
4.1	Características gerais da amostra.....	34
4.1.1	Anamnese.....	34
4.1.2	Exame físico.....	35
4.1.3	Terapia medicamentosa.....	36
4.1.4	Ecocardiograma bidimensional com Doppler.....	37
4.1.5	Análises laboratoriais.....	38
4.2	Características de marcadores proinflatÓrios.....	39
4.3	Características de marcadores protrombÓticos.....	42
4.4	Outras variáveis de hemostasia	47

4.5	Análise de co-variância.....	50
4.5.1	Análise de co-variância de marcadores proinflamatórios.....	50
4.5.2	Análise de co-variância de marcadores protrombóticos.....	51
5	DISCUSSÃO	53
6	CONCLUSÕES	64
7	ANEXOS	65
8	REFERÊNCIAS	75

Listas

ABREVIATURAS, SÍMBOLOS E SIGLAS

AP – atividade de protrombina

AVC – acidente vascular cerebral

AVCi – acidente vascular cerebral isquêmico

BNP – Peptídeo Natriurético Tipo B

CMC– cardiomiopatia chagásica

DLP – dislipidemia

DM – diabetes mellitus

EUA – Estados Unidos da América

FA – fibrilação atrial

FMUSP – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

FIIa – fator II ativado

FT – fator tecidual

FTE –fenômeno trombo-embólico

FVIIa – fator VII ativado

FIX a – fator IX ativado

FXa – fator X ativado

HAS – hipertensão arterial sistêmica

IC – insuficiência cardíaca

IFT – inibidor do fator tecidual

IL-6 – interleucina-6

Incor – Instituto do Coração

MA – amplitude máxima

PAI – inibidor do ativador do plasminogênio tipo 1

PCRus – proteína C reativa ultra-sensível

sP-selectina – P-selectina solúvel

SUS – Sistema Único de Saúde

TAT – complexo trombina-antitrombina

TEG[®] – Tromboelastografia

TNF-a – Fator de necrose tumoral alfa

t-PA – ativador do plasminogênio do tipo tecidual

TTPA – tempo de tromboplastina parcial ativada

FIGURAS

Figura 1 –	Traçado obtido através da tromboelastografia.....	29
Figura 2 –	Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de proteína C reativa ultrasensível nos grupos chagásico e não-chagásico.....	40
Figura 3 –	Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de fator de necrose tumoral - alfa nos grupos chagásico e não-chagásico.....	41
Figura 4 –	Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de interleucina 6 nos grupos chagásico e não-chagásico.....	42
Figura 5 –	Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de fibrinogênio nos grupos chagásico e não-chagásico.....	44
Figura 6 –	Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de dímero-D nos grupos chagásico e não-chagásico.....	45
Figura 7 –	Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de P-selectina solúvel nos grupos chagásico e não-chagásico.....	46
Figura 8 –	Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de fator de von Willebrand nos grupos chagásico e não-chagásico.....	47

TABELAS

Tabela 1 – Características da anamnese entre chagásicos e não-chagásicos.....	35
Tabela 2 – Características do exame físico nos grupos chagásico e não-chagásico.....	36
Tabela 3 – Caracterização da terapia medicamentosa entre chagásicos e não chagásicos.....	37
Tabela 4 – Características ecocardiográficas entre chagásicos e não-chagásicos.....	37
Tabela 5 – Características laboratoriais nos grupos chagásico versus não-chagásico.....	38
Tabela 6 – Marcadores proinflamatórios nos grupos chagásico versus não-chagásico.....	39
Tabela 7 – Marcadores protrombóticos nos grupos chagásico versus não-chagásico.....	43
Tabela 8 – Contagem de plaquetas, tempo de tromboplastina parcial ativada e atividade de protrombina nos grupos chagásico e não-chagásico.....	48
Tabela 9 – Variáveis do tromboelastograma nos grupos chagásico e não-chagásico.....	49

Resumo

Pessoa de Melo LMM. *Estudo de fatores protrombóticos e proinflamatórios na cardiomiopatia chagásica* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2009. 83p.

Fundamento: A ativação da cascata inflamatória está presente na insuficiência cardíaca(IC). Existe relação entre esta ativação e estado protrombótico nesta síndrome. Dentre as etiologias de IC, a cardiomiopatia chagásica (CMC) parece ter maior ativação inflamatória e prognóstico mais reservado, possivelmente por especial risco para fenômenos tromboembólicos. A relação entre atividade inflamatória e protrombótica na cardiomiopatia chagásica e em outras etiologias é obscura.

Objetivo: Estudar o perfil de marcadores protrombóticos e proinflamatórios em pacientes com insuficiência cardíaca chagásica comparando-os com os de etiologia não-chagásica.

Métodos: Corte transversal. Critérios de inclusão: fração de ejeção do VE (FEVE) < 45% e tempo de início de sintomas > 1 mês. Os pacientes foram divididos em dois grupos: grupo 1(G1) sorologias positivas para Chagas e grupo 2(G2) sorologia negativa para Chagas. Dosou-se como fatores proinflamatórios: fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6) e proteína C reativa (PCR) ultrasensível; fatores protrombóticos: dímero D, P-selectina solúvel, antígeno do fator de von Willebrand, fibrinogênio, complexo trombina-anti-trombina(TAT), fator tecidual(FT) e tromboelastograma(TEG). A amostra foi calculada para poder de 90%, assumindo-se diferença de 1/3 de desvio-padrão entre os grupos; p significativo se < 0,05. Análise estatística: teste exato de Fischer para comparação de proporções; teste t de student não-pareado para variáveis contínuas de distribuição normal e teste de Mann-Whitney para variáveis contínuas de distribuição assimétrica. Realizada análise de co-variância para ajuste de potenciais influências de co-variáveis.

Resultados: Entre 16 de janeiro de 2008 e 08 de abril de 2009, 287 pacientes com IC crônica foram consecutivamente selecionados em nível ambulatorial ou de internação, sendo 138 no G1 e 149 no G2. O G1

apresentava maior porcentual de pacientes internados, de CF III/IV, PA sistólica mais baixa, maior frequência de RHJ, ascite, menor fração de ejeção e níveis mais altos de BNP. Por outro lado, a prevalência de HAS, DM e DLP foi superior no G2. Dos marcadores proinflamatórios, o TNF-a foi maior no G1, independentemente de outros fatores de gravidade ($p < 0,0001$). A IL-6, apesar de maior no G1, sofreu maior influência de outras variáveis de gravidade do que da etiologia chagásica. Os níveis de PCR ultrasensível estavam elevados em ambos os grupos embora sem diferença entre eles. Dentre os fatores protrombóticos o dímero-D ($p < 0,0001$), o fator de von Willebrand ($p < 0,0001$) e a P-selectina ($p = 0,0262$) foram mais altos no G1 que no G2. Os níveis de FT e TAT foram semelhantes. O fibrinogênio foi mais alto no G2 que no G1 ($p = 0,0424$), assim como os parâmetros do TEG - MA ($p = 0,0044$), G ($p = 0,0022$) e TG ($p = 0,001$), embora todos estivessem dentro dos limites de referência na maioria dos pacientes em ambos os grupos. Na análise de co-variância apenas o dímero-D e a P-selectina mantiveram-se diferentes entre os grupos, sendo que os níveis de P-selectina estavam normais na maioria dos pacientes de ambos os grupos.

Conclusões: A atividade proinflamatória esteve aumentada nos pacientes com IC chagásica e não-chagásica. A inflamação medida pelo TNF-a foi independentemente maior entre chagásicos. Observou-se maior estado protrombótico entre chagásicos medido pelo dímero-D, independentemente de outros fatores de gravidade.

Descritores: 1. Insuficiência cardíaca 2. Doenças de Chagas, 3. Inflamação 4. Coagulação sanguínea 5. Trombose

Summary

Pessoa de Melo, LMM. *Evaluation of prothrombotic and proinflammatory factors in Chagas' cardiomyopathy* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2009. 83p.

Background: Inflammatory cascade activation is present in heart failure (HF). This activation is closely related to a prothrombotic state in this syndrome. Among HF etiologies, Chagas' cardiomyopathy (CCM) seems to have greater inflammatory activation and worse prognosis, possibly because of special risk for thromboembolic phenomena. The relation of inflammatory and prothrombotic activity between CCM and other HF etiologies remains unclear.

Objective: To assess the profile of prothrombotic and proinflammatory markers in patients with chagasic in comparison to non-chagasic systolic heart failure.

Methods: Cross sectional study. Inclusion criteria: LV ejection fraction (LVEF) < 45% and time of symptoms onset > 1 month. Patients were divided into two groups: group 1 (G1) positive Chagas' serology and group 2 (G2) negative serology. Proinflammatory factors determined: tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-6(IL-6) and ultrasensitive C-reactive protein (CRP); prothrombotic factors: D-dimer, soluble P-selectin, von Willebrand factor(vWF), fibrinogen, thrombin-anti-thrombin complex(TAT), tissue factor(TF) and thromboelastography(TEG). Sample was calculated for an 90% power, assuming a difference of 1 / 3 of the standard deviation; p significant if < 0.05. Statistical analysis: Fischer exact test for proportions, non-paired Student's t test for parametric continuous variables and Mann-Whitney test for non-parametric continuous variables. Covariance analysis was performed to adjust for possible covariables influence on results.

Results: From January 16th to April 8th 2009, 287 chronic HF patients were consecutively included, 138 in G1 and 149 in G2. G1 showed larger proportion of inpatients, higher III/IV functional class, lower systolic blood pressure, higher frequency of hepatojugular reflux, ascites, lower left ventricle ejection fraction and higher levels of B-type natriuretic peptide

(BNP). On the other hand, G2 had higher proportion of hypertension, diabetes and hypercholesterolemia. Among proinflammatory markers, TNF- α levels were higher in G1, independently of other prognosis variables ($p < 0,0001$). Although IL-6 levels were higher in G1, there was greater influence of other prognosis variables than chagasic etiology itself. CRP levels were above reference values but there was no difference between G1 and G2. Among prothrombotic markers, D-dimer ($p < 0,0001$), vWF ($p < 0,0001$) and soluble P-selectin ($p = 0,0262$) levels were higher in G1 than in G2. TF and TAT levels were similar in both groups. Fibrinogen levels were higher in G2 than in G1 ($p = 0.0424$), as well as TEG parameters MA ($p = 0,0044$), G ($p = 0,0022$) and TG ($p = 0,001$), even though all of them were in normal reference range in most patients in both groups. D-dimer and soluble P-selectin kept different among groups in covariance analysis. However, soluble P-selectin levels were in normal reference range in both groups.

Conclusions: Proinflammatory activity was increased in both groups. Inflammation measured by TNF- α was independently greater among CCM patients. Greater prothrombotic state measured by D-dimer was observed in CCM patients independently of other prognosis variables.

Descriptors: 1. Heart failure 2. Chagas disease 3. Inflammation 4. Blood coagulation 5. Thrombosis

INTRODUÇÃO

1 Introdução

1.1 Insuficiência cardíaca

A Insuficiência cardíaca (IC) é uma síndrome endêmica no mundo. Nos Estados Unidos (EUA), é um dos maiores problemas de saúde pública. Aproximadamente 5,5 milhões de pessoas apresentam este diagnóstico e 550 mil novos casos são diagnosticados por ano¹. No Brasil apresenta forte impacto socio-econômico dada a sua alta morbi-mortalidade. É a terceira causa geral e a primeira causa cardiovascular de hospitalização. Somente no ano de 2008 foram internados pelo SUS 268.362 pacientes, com uma taxa de mortalidade de 8,21 por cento. O governo brasileiro dispendeu, neste mesmo ano, R\$ 247.155.273,47 reais para custear as hospitalizações devido a IC. Além dos altos custos hospitalares e de atendimentos de emergência, a IC provoca sensível perda da qualidade de vida resultando, muitas vezes, em aposentadorias precoces e em altos custos socioeconômicos para o país².

Algumas etiologias como a doença de Chagas continuam, ainda, a serem um desafio. O maior desafio, porém, está em prevenir o desenvolvimento

de IC. Algumas ações neste contexto são: políticas de saúde pública para evitar novos contatos da população com o *Trypanosoma cruzi*, melhor controle de fatores de risco já bem estabelecidos como hipertensão arterial, diabetes, consumo de bebidas alcoólicas, colesterol elevado e infarto do miocárdio. Nenhum desses problemas cardiovasculares está sob controle no Brasil e, por isso, é tão importante concentrar investimentos na difusão de informações e na educação da população.

A IC é definida como uma síndrome multisistêmica complexa que resulta numa inadequada perfusão tecidual, frequentemente como consequência de um débito cardíaco reduzido, associada ao aumento no estímulo do sistema nervoso simpático e um complexo padrão de alterações neurohumorais e inflamatórias. A patogênese da IC é deflagrada após um evento índice que causa uma redução na função cardíaca o que leva a ativação de mecanismos compensatórios incluindo o sistema nervoso adrenérgico, o sistema renina-angiotensina-aldosterona e ativação de fatores proinflamatórios. Estes sistemas levam ao restabelecimento da função cardíaca fazendo com que o paciente permaneça oligo ou assintomático. Os distúrbios hemodinâmicos inicialmente deflagrados se associam as alterações sistêmicas, do miócito, apoptose, da remodelação cardíaca e do interstício, disfunção endotelial, ativação neurohormonal (angiotensina II, catecolaminas, endotelina, aldosterona), proinflamatória e fatores de crescimento. Entretanto, a ativação sustentada destes sistemas pode resultar em lesões de órgãos alvo e descompensação cardíaca, fazendo com que o paciente passe de uma fase assintomática para

sintomática, o que permite compreender o caráter progressivo e complexo da IC. Este “modelo neurohormonal” explica o porquê do fenótipo da IC ser semelhante nas diferentes etiologias, pois a progressão da doença é devida a uma variedade de moléculas biologicamente ativas, independente do fator deflagrador inicial^{3, 4}.

As principais manifestações da IC são: fadiga, dispnéia, intolerância ao exercício, retenção de fluidos, que podem levar a congestão pulmonar e edema periférico⁵.

Nesta síndrome parece haver um risco aumentado para tromboembolismo venoso, morte súbita e acidente vascular cerebral. A fisiopatologia da trombogênese na IC pode ser explicada no contexto da tríade de Virchow, pois cursa com os seus três componentes: anormalidade do fluxo devido ao baixo débito cardíaco, dilatação das câmaras e hipocontratibilidade, disfunção endotelial e anormalidades na hemostasia e plaquetas. Estas alterações conferem um estado protrombótico. A incidência de AVC é de 4-5% na população com IC grave e 0,5% na população em geral para mesma faixa etária. Morte súbita pode ter origem trombótica (trombo intra-cardíaco ou coronário). Estas complicações podem ser atribuídas a um estado protrombótico, cuja causa exata ainda não é totalmente conhecida⁶.

1.2 Doença de Chagas

Atenção especial merece ser dispensada à cardiomiopatia chagásica (CMC), manifestação cardiovascular da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, não só pela sua alta prevalência, mas também por algumas peculiaridades clínicas encontradas, como prognóstico mais sombrio em fases mais avançadas, do que em outras etiologias de IC.

Estima-se que cerca de 18 milhões de pessoas estejam infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* em toda a América Latina e que cerca de 200 mil novos casos ocorram por ano⁷, sendo a CMC a principal causa de morte nesta doença⁸. Cerca de 30% dos indivíduos com infecção crônica pelo *Trypanosoma cruzi* irão desenvolver, ao longo de anos, alterações cardíacas que incluem distúrbios de condução, arritmias, cardiomegalia, aneurisma ventricular e trombo intracavitário.

A dissociação entre a parasitemia e lesão tecidual levantam dúvidas na participação direta do *Trypanosoma cruzi*. Esta observação levantou outras hipóteses para o dano miocárdico independente do parasita, levando a diferentes teorias fisiopatológicas, entre elas da auto-imunidade, cardioneuropatia e microvascular.

Na primeira, as alterações teciduais na CMC estão associadas a um infiltrado inflamatório de células mononucleares, presumivelmente o efector final no dano tecidual. Tem sido postulado que o infiltrado inflamatório pode ser

mediado por um processo de hipersensibilidade tardia diretamente contra os componentes teciduais cardíacos, mais especificamente a miosina cardíaca, a principal proteína contrátil cardíaca. Uma resposta auto-imune seria deflagrada por reação imunológica cruzada no curso da resposta imune a antígenos do *T. cruzi*, imunodomínio B13 da proteína, homólogos a proteínas cardíacas. Entretanto, pouco se sabe a respeito do papel das células T no infiltrado mononuclear ou acerca da natureza dos antígenos responsáveis pela auto-imunidade. Ainda, os fatores que propiciam o desenvolvimento da IC em 30% dos infectados pelo *T. cruzi* não são conhecidos^{9,10}. Em relação às alterações na microcirculação, vários estudos mostram aumento nos marcadores protrombóticos, inclusive em estágios iniciais da CMC³².

Fenômenos tromboembólicos parecem ser especialmente freqüentes nesta população. A presença de aneurisma apical e trombo mural têm sido estimadas em 37 e 11,7%, respectivamente. Entretanto, pacientes chagásicos sem associação com fatores de risco vascular e nenhuma evidência clínica de insuficiência cardíaca apresentam maior risco para acidente vascular cerebral isquêmico (AVCi)^{11, 12}. Diversos relatos de casos, séries de casos e estudos de caso-controle, incluindo autópsias, relatam alta incidência de eventos isquêmicos, como infarto renal, trombose arterial e fenômenos tromboembólicos, nesta população. Em uma série retrospectiva de 1345 casos de autópsias em pacientes com cardiomiopatia chagásica, a presença de trombose cardíaca ou fenômeno trombo-embólico estava presente em 44% dos casos estudados^{13, 14, 15, 16, 17}.

Diversas variáveis clínico-laboratoriais têm sido estudadas a fim de estabelecer o prognóstico dos pacientes com IC¹⁸. Entre as mais estudadas estão variáveis clínicas, ecocardiográficas, eletrocardiográficas, radiológicas, hemodinâmicas e laboratoriais, com ênfase em estudos de fatores neurohumorais e proinflamatórios. Na maioria das vezes, extrapolam-se dados de prognóstico oriundos de estudos em portadores de IC de diversas outras etiologias para a população com CMC. Recentemente, foi publicado o maior estudo sobre prognóstico em doença de Chagas já realizado, com criação e validação de escore de risco clínico-laboratorial de fácil obtenção na prática clínica¹⁹. No entanto, muitas outras variáveis nitidamente implicadas não só na fisiopatologia quanto na estratificação de risco destes pacientes não foram contempladas neste estudo. O estudo de tais variáveis pode criar novas interfaces que poderão ser úteis, no futuro, não somente como novas ferramentas prognósticas, como também para auxiliar na indicação de novas modalidades terapêuticas.

1.3 Fatores proinflamatórios

Dentre as recentes descobertas quanto aos mecanismos fisiopatológicos da IC, tem sido dada especial atenção à ativação de cascatas proinflamatórias e lesão da microcirculação. O estresse nas câmaras cardíacas no final da diástole pode levar a hipoperfusão do subendocardio, bem como a um maior estresse oxidativo, com conseqüente ativação de famílias de genes

responsáveis pela síntese de diversas citocinas, como TNF-alfa e interleucina-1)⁴.

As citocinas compõem um grupo heterogêneo de proteínas, que se caracterizam por exercer seus efeitos localmente, por ação autócrina ou parácrina. A inexistência de atuação por via humoral distingue estas substâncias dos hormônios. Duas classes de citocinas foram implicadas na fisiopatologia da IC: a) citocinas vasoconstritoras e inotrópicas positivas e b) citocinas proinflamatórias vasodepressoras. A endotelina enquadra-se na primeira classe; o fator alfa de necrose tumoral (TNF-alfa), a interleucina 6 e a interleucina 1 -beta são exemplos de citocinas da segunda classe^{3,4}.

A principal citocina proinflamatória implicada na fisiopatologia da IC é o TNF-a. Esta leva a hipertrofia do cardiomiócito, estimula a síntese protéica no sarcômero, desencadeia a apoptose, promove expressão gênica fetal, reduz a responsividade adrenérgica e a função contrátil. O TNF induz a dilatação do ventrículo esquerdo, provavelmente como resultado da degradação da matriz extracelular, permitindo o rearranjo de feixes de cardiomiócitos. Estas alterações são acompanhadas por disfunções sistólica e diastólica. Assim, a ativação do TNF-alfa e possivelmente de outras citocinas podem contribuir para o remodelamento cardíaco observados na IC. Níveis circulantes de TNF-alfa e interleucina-6 estão aumentados em pacientes com IC, particularmente aqueles com caquexia cardíaca e os descompensados. Se a elevação dos níveis das citocinas é um epifenômeno ou mediadores causais da IC ainda não está esclarecido²⁰.

A ativação da cascata proinflamatória tem relação direta com classe funcional, remodelamento cardíaco e, em última análise, com prognóstico em pacientes com IC de uma forma geral. Na CMC, foi demonstrada tendência para maior atividade inflamatória do que a média das outras etiologias o que pode explicar, em parte, o seu pior prognóstico²¹. Estudo realizado no nosso meio demonstrou, pela primeira vez, relação entre ativação proinflamatória e neurohumoral e pior prognóstico, inclusive na CMC²².

1.4 Fatores protrombóticos

Mais recentemente, foi demonstrada influência mútua entre fatores inflamatórios e protrombóticos. O fator tecidual (FT) é o principal deflagrador da geração de trombina induzida pela inflamação. O FT é uma glicoproteína transmembrana de 45 KDa que está presente no sub-endotélio dos vasos, sem estar em contato direto com o sangue. Porém, se há lesão endotelial ou expressão deste fator pelas células sanguíneas, pode haver exposição do FT, iniciando a cascata de coagulação. Células endoteliais e monócitos, que, normalmente, não expressam o fator tecidual, podem expressá-lo na vigência tanto da lesão endotelial como na presença de estímulos específicos, tais como endotoxinas e citocinas (TNF- α e interleucina-1). O FT liga-se ao fator VIIIa catalisando a conversão do Fator X em Xa, formando o complexo protrombinase, que, juntamente com o fator V, protrombina (fator II) e cálcio leva à geração de trombina (fator IIa). A trombina converte o fibrinogênio em

fibrina e ativa às plaquetas. A amplificação desta alça consiste na ativação do fator IX pelo complexo FVIIa/FT, gerando grandes quantidades de fator Xa. A ativação dos co-fatores V, VIII e do fator XI pela trombina leva ao aumento adicional do IXa e Xa²⁷.

As plaquetas desempenham um papel importante na patogênese da trombose induzida pela inflamação, uma vez que estas também podem ser ativadas diretamente por mediadores inflamatórios. Estudo *in vitro* sugere ativação plaquetária em pacientes com IC, induzida pelo TNF- α ²³. A membrana das plaquetas ativadas expressa P-selectina, que é uma molécula de adesão e medeia não só a aderência das plaquetas aos leucócitos e células endoteliais, mas também aumenta a expressão do FT nos monócitos. A P-selectina é um importante marcador de ativação plaquetária e pode estar aumentada nos pacientes com IC, principalmente naqueles descompensados, sugerindo uma ativação plaquetária persistente^{24,25}. Outro estudo mostrou que a sP-selectina encontrava-se aumentada nos pacientes cronicamente infectados e uma associação positiva foi encontrada entre o nível deste marcador e a gravidade da doença²⁶.

Os principais mecanismos fisiológicos anticoagulantes são três: antitrombina, proteína C ativada e inibidor do fator tecidual (IFT). A inflamação causa *downregulation* destas vias. A antitrombina é o principal inibidor da trombina e do fator Xa. Durante a resposta inflamatória grave o nível de antitrombina encontra-se marcadamente reduzido devido ao consumo (como resultado da geração de trombina), a síntese reduzida (devido à resposta a fase

aguda da inflamação) e a degradação aumentada pela elastase proveniente dos neutrófilos ativados. A disfunção endotelial é o fator mais importante no dano ao sistema proteína C ativada durante a inflamação. Em condições fisiológicas a proteína C é ativada após a ligação da trombina ao receptor endotelial trombomodulina. A ligação da trombina à trombomodulina não só resulta num aumento de aproximadamente 100 vezes da ativação da proteína C, mas também bloqueia a conversão mediada pela trombina do fibrinogênio em fibrina. A proteína C ativada inibe a coagulação, clivando e inativando os fatores Va e VIIIa, processo que é potencializado pela proteína S, que atua como um cofator não enzimático nas reações de inativação. Durante a inflamação sistêmica ocorre redução na síntese de proteína C e degradação desta pela elastase dos neutrófilos ativados, ocorre ainda *downregulation* da trombomodulina na superfície das células endoteliais, mediadas por citocinas inflamatórias, dentre elas o TNF- α e IL-1 β . O terceiro mecanismo inibitório envolve a geração do IFT, que é o principal inibidor do complexo FVIIa/FT. A concentração do IFT durante a inflamação é insuficiente para regular a ativação da coagulação²⁷.

Em relação ao sistema fibrinolítico a resposta à inflamação é a liberação de ativador do plasminogênio do tipo tecidual (t-PA) que age sobre o plasminogênio resultando na formação da serinoprotease ativa, a plasmina. Esta age sobre a fibrina resultando nos produtos de degradação da fibrina (PDF) e D-dímero. Entretanto este aumento na ativação do plasminogênio e subsequente geração de plasmina é contrabalanceado pelo aumento do inibidor

do ativador do plasminogênio tipo 1 (PAI-1). O efeito é a inadequada remoção da fibrina contribuindo para trombose na microcirculação²⁷.

No estado fisiológico não há formação e deposição de fibrina no intravascular, em decorrência das propriedades anticoagulantes do endotélio, à forma inativa das proteínas plasmáticas, envolvidas na coagulação (que circulam como zimogênios ou cofatores), e à presença de inibidores fisiológicos da coagulação. Por outro lado, a perda do equilíbrio dinâmico das reações da coagulação tem como consequência clínica, o aparecimento de distúrbios hemorrágicos ou trombóticos.

A prevalência estimada de eventos trombo-embólicos em pacientes com cardiomiopatia dilatada e ritmo sinusal na literatura varia de 3-50% e a incidência foi estimada em 1,5 a 3,5% ao ano²⁸.

Na IC, como um todo, foi demonstrado que marcadores de disfunção/lesão endotelial, de ativação plaquetária ou de ativação da cascata de coagulação^{29,30} podem estar relacionados não somente à cascata de inflamação, mas também ao prognóstico destes pacientes³¹. Especificamente na CMC, uma hipótese para explicar seu pior prognóstico seria um possível risco adicional para fenômenos trombóticos. Estudo para avaliar o estado protrombótico nos estágios iniciais da CMC observou aumento significativo dos marcadores protrombóticos na CMC em relação a controles saudáveis. Entretanto, não houve comparação com outras etiologias de IC³².

Outro estudo demonstrou relação direta entre níveis séricos de marcadores inflamatórios (IL6), de lesão endotelial (Fator de von Willebrand) e

protrombóticos (fator tecidual) com descompensação e prognóstico da IC. Os pacientes que, após tratamento da descompensação evoluíram com redução dos níveis séricos destes marcadores, tiveram melhor sobrevida num seguimento de seis meses³⁰. Dados semelhantes entre pacientes com CMC não existem na literatura.

A cinética da coagulação sanguínea é um processo fisiopatológico complexo, o qual leva à formação do coágulo de fibrina através da ação proteolítica da trombina sobre o fibrinogênio. Tem sido dada atenção especial à geração de trombina. Em uma coorte prospectiva de 914 pacientes após o primeiro evento tromboembólico venoso, a geração de trombina foi capaz de identificar os pacientes de baixo risco (2/3 dos pacientes) para recorrência destes eventos³³.

Alguns marcadores protrombóticos tem sido estudados em pacientes com IC, dentre eles: fator de von Willebrand, complexo trombina-antitrombina, D-dímero, fator tecidual, P-selectina, entre outros. Cada marcador estuda uma parte do processo de formação e dissolução do coágulo. O tromboelastograma é um teste importante na avaliação global da coagulação e fibrinólise, integrando células e proteínas da coagulação, que não são avaliados nos testes habituais. A tromboelastografia, tecnologia que permite, *in vitro*, a simulação de processo *in vivo* da formação e dissolução do coágulo, foi primeiramente descrita por Hartert em 1948. Esta tecnologia tem sido usada extensivamente para monitorização da hemostasia durante procedimentos cirúrgicos no intuito de guiar as transfusões de hemoderivados. A relação entre

hipercoagulabilidade através do TEG[®] e estado protrombótico tem sido estudada. Um estudo mostra que a medida da amplitude máxima medida na tromboelastografia prediz complicações trombóticas no pós-operatório, incluindo infarto agudo do miocárdio^{34,35}. A análise de suas variáveis pode determinar o estado de coagulabilidade do paciente. A sua utilidade em pacientes com IC não está estabelecida.

Assim, planejamos estudar o perfil de marcadores protrombóticos e proinflamatórios em portadores da CMC em comparação com pacientes portadores de IC de etiologias não-chagásicas.

OBJETIVOS

2 Objetivos

2.1 Objetivo primário

- Estudar o perfil dos principais marcadores protrombóticos e proinflamatórios na insuficiência cardíaca de etiologia chagásica comparando-a com pacientes com insuficiência cardíaca de etiologia não-chagásica.

MÉTODOS

3 Métodos

3.1 Descrição do estudo

Trata-se de um estudo de corte transversal, que foi desenvolvido de forma colaborativa entre a Unidade de Insuficiência Cardíaca e Transplante do HCFMUSP, o Laboratório de Coagulação do Hospital das Clínicas da FMUSP, Hospital Auxiliar de Cotoxó e o Laboratório de Análises Clínicas do Instituto do Coração do HCFMUSP.

3.2 Casuística

Entre 16 de janeiro de 2008 e 08 de abril de 2009, 287 pacientes com IC crônica definida pelos critérios de Framingham foram consecutivamente selecionados do Ambulatório de Insuficiência Cardíaca e Transplante, das Unidades de Internação, Pronto Socorro e Unidades de Terapia Intensiva da nossa instituição. Dentre estes, 138 pacientes apresentavam etiologia chagásica e 149 pacientes eram não chagásicos. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa – CAPPesq da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da FMUSP. Todos os pacientes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1). Cada paciente teve uma ficha de avaliação clínica (ANEXO 2) individual que foi

preenchida com dados clínicos, laboratoriais, radiológicos, eletrocardiográficos e ecocardiográficos.

3.3 Definições

Cardiomiopatia Chagásica crônica: o diagnóstico de Cardiomiopatia Chagásica requer pelo menos dois testes sorológicos, de princípios distintos ou com diferentes preparações antigênicas, positivos com anticorpos IgG contra o *T. Cruzi* (fixação do complemento, hemaglutinação indireta, imunofluorescência indireta ou ELISA - imunensaio enzimático), anormalidades eletrocardiográficas e ecocardiográficas sugestivas de comprometimento cardíaco¹⁹.

Cardiomiopatia não-chagásica crônica: pacientes com critérios clínicos de IC (Framingham) associados a redução da função ventricular pelo ecocardiograma, com sorologia negativa para chagas.

Dentre as não chagásicas destacamos:

- **Cardiomiopatia Isquêmica Crônica:** pacientes com critérios clínicos de IC (Framingham) associados a redução da função ventricular pelo ecocardiograma, com sorologia negativa para chagas e doença aterosclerótica coronária caracterizada por pelo menos uma lesão = 50% no tronco de coronária esquerda ou = 70% em outras artérias³⁶.

- **Cardiomiopatia Hipertensiva:** pacientes com critérios clínicos de IC (Framingham) associados a redução da função ventricular pelo ecocardiograma e presença de história de hipertensão arterial sistêmica na ausência de critérios para CMC chagásica ou isquêmica.
- **Cardiomiopatia Valvar:** pacientes com critérios clínicos de IC (Framingham) associados a redução da função ventricular pelo ecocardiograma, com sorologia negativa para chagas e valvopatia primária assumida como causadora de disfunção ventricular, pela equipe assistencial.
- **Cardiomiopatia Peri-parto:** pacientes com critérios clínicos de IC (Framingham) associados a redução da função ventricular pelo ecocardiograma, com sorologia negativa para chagas e início dos sintomas entre o terceiro trimestre da gravidez e o quinto mês após o parto³⁷.
- **Cardiomiopatia dilatada idiopática:** pacientes com critérios clínicos de IC (Framingham) associados à redução da função ventricular pelo ecocardiograma, sem critérios para CMC chagásica, hipertensiva, valvar, isquêmica, congênita ou periparto³⁸.

Insuficiência cardíaca compensada: pacientes em tratamento ambulatorial em classe funcional I, II ou III da NYHA, estáveis clinicamente.

Insuficiência cardíaca descompensada: pacientes hospitalizados por insuficiência cardíaca em classe funcional III ou IV da NYHA, dependentes ou não de drogas vasoativas.

Finalmente, o critério para solicitação de cineangiocoronariografia ficou a critério da equipe assistencial.

3.4 Critérios de inclusão

- Cardiomiopatia chagásica
 - i. FEVE = 45% (ECO)
 - ii. Sorologias (2) positivas para Chagas por pelo menos 2 métodos diferentes
 - iii. Tempo de início dos sintomas > 1 mês
- Cardiomiopatia não-chagásica
 - i. FEVE = 45% (ECO)
 - ii. Sorologia negativa para Chagas
 - iii. Tempo de início dos sintomas > 1 mês

3.5 Critérios de exclusão

- Prótese valvar mecânica
- Neoplasia diagnosticada
- Terapia estrogênica atual
- Infecção fora de controle
- Circulação extracorpórea nos últimos 2 meses
- Presença de hipotireoidismo ou hipertireoidismo clínicos não tratados
- Gravidez suspeita ou confirmada
- Puerpério
- Insuficiência hepática
- Coagulopatia clinicamente relevante
- Anticoagulação plena
- História clínica de trombofilia
- Cardiomiopatia congênita
- Concomitância de cardiomiopatia chagásica e isquêmica
- Hemodiálise nos últimos dois meses

3.6 Coleta do material

A coleta de sangue venoso foi realizada no leito em caso de pacientes internados e no laboratório de análises clínicas do InCor em pacientes ambulatoriais.

As amostras para determinação da sorologia para Chagas, Proteína C reativa ultra-sensível, TNF-a, IL-6, sódio e creatinina, foram colhidas em tubos secos com gel com volume de aspiração de 5 ml da marca Vacuette[®], através de uma punção venosa periférica.

As amostras para determinação dos testes de fibrinogênio, D-dímero, sP-selectina, fator de von Willebrand, trombina-antitrombina (TAT), fator tecidual, tromboelastograma, atividade de protrombina (AP) e tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA) foram colhidas em tubos com volume de aspiração de 4,5 ml da marca BD Vacutainer[®], contendo citrato de sódio 3,2%, através de uma veno punção periférica, sem garroteamento do membro.

As amostras para realização do hemograma e BNP (Peptídeo Natriurético Tipo B) foram colhidas em tubos com volume de aspiração de 4,0 ml da marca BD Vacutainer[®], contendo EDTA 7,2 mg.

3.7 Metodologia

Fatores proinflamatórios:

As amostras para determinação do TNF- α e IL-6 foram centrifugadas uma vez a (3000 rpm) por 15 minutos, a 22°C, congeladas em nitrogênio líquido a -180 °C e estocadas a -80 °C antes da determinação final.

- Proteína C reativa ultra-sensível: o método utilizado foi imunonefelometria de partículas reforçadas (Dade Behring, Marburg, Alemanha) com intervalo de referência de < 1,0mg/L.
- Fator de necrose tumoral- α : a dosagem quantitativa no soro do TNF- α IMMULITE/IMMULITE 1000 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA) foi realizada através de um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente. O valor de referência é de não detectável a 8,1 pg/mL.
- Interleucina-6: a dosagem quantitativa no soro da IL-6 IMMULITE/IMMULITE 1000 (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA) foi realizada através de um ensaio imunométrico seqüencial de fase sólida, de enzimas químico-luminosas. O valor de referência é de não detectável a 5,9 pg/mL.

Fatores protrombóticos:

Para estudar o sistema de coagulação, foram determinados os níveis plasmáticos de fibrinogênio, D-dímero, TAT (complexo trombina-antitrombina), fator tecidual, TP e TTPA; a ativação plaquetária foi avaliada pela dosagem de sP-selectina plasmática; para avaliação de lesão endotelial determinamos o antígeno do Fator de von Willebrand e, para obter uma visão global da coagulação, utilizamos a tromboelastografia. Todas as amostras, exceto para o tromboelastograma, TP e TTPA, foram centrifugadas duas vezes a (3000 rpm) por 15 minutos, a 22°C, congeladas em nitrogênio líquido a -180 °C e estocadas a -80 °C antes da determinação final.

a) Avaliação do sistema de coagulação:

- Fibrinogênio: a determinação quantitativa de fibrinogênio em plasma humano citratado foi obtida pelo Método Clássico de Clauss nos Sistemas de Coagulação da IL (HemosIL™ Fibrinogen-C, IL, Lexington, MA, USA). O valor de referência é 220 – 496 mg/dL.
- D-dímero: a concentração plasmática do D-dímero foi realizada pelo método de ELISA (imunoensaio enzimático) da marca Technozym® D-Dimer ELISA (Technoclone, Viena, Austria). O valor de referência é 0 – 250 ng/mL.
- TAT (complexo trombina-antitrombina): a determinação quantitativa do complexo trombina/antitrombina no plasma humano foi realizada

pelo método de ELISA (ensaio imunoenzimático) Enzygnost[®] TAT micro (Dade Behring, Marburg, Alemanha), com intervalos de referência de 1,0 a 4,1 µg/L. O teste foi realizado em duplicata.

- Fator Tecidual: a determinação quantitativa do fator tecidual no plasma humano foi realizada pelo método de ELISA (imunoensaio enzimático) IMUBIND[®] Tissue Factor ELISA KIT, número do produto 845 (American Diagnostica Inc., Stamford, Connecticut, USA). O valor de referência é 80 - 220 pg/mL. O teste foi realizado em duplicata.
- Atividade de protrombina (AP): foi realizada pelo método coagulométrico automatizado, no aparelho AMAX 190, utilizando como reagente o TriniCLOT PT Excel S (Trinity Biotech, New Jersey, USA). O valor de referência é 70 a 100%.
- Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA): foi realizada pelo método coagulométrico automatizado, no aparelho AMAX 190, utilizando como reagente o TriniCLOT aPTT S (Trinity Biotech, New Jersey, USA). O valor de referência é 25 – 34 segundos.

b) Avaliação da ativação plaquetária:

- P-selectina plasmática: a determinação da sP-selectina foi realizada através da técnica de ELISA, usando o Kit soluble sP-Selectin ELISA Kit, BioSource[®] (Invitrogen Corporation, California, USA), Catalog

Number - KHS2021, com intervalo de referência de 90- 290 ng/mL. O teste foi realizado em duplicata.

c) Avaliação endotelial:

- Antígeno do Fator de von Willebrand: a determinação quantitativa da atividade do fator de von Willebrand em plasma humano foi realizada pelo método de ELISA (Coergenix Inc, Broomfield, Colorado, EUA), com intervalos de referência de 50 a 160%. O teste foi realizado em duplicata.

d) Tromboelastograma:

As amostras do tromboelastograma foram analisadas, a 37°C, num intervalo de tempo inferior a 120 minutos, entre a coleta e a realização do teste. Foram utilizados 20 µl de Kaolin (0,006%), 20 µl de cloreto de cálcio (0,2 Molar) e 300 µl de sangue total citratado. Os seus dados foram analisados pelo software TEG[®] da Haemoscope Corporation (Niles, IL, EUA) com representação gráfica da formação e subsequente lise do coágulo. É um teste importante na avaliação global da coagulação e fibrinólise, onde integra células e proteínas da coagulação, que não foram avaliados nos testes anteriores. A análise das variáveis do TEG[®] (tempo, taxa, resistência e estabilidade do coágulo) podem determinar o estado de coagulabilidade do paciente (normo, hipo ou hipercoagulável). O traçado obtido pelo tromboelastograma(TEG[®])

durante o processo de formação do coágulo em sangue total está representado na Figura 1.

As variáveis estudadas neste teste foram:

a) Tempo de coagulação

- Tempo r (período para atingir 2 mm de amplitude da curva): é o tempo de coagulação e é medido em minutos. Mede o tempo decorrido do início do ensaio até o momento que a produção de fibrina se inicia, com intervalo de referência de 2 a 8 minutos.

b) Cinética do coágulo

- Determinação do k (período entre 2 e 20 mm de amplitude da curva): representa o momento em que o coágulo se estabiliza, a rede de fibrina se consolida e as plaquetas aderem a esta, com intervalo de referência de 1 a 3 minutos.
- Ângulo alfa (inclinação entre o r e k): mede a velocidade de formação do coágulo. Representa a taxa de geração da trombina e a conversão de fibrinogênio em fibrina, com intervalo de referência de 55 a 78°.

c) Força do coágulo

- MA (amplitude máxima): é função direta da máxima propriedade dinâmica da fibrina e adesão plaquetária via glicoproteína IIb/IIIa e representa a resistência global do coágulo, com intervalo de referência de 51 a 69 mm.
- Parâmetro G (dyn/cm^2): trata-se da conversão algorítmica do MA (em mm) do coágulo em seu valor de resistência a pressão (dyn/cm^2). Enquanto o MA analisa uma reação linear entre a força do coágulo e a atividade plaquetária, o G o faz como uma relação exponencial. O G é mais sensível a alterações na função plaquetária, com intervalo de referência de 4,6K a 10,9K.

d) CI (índice de coagulação): permite avaliar o estado hemostático global do paciente. É resultante de uma combinação entre os parâmetros cinéticos do coágulo (R, K e ângulo α) e a força do coágulo (MA), com intervalo de referência de -3 a 3.

e) LY 30 (%) e EPL (%): A LY 30 representa a lise do coágulo após 30 minutos e em conjunto com EPL (percentual estimado de lise) são os parâmetros que monitoram a fase final do processo de coagulação, com intervalo de referência de 0 a 8%.

f) MRTG - *Maximum rate of thrombus generation* (mm/min): representa o pico da geração de trombina, com intervalo de referência de 5 a 17 mm/min.

g) TMRTG – *Time to Maximum rate of thrombus generation* (min): representa tempo decorrido para atingir o pico da geração de trombina, com intervalo de referência de 6 a 12 min.

h)TTG – *Total thrombus generation* (mm/min): representa a área total de geração de trombina, com intervalo de referência de 584 a 796 mm/min.

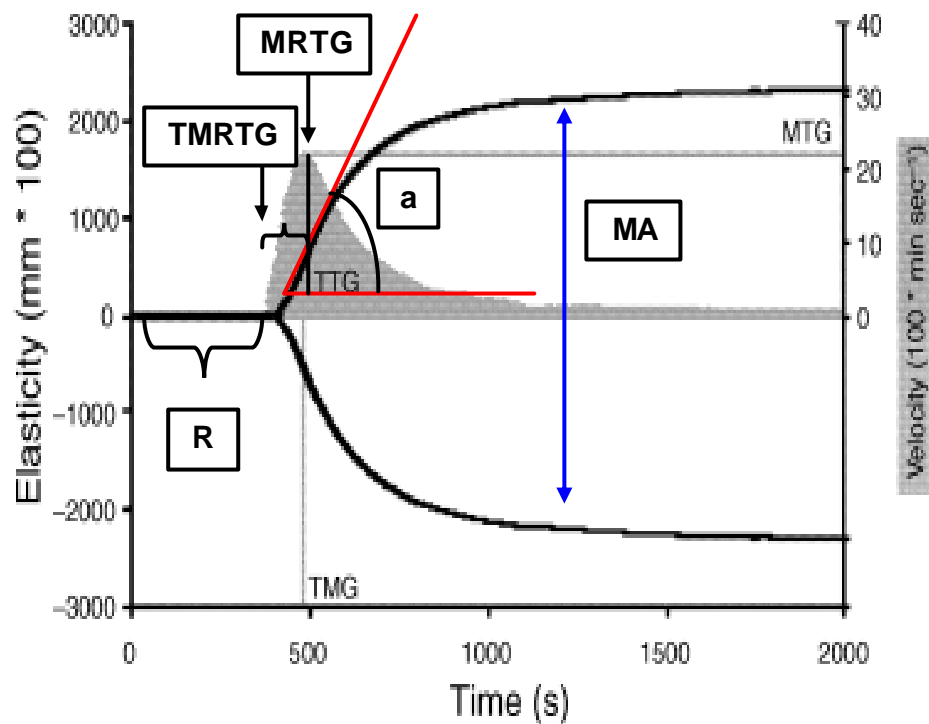


Figura 1 – Traçado obtido através da tromboelastografia (TEG[®]) durante o processo de formação do coágulo em sangue total. Os parâmetros são: R (tempo de coagulação), α (ângulo alfa), MA (amplitude máxima), MTG ou MRTG (Maximum rate of thrombus generation), TMRTG (Time to Maximum rate of thrombus generation) e TTG (Total thrombus generation).
 FONTE: Rivard GE, 2005³⁹.

Sorologia para Doença de Chagas:

1. ELISA cruzi (bioMérieux Brasil S/A, Rio de Janeiro, Brasil) – é um teste imunoenzimático em uma micro placa de Microelisa. As cavidades das tiras são cobertas com antígenos do T. cruzi para detecção direta dos anticorpos no soro humano de pacientes

infectados com o *T. cruzi*. Os anticorpos nas amostras são capturados pelos antígenos do *T. cruzi*, presentes nos poços das tiras testes. Após uma etapa de lavagem, os anticorpos capturados são ligados com o conjugado (peroxidase ligada ao anticorpo monoclonal anti IgG humana). Quando a reação enzimática é parada, a intensidade da cor é lida pelo espectrofotômetro. O teste apresenta uma sensibilidade de 100% e especificidade de 99,6%. Pode haver reatividade cruzada em pacientes com leishmaniose, particularmente na forma mucocutânea e visceral.

2. IMUNOCRUIZ[®] (bioMérieux Brasil S/A, Rio de Janeiro, Brasil) – sorodiagnóstico da doença de Chagas por imunofluorescência indireta (IFI). Os anticorpos presentes no soro de pacientes chagásicos, quando incubados sobre uma lâmina contendo antígeno de *Trypanosoma cruzi* previamente fixado, são revelados por uma antiglobulina humana marcada pela fluoresceína. Os resultados são lidos através da microscopia fluorescente. Pode haver reatividade cruzada em pacientes com leishmaniose.

Outros exames laboratoriais:

- Hemograma e contagem de plaquetas: foi realizado no analisador de hematologia automatizado XT – 2000i. Este aparelho realiza a análise com base no método de detecção por resistência elétrica, método de focagem hidrodinâmica e método de citometria de fluxo utilizando laser semiconductor e método SLS – hemoglobina.
- BNP (Peptídeo Natriurético Tipo B): o método utilizado foi a quimioluminescência direta (Siemens Medical Solutions Diagnostics, Los Angeles, USA) com intervalo de referência de < 100 pg/mL.
- Sódio sérico: a medição quantitativa do sódio no soro é realizada através da tecnologia do multisensor integrado QuikLYTE[®] para desenvolver em potencial elétrico proporcional a atividade de cada íon específico presente na amostra (Dade Behring Inc., Newark, USA) Intervalo de referência de 136 – 145mmol/L.
- Creatinina sérica: a determinação quantitativa da creatinina no soro humano foi determinada pelo método CREA utilizado no sistema de química clínica Dimension[®] (Siemens Health Care Diagnostics Inc., Newark, USA). Intervalo de referência de 0,6 a 1,0 mg/dL.

3.8 Análise estatística

Os resultados foram tabulados e analisados usando o *software Microsoft Excel 2003* (Microsoft Corporation, Seattle, WA, USA). O *software* utilizado para análise estatística foi o GraphPad Prism ® (GraphPad Software, Inc, USA) e o SPSS do Windows 17.0.

A amostra foi calculada assumindo-se uma estimativa de diferença entre os grupos de aproximadamente um terço de desvio-padrão para um poder de 90%, considerando-se teste de hipótese bicaudal. Esta estimativa de diferença pode ser considerada razoável baseado na dispersão aferida de variáveis protrombóticas em outros estudos em portadores de IC. Sendo assim, a amostra foi calculada em 150 pacientes no grupo chagásico e 150 pacientes no grupo não chagásico. Considerou-se como estatisticamente significativo um $p < 0,05$.

Variáveis categóricas foram expressas como porcentagens. As variáveis contínuas de distribuição normal foram expressas, em médias \pm desvio-padrão e as variáveis contínuas de distribuição assimétrica, em medianas e intervalo interquartil. As variáveis numéricas foram classificadas em gaussianas ou assimétricas pelo teste de Kolmorov-Smirnov D. Comparações de variáveis clínicas, ecocardiográficas e laboratoriais entre os diversos grupos foram realizados com uso do test t de Student não pareado para variáveis contínuas paramétricas e o teste de Mann-Whitney para variáveis não

paramétricas. O teste exato de Fisher foi utilizado para comparação entre proporções.

Foi realizada avaliação de influência de co-variáveis através do teste de análise de co-variância.

RESULTADOS

4 Resultados

4.1 Características gerais da amostra

4.1.1 Anamnese

Na Tabela 1 apresentamos os dados referentes as anamneses dos 138 pacientes chagásicos (G1) e dos 149 não chagásicos (G2). A média de idade, distribuição por sexo, tempo de início dos sintomas, prevalência de tabagismo e de etilismo foram semelhantes entre os grupos. Houve tendência a maior prevalência de fenômenos tromboembólicos no grupo G1 em relação ao G2, porém, sem alcançar significância estatística. Em relação ao número de internações nos últimos 2 anos, percentual de pacientes internados, percentual de fibrilação atrial e percentual de CF (NYHA) III ou IV, houve predomínio do G1 em relação ao G2. Já a porcentagem de pacientes com hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus e dislipidemia foi superior no G2 em relação ao G1.

Tabela 1 – Características da anamnese entre chagásicos e não-chagásicos

Características	G1(n=138)	G2(n=149)	P
Idade (anos)	52,7 ± 11,5*	53,7 ± 11,1*	ns
Sexo (% homem/total)	67,4%	66,4%	ns
Internados (%)	31,9%	15,4%	0,0012
Tempo de início dos sintomas (meses)	74,2 ± 68,8*	69,4 ± 56,6*	ns
Número de internações nos últimos 2 anos	2,3 ± 4*	1,5 ± 3*	0,0088
CF NYHA III ou IV (%)	56,5%	34,9%	0.0002
HAS (%)	34,8 %	67,8 %	<0,0001
DM (%)	8,7 %	24,8 %	<0,0001
DLP (%)	20,3 %	48,3 %	<0,0001
FA (%)	12,3 %	1,3 %	<0,0001
FTE (%)	18,8 %	10,7 %	0,0656
Tabagismo atual (%)	4,3 %	8,7 %	ns
Etilismo atual (%)	2,2 %	2,7 %	ns

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; CF NYHA: classe funcional da New York Heart Association; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DM: diabetes mellitus; DLP: dislipidemia; FA: fibrilação atrial; FTE: fenômenos tromboembólicos; ns: p considerado não significativo.

* Valores expressos em média ± desvio-padrão.

4.1.2 Exame físico

Na Tabela 2 apresentamos os dados referentes ao exame físico dos pacientes da amostra. As médias da pressão arterial sistólica e do índice de massa corpórea foram menores entre os chagásicos. A prevalência de refluxo hepatojugular, ascite e marcapasso ou desfibrilador foi maior entre os chagásicos.

Tabela 2 – Características do exame físico nos grupos chagásico e não-chagásico

Características	G1(n=138)	G2(n=149)	P
PA sistólica (mmHg)	104,7 ± 17,6*	117,0 ± 22,2*	<0,0001
RHJ (%)	58,0 %	32,9 %	<0,0001
Ascite (%)	23,2 %	8,0 %	<0,0001
IMC	23,9 ± 3,6*	27,2 ± 5,2*	<0,0001
Marcapasso/ Desfibrilador (%)	27,5 %	10,1 %	0,0002

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; PA: pressão arterial; RHJ: refluxo hepatojugular; IMC: índice de massa corpórea

* Valores expressos em média ± desvio-padrão.

4.1.3 Terapia medicamentosa

Na Tabela 3 apresentamos os dados referentes à terapia medicamentosa dos pacientes incluídos em cada grupo. A frequência do uso de betabloqueadores, inibidores da enzima de conversão ou bloqueadores de receptor da angiotensina, espironolactona e heparina profilática foram semelhantes entre os grupos. O uso de ácido acetil-salicílico foi maior entre não-chagásicos, enquanto o uso de inotrópicos intravenosos (dobutamina ou milrinone) foi mais freqüente entre chagásicos.

Tabela 3 – Caracterização da terapia medicamentosa entre chagásicos e não chagásicos

Drogas	G1(n=138)	G2 (n=149)	P
Betabloqueador (%)	89,1%	95,3%	ns
IECA (%)	89,1%	94,6%	ns
Espironolactona (%)	63,0%	58,4%	ns
AAS (%)	25,4%	47,0%	0,0001
Heparina profilática (%)	17,4%	11,4%	ns
Inotrópicos (%)	15,2%	6,0%	0,0123

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; IECA: inibidor da enzima de conversão da angiotensina; AAS: ácido acetil-salicílico

NOTA: Foram considerados inotrópicos intravenosos dobutamina ou milrinone.

4.1.4 Ecocardiograma bidimensional com Doppler

As principais características ao ecocardiograma dos pacientes chagásicos e não chagásicos estão dispostas na Tabela 4. Não houve diferença quanto às dimensões das câmaras esquerdas entre os grupos. Entretanto, a fração de ejeção média foi menor no G1 do que no G2.

Tabela 4 – Características ecocardiográficas entre chagásicos e não-chagásicos

Variáveis	G1(n=138)	G2 (n=149)	P
DAE	46,9±6,5*	46,7±6,8*	ns
DDVE	67,1 ± 7,6*	68,3 ± 8,5*	ns
FEVE	24,6 ± 7,3*	27,2 ± 7,7*	0,0052

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; DAE: diâmetro do átrio esquerdo; DDVE: diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

* Valores expressos em média ± desvio-padrão.

4.1.5 Análises laboratoriais

As principais determinações laboratoriais dos pacientes chagásicos e não chagásicos estão dispostas na Tabela 5. Não houve diferença quanto à média do porcentual de linfócitos entre os grupos. Os níveis de sódio sérico e de hemoglobina foram mais baixos, na média, entre chagásicos. Já os níveis de peptídeo natriurético do tipo B e de creatinina séricos foram mais altos no grupo chagásico.

Tabela 5 – Características laboratoriais nos grupos chagásico versus não-chagásico

Variáveis	G1(n=138)	G2 (n=149)	P	Valor de referência
BNP	593 (222-1155)*	162(41-446)*	<0,0001	< 100pg/mL
Creatinina	1,2(1,0-1,5)*	1,0(0,9-1,3)*	0,003	0,6-1,0mg/dL
Na	138(136-141)*	140(137-141)*	0,0238	136– 145mmol/L
Hb	13,0 ± 1,8†	13,6 ± 2,0†	0,0147	12-18g/dL
Porcentual de Linfócitos	26,0±9,8†	27,2±9,7†	ns	20-40%

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; BNP: peptídeo natriurético do tipo B; Na: sódio sérico; Hb: hemoglobina

* Valores expressos em mediana e intervalo interquartil

† Valores expressos em média ± desvio-padrão.

4.2 Características de marcadores proinflamatórios

As determinações de fatores proinflamatórios em ambos os grupos estão apresentadas na Tabela 6. Não houve diferença nos valores da proteína C reativa ultrasensível entre os grupos (Figura 2), embora ambos tenham apresentado níveis elevados deste marcador. Em ambos os grupos o percentil 25 foi maior que os valores de referência.

Tabela 6 – Marcadores proinflamatórios nos grupos chagásico versus não-chagásico

Marcadores	G1(n=138)		G2 (n=149)		P	Valor de referência
	Mediana (IQ 25-75)	Min-Max	Mediana (IQ25-75)	Min-Max		
TNF- α	34,3 (22 – 50,6)	11,8 - 151	11,7 (9,4 – 15,8)	6 – 92,5	<0,0001	0 - 8,1 pg/mL
IL-6	5 (2 - 12)	1,2 - 598	2,8 (2 – 6,7)	2 - 104	0,0056	0 – 5,9 pg/mL
PCR us	3,3 (1,2 – 10,5)	0,2 -81	2,7 (1,1 – 8,3)	0,2- 108	ns	<1,0mg/L

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; IQ: intervalo interquartil; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; TNF- α : fator de necrose tumoral alfa; IL-6: interleucina 6; PCR us: proteína C reativa ultrasensível.

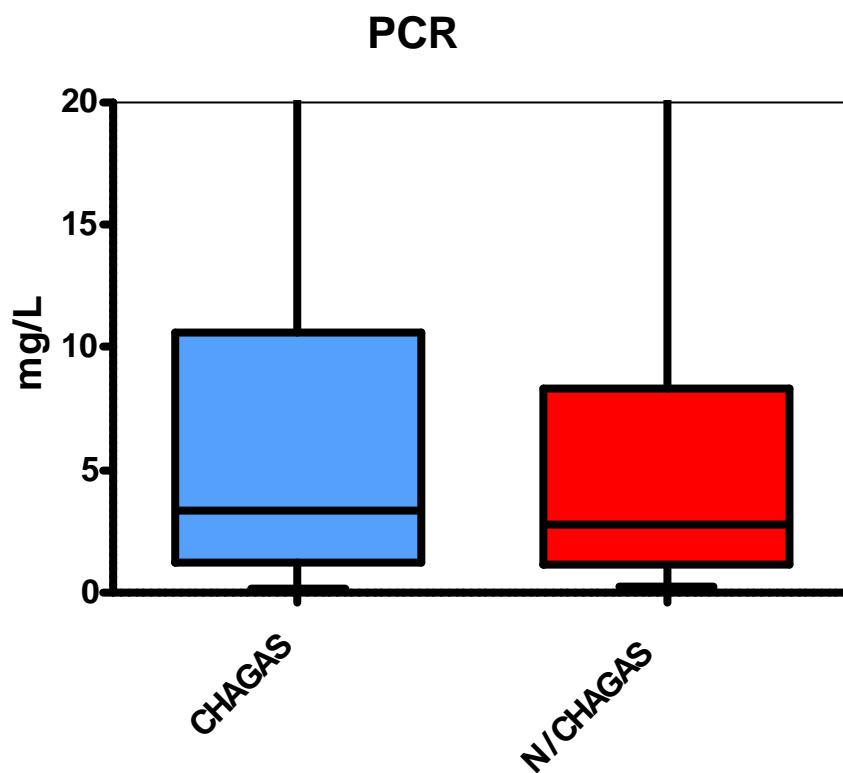


Figura 2 – Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de proteína C reativa ultrasensível nos grupos chagásico e não-chagásico. PCR: proteína C reativa ultrasensível; $p = ns$.

Por outro lado, os níveis de interleucina-6 e de fator de necrose tumoral-alfa foram significativamente mais altos no grupo chagásico do que no não-chagásico (Figuras 3 e 4). Especificamente entre os pacientes chagásicos, todos apresentaram níveis de TNF- α acima dos valores de referência.

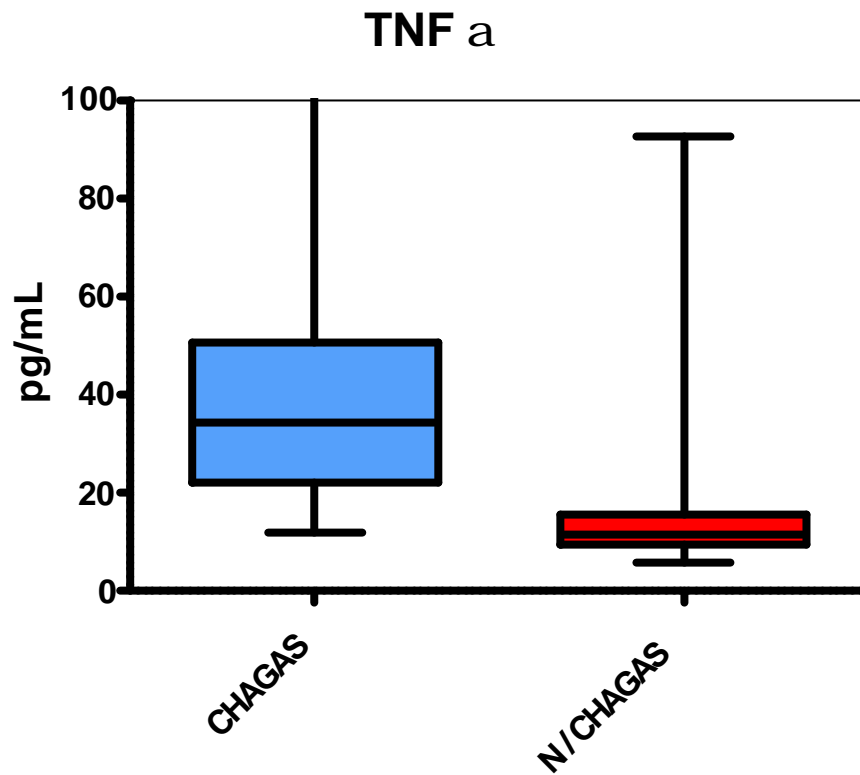


Figura 3 – Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de fator de necrose tumoral - alfa nos grupos chagásico e não-chagásico. TNF α : fator de necrose tumoral – alfa; $p < 0,0001$.

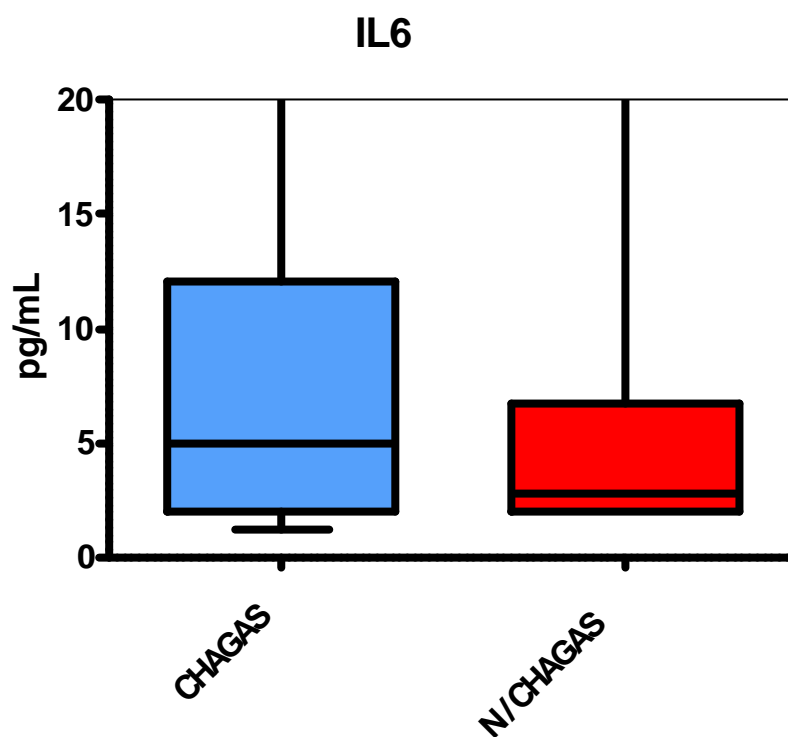


Figura 4 – Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de interleucina 6 nos grupos chagásico e não-chagásico. IL 6: interleucina 6; $p = 0,0056$.

4.3 Características de marcadores protrombóticos

As determinações de fatores protrombóticos em ambos os grupos estão apresentadas na tabela 7. Não houve diferença nos níveis de complexo trombina-antitrombina ou de fator tecidual entre os grupos. Os níveis de fibrinogênio foram maiores entre os não-chagásicos (Figura 5).

Tabela 7 – Marcadores protrombóticos nos grupos chagásico versus não-chagásico

Marcadores	G1(n=138)		G2 (n=149)		P	Valor de referência
	Mediana (IQ25-75)	Min-Max	Mediana (IQ25-75)	Min-Max		
Fibrinogênio	317 (275 - 381)	184 - 587	340 (307 - 386)	187 - 589	0,0424	220 – 496 mg/dL
Dímero-D	270 (220 - 412)	40 - 4320	190 (80 - 305)	10 - 1620	<0,0001	0 – 250 ng/mL
P-selectina	42 (30 - 78)	6 -1400	36 (22 - 60)	10- 597	0,0262	90-290 ng/mL
FvW	172 (135 - 246)	34 - 588	132 (101 - 195)	50 - 392	<0,0001	50-160%
TAT	4,0 (2,9-6,5)	1,6-300,0	4,0 (3,0-6,5)	1,6-80,0	ns	1 - 4,1µg/l
FT	120 (100 - 162)	20 - 1500	120 (100 - 184)	40 - 1640	ns	12 – 140 pg/mL

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; IQ: intervalo interquartil; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; FvW: fator de von Willebrand; TAT: complexo trombina-antitrombina; FT: fator tecidual

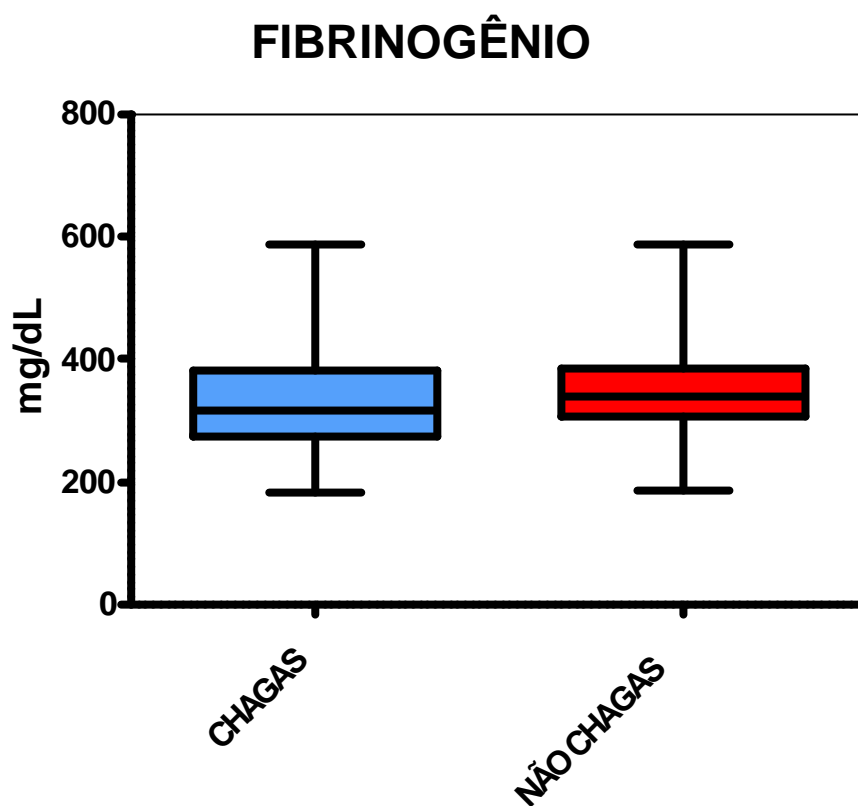


Figura 5 – Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de fibrinogênio nos grupos chagásico e não-chagásico; $p = 0,0424$

Os níveis de dímero-D (Figura 6), P-selectina solúvel (Figura 7) e fator de von Willebrand (Figura 8) foram significativamente maiores nos chagásicos.

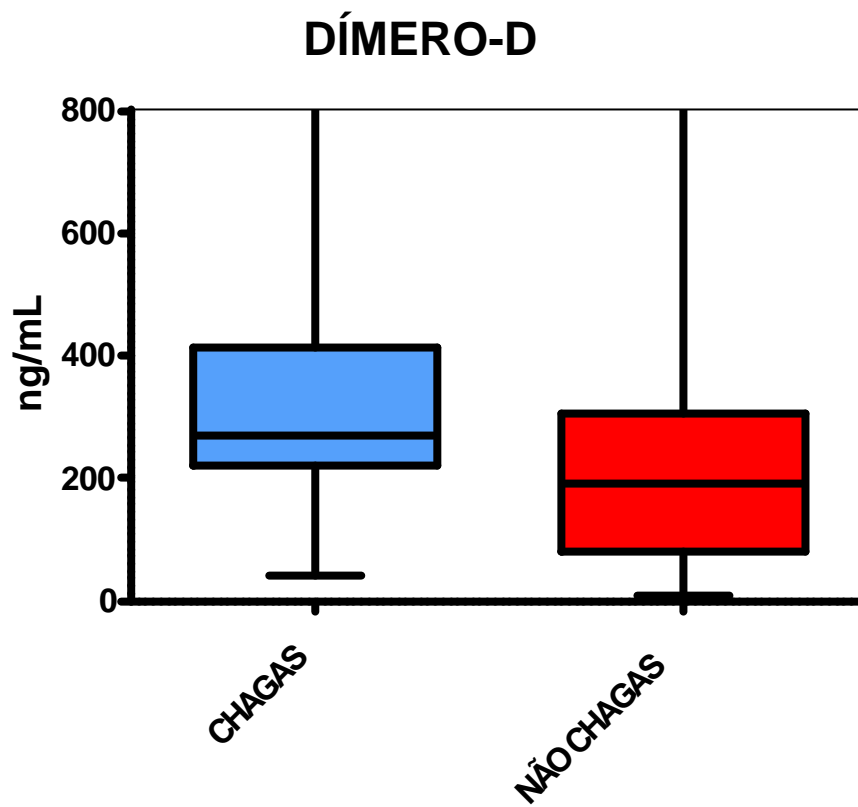


Figura 6 – Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de dímero-D nos grupos chagásico e não-chagásico; $p < 0,0001$

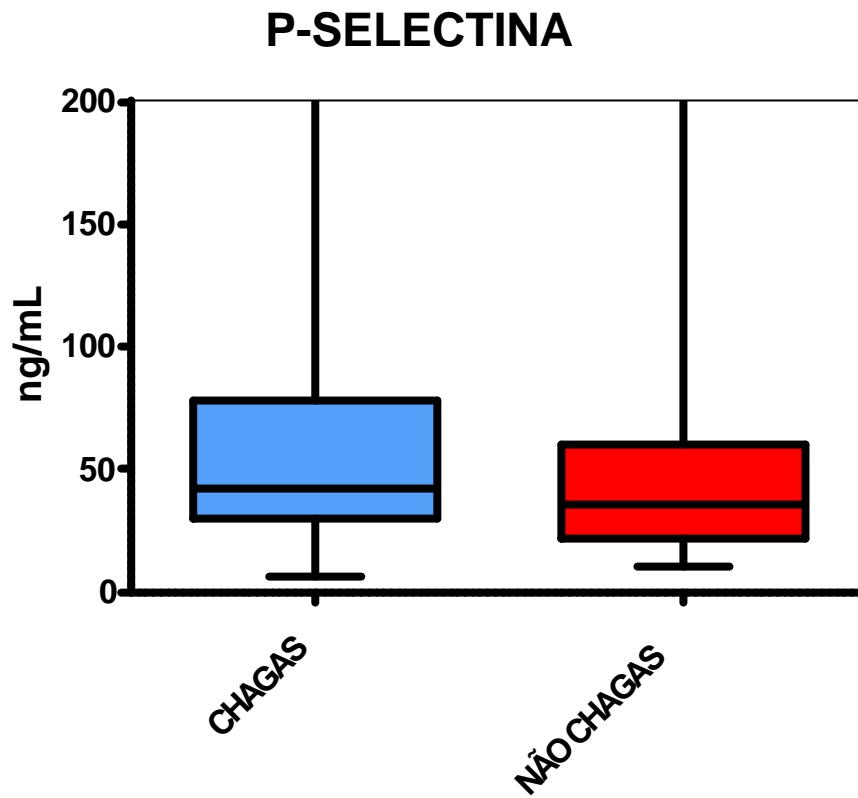


Figura 7 – Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de P-selectina solúvel nos grupos chagásico e não-chagásico; $p = 0,0262$

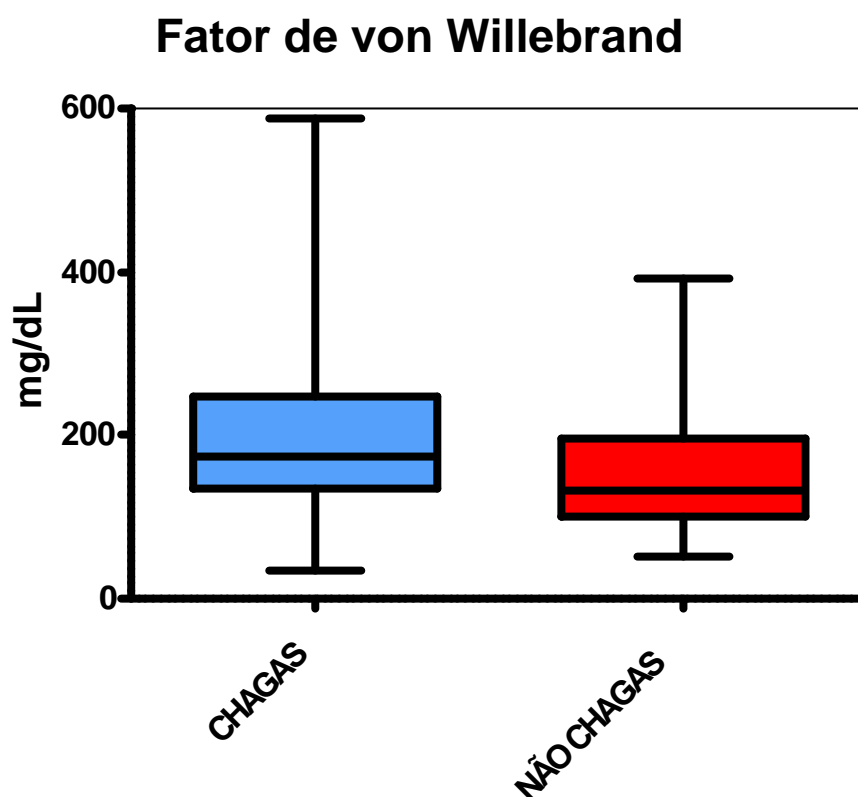


Figura 8 – Gráfico em Box-plot dos valores obtidos na dosagem de fator de von Willebrand nos grupos chagásico e não-chagásico; $p < 0,0001$.

4.4 Outras variáveis de hemostasia

Analisando-se outras variáveis de hemostasia (Tabela 8), observou-se menor número de plaquetas e menor atividade protrombínica, bem como maior tempo de tromboplastina parcial ativada entre os chagásicos.

Tabela 8 – Contagem de plaquetas, tempo de tromboplastina parcial ativada e atividade de protrombina nos grupos chagásico e não-chagásico

Variáveis	G1(n=138)	G2 (n=149)	P	Valor de referência
Contagem de Plaquetas	205,2± 63,9*	222,1± 69,3*	0,0353	150 - 450mil/mm ³
TTPA	32,1 ± 5,6*	29,5 ± 5,6*	<0,0001	25 - 34 s
AP	75,7 ± 18,0*	88,8 ± 17,7*	<0,0001	70 - 100%

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada; AP: atividade protrombínica

* Valores expressos em média ± desvio-padrão.

No que se refere aos parâmetros do tromboelastograma, observou-se maior tempo de coagulação entre os não-chagásicos. A amplitude máxima, o parâmetro G e a geração total de trombina foram maiores no grupo não-chagásico, embora ambos os grupos estivessem com o percentil 75 dentro dos valores de referência.

Tabela 9 – Variáveis do tromboelastograma nos grupos chagásico e não-chagásico

Parâmetros	G1(n=138)		G2 (n=149)		P	Valor de referência
	Mediana	Min-Max	Mediana	Min-Max		
	(IQ25-75)		(IQ25-75)			
Tempo R	5,2		5,7			
	(4,5 - 6,2)	1,8 - 10,5	(4,8 - 6,5)	0,2 - 8,8	0,0458	2-8 minutos
Ângulo alfa	63,2		64,6			
	(57,3 - 67,2)	36,5 - 79,5	(56,6 - 68,5)	31,6 - 75,8	ns	55-78°
MA	60,8		62,30			
	(55,5 - 64,5)	45,6 - 94,1	(58,5 - 65,6)	44,3 - 80,1	0,0044	51-69 mm
G	7,8		8,30			
	(6,3 - 9,1)	4,2 - 16,1	(7,0 - 9,5)	4,0 - 20,1	0,0022	4,6-10,9K
CI	0,2		0,4			
	(-1,1 - 1,5)	-5,1 - 5,4	(-0,7 - 1,6)	-5,8 - 5,5	ns	-3 - 3
LY 30	1,1		0,8			
	(0,4 - 2,1)	0 - 16,0	(0,1 - 2,1)	0 - 13,0	ns	0 – 8%
MRTG	12,4		12,8			
	(9,8 - 15,1)	3,9 - 30,2	(10,4 - 15,2)	6,4 – 26,2	ns	5-17 mm/min
TMRTG	6,5		6,8			
	(5,6 - 7,7)	2,7 - 11,9	(5,9 - 7,8)	2,7 - 11,5	ns	6 – 12 minutos
TG	736,1		752,9			
	(672,1 - 778,7)	545,2 - 920,8	(711,4 – 794,7)	546,9 – 1100	0,0010	584-796 mm/min

G1: grupo chagásico; G2: grupo não-chagásico; IQ: intervalo interquartil; Min: valor mínimo; Max: valor máximo; Tempo R: tempo de coagulação; MA: amplitude máxima; G: parâmetro G; CI: índice de coagulação; Ly30: lise do coágulo após 30 minutos; MRTG: taxa máxima de geração de trombina; TMRTG: tempo para taxa máxima de geração de trombina;TG geração total de trombina.

4.5 Análise de co-variância

Uma vez detectadas diferenças entre os grupos chagásico e não-chagásico no que concerne às variáveis das características gerais da amostra, realizamos análise de co-variância para avaliar possível influência destas variáveis nos resultados dos fatores protrombóticos e proinflamatórios. As co-variáveis estudadas para cada marcador foram: porcentual de pacientes internados, CF (NYHA), PA sistólica, IMC, FEVE, creatinina sérica, sódio sérico, BNP, presença de marcapasso ou desfibrilador, hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus, dislipidemia, fibrilação atrial e uso de ácido acetil-salicílico.

4.5.1 Análise de co-variância de marcadores proinflamatórios

Em relação ao TNF – alfa, o BNP foi a única variável analisada que também influenciou os seus níveis embora a etiologia chagásica tenha mantido sua influência sobre este marcador proinflamatório.

Analisando o IL-6, as mesmas variáveis foram estudadas, sendo que os níveis séricos desta citocina proinflamatória foram influenciados pela CF (NYHA), pelo BNP, pelo porcentual de pacientes internados e pelos níveis de hemoglobina. A etiologia chagásica não influenciou os níveis de IL-6 à luz desta análise.

4.5.2 Análise de co-variância de marcadores protrombóticos

A diferença detectada na dosagem do fibrinogênio foi influenciada pelo percentual de internados, CF, PAS e sódio sérico, mantendo-se a influência da etiologia chagásica.

As diferenças nos níveis de dímero-D foram influenciados pela CF(NYHA), BNP, percentual de internados, nível de sódio sérico, atividade protrombínica e presença de fibrilação atrial mantendo-se, porém, a predominância da influência da etiologia chagásica na diferença entre os grupos.

Analisando-se a p-selectina plasmática verificou-se que a etiologia chagásica foi o fator que mais influenciou seus resultados, de forma independente de quaisquer outras variáveis analisadas, embora o uso de aspirina também tenha contribuído, em menor escala, para o menor valor desta variável no grupo não-chagásico.

Em relação ao fator de von Willebrand, notou-se que a variável que mais influenciou os seus níveis foi o BNP. Neste contexto, a etiologia chagásica perdeu sua influência na elevação dos níveis séricos deste marcador protrombótico, quando analisado em conjunto com o BNP.

As variáveis que influenciaram a diferença de resultados do TTPA entre os grupos foram: BNP, sódio sérico, creatinina, fração de ejeção do ventrículo esquerdo, índice de massa corpórea, pressão arterial sistólica, percentual de internados, mantendo-se a influência da etiologia chagásica. A

atividade de protrombina foi influenciada pelas mesmas variáveis que influenciaram o TTPA, acrescido da presença de fibrilação atrial.

Estudando as variáveis do tromboelastograma, o parâmetro G e a geração de trombina (TG) sofreram influência dos níveis de hemoglobina, do porcentual de pacientes internados e da etiologia chagásica.

DISCUSSÃO

5 Discussão

O presente estudo teve por objetivo estudar os fatores proinflamatórios e protrombóticos na cardiomiopatia chagásica em comparação com outras etiologias de IC. Este foi o primeiro estudo a contemplar marcadores protrombóticos em portadores de cardiomiopatia chagásica com disfunção sistólica. Os seus resultados apontaram para aumento da atividade inflamatória em ambos os grupos em todos os marcadores estudados. Observou-se, no entanto, maior atividade inflamatória entre chagásicos, medida pelo TNF - alfa e pela interleucina 6. A dosagem de PCR não detectou diferença entre os grupos, possivelmente por sua variabilidade intrínseca.⁴⁰ Em relação aos marcadores protrombóticos, os níveis de dímero-D, P-selectina e de fator de von Willebrand foram mais altos entre chagásicos do que entre os não chagásicos.

Selecionou-se pacientes mais graves entre chagásicos do que entre não-chagásicos, a julgar pela diferença entre diversos fatores prognósticos já bem estabelecidos. A maior prevalência de hipertensão, diabetes mellitus e dislipidemia entre não chagásicos era esperada, mas não tem o mesmo peso em termos de fatores de risco do que variáveis como classe funcional,

porcentual de pacientes internados, presença de refluxo hepatojugular, ascite e BNP, por exemplo.

Outro aspecto relevante em relação às características de base diz respeito à agressividade do tratamento farmacológico em ambos os grupos, mesmo entre os pacientes internados. A frequência do uso de betabloqueadores, inibidores da enzima de conversão da angiotensina e de espironolactona foi maior do que na maioria dos estudos clínicos com IC publicados na literatura. A maior frequência de uso de AAS entre não chagásicos provavelmente foi influenciada pela presença de cardiomiopatia isquêmica.

É conhecido que hipercoagulabilidade e inflamação são preditores independentes de desfechos clínicos em pacientes com IC descompensada, num modelo ajustado para outras variáveis conhecidas de risco. Na nossa casuística, incluímos tanto pacientes em nível ambulatorial como descompensados, internados em enfermarias ou em unidades de terapia intensiva. Uma vez que foi observado maior porcentual de pacientes internados entre os chagásicos, utilizamos análise de co-variância para ajuste das diferenças dos fatores protrombóticos e proinflamatórios entre os grupos.

Na análise de co-variância, embora os níveis de BNP também tenham contribuído para a diferença entre os níveis de TNF-alfa entre os dois grupos, a influência da etiologia chagásica foi o fator predominante nesta diferença. Assim, demonstra-se maior atividade proinflamatória na CMC, em relação a outras etiologias. Este dado corrobora os achados de um outro estudo realizado

no nosso meio²² Embora os níveis de IL 6 tenham sido maiores entre os chagásicos, esta diferença se deu, principalmente, pela influência de outras variáveis de base relacionadas à gravidade, mais do que pela própria etiologia chagásica.

Diversos estudos tem demonstrado aumento de níveis de marcadores proinflamatórios na IC^{22,23,29-31} Existe um grande número de evidências experimentais demonstrando que o TNF-alfa e a IL 6 tem sido associados a efeitos inotrópicos negativos e com remodelamento ventricular.⁴¹ Neste contexto, a maior elevação dos níveis de TNF-alfa entre chagásicos no nosso estudo, pode implicar em pior prognóstico. Por outro lado, os níveis de IL 6 estiveram mais relacionados com fatores de gravidade de base do que com a própria etiologia chagásica. Este dado está em consonância com outros estudos que sugerem que, na IC, a IL 6 não se expressa antes da evolução para estágios mais avançados de disfunção ventricular, ao contrário dos níveis de TNF-alfa.⁴² Assim, depreende-se que a síntese de IL 6 no miocárdio não é uma causa inicial de cardiomiopatia, mas sim um mediador de progressão de doença. Ainda, os níveis de IL 6 plasmáticos estiveram associados a piora da classe funcional, ao contrário dos níveis de TNF-alfa.⁴³ Na nossa casuística, os níveis de IL 6 foram influenciados pela CF, porcentual de pacientes internados, pelo BNP e pela hemoglobina.

Os níveis de PCR ultrasensível não foram diferentes entre os grupos, embora estivesse alto em ambos. O valor clínico dos níveis de PCR ultrasensível em portadores de IC ainda não está estabelecido. O PCR é uma

das principais proteínas de fase aguda. Foi demonstrado ser um fator independente de mortalidade cardiovascular na IC, principalmente nos pacientes de com IC de etiologia isquêmica⁴⁴. Embora já tenha sido encontrada correlação de seus níveis com prognóstico na IC aguda⁴⁵, o seu valor como preditor independente de prognóstico em pacientes com IC crônica é controverso. Alguns autores sugerem, em pequenas amostras, que o PCR ultrasensível pode ajudar a estratificar o risco destes pacientes⁴⁶, embora outros achados não tenham confirmado esta afirmação.³¹

Inflamação tem sido associada à ativação da coagulação na IC²⁷ e esta interação pode ter um papel importante tanto na fisiopatologia da IC quanto em implicações prognósticas, principalmente na incidência de fenômenos tromboembólicos. Especificamente na doença de Chagas, estes fenômenos parecem figurar entre as principais complicações clínicas¹¹⁻¹⁷. No presente estudo, observamos que os níveis de dímero-D, P-selectina e de fator de von Willebrand foram mais altos entre os chagásicos.

Os níveis de dímero-D encontravam-se elevados entre chagásicos na maioria dos pacientes, enquanto estiveram dentro dos valores de referência na maioria dos não chagásicos. Na literatura, foi demonstrada correlação entre níveis elevados de dímero-D em pacientes com IC e morte cardiovascular.^{31,47} Embora diversos fatores relacionados à gravidade dos pacientes (incluindo a fibrilação atrial) também tenham influenciado a diferença nos níveis de dímero-D entre os grupos, a etiologia chagásica persistiu como principal responsável por esta diferença. Este é o primeiro estudo a demonstrar que os níveis de

dímero-D estão marcadamente elevados em portadores de CMC em comparação com IC de outras etiologias, sugerindo um estado protrombótico adicional em pacientes com IC por esta etiologia em comparação com outras. Estudos prévios haviam comparado os níveis deste marcador em portadores de doença de Chagas em estágios precoces da doença e controles sadios, mostrando que tais alterações já ocorrem nas fases iniciais da doença.³² A nossa contribuição demonstra que esta alteração persiste mesmo em fases avançadas da CMC.

P-selectina é um membro da família selectina de moléculas de adesão celular as quais estão envolvidas na adesão dos leucócitos às células endoteliais, plaquetas-leucócitos, plaquetas-vênulas e entre plaquetas. É estocada nos grânulos alfa das plaquetas e nos corpos de Weibel-Palade nas células endoteliais. Esta é transportada rapidamente para a superfície celular dentro de minutos sob uma variedade de mediadores, incluindo trombina, histamina e citocinas. Não está claro se a P-selectina é um fator causal na formação / progressão de aterosclerose ou simplesmente um marcador de ativação plaquetária e dano endotelial. O seu nível pode estar aumentado em pacientes com diabetes, doença cardíaca isquêmica, tabagismo e na IC, sugerindo uma ativação plaquetária persistente.⁴⁸ No presente estudo, os níveis de P-selectina solúvel, apesar de estarem significativamente maiores entre chagásicos, mantiveram-se, na maioria dos pacientes, muito abaixo dos valores de referência em ambos os grupos. Assim, comparamos estas determinações com as de um grupo controle de 28 indivíduos saudáveis doadores de sangue

do nosso meio (dados não publicados). Os níveis de P-selectina nesta população foi significativamente mais baixo que os valores de referência do kit de P-selectina utilizado (mediana 46,5ng/mL com intervalo interquartil de 38,7 a 87,0ng/mL). Mesmo assumindo-se estes valores como de referência, os níveis de P-selectina solúvel, em ambos os grupos, mantiveram-se, na maioria dos pacientes, dentro de valores considerados normais. Estes dados não foram concordantes com pequeno estudo que havia sugerido elevação persistente dos níveis deste marcador em pacientes com IC, sugerindo ativação plaquetária persistente em comparação com controles sadios.²⁴ Parte desta discordância pode ser explicada pelo manejo farmacológico dos pacientes, uma vez que está demonstrado em estudos experimentais que o tratamento da IC com inibidores da ECA e inibidores da aldosterona implicam em redução da expressão da P-selectina superfície plaquetária.⁴⁹ Além disso, existe evidência em humanos de que o tratamento com inibidores da ECA reduzem os níveis de P-selectina solúvel na IC.⁵⁰ O uso de inibidores da ECA foi de 31,8% naquele estudo, enquanto na nossa casuística foi de 89,1% entre chagásicos e 94,6% nos não-chagásicos. A respeito do uso de inibidores da aldosterona, como aquele estudo data de 1999, ainda não estava estabelecido o uso de espironolactona para pacientes com IC, portanto nenhum dos pacientes incluídos estava sob este tratamento ao passo que, na nossa amostra, 63,0% dos chagásicos e 58,4% dos não-chagásicos usavam este fármaco. Outra classe de fármacos que podem influenciar a ativação plaquetária são os inibidores da HMG CoA-redutase, que não foram analisados no presente estudo.⁵¹ No entanto, a julgar

pela prevalência de dislipidemia entre não-chagásicos (48%), o uso desta classe farmacológica deve estar elevado neste subgrupo, o que pode ter contribuído inclusive para a diferença entre os níveis de P-selectina entre os grupos. Outra variável que influenciou a diferença entre os grupos foi o uso de AAS, na análise de co-variância.

O fator de von Willebrand é uma proteína plasmática presente na circulação ligada, através de uma ligação não covalente, ao fator VIII. É sintetizada e armazenada nas células endoteliais, porém 15-20% é sintetizada nos megacariócitos e armazenada nas plaquetas circulantes. O FvW pode ser um marcador de lesão / disfunção endotelial, podendo estar aumentado na IC. Neste estudo, os níveis de FvW estão aumentados nos chagásicos, em comparação aos não-chagásicos. Esta diferença foi mais influenciada pelos níveis de BNP do que pela própria etiologia chagásica, denotando-se sua importância em relação à gravidade da IC. Outro estudo demonstrou boa correlação entre níveis de FvW e de NT-proBNP em portadores de IC sistólica não-chagásica.⁵² A mediana do FvW entre chagásicos estava acima dos valores de referência, enquanto entre os não-chagásicos estava dentro destes valores. Estes níveis poderiam ter sido mais elevados caso os pacientes não estivessem em uso de inibidores da ECA, já que estes reduzem os níveis de FvW no plasma.⁵³ Esta é a primeira casuística acerca da relação entre CMC e sua relação com o FvW.

O fibrinogênio é uma proteína plasmática precursora da fibrina. A trombina cliva o fibrinogênio dando origem aos monômeros de fibrina, que se

agregam para formar polímeros de fibrina insolúveis. O fibrinogênio também é uma proteína de fase aguda, cuja concentração está aumentada em resposta a muitos diferentes estímulos fisiológicos, como estados inflamatórios, infecção, trauma e tabagismo. Alto nível de fibrinogênio no plasma tem sido associado a estados protrombóticos. Também tem sido correlacionado positivamente com o desenvolvimento de doença cardíaca isquêmica, AVC e mortalidade⁵³. Na nossa casuística, os níveis de fibrinogênio foram superiores no grupo não-chagásico, porém a maior parte das suas determinações encontrava-se dentro dos valores de referência em ambos os grupos. Este fato também pode ter sofrido influência do tratamento farmacológico, uma vez que o tratamento com inibidores de ECA⁵⁴ e de aldosterona⁴⁸ reduzem os níveis de fibrinogênio. Na análise de co-variância, outros fatores de gravidade influenciaram a diferença entre os grupos, mantendo-se, porém, a influência da etiologia chagásica. Esta influência pode se dever à maior prevalência de sintomas e sinais de IC à direita entre chagásicos (RHJ, ascite) que pode estar relacionada com piora da função hepática e, conseqüentemente com redução adicional dos níveis de fibrinogênio. Um dado que fala a favor desta inter-relação foi o nível comparativamente menor de atividade protrombínica entre chagásicos.

A transformação da protrombina em trombina ativa representa um episódio central na cascata de coagulação. É inibida pela antitrombina III, formando um complexo inativo que pode ser avaliado quantitativamente. Espera-se que os níveis deste complexo estejam aumentados em processos trombóticos em atividade, na coagulação vascular disseminada e em pacientes

sob alto risco trombose.⁵⁵, embora sua utilidade clínica seja questionável. Um estudo sugeriu que seus níveis pudessem estar progressivamente elevados na IC de acordo com a CF.³¹ Entretanto, estes pacientes recebiam inibidores da ECA em apenas 56,5% e inibidores da aldosterona em 24,7% dos pacientes. Mais uma vez, o tratamento farmacológico mais intensivo na nossa casuística pode ter reduzido os níveis deste complexo, a exemplo do que ocorreu em pacientes hipertensos.⁵⁶

O fator tecidual guarda boa correlação com níveis de IL 6 em modelos experimentais. Um estudo em pacientes com IC aguda mostrou que o FT pode ser preditor de pior prognóstico e seus níveis estão elevados em comparação com pacientes com IC crônica ou com controles sadios.³⁰ Em nossa casuística, em que a maioria dos pacientes encontrava-se em nível ambulatorial sob tratamento farmacológico intensivo, os níveis de fator tecidual estavam dentro dos limites da normalidade na maioria dos pacientes de ambos os grupos.

As variáveis estudadas através do tromboelastograma mostraram níveis mais elevados de MA, parâmetro G e de TG entre os não-chagásicos, embora mais de 75% dos pacientes de ambos os grupos estivesse com todos os parâmetros dentro dos limites de referência limitando, sobremaneira, a relevância clínica desta diferença. Vale ressaltar que a utilidade da tromboelastografia como marcador protrombótico em pacientes com IC que não foram ou serão submetidos a cirurgia não está estabelecida. Estudo mostrou que o estado de hipercoagulabilidade pós-operatória determinado pela tromboelastometria está associado a complicações trombóticas pós-operatórias,

incluindo o infarto do miocárdio. Outro estudo demonstrou que este método pode ser útil na predição de tromboembolismo venoso pós-operatório^{33,34}. Este é o primeiro estudo a contemplar este método como potencial marcador protrombótico em pacientes com IC numa situação não-relacionada a cirurgia.

Embora neste estudo não tenha a capacidade de estabelecer relações causais, detectamos aumento significativo na atividade inflamatória medida principalmente pelo TNF – alfa entre chagásicos em comparação com não-chagásicos. Da mesma forma, observamos maiores níveis de marcadores protrombóticos, principalmente do dímero-D entre chagásicos. Esta elevação adicional de marcadores protrombóticos entre os chagásicos pode ser interpretada como efeito do estado inflamatório adicional detectado nesta etiologia ou refletir um estado de hipercoagulabilidade independente que, *per se*, pode aumentar o risco de trombogenicidade em pacientes com CMC, em relação aos pacientes com IC de outras etiologias. Se a ativação inflamatória e protrombótica são meramente marcadores de gravidade na IC ou se desempenham algum papel deletério na sua fisiopatologia ainda não está claro.

Reconhecemos as limitações deste estudo, principalmente no concernente ao seu delineamento, por tratar-se de um estudo de corte transversal. Isto impede, além do estabelecimento de relações causais, extração de dados acerca do prognóstico destes pacientes. No momento, está em andamento um estudo de coorte a partir destes dados iniciais, com o intuito de complementar estas informações e definir o potencial papel destes marcadores como estratificadores de risco nestes pacientes. Neste contexto,

caso estas variáveis confirmem-se como marcadores prognósticos podemos estar diante de um substrato para novas investigações visando intervenções terapêuticas tanto em IC de etiologia chagásica quanto não-chagásica.

CONCLUSÕES

6 Conclusões

A atividade proinflamatória esteve aumentada nos pacientes com IC chagásica e não-chagásica. A inflamação medida pelo TNF-alfa foi independentemente maior entre chagásicos.

Observou-se maior estado protrombótico entre chagásicos medido pelo dímero-D, independentemente de outros fatores de gravidade.

ANEXOS

Anexo 1

HOSPITAL DAS CLÍNICAS
DA
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(Instruções para preenchimento no verso)

I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME DO PACIENTE :

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M? F?

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº

..... APTO:

BAIRRO: CIDADE.....

.....

CEP:..... TELEFONE: DDD (.....).....

2. RESPONSÁVEL LEGAL

.....

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)

.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE : SEXO: M ? F ?

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO:..... Nº..... APTO:.....

BAIRRO:..... CIDADE:.....

CEP:..... TELEFONE:DDD=(.....).....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA

Estudo de fatores protrombóticos e pró-inflamatórios na cardiomiopatia chagásica avançada.

PESQUISADOR: Dra. Leila Maria Magalhães Pessoa de Melo

CARGO/FUNÇÃO: .Pós-Graduanda

.. INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 95885

UNIDADE DO HCFMUSP: UNIDADE DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E TRANSPLANTE

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

SEM RISCO ?	RISCO MÍNIMO X	RISCO MÉDIO ?
RISCO BAIXO ?	RISCO MAIOR ?	

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

4. DURAÇÃO DA PESQUISA : 1 ANO

Você está recebendo este documento para ter informações sobre um estudo que está sendo realizado no nosso serviço em pacientes que têm a sua doença – a Insuficiência Cardíaca (coração fraco). Pacientes com esta doença podem ter um risco maior de ter problemas como trombose (formação de coágulo dentro do coração ou dos vasos). Podem, também, ter um estado de inflamação do corpo que, muitas vezes, não dá pra saber sem fazer exames de sangue. Existem exames que podem ajudar o médico a saber se o paciente está com alterações da coagulação sanguínea ou de inflamação do corpo. Além disso, estes exames podem, no futuro, ser úteis em tentar identificar os pacientes com maior risco de sofrer algum problema de trombose, ou mesmo quem tem maior chance de viver mais tempo.

Assim, desenvolvemos este estudo para tentar estudar estes fatores de coagulação e de inflamação dosados no sangue de pacientes com insuficiência cardíaca, em especial em pacientes que têm doença de Chagas. Esta doença parece ter um risco ainda maior do que os outros tipos de insuficiência cardíaca. Para termos maiores informações, precisamos estudar o sangue de pacientes com insuficiência cardíaca por doença de Chagas, pacientes com insuficiência cardíaca sem doença de Chagas e pessoas sem problemas de insuficiência cardíaca, para compararmos os resultados.

Se você aceitar ser incluído neste estudo, será feita avaliação clínica (história da doença e exame físico) e precisará fazer alguns exames a mais. O principal deles é feito no sangue, através de colheita igual àquela que você faz quando colhe os exames de sangue de rotina no ambulatório ou internado. Além disso, se você não tiver realizado chapa do peito, eletrocardiograma, ecocardiograma (ultrassom do coração) ou Holter de 24h (eletrocardiograma gravado durante o dia todo) nos últimos seis meses, você fará estes exames também, quando for incluído no estudo. Lembro que você não vai ter qualquer risco a mais por participar deste estudo, já que os exames que você fará são parecidos com aqueles que você já faz normalmente no ambulatório ou internado e não vão interferir em nada do seu tratamento atual. Abaixo, seguem algumas explicações dos exames que você poderá ter de fazer.

- ✓ Holter de 24h: É uma gravação de eletrocardiograma durante um dia inteiro. Você receberá um diário para anotar qualquer coisa que sinta durante o dia. Depois, faremos uma análise de como o ritmo e a frequência do seu coração se comportaram no período gravado. É importante que você faça suas atividades normalmente. Vão ser colocados eletrodos (peças de metal) grudados na pele do peito, após depilação local (se houver necessidade). Pode haver alergia no local da depilação ou coceira no local. Será realizado antes da operação, cerca de 1 mês no pós-operatório e mais ou menos 6 meses após a operação.
- ✓ Ecocardiograma - Mais um exame feito de rotina no nosso ambulatório para todos os pacientes com insuficiência cardíaca, para avaliar a força do coração, as válvulas entre outras informações. É feito com um aparelho de ultrassom com um gel. Será realizado antes da operação, cerca de 1 mês no pós-operatório e mais ou menos 6 meses após a operação.

O seu nome, suas informações pessoais ou qualquer informação do seu estado de saúde não serão divulgados sem a sua autorização de forma alguma.

Você não vai gastar mais dinheiro por participar da pesquisa, assim como você não receberá dinheiro algum por participar dela. Não está prevista indenização por eventuais danos à saúde que ocorram por causa da pesquisa.

Seu desejo em participar será voluntário e pode ser retirado a qualquer momento do estudo sem qualquer penalidade ou prejuízo do tratamento comum do ambulatório.

Assinando este consentimento, você nos dá autorização para realizar qualquer outro procedimento ou tratamento, incluindo transfusão de sangue, em situações imprevistas que possam ocorrer e/ou precisem de cuidados diferentes daqueles inicialmente propostos.

A nossa instituição tem plenas condições de tratar eventuais complicações ou imprevistos que aconteçam com você durante este estudo. Caso isto aconteça, você será tratado com prioridade de atenção por mim. No entanto,

Estou inteiramente à disposição para tirar qualquer dúvida que apareça antes durante ou depois deste estudo, sobre seus riscos, possíveis benefícios, exames ou procedimentos relacionados à pesquisa ou sobre as informações deste documento.

V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.

DR Leila Maria Magalhães Pessoa de Melo

RG: 4170913 SSP –PE CPF: 019.013.314-74

UNIDADE DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA E TRANSPLANTE

INSTITUTO DO CORAÇÃO 5º ANDAR/ BLOCO I

Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, Nº 44, Cerqueira César, São Paulo-SP. CEP: 05403-000

TELEFONE 11 3069-5307 / FAX: 11 3069-5502

CELULAR 11 8579 8142 TELEFONE RESIDENCIAL: 11 3062 8670

VII - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa São Paulo, de de 200 .

assinatura do sujeito da pesquisa ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome Legível)

- () Cardiomiopatia congênita
- () Concomitância de cardiomiopatia chagásica crônica e isquêmica
- () Insuficiência renal crônica dialítica
- () Anticoagulação plena

Resp. Dra. Leila Pessoa de Melo.

Cel: 8579 8142

ANEXO 2

Etiqueta									
RG INCOR									
								-	

Trombose e IC

1ª consulta

DATA DA INCLUSÃO NO ESTUDO : ____/____/____

Responsável: Dra. Leila Pessoa de Melo / Tel: 11- 8579-8142

1. Identificação:

NOME: _____

TELEFONE: _____

ENDEREÇO: _____

DATA DE NASCIMENTO: ____/____/____

IDADE: ____ anos

Tempo de internação: _____

SEXO: õ1. M

õ2. F

2. Parâmetros Clínicos:

ETIOLOGIA:

1. Chagas	2. HAS	3. Isquêmica	4. Periparto	5. Alcoólica	6. Idiopática	7. Valvar	8. Outros
-----------	--------	--------------	--------------	--------------	---------------	-----------	-----------

TEMPO DE INÍCIO DOS SINTOMAS EM MESES: _____ meses

INTERNAÇÕES PRÉVIAS (últimos 2 anos)?

õ1. SIM Número: _____ õ0. NÃO

HAS	1.Sim	0.Não			
DM	1.Sim	0.Não			
DLP	1.Sim	0.Não			
Tireoidopatia	1.Sim	0.Não			
DPOC	1.leve	0.Não	2.moderado	3.grave	
FA	1.Sim	0.Não			
TEP/TVP	1.Sim	0.Não			
Trombo intra- cavitário	1.Sim	0.Não			
AVC/AIT prévios	1.Sim	0.Não			
Embolia periférica	1.Sim	0.Não			
I. renal crônica	1.Sim	0.Não			
Tabagismo	1.Sim	0.Não	maços/dia	_____anos (tempo)	_____anos (tempo de abstenção)
Etilismo	1.Sim	0.Não	gramas/sem	_____anos (tempo)	_____anos (tempo de abstenção)

Medicamentos

Medicamentos	Dose
Beta-Bloqueador	0.Não 1.máxima 2.intermediária
IECA/ BRA1	0.Não 1.máxima 2.intermediária
Espironolactona	0.Não 1.Sim
Digital	0.Não 1.Sim
AAS	0.Não 1.Sim
Clopidogrel	0.Não 1.Sim
Diurético de alça	0.Não 1.Sim

3.Exame físico:

I II III IV	Edema MMIIIs	0.Não 1.discr. 2.Mod. 3.Acent.
bpm	Peso	Kg
mmHg	Altura	metros
mmHg	IMC	
1.Sim 0.Não	Hepatom. RCD	cm
1.Sim 0.Não	Ascite	1.Sim 0.Não
1.Sim 0.Não		

4. ELETROCARDIOGRAMA:

Ritmo:	1. Sinusal 2.FA 3.outro
BRE	0.Não 1.Sim
BRD	0.Não 1.Sim
SVE	0.Não 1.Sim
QTc	
ESV	0.Não 1.Sim
FC	

5. ECOCARDIOGRAMA:

Último Ecocardiograma

Data	/ /
DdAE (mm)	
DdVE (mm)	
Vol Diast VE	
FEVE (%)	
Índice massa VE	
Disfunção Diastólica VE	0.Não 1.leve 2.moderada 3.grave
Disfunção VD	0.Não 1.leve 2.moderada 3.grave
Insuf Mit	0.Não 1.leve 2.moderada 3.grave
Pressão Sistólica VD	0.Não medida 1.medida _____mmHg
Aneurisma VE	0 Não 1. Sim
Trombose cavitária	0 Não 1. Sim

6. Perfil Pró-trombótico

MARCADOR	RESULTADO	RESULTADO
Fator de Von-willebrand		
P-selectina plasmática		
D-dímero		
Fibrinogênio		
Trombina-antitrombina		
Fator tecidual		

7. Laboratório / Radiologia

Creatinina	
Na	
BNP	
Albumina	
Índice cardio-torácico (%)	
Hb (g/dL)	
Leucócitos /mm ³	
Plaquetas / mm ³	
Glicemia de jejum (mg/dl)	

8. Inflamação:

PCR ultra-sensível	
TNF-alfa	
IL-6	

9. Tromboelastograma

Tempo R	
K	
Ângulo alfa Máxima amplitude	
G	
CI	
Ly30	
MRTG TMRTG	
TG	

REFERÊNCIAS

7 Referência

¹ American Heart Association. *Heart disease and stroke statistics Update*. Dallas, Tex: American Heart Association; 2005.

² *Datasus*. [citado 01 de maio 2009]. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br>.

³ Grupo de Estudos de Insuficiência Cardíaca – GEIC. Sociedade brasileira de cardiologia. revisão das II diretrizes da sociedade brasileira de cardiologia para o diagnóstico e tratamento da insuficiência. *Arq Bras Cardiol*. 2002;79:1-30.

⁴ Mann DL, Bristow MR. Mechanisms and models in heart failure: the biomechanical model and beyond. *Circulation*. 2005;111(21):2837-49.

⁵ Bocchi AE, Vilas-Boas F, Perrone S, Caamaño AG, Clausell N, Moreira Mda C, Thierer J, Grancelli HO, Serrano Junior CV, Albuquerque D, Almeida D, Bacal F, Moreira LF, Mendonza A, Magaña A, Tejeda A, Chafes D, Gomez E, Bogantes E, Azeka E, Mesquita ET, Reis FJ, Mora H, Vilacorta H, Sanches J, Souza Neto D, Vuksovic JL, Moreno JP, Aspe y Rosas J, Moura LZ, Campos LA, Rohde LE, Javier MP, Garrido Garduño M, Tavares M, Castro Gálvez P, Spinoza R, Castro de Miranda R, Rocha RM, Paganini R, Castano Guerra R, Rassi S, Lagudis S, Bordignon S, Navarette S, Fernandes W, Pereira Barretto AC, Issa V, Guimarães JI; Grupo de Estudos de Insuficiência Cardíaca; Brazilian Society of Cardiology; Argentine Federation of Cardiology; Argentine Society of Cardiology; Chilean Society of Cardiology; Costa Rican Association of Cardiology; Colombian Society of Cardiology; Equatorian Society of Cardiology; Guatemalan Association of Cardiology; Peruvian Society of Cardiology; Uruguayan Society of Cardiology; Venezuelan Society of Cardiology; Mexican

Society of Cardiology; Mexican Society of Heart Failure; Interamerican Society of Heart Failure. I Latin American Guidelines for the Assessment and Management of Decompensated Heart Failure. *Arq Bras Cardiol.* 2005;85 Suppl 3:49-94; 1-48.

⁶ Stewart S, Jenkins A, Buchan S, McGuire A, Capewell S, McMurray JJ. The current cost of heart failure to the national health service in the UK. *Eur J Heart Fail.* 2002;4(3):361–371.

⁷ Control of Chagas`disease: second report of the WHO Expert Committee. Technical report series 905. Geneva: World Health Organization; 2002.

⁸ Rassi A Jr, Rassi SG, Rassi A. Sudden death in Chagas`disease. *Arq Bras Cardiol.* 2001;76:75-96.

⁹ Cunha-Neto E, Kalil J. Autoimmunity in Chagas' disease. *Sao Paulo Méd J.* 1995;113(2):757-66.

¹⁰ Iwai LK, Juliano MA, Juliano L, Kalil J, Cunha-Neto E. T-cell molecular mimicry in Chagas disease: identification and partial structural analysis of multiple cross-reactive epitopes between *Trypanosoma cruzi* B13 and cardiac myosin heavy chain. *J Autoimmun.* 2005;24(2):111-7.

¹¹ Carod-Artal FJ. Stroke: a neglected complication of American trypanosomiasis (Chagas' disease). *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 2007;101(11):1075-80.

¹² Carod-Artal FJ, Vargas AP, Horan TA, Nunes LG. Chagasic cardiomyopathy is independently associated with ischemic stroke in Chagas disease. *Stroke.* 2005;36(5):965-70.

¹³ Mohallen SV, Ramos SG, dos Reis MA, Seabra DD, Teixeira V de P. Prevalence of renal infarcts in autopsies of chronic Chagas disease patients. *Rev Soc Bras Med Trop.* 1996;29(6):571-4.

- ¹⁴ Ramos SG, Matturri L, Rossi L, Rossi MA. Sudden cardiac death in the indeterminate phase of Chagas' disease associated with acute infarction of the right carotid body. *Int J Cardiol.* 1995;52(3):265-8.
- ¹⁵ De Moraes CF, Higuchi ML, Lage S. Chagas' heart disease and myocardial infarct. Incidence and report of four necropsy cases. *Ann Trop Med Parasitol.* 1989;83(3):207-14.
- ¹⁶ Arteaga-Fernández E, Barretto AC, Ianni BM, Mady C, Lopes EA, Vianna Cde B, Bellotti G, Pileggi F. Cardiac thrombosis and embolism in patients having died of chronic Chagas cardiopathy. *Arq Bras Cardiol.* 1989;52(4):189-92.
- ¹⁷ Samuel J, Oliveira M, Correa De Araujo RR, Navarro MA, Muccillo G. Cardiac thrombosis and thromboembolism in chronic Chagas' heart disease. *Am J Cardiol.* 1983;52(1):147-51.
- ¹⁸ Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Jessup M, Konstam MA, Mancini DM, Michl K, Oates JA, Rahko PS, Silver MA, Stevenson LW, Yancy CW, Antman EM, Smith SC Jr, Adams CD, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Jacobs AK, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B; American College of Cardiology; American Heart Association Task Force on Practice Guidelines; American College of Chest Physicians; International Society for Heart and Lung Transplantation; Heart Rhythm Society ACC/AHA 2005 Guideline Update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult. *Circulation.* 2005;112(12):154-235.
- ¹⁹ Rassi A Jr, Rassi A, Little WC, Xavier SS, Rassi SG, Rassi AG, Rassi GG, Hasslocher-Moreno A, Sousa AS, Scanavacca MI. Development and Validation of a Risk Score for Predicting Death in Chagas' Heart Disease. *N Engl J Med.* 2006;355(8):799-808.
- ²⁰ Murray DR, Freeman GL. Proinflammatory cytokines: predictors of a failing heart? *Circulation.* 2003;107(11):1460-2.

- ²¹ Rodriguez-Reyna TS, Arrieta O, Castillo-Martinez L, Orea-Tejeda A, Guevara P, Rebollar V, Granados J. Tumour Necrosis Factor alpha and Troponin T as predictors of poor prognosis in patients with stable heart failure. *Clin Invest Med*. 2005;28(1):23-9.
- ²² Mocelin AO, Issa VS, Bacal F, Guimarães GV, Cunha E, Bocchi EA. The influence of aetiology on inflammatory and neurohumoral activation in patients with severe heart failure: a prospective study comparing Chagas' heart disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2005;7(5):869-73.
- ²³ Pignatelli P, De Biase L, Lenti L, Tocci G, Brunelli A, Cangemi R, Riondino S, Grego S, Volpe M, Violi F. Tumor necrosis factor-alpha as trigger of platelet activation in patients with heart failure. *Blood*. 2005;106(6):1992-4.
- ²⁴ O'Connor CM, Gurbel PA, Serebruany VL. Usefulness of Soluble and Surface-Bound P-Selectin in Detecting Heightened Platelet Activity in Patients With Congestive Heart Failure. *Am J Cardiol*. 1999;83(9):1345-49.
- ²⁵ Chung I, Choudhury A, Lip G Y. Platelet activation in acute, decompensated congestive heart failure. *Thromb Res*. 2007;120(5):709-13.
- ²⁶ Laucella S, De Titto EH, Segura EL, Orn A, Rottenberg ME. Soluble cell adhesion molecules in human Chagas' disease: association with disease severity and stage of infection. *Am J Trop Med Hyg*. 1996;55(6):629-34.
- ²⁷ Levi M, van der Poll T, Buller HR. Bidirectional relation between inflammation and coagulation. *Circulation*. 2004;109(22):2698-704.
- ²⁸ Sirajuddin RA, Miller AB, Geraci SA. Anticoagulation in patients with dilated cardiomyopathy and sinus rhythm: a critical literature review. *J Card Fail*. 2002;8(1):48-53.

- ²⁹ Chin BS, Blann AD, Gibbs CR, Chung NA, Conway DG, Lip GY. Prognostic value of interleukin-6, plasma viscosity, fibrinogen, von Willebrand factor, tissue factor and vascular endothelial growth factor levels in congestive heart failure. *Eur J Clin Invest.* 2003;33(11):941-8.
- ³⁰ Chin BS, Conway DS, Chung NA, Blann AD, Gibbs CR, Lip GY. Interleukin-6, tissue factor and von Willebrand factor in acute decompensated heart failure: relationship to treatment and prognosis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2003;14(6):515-21.
- ³¹ Marcucci R, Gori AM, Giannotti F, Baldi M, Verdiani V, Del Pace S, Nozzoli C, Abbate R. Markers of hypercoagulability and inflammation predict mortality in patients with heart failure. *J Thromb Haemost.* 2006;4(5):1017-22.
- ³² Herrera RN, Díaz E, Pérez R, Chaín S, Sant-Yacumo R, Rodríguez E, Bianchi J, Coviello A, Miotti J, Flores I, de la Serna F, Muntaner J, Berman S, Luciardi H. The prothrombotic state in early stages of chronic chagas' disease. *Rev Esp Cardiol.* 2003;56(4):377-82.
- ³³ Hron G, Kollars M, Binder BR, Eichinger S, Kyrle PA. Identification of patients at low risk for recurrent venous thromboembolism by measuring thrombin generation. *JAMA.* 2006;296(4):397-402.
- ³⁴ McCrath DJ, Cerboni E, Frumento RJ, Hirsh AL, Bennett-Guerrero E. Thromboelastography maximum amplitude predicts postoperative thrombotic complications including myocardial infarction. *Anesth Analg.* 2005;100(6):1576-83.
- ³⁵ Luddington RJ. Thromboelastography / thromboelastometry. *Clin Lab Haematol.* 2005;27(2):81-90.
- ³⁶ Dutra OP, Besser HW, Tridapalli H, Leiria TL, Afiune Neto A, Simão AF, Sbissa AS, Casagrande E, Lima GG, Castro I, Gus I, Nesralla IA, Nonohay NC, Daubt N, Irigoyen MC, Kalil RA; Sociedade Brasileira de Cardiologia. II diretriz brasileira de cardiopatia grave. *Arq Bras Cardiol.* 2006;87(2):223-32.

- ³⁷ Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB; American Heart Association; Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; Council on Epidemiology and Prevention. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association Scientific Statement from the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 2006;113(14):1807-16.
- ³⁸ Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, Dubourg O, Kühl U, Maisch B, McKenna WJ, Monserrat L, Pankuweit S, Rapezzi C, Seferovic P, Tavazzi L, Keren A. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2008;29(2):270-6
- ³⁹ Rivard GE, Brummel-Ziedins KE, Mann KG, Fan L, Hofer A, Cohen E. Evaluation of the profile of thrombin generation during the process of whole blood clotting as assessed by thrombelastography. *J Thromb Haemost*. 2005;3(9):2039-43.
- ⁴⁰ Danik JS, Ridker PM. Genetic determinants of C-reactive protein. *Curr Atheroscler Rep*. 2007;9(3):195-203.
- ⁴¹ Finkel MS, Oddis CV, Jacob TD, Watkins SC, Hattler BG, Simmons RL. Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science*. 1992;257:387-9.
- ⁴² Kubota T, Miyagishima M, Alvarez RJ, Kormos R, Rosenblum WD, Demetris AJ, Semigran MJ, Dec GW, Holubkov R, McTiernan CF, Mann DL, Feldman AM, McNamara DM. Expression of proinflammatory cytokines in the failing human heart: comparison of recent-onset and end-stage congestive heart failure. *J Heart Lung Transplant*. 2000;19(9):819-24.
- ⁴³ Koller-Strametz J, Pacher R, Frey B, Kos T, Woloszczuk W, Stanek B. Circulating tumor necrosis factor-alpha levels in chronic heart failure: relation to

its soluble receptor II, interleukin-6, and neurohumoral variables. *J Heart Lung Transplant.* 1998;17(4):356-62.

⁴⁴ Lamblin N, Mouquet F, Hennache B, Dagorn J, Susen S, Bauters C, de Groot P. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for risk stratification in patients with stable congestive heart failure. *Eur Heart J.* 2005;26(21):2245-50.

⁴⁵ Mueller C, Laule-Kilian K, Christ A, Brunner-La Rocca HP, Perruchoud AP. Inflammation and long-term mortality in acute congestive heart failure. *Am Heart J.* 2006;151(4):845-50.

⁴⁶ Yin WH, Chen JW, Jen HL, Chiang MC, Huang WP, Feng AN, Young MS, Lin SJ. Independent prognostic value of elevated high-sensitivity C-reactive protein in chronic heart failure. *Am Heart J.* 2004;147(5):931-8.

⁴⁷ Alehagen U, Dahlström U, Lindahl TL. Elevated D-dimer level is an independent risk factor for cardiovascular death in out-patients with symptoms compatible with heart failure. *Thromb Haemost.* 2004;92(6):1250-8.

⁴⁸ Carter AM, Anagnostopoulou K, Mansfield MW, Grant PJ. Soluble P-selectin levels, P-selectin polymorphisms and cardiovascular disease. *J Thromb Haemost.* 2003;1(8):1718-23.

⁴⁹ Schäfer A, Fraccarollo D, Hildemann S, Christ M, Eigenthaler M, Kobsar A, Walter U, Bauersachs J. Inhibition of platelet activation in congestive heart failure by aldosterone receptor antagonism and ACE inhibition. *Thromb Haemost.* 2003;89(6):1024-30.

⁵⁰ Jafri SM, Ozawa T, Mammen E, Levine TB, Johnson C, Goldstein S. Platelet function, thrombin and fibrinolytic activity in patients with heart failure. *Eur Heart J.* 1993 Feb;14(2):205-12.

⁵¹ Schäfer A, Fraccarollo D, Eigenthaler M, Tas P, Firnschild A, Frantz S, Ertl G, Bauersachs J. Rosuvastatin reduces platelet activation in heart failure: role of NO bioavailability. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25(5):1071-7.

⁵² Freestone B, Gustafsson F, Chong AY, Corell P, Kistorp C, Hildebrandt P, Lip GY. Influence of atrial fibrillation on plasma von willebrand factor, soluble E selectin, and N-terminal pro B-type natriuretic peptide levels in systolic heart failure. *Chest*. 2008;133(5):1203-8

⁵³ Fibrinogen Studies Collaboration, Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, Kostis JB, Wilson AC, Folsom AR, Wu K, Benderly M, Goldbourt U, Willeit J, Kiechl S, Yarnell JW, Sweetnam PM, Elwood PC, Cushman M, Psaty BM, Tracy RP, Tybjaerg-Hansen A, Haverkate F, de Maat MP, Fowkes FG, Lee AJ, Smith FB, Salomaa V, Harald K, Rasi R, Vahtera E, Jousilahti P, Pekkanen J, D'Agostino R, Kannel WB, Wilson PW, Tofler G, Arocha-Piñango CL, Rodriguez-Larralde A, Nagy E, Mijares M, Espinosa R, Rodriguez-Roa E, Ryder E, Diez-Ewald MP, Campos G, Fernandez V, Torres E, Marchioli R, Valagussa F, Rosengren A, Wilhelmsen L, Lappas G, Eriksson H, Cremer P, Nagel D, Curb JD, Rodriguez B, Yano K, Salonen JT, Nyyssönen K, Tuomainen TP, Hedblad B, Lind P, Loewel H, Koenig W, Meade TW, Cooper JA, De Stavola B, Knottenbelt C, Miller GJ, Cooper JA, Bauer KA, Rosenberg RD, Sato S, Kitamura A, Naito Y, Palosuo T, Ducimetiere P, Amouyel P, Arveiler D, Evans AE, Ferrieres J, Juhan-Vague I, Bingham A, Schulte H, Assmann G, Cantin B, Lamarche B, Després JP, Dagenais GR, Tunstall-Pedoe H, Woodward M, Ben-Shlomo Y, Davey Smith G, Palmieri V, Yeh JL, Rudnicka A, Ridker P, Rodeghiero F, Tusetto A, Shepherd J, Ford I, Robertson M, Brunner E, Shipley M, Feskens EJ, Kromhout D, Dickinson A, Ireland B, Juzwishin K, Kaptoge S, Lewington S, Memon A, Sarwar N, Walker M, Wheeler J, White I, Wood A. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA*. 2005;294(14):1799-809.

⁵⁴ Gibbs CR, Blann AD, Watson RD, Lip GY. Abnormalities of hemorheological, endothelial, and platelet function in patients with chronic heart failure in sinus rhythm: effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor and beta-blocker therapy. *Circulation*. 2001;103(13):1746-51.

⁵⁵ Hoek JA, Nurmohamed MT, ten Cate JW, Büller HR, Knipscheer HC, Hamelynck KJ, Marti RK, Sturk A. Thrombin-antithrombin III complexes in the prediction of deep vein thrombosis following total hip replacement. *Thromb Haemost*. 1989;62(4):1050-2.

⁵⁶ Ekholm M, Wallén NH, Johnsson H, Eliasson K, Kahan T. Long-term angiotensin-converting enzyme inhibition with ramipril reduces thrombin generation in human hypertension. *Clin Sci (Lond)*. 2002;103(2):151-5.