

CONCEIÇÃO APARECIDA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA
PROTEÍNA C- REATIVA NA FORMA CARDÍACA
DA DOENÇA DE CHAGAS**

CAMPINAS

Unicamp

2009

CONCEIÇÃO APARECIDA DA SILVA

**AVALIAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DA
PROTEÍNA C- REATIVA NA FORMA CARDÍACA
DA DOENÇA DE CHAGAS**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da
Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual
de Campinas para obtenção do título de Mestre em
Clínica Médica, área de concentração em Ciências Básicas.

ORIENTADOR: Prof^o Dr.: EROS ANTÔNIO DE ALMEIDA

CO-ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a.: MARIA ELENA GUARIENTO

CAMPINAS

Unicamp

2009

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Si38a Silva, Conceição Aparecida da
Avaliação da concentração sérica da proteína c- reativa na forma
cardíaca da doença de chagas / Conceição Aparecida da Silva.
Campinas, SP : [s.n.], 2009.

Orientadores : Eros Antônio de Almeida, Maria Elena Guariento
Dissertação(Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

1. Cardiopatias. 2. Chagas, Doença de. 3. Proteína C-. I.
Almeida, Eros Antônio de. II. Guariento, Maria Elena. III.
Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas.
IV. Título.

**Título em inglês : Serum C-reactive protein levels in cardiac form of
Chagas' disease**

Keywords: • Cardiopathy
• Chagas' disease
• C-reactive protein

Titulação: Mestre em Clínica Médica
Área de concentração: Ciências Básicas

Banca examinadora:

Prof. Dr. Eros Antônio de Almeida
Prof. Dr. Maria Aparecida Barone Teixeira
Profa. Dra. Sandra Cecília Botelho Costa

Data da defesa: 27-02-2009

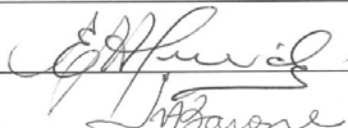
Banca examinadora da Dissertação de Mestrado

Conceição Aparecida da Silva

Orientador: Prof. Dr. Eros Antonio De Almeida

Membros:

1. Prof. Dr. Eros Antonio De Almeida



2. Profª. Drª. Maria Aparecida Barone Teixeira



3. Profª. Drª. Sandra Cecilia Botelho Costa



Curso de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 27/02/2009

DEDICATÓRIA

Dedico toda a minha tese ao meu esposo Marco, e aos meus filhos: Marcos César, Fernando Henrique e Carlos Eduardo que são a razão do meu viver.

Agradeço-lhes, pois vocês fizeram renascer a minha fé, reacenderam minha esperança e me fizeram vencer todos os obstáculos, mantendo a energia e a coragem, nos momentos de desalento e cansaço durante a realização deste trabalho. Desculpem pelas ausências, porque esta obra é nossa.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS pela sua presença em minha vida.

*“Nos momentos em que me senti fraca foram os
momentos em que estive forte.”*

Ao meu orientador, Professor Doutor Eros Antônio de Almeida, pelo grande aprendizado, disponibilidade sempre demonstrada, habilidade e conhecimentos com que conduziu esta pesquisa. Sem a sua participação, certamente esta caminhada seria muito mais difícil.

À minha co-orientadora, Professora Doutora Maria Elena Guariento, sempre presente com palavras de estímulo e carinho. Seu incentivo, apoio, observações e realizações muito enriqueceram este trabalho e o meu conhecimento, muito obrigado pela confiança que depositou em minha pessoa.

À Professora Dra. Elza Ana Olga Muscelli Berardi, que sempre me deu todo o apoio e confiança quando trabalhávamos juntas. O seu exemplo permanece em meu coração.

À Professora Dra. Sarah Monte Alegre, muito obrigado pelo carinho, amizade e respeito, o meu sincero e eterno reconhecimento dado à oportunidade para que eu pudesse concluir o mestrado.

À Professora Dra. Regina Maria Innocencio Ruscalleda pelas palavras de conforto, pelo incentivo e apoio em momentos das dificuldades.

À Professora Dra. Nelci Fenalti Hoehr, obrigada pela gratidão e pelas palavras de carinho e incentivo no decorrer deste estudo.

Aos médicos da disciplina de Semiologia Médica : Profº. Dr. Milton Lopes de Souza, Profº. Dr. Sijisfredo Brenelli, Profª. Dra. Sandra Cecília Botelho Costa, Profº. Dr. Jamiro da Silva Wanderley, Profº. Dr. Avelino Bastos, Profª. Dra. Laura Sterian Ward, Profº. Dr. José Mário Abdalla Saad, Profº. Dr. André Fattori, Profº. Dr. José Antônio Rocha Gontijo agradeço pela compreensão e ótimo convívio durante todo esse tempo em que trabalhamos juntos.

À amiga Ester Maria Silvino e Beatriz da Silva obrigado pelo o apoio e dedicação a todos nós no laboratório da Unidade Metabólica

Ao grupo de pesquisa que me ajudou na busca dos dados e informações, agradeço a amizade, o carinho e o apoio: Aglécio, Daniela, Camila, Roseneide, Brenno, Ernesta, Yaeko, Luiz, Lauruone.

Aos meus familiares (sogra, cunhados, cunhadas, irmãos e sobrinhos) que são presentes em todos os instantes de minha vida.

Aos pacientes que permitiram as coletas de sangue para desenvolver este estudo, pelo entendimento, solidariedade e permissão. Sem eles nada teria começado.

Aos laboratórios do LPC/HC (Bioquímica, Imunologia e Fisiologia) a todos os funcionários o meu muito obrigado pela colaboração nos momentos da realização desta tese de mestrado.

Aos funcionários do Departamento da FCM Audiovisual que sempre estiveram dispostos em ajudar quando foram solicitados, o meu muito obrigado pelo apoio didático.

À Cristiane, secretária da pós-graduação, pela dedicação e carinho, pelos esclarecimentos e paciência.

Ao Profº. Dr. Lício Augusto Veloso pela sua dedicação na colaboração e apoio financeiro para participação em congressos, e todos os funcionários da PG/FCM/UNICAMP.

Aos funcionários(as) do Departamento de Clínica Médica/FCM, pelo carinho e colaboração que recebi quando precisei dos seus apoios. São eles: Ademir, Sandra de Sá, Anastácia, Hélio, Eduardo, Leonilda, Ronaldo.

Às minhas amigas Irene e Rose, o meu muito obrigado por tudo que foi proporcionado por vocês durante toda a trajetória de minha vida, seja acadêmica ou como funcionária pois, sempre pude contar com os seus apoios.

Aos funcionários Noberval, Laudalene *in memoriam* e Neusa da Enfermaria Geral de Adulto (EGA), obrigado por tudo que vocês fizeram em apoiar e colaborar durante toda a trajetória deste estudo.

À Agência de Formação Profissional da UNICAMP (AFPU) obrigado pelo apoio financeiro. Agradecimentos especiais ao Pró-reitor de Desenvolvimento Universitário Dr. Paulo Eduardo Moreira Rodrigues da Silva, coordenador da AFPU.

Ao Grupo Gestor e Benefícios Sociais (GGBS) gostaria de agradecer pelo apoio financeiro durante toda a trajetória deste estudo.

*“Se não houver frutos,
Valeu a beleza das flores.
Se não houver flores,
Valeu a sombra das folhas.
Se não houver folhas,
Valeu a intenção da semente!”
(Henfil).”*

A doença de Chagas, causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*), ainda continua a ser um grande problema de saúde pública nos países em desenvolvimento da América Latina. Dos pacientes infectados de 20-30% apresentam cardiopatia ou mega síndromes. A Organização Mundial de Saúde indica uma prevalência de 16 milhões de pessoas infectadas pelo parasito *T. cruzi* na América e mais de 40 milhões de pessoas expostas ao risco de contrair a doença. No Brasil, as estimativas atuais sugerem a existência de 2 a 3 milhões de infectados. Este estudo teve como objetivo estabelecer a relação entre a forma clínica cardíaca e a média da concentração sérica dos níveis de proteína C-reativa como um possível indicador de inflamação e progressão da doença de Chagas. Analisados em soros e compostos por 136 indivíduos avaliados pelo Grupo de Estudo em doença de Chagas (GEDoCh) inicialmente divididos em cinco grupos pré-estabelecido entre as formas clínicas da doença de Chagas. A PCR foi quantificada pelo método de imunonefelometria, utilizando kit altamente sensível, sendo usado como estatística os métodos Mann-Whitney para comparação das variáveis entre grupos e o teste Kruskal-Wallis. Para análise numérica foi calculado correlação de Spearman. Os resultados mostram que o grupo de cardiopatia não chagásica e o grupo chagásico com cardiopatia grave tiveram níveis de PCR mais elevados que os demais significativamente. Concluiu-se que a PCR pode ser considerada como um marcador da evolução da doença de Chagas para a forma crônica cardíaca.

Chagas disease, caused by protozoan *Trypanosoma cruzi* (*T.cruzi*), still remains a major public health problem in developing countries of Latin America. Only 20-30 % of the infected patients have heart disease or megas syndrome. The World Health Organization indicates a prevalence of 16 million people infected by the parasite *T. cruzi* in America and more than 40 million people at risk of contracting the disease. In Brazil, current estimates suggest the existence of 2 to 3 million of infected people. This study aimed to establish the relationship between the clinical cardiac form and average concentration of serum levels of C-reactive protein as a possible indicator of inflammation and progression of Chagas disease. And compounds analyzed in serum by 136 individuals assessed by the Study Group on Chagas disease (GEDoCh) initially divided into five pre-established groups between the clinical forms of Chagas disease. The CRP was measured by the method immunonefelometria, using highly sensitive kit was used as statistical methods Mann-Whitney for comparison of variables between groups and Kruskal-Wallis test. For numerical analysis was calculated from was calculated for numerical analysis the correlation of Spearman. The results showed that the non- chagasic cardiopathy group and chagasic severe cardiopathy group had significantly higher levels of CRP than the other groups. Concluded that CRP can be considered as a marker of the evolution of Chagas disease to the chronic cardiac form.

LISTA ABREVIATURAS

AFPU	Agência de Formação Profissional da Unicamp
ANOVA	Análise de Variação
A-V	Atrioventricular
BAV	Bloqueio Atrioventricular
BRD	Bloqueio de Ramo Direito
BRD+ HBAE	Bloqueio do Ramo Direito + Bloqueio Antero Superior Esquerdo
CCC	Cardiopatía chagásica crônica
CRP	Proteína C reativa
DCH	Doença de Chagas Humana
DL	Decilitro
EGA	Enfermaria Geral de Adultos
ESV	Extrassístole Supra Ventricular
EV	Extrassístole Ventricular
Fem	Feminino
GEDoCh	Grupo de Estudos em doença de Chagas
GGBS	Grupo de Gestor de Benefício Social
HBAE	Bloqueio Divisional Antero Superior Esquerdo
HC	Hospital de Clínicas
IL-6	Interleucina 6
Masc	Masculino
ML	Milímetro
OMS	Organização Mundial de Saúde
<i>T. cruzi</i>	<i>Trypanossoma cruzi</i>
TNF α	Fator de Necrose Tumoral alfa
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

LISTA DE TABELAS

	PÁG.
Tabela 1- Descrição dos grupos em relação às formas clínicas da doença de Chagas (sexo e idade).....	35
Tabela 2- Análise da Proteína C- Reativa entre gêneros e as diferentes formas clínicas da doença de Chagas.....	37
Tabela 3- Comparação das faixas etárias entre gêneros.....	38
Tabela 4- Comparação dos números de indivíduos nas faixas etárias nos diferentes grupos.....	38
Tabela 5- Comparação das variáveis entre faixas etárias dos cinco grupos nas formas clínicas da doença de Chagas para os indivíduos menores de 40 anos de idade.....	39
Tabela 6- Comparação das variáveis entre faixas etárias dos cinco grupos nas formas clínicas da doença de Chagas para indivíduos maiores ou iguais a 40 anos de idade.....	39
Tabela 7- Comparação entre os cinco grupos e o sexo masculino para determinação da Proteína C- Reativa.....	40
Tabela 8- Comparação entre os cinco grupos e o sexo feminino para determinação da Proteína C- Reativa.....	40
Tabela 9- Comparação das variáveis para o sexo masculino entre os cinco grupos, em relação à idade.....	41
Tabela 10- Comparação das variáveis para o sexo feminino entre os cinco grupos, em relação à idade.....	41

LISTA DE FIGURAS

	PÁG.
Figura 1- Exemplar adulto de <i>Triatoma infestan</i>	19
Figura 2- Eestrutura da Proteína C- Reativa e seu ligante de membrana celular.....	26
Figura 3- Comparação da idade entre gêneros dos pacientes nos diferentes grupos.....	36
Figura 4- Proteína C- Reativa entre grupos: masculino, feminino e o grupo total.....	37
Figura 5- Resultado de correlação linear entre Proteína C- Reativa e idade.....	42

	PÁG.
RESUMO.....	<i>x</i>
ABSTRACT.....	<i>xi</i>
1- INTRODUÇÃO.....	17
1.1- Doença de Chagas.....	18
1.2- Agente etiológico.....	19
1.3- Transmissão da doença.....	20
1.4- Fases da Doença de Chagas Humana.....	21
1.4.1- Fase aguda.....	21
1.4.2- Fase crônica.....	21
1.5- Formas crônica da Doença de Chagas Humana.....	22
1.5.1- Forma indeterminada.....	22
1.5.2- Forma cardíaca.....	22
1.5.3- Forma digestiva.....	23
1.6- Patogênese da fase crônica da Doença de Chagas Humana.....	23
1.7- Proteína C Reativa.....	24
2- OBJETIVOS.....	27
2.1- Objetivo geral.....	28
2.2- Objetivos específicos.....	28
3- METODOLOGIA E CASUÍSTICA.....	29
3.1- Tipo de população e local de estudo.....	30
3.2- Grupo de estudo.....	30
3.3- Critérios de inclusão para os grupos de estudos.....	30
3.3.1- Grupo controle (CT).....	30

3.3.2- Grupo chagásico de forma indeterminada. (IND).....	30
3.3.3- Grupo chagásico com cardiopatia de grau leve (CL).....	31
3.3.4- Grupo chagásico com cardiopatia grave (CG).....	31
3.3.5- Grupo de cardiopatia não chagásica (CSC).....	31
3.3.6- Critério de exclusão.....	31
3.3.7- Método de avaliação de proteína C- Reativa.....	32
3.3.8- Análise estatística.....	32
4- RESULTADOS.....	34
4.1- Características gerais dos indivíduos estudados.....	35
4.2- Dados relacionados idade e gênero na forma clínica da Doença de Chagas.....	35
4.3- Proteína C- Reativa.....	36
4.4- Comparação das faixas etárias entre gêneros.....	38
4.5- Análise da proteína C-Reativa entre gêneros e as diversas formas clínica da Doença de Chagas.....	39
4.6- Análise da idade entre os indivíduos masculino e feminino nos diferentes grupos.....	40
5- DISCUSSÃO.....	43
6- CONCLUSÃO.....	51
7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	53
8- ANEXOS.....	63
Anexo 1- Termo Consentimento Esclarecido.....	64
Anexo 2- Artigo Submetido à Publicação.....	67

1- INTRODUÇÃO

1.1- Doença de Chagas

A doença de Chagas humana (DCH) ou tripanossomíase americana é uma doença causada pelo *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), um protozoário pertencente à família *Trypanosomatidae*. O *T. cruzi* tem como hospedeiros invertebrados os insetos da ordem Hemiptera e como hospedeiros vertebrados os mamíferos e induz a um quadro clínico com características e conseqüências variadas. Descoberta por Carlos Chagas em 1909, a doença é endêmica em muitas regiões, como conseqüência das precárias condições habitacionais e sócio-culturais em que vivem essas populações (Chagas, 1909). A enfermidade, que antes atingia, muito mais a área rural, hoje já é, também, encontrada na população que vive em área urbana, em grandes cidades, devido às constantes migrações dos indivíduos chagásicos. Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), a doença atingia, na década de noventa, cerca de 16 milhões de indivíduos, na região que se estende do sul da Argentina até o México (Who, 2002; Moncayo, 2003), sendo a transmissão vetorial e a transfusional as principais vias de transmissão responsáveis por essa disseminação (Dias, 1998; Schoefield, 1998). O quadro clínico da doença pode evoluir levando à morte, como demonstrado pelas estatísticas que indicam aproximadamente 21.000 mortes por ano em conseqüência dessa enfermidade (Urbina, 2003; Docampo, 2003). Nos últimos anos, muitos estudos têm tido progressos em mostrar uma preocupação em relação à profilaxia da doença de Chagas, principalmente no combate ao vetor, assim como na busca de novas drogas que sejam eficazes no combate ao *T. cruzi*, principalmente durante a fase crônica da doença de Chagas (Dias, 2002). Essa fase corresponde ao período em que a maioria dos pacientes tem a doença diagnosticada.

No Brasil, a partir da década de 1970, foram realizadas diversas medidas para controlar a transmissão da doença, que se intensificaram com a iniciativa de controle nos países do Cone Sul (Brasil, Argentina, Bolívia, Chile, Paraguai e Uruguai) a partir de 1991, havendo combate ao vetor e ampla triagem sorológica nos bancos de sangue. Apesar da redução da transmissão desta doença e de ser considerado livre do principal vetor, o *Triatoma infestans*, o Brasil ainda é considerado endêmico para doença de Chagas, existindo cerca de 3 a 5 milhões de chagásicos no país. Além disso, há constante risco de ocorrência de novos focos devido à presença de outras espécies vetoriais aptas a participar

do ciclo de transmissão domiciliar do *T. cruzi*, em diversas regiões do país (Who, 2002). Em países como Paraguai e Bolívia, a transmissão vetorial continua intensa, principalmente através do *T. infestans* (Dias 2002; Silveira, 2002; Schoefield, 2002). Existem mais de 120 espécies de barbeiros conhecidas, 48 identificadas no Brasil, das quais 30 já capturadas no ambiente domiciliar. (Dias e Coura, 1997).



Figura 1- Exemplar adulto de *Triatoma infestans*

1.2- O agente etiológico

O *T. cruzi*, agente etiológico da doença de Chagas é um protozoário flagelado pertencente à ordem *Kinetoplastida* e à família *Trypanosomatidae*, caracterizado pela presença de um flagelo e uma única mitocôndria. O *T. cruzi* é transmitido por insetos hematófagos, popularmente conhecidos como barbeiros (Chagas, 1909). O ciclo evolutivo do *T. cruzi* inclui a passagem obrigatória por hospedeiros de várias classes de mamíferos, inclusive o homem, e as principais espécies de vetores são *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus*. Durante o ciclo de vida do *T. cruzi*, ele apresenta basicamente três formas evolutivas: tripomastigota, amastigota e epimastigota. O ciclo biológico envolve o hospedeiro invertebrado, que se infecta através da ingestão de sangue contendo tripomastigotas. Os parasitos ingeridos se multiplicam na luz intestinal do inseto como formas flageladas epimastigotas e quando se encontram no intestino posterior

diferenciam-se em formas tripomastigotas metacíclicas, infectantes, que são eliminadas nas fezes e na urina (Pessoas e Martins, 1982; Linhares, 2000). Ao penetrar no hospedeiro, o parasito tem a capacidade de atingir os tecidos subcutâneos, podendo invadir diferentes tipos de células, principalmente os macrófagos, onde se transformam em formas amastigotas. Posteriormente, ocorre uma nova diferenciação para a forma tripomastigota, que é liberada para a circulação pela ruptura da membrana plasmática. Esses tripomastigotas podem invadir então novas células ou atingir órgãos distantes. No organismo humano, o parasito pode-se alojar em fibras musculares, especialmente cardíacas e digestivas. O período de incubação oscila entre 4 a 10 dias, quando a transmissão ocorre pelos insetos triatomíneos, sendo geralmente assintomático. Nos casos de transmissão transfusional, pode-se prolongar por 20 dias ou mais dias (Dias, 1984).

1.3-Transmissão da doença

Os mecanismos de transmissão da doença de Chagas no homem podem ser considerados, em ordem de frequência: transmissão vetorial, transfusão de sangue e hemoderivados, via oral, via transplacentária e outros.

A transmissão vetorial é a que assume maior importância epidemiológica, sendo fundamental na manutenção da endemia chagásica (Dias e Coura, 1997; Linhares 2000). A contaminação por transfusão de sangue e hemoderivados é atualmente mais rara, mas já representou de 8% a 18% dos casos na década de 1960, podendo ocorrer em áreas não-endêmicas. Outra forma de contágio é a transmissão congênita (0,05% a 2%) e a por ingestão de alimentos contaminados (Pessoa e Martins, 1982). A transmissão congênita concretiza-se pela presença de ninhos do parasito alojados na placenta ou pelo sangue contaminado no canal do parto. A contaminação oral, pela ingestão de alimentos, ocorre de forma acidental e em volume muito reduzido. Recentemente, foram relatados em Santa Catarina na BR 101 e Norte do Pará casos da doença de Chagas na forma aguda, conseqüentes à transmissão por via oral após ingestão de caldo de cana contaminado com fezes de barbeiros ou o próprio parasito moído junto com a cana e também após a ingestão de açaí (Lana, 2002; Tafuri, 2002).

O transplante de órgãos representa outra forma de transmissão que emerge como um problema importante, devido à condição de imunossupressão em que se encontra o transplantado, o que pode agravar a doença (Riarte et al., 1999).

Observa-se também, com o aumento do número de portadores da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) e com a utilização de medicamentos imunossupressores para tratamento de neoplasias malignas, a ocorrência de reativação da infecção crônica. Esses pacientes voltam a apresentar alta parasitemia e sinal clínico característico da fase aguda da doença (Ianni, 1998; Galhardo et al., 1999).

1.4- Fases da Doença de Chagas Humana

1.4.1- Fase aguda

A fase aguda apresenta alta parasitemia, com parasitos disseminados pelo organismo do hospedeiro, multiplicando-se no interior dos macrófagos e em uma variedade de outras células, com forte tropismo pelas células musculares do coração (Soares, 1999; Santos, 1999). Suas manifestações clínicas são representadas por febre, mal estar geral, cefaléia, falta de apetite, edema localizado na pálpebra (sinal de Romãna) ou em outras partes do corpo, aumento de linfonodos, do baço e do fígado, miocardite e meningoencefalite. A destruição neuronal é predominantemente autonômica, podendo ocorrer de forma intensa nessa fase da doença (Dias, 2000). Aproximadamente dois meses após o início da fase aguda, o *T. cruzi* desaparece da corrente sanguínea, podendo ser detectado somente por exames parasitológicos indiretos (xenodiagnóstico, hemocultura ou reação em cadeia da polimerase). Após a fase aguda há uma redução acentuada da parasitemia e do parasitismo celular, decorrente do desenvolvimento de mecanismos imunológicos. (Andrade e Andrade, 1979).

1.4.2- Fase crônica

A fase crônica da doença é caracterizada por manifestações decorrentes do curso prolongado em contato com o parasito. Ela pode ser dividida em diferentes formas clínicas denominadas: indeterminada, cardíaca, digestiva, neurológica, mista e outras

(Ferreira e Borges, 2002; Rey, 2002). O *T. cruzi* apresenta tropismo pelo tecido muscular, destruindo também o sistema nervoso autônomo, principalmente as fibras parassimpáticas da musculatura lisa e cardíaca (Betarello, 1983; Rossi e Bestetti, 1995).

Entretanto, sabe-se que os indivíduos que ultrapassam o estágio inicial da infecção, e que constituem a grande maioria dos casos, irão apresentar habitualmente, uma diminuição progressiva dos parasitos no sangue circulante (Ferreira e Ávila, 1996).

Após a atenuação dos sintomas agudos que eventualmente apresentem, evoluem para o período de latência e a fase crônica da doença, caso não sejam tratados (Lopes e Chapadeiro, 1997).

1.5- Formas crônicas da Doença de Chagas

1.5.1- Forma Indeterminada

Entende-se por forma indeterminada da doença de Chagas a presença comprovada da infecção chagásica, revelada por reações sorológicas positivas para a doença, porém, os indivíduos são assintomáticos e apresentam eletrocardiograma (ECG), radiografia (RX) de tórax, esôfago e cólon normais (Macedo, 1997; Ribeiro, 2000; Dias, 2000). A forma indeterminada é caracterizada pela concentração de altos níveis plasmáticos de imunoglobulina G (IgG) e corresponde ao período assintomático (Macedo, 1997; Ferreira e; Borges, 2002; Rey, 2002). Essa forma é a mais freqüente da doença de Chagas encontrada em cerca de 60 % dos casos da população de área endêmica (Ianni, 1998; Dias, 2000; Coura, 2003).

1.5.2- Forma cardíaca

Os indivíduos infectados podem evoluir para a forma cardíaca caracterizada por manifestações clínicas que evidenciam o comprometimento do coração. A forma crônica cardíaca, pela sua gravidade e freqüência, é uma das mais bem estudadas da doença de

Chagas, e pode levar à insuficiência cardíaca, eventos tromboembólicos e a morte súbita, sendo que se encontra nesta forma 30% dos indivíduos com a DCH (Mady et al., 1994; Arteaga, 1989; Lanni, 1997), ocorrendo após um período de latência de até 20 anos (Coura, 2003). Assim, a cardiopatia chagásica crônica (CCC) constitui forma clínica tardia da infecção pelo *T. cruzi*, resultando em dano ao miocárdio, levando à miocardiopatia dilatada. Está relacionada a múltiplos fatores como inflamação, fibrose, lesão da microcirculação associadas a uma resposta inadequada do sistema imunológico do hospedeiro (Macedo e Pena, 1998; Andrade, 1999). Ao longo do tempo, esses fatores favoreceriam os mecanismos patogênicos que desencadeiam as alterações cardíacas (Milei, 1996; Storino, 1998).

1.5.3- Forma digestiva

A forma digestiva é caracterizada principalmente por megaesôfago e megacolon (Prata, 1990). Aproximadamente 10% dos pacientes desenvolvem a forma digestiva, apresentando alterações funcionais e dilatações, principalmente no esôfago e no cólon, devido às lesões no sistema nervoso autônomo intramural, parasitismo tecidual e ação do sistema imune (Dias, 1992; Lana e Tafuri 2000). O sistema nervoso autônomo está envolvido no controle da motilidade do trato gastrointestinal, do ritmo cardíaco, da secreção de glândulas endócrinas e exócrinas, e assim sendo as manifestações clínicas da doença de Chagas estão relacionadas a alterações nessas funções.

1.6- Patogênese da fase crônica da Doença de Chagas

A resposta inflamatória provocada pela presença do *T. cruzi* está vinculada aos mecanismos imunológicos desencadeados pelo parasito e é responsável pela maioria das lesões encontradas nesta fase da doença (Brodskyn, e Barral- Netto; 2000).

Muitas das manifestações clínicas observadas na DCH devem-se diretamente a essa resposta imunológica elaborada pelo hospedeiro contra o parasito (Brodskyn, 2000; Barral-Netto, 2000). Verifica-se que os fenômenos imunológicos têm envolvimento na

gênese da lesão inflamatória da fase crônica da moléstia; porém, deve-se considerar, também, a participação do parasitismo como fator relevante, neste estágio crônico da doença (Costa, 1985; Tafuri, 1987; Lopes, 1997). Em cada fase da infecção existe uma resposta imunológica com um repertório de células, citocinas e outras substâncias que reduzem a carga parasitária, auxiliando na defesa do organismo, mas podem, também, estar envolvidos no desenvolvimento da doença crônica. As citocinas, produzidas por linfócitos e macrófagos, são importantes moduladores da resposta imunológica, e dentre as células efetoras do processo inflamatório, os macrófagos têm papel importante no controle da parasitemia, pois são responsáveis pela fagocitose, e pelo controle das citocinas inflamatórias. Estas, por sua vez, são importantes mediadores da síntese de proteínas da fase aguda inflamatória, como a proteína C-reativa (PCR), (Brenner e Gazzinelli, 1997). Tanto as citocinas como as proteínas envolvidas na resposta inflamatória desencadeada pelo *T. cruzi*, têm sido associadas com o aumento da morbidade em pacientes chagásicos (Reis, 1997; Roggero et al, 2002).

1.7- Proteína C- Reativa

A PCR foi identificada por Willian e Francis em 1930 e desde então vem sendo utilizada de forma rotineira na avaliação dos pacientes com doenças inflamatórias de naturezas diversas. A PCR é detectada em inúmeros processos inflamatórios infecciosos e não infecciosos como também nas artrites reumatóides, inflamações intestinais, apendicite aguda, aterosclerose e isquêmicos como o infarto do miocárdio e também nos processos neoplásicos (Pearson, et al., 2003).

É uma alfa globulina de fase aguda, com massa molecular de aproximadamente 105 KDa. e pertence à classe das pentaxinas. É composta de cinco subunidades idênticas globulares cíclicas, sendo capaz de ligar-se ao polissacarídeo C do *Streptococcus pneumoniae*. Seus principais efeitos biológicos são a modulação da função dos polimorfonucleares, ativação do complemento e ativação da fagocitose (Schultz e Arnold, 1990; Gewurz et al, 1995). Os níveis séricos de PCR aumentam rapidamente após trauma agudo, infecção ou outros processos inflamatórios. É produzida e sintetizada pelo fígado

em resposta a liberação de citocinas na circulação, pela ativação dos leucócitos. É modulada pela ação da interleucina-6 (IL6) e parece ser estimulada por uma ação da interleucina-1 (IL-1) em resposta à presença de substâncias geradas pelo processo inflamatório (Ganter et al., 1989; Dinarello, 1999; Connon, 2000). As citocinas e a PCR elevam-se na medida em que o processo mórbido se torna mais intenso e devem permanecer elevados durante vários dias antes de retornarem ao normal. Dosagens de PCR no soro têm sido úteis, atualmente, na avaliação de condições tais como o infarto do miocárdio. Adicionalmente, pesquisas recentes revelaram que o nível de PCR é um fator preditivo para eventos cardiovasculares e doenças vasculares periféricas (Biasucci et al., 1996; Pepys, 2003).

O estímulo inflamatório, por sua vez, é o que influencia na síntese ou secreção, distribuição no espaço intra e extracelular, no catabolismo e na utilização das proteínas de fase aguda, cuja magnitude do aumento sérico depende da destruição celular. Estudos mostraram que níveis séricos elevados de fibrinogênio, PCR e IL-6 se associam à doença coronariana e arteriosclerose grave (Biasucci et al., 1996; Pepys, 2003; Hirschfield, 2003). Também se pode dizer que o infarto do miocárdio está associado a um processo inflamatório, relacionando-se a dosagem da PCR (Haidari et al., 2001). No entanto, uma vez que a relação entre níveis séricos de PCR elevados e risco cardiovascular aumentado é recente, não há até o momento diretrizes estabelecidas quanto à melhor conduta frente à elevação persistente da PCR nos indivíduos com fatores de risco para estes eventos (Ridker, et al., 1998), mas já se demonstraram que é um marcador preditivo de risco de eventos vasculares futuros em pacientes com síndrome coronariana aguda (Haverkate et al., 1997). Já é demonstrada que a contribuição da inflamação crônica é indicada pelo elevado nível do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e PCR na patogênese de lesão endotelial, levando à doença cardiovascular (Pasceri, 2000; Ridker, 2000). O papel da inflamação na patogênese da trombose arterial tem sido bem descrito, mas se os marcadores de inflamação como a PCR têm aplicabilidade como indicadores de mortalidade na população ainda é um fato não esclarecido.

Considerando-se que o processo inflamatório está presente na patogênese da DCH e que existem evidências de que a PCR é marcador da presença e intensidade de inflamação, este trabalho se propôs a avaliar e correlacionar os níveis séricos da PCR com a forma cardíaca da doença de Chagas.

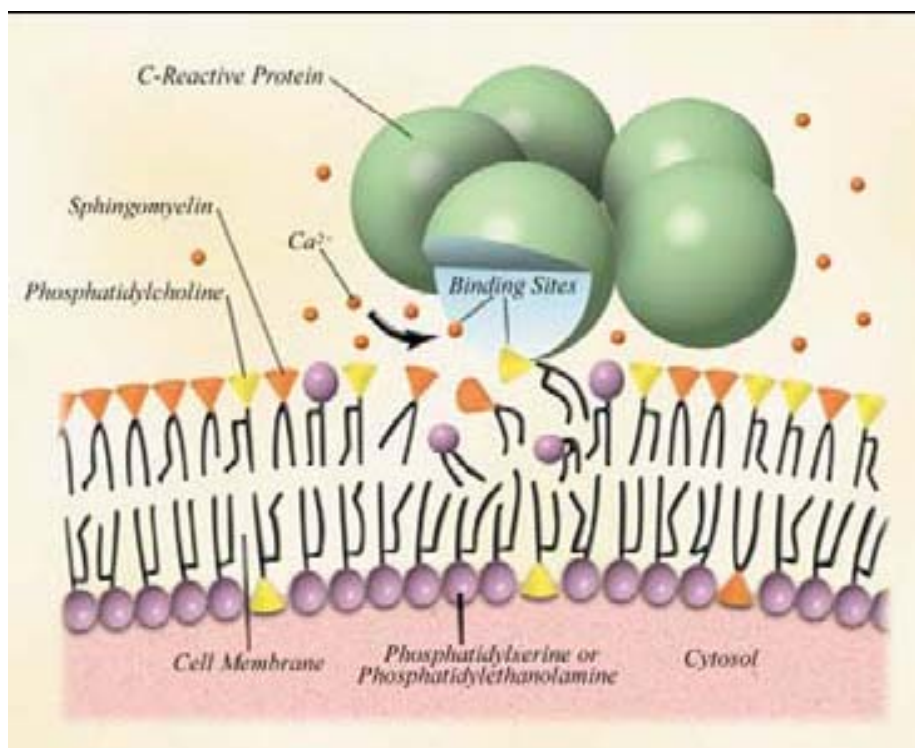


Figura 2- Estruturas da Proteína C - Reativa e seu ligante de membrana celular

- 1- Proteína C- Reativa
- 2- Esfingomielina
- 3- Fosfatidilcolina
- 4- Cálcio (Ca^{2+})
- 5- Sítio de ligação
- 6- Membrana Celular
- 7- Fosfatidilserina ou Fosfatidiletanolamina
- 8- Citosol

2- OBJETIVOS

2.1- Objetivo geral

Em função do papel de marcador de atividade inflamatória da PCR, o objetivo foi estudar a PCR na fase crônica da DCH.

2.2- Objetivos específicos

- Avaliar os níveis séricos de PCR na forma crônica cardíaca da doença de Chagas.

- Correlacionar os níveis séricos de PCR na cardiopatia chagásica crônica nos estágios leve e grave da doença de Chagas.

3- METODOLOGIA E CASUÍSTICA

3.1- Tipo, população e local de estudo

O estudo, do tipo transversal, foi realizado com a participação de indivíduos de ambos os sexos, com idade entre 20 a 65 anos. Os pacientes chagásicos foram selecionados dentre aqueles que demandam o Ambulatório do Grupo de Estudos em Doença de Chagas (GEDoCh) do Hospital de Clínicas da Faculdades de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, SP.

3.2- Grupo de estudo

Foram avaliados 136 indivíduos no total, divididos em cinco grupos: indivíduos saudáveis (CT=29), forma indeterminada (IND= 29), cardiopatia chagásica de grau leve (CL=29), cardiopatia chagásica grave (CG=29); cardiopatas em não chagásicos (CSC=20). Foi colhida uma alíquota de sangue de cada um dos pacientes durante o estudo para dosagem dos níveis da PCR. Os pacientes foram esclarecidos sobre o procedimento e consentiram em participar da pesquisa, assinando o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FCM- UNICAMP.

3.3- Critérios de inclusão para os grupos de estudo

3.3.1- Grupo controle (CT)

Foram incluídos neste grupo indivíduos clinicamente saudáveis, sem evidência de cardiopatia ou outro estado mórbido com pelo menos duas sorologias negativas para doença de Chagas (ELISA e imunofluorescência indireta) .

3.3.2- Grupo chagásico com a forma indeterminada (IND)

Foram incluídos pacientes com duas sorologias positivas para a doença de Chagas, assintomáticos e com eletrocardiograma (ECG), radiografia (RX) de tórax, esôfago e cólons normais.

3.3.3- Grupo chagásicos com cardiopatia de grau leve (CL)

Considerou-se como cardiopatia chagásica crônica (CCC) de grau leve os pacientes assintomáticos, com um ou mais sinais dentre os seguintes: distúrbio de condução intraventricular do tipo bloqueio do ramo direito (BRD), hemibloqueio anterior esquerdo (HBAE); bloqueio do ramo direito mais hemibloqueio anterior esquerdo (BRD+ HBAE); distúrbio de condução A-V do tipo BAV de 1º grau, arritmia do tipo ESV unifocais isoladas ou EV unifocais isoladas .

3.3.4- Grupo chagásico com cardiopatia grave (CG)

Considerou-se como CCC grave a presença de um ou mais dos seguintes sinais: distúrbio de condução AV de segundo ou de terceiro grau, arritmia do tipo EV polifocais, em pares ou em salvas; fibrilação atrial, doença do nó sinusal sintomática, disfunção ventricular com ou sem insuficiência cardíaca , evidência de acidente trombo-embólico associado a trombose cardíaca.

3.3.5- Grupo de cardiopatas não chagásicos (CSC)

Indivíduos com cardiopatias de outras etiologias que não chagásica, com duas sorologias negativas para doença de Chagas.

3.3.6- Critérios de exclusão

- Foram excluídos pacientes chagásicos classificados na forma digestiva (isolada ou associada).
- Ter sorologia para doença de Chagas duvidosa.
- Ter cardiopatia de etiologia duvidosa ou com mais de uma etiologia.

- Doentes com doenças inflamatórias aguda/ crônicas (doença do colágeno, infecções crônicas, pneumonias, virais etc), neoplásicas, e com insuficiências orgânicas bem definidas (insuficiência renal, insuficiência hepáticas, etc)

3.3.7- Método de avaliação da proteína C- Reativa

Foi coletada uma amostra de sangue em tubo seco de 10 ml, na sala de coleta do Ambulatório do GEDoCh, procedimento realizado após a consulta médica. Essas amostras foram centrifugadas e aliquotadas nos seus respectivos tubos e acondicionadas em *freezer* a -20°C para dosagem de PCR. Após o uso, foram descartadas em local apropriado. As dosagens foram realizadas no Laboratório da Unidade Metabólica do Departamento de Clínica Médica e no Laboratório de Imunologia do Departamento de Patologia Clínica, FCM-UNICAMP. A PCR foi dosada em soro pelo método de imunonefelometria, por concentração de partículas, em nefelômetro Array 360 da marca Beckman instruments, Inc., modelo 4480, utilizando-se o reagente N de PCR de alta sensibilidade (Dade Behring, Alemanha). A sensibilidade do método é de 0,01 mg/dl, que pode ser usado para indivíduos saudáveis. As dosagens foram realizadas no Laboratório da Imunologia do Departamento de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas/HC da UNICAMP.

3.3.8- Análise estatística

Para comparação entre os níveis séricos da PCR analisados entre os cinco grupos foram utilizados os testes Qui-Quadrado ou exato de Fisher (para valores esperados menores que 5), o teste de Mann-Whitney para comparação de variáveis numéricas entre dois grupos, e o teste de Kruskal-Wallis. Para analisar a relação entre as variáveis numéricas foi calculado o coeficiente de correlação de Spearman, devido à ausência de distribuição normal das variáveis. Para comparar os valores de PCR entre os cinco grupos, ajustando para idade, sexo e IMC, foi utilizada a análise de covariância (Anova), com teste post-hoc de Tukey-Kramer. A variável foi transformada em postos (ranks) devido à

ausência de distribuição normal e presença de valores discrepantes ou assimetria. O nível de significância adotado para os testes estatísticos foi de 5%, $p < 0.05$. Para análise estatística foi utilizado o seguinte programa computacional:

- The SAS System for Windows (Statistical Analysis System), versão 8.02. SAS Institute Inc, 1999-2001, Cary, NC, USA.

As análises estatísticas foram realizadas no Setor de Estatística da Faculdade de Ciências Médicas /UNICAMP-Campinas, S.P.

4- RESULTADOS

4.1- Características gerais dos indivíduos estudados

1- Sexo e idade

Em relação às características gerais do grupo de estudo pode-se observar a descrição do perfil da amostra estudada, segundo a idade, sexo e as formas clínicas da doença na tabela 1. (Tabela1). Não houve diferenças significativas quanto ao sexo. Pode-se observar que as mulheres chagásicas do grupo com cardiopatia grave eram mais idosas do que nos demais grupos, de modo significativo.

Tabela 1- Descrição dos grupos: em relação às formas clínicas da doença de Chagas (sexo e idade)

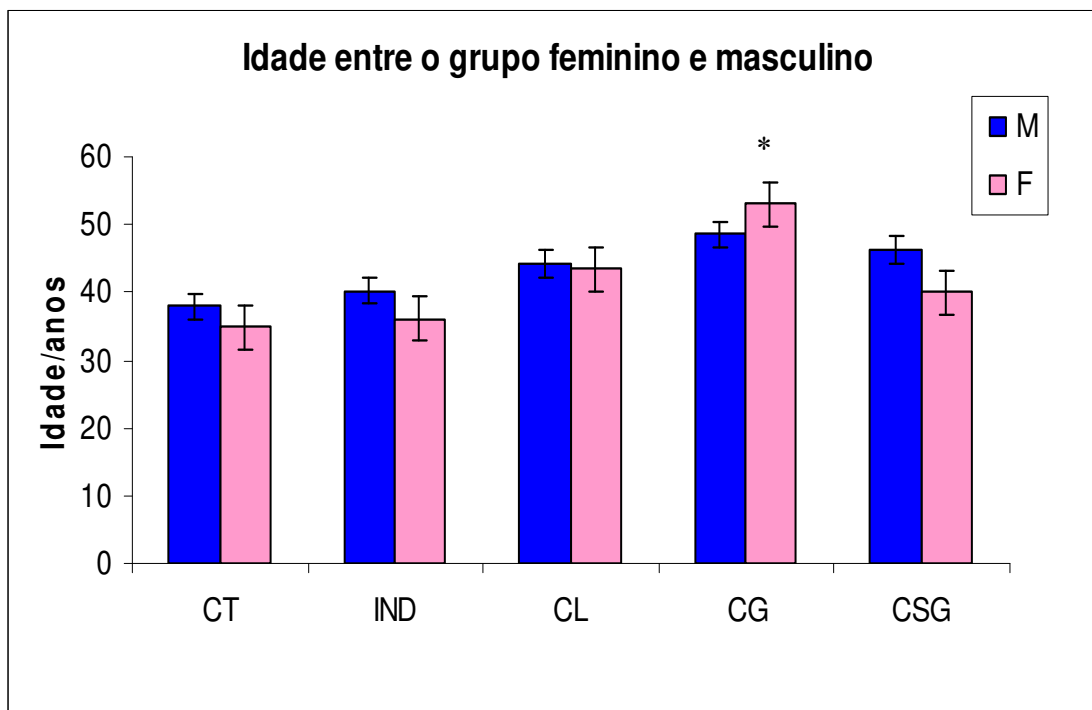
Grupos	CT	IND	CL	CG	CSC	Valor p
Sexo, n (%)	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	Nº (%)	
Feminino	15 (51,7)	11 (36,7)	12 (40,0)	9 (32,1)	8 (40,0)	ns
Masculino	14 (48,3)	19 (63,3)	18 (60,0)	19 (67,9)	12 (60,0)	ns
Total	29	30	30	28	20	137
Faixa etária	24 -60	24 - 58	23 - 63	30 - 65	26 - 60	
Idade/Feminino	34,90±2,06	36,1±2,21	43,40 ± 3,39	53,1± 2,23*	39,9 ± 1,60	s
Idade/Masculino	37,90±3,43	40,3 ±2,80	44,20 ±2,32	48,6 ± 2,23	46,3 ± 3,31	ns

Grupo Controle (CT); Grupo Chagásico Forma Indeterminada (IND); Grupo com cardiopatia de grau leve (CL); Grupo Chagásico com cardiopatia grave (CG) e Grupo com Cardiopatia não chagásica (CSC).

*P < 0,05

4.2- Dados relacionados à idade e gênero nas formas clínicas da Doença de Chagas

Os dados da Tabela 1 estão apresentados na forma de gráfico. A análise dos dados apresentados no Gráfico-3 mostrou que, internamente, os grupos apresentam-se homogêneos quanto à distribuição de idade por sexo. Numa análise desagregada por sexo, mostrou diferença significativa de idade entre os grupos masculinos e femininos, sendo maiores os resultados apenas para as mulheres.



Grupo Controle (CT); Grupo Chagásico Forma Indeterminada (IND); Grupo com cardiopatia de grau leve (CL); Grupo Chagásico com cardiopatia grave (CG) e Grupo com Cardiopatia sem manifestação da doença de Chagas (CSC). * $p < 0,05$

Figura 3- Comparação da idade entre gênero dos pacientes nos diferentes grupos

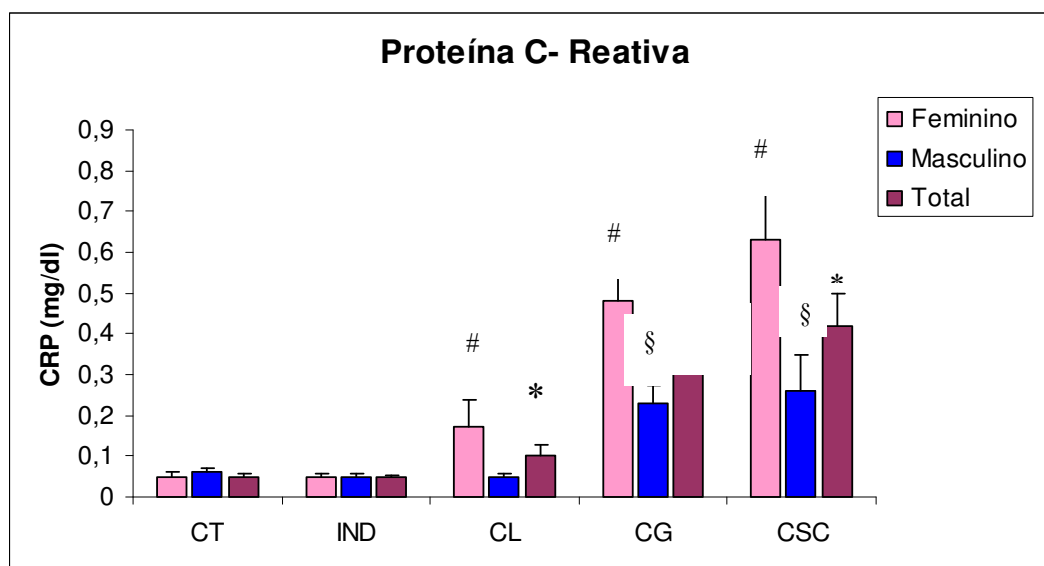
4.3- Proteína C- Reativa

Os resultados em relação à PCR nos diferentes grupos estão apresentados na Tabela 2 e Figura 4. Observou-se que houve um aumento significativo nos níveis séricos da PCR total tanto no grupo de CL, CG e também no grupo CSC em relação ao grupo CT e IND. Na avaliação quanto ao sexo feminino e masculino, foi observado um valor elevado da PCR de modo significativo para o sexo feminino nos grupos CL, CG e CSC e para os grupos CG e CSC para o sexo masculino.

Tabela 2- Análise da CRP entre gêneros e as diferentes formas clínicas da doença de Chagas

CRP/Grupos	CT	IND	CL	CG	CSC	Valor p*
CRP Total	0.052±0.008	0.048±0.005	0.104±0.031*	0.311±0.07*	0.345± 0.080*	P<0,05
CRP/Fem	0.047 ±0.010	0.051± 0.009	0.175±0.070*	0.484±0.093*	0.470± 0.145*	P<0,05
CRP/Masc	0.056 ± 0.014	0.047± 0.007	0.054 ± 0.009	0.228 ± 0.044*	0.261 ± 0.090*	P<0,05

Grupo Controle (CT); Grupo Chagásico Forma Indeterminada (IND); Grupo com cardiopatia de grau leve (CL); Grupo Chagásico com cardiopatia grave (CG) e Grupo com Cardiopatia sem manifestação da doença de Chagas (CSC). * p< 0,05



* p< 0,05 para os CL,CG e CSC total ; § p< 0,05 para os CG, CSC; # p< 0,05 para os CL,CG e CSC

Figura 4- Proteína C- Reativa entre grupos: Masculino, Feminino e o grupo total

4.4- Comparação das faixas etárias entre gêneros

A Tabela 3 apresenta as comparações da PCR das principais variáveis categóricas e numéricas entre as faixas etárias do grupo total, divididos em duas faixas etárias: menor de 40 anos e maior ou igual há 40 anos. Foram observados valores maiores da PCR para os indivíduos com idade igual ou maior de 40 anos, significativamente.

Tabela 3- Comparação da PCR por faixas etárias

<u>IDADE <40 ANOS</u>				
VARIÁVEL	N	Média	Erro Padrão	Valor P
CRP Total	56	0.10	0.020	ns
<u>IDADE >=40 ANOS</u>				
Variável	N	Média	Erro Padrão	
CRP Total	80	0.21*	0.038	s

* $p \leq 0,05$

A Tabela 4 apresenta o número de indivíduos nas duas faixas etárias nos cinco grupos de estudo. Houve diferença significativa para o grupo controle e chagásicos na forma indeterminado entre os indivíduos com idade menor de 40 anos e de chagásicos com cardiopatias leve e grave entre os com maior ou igual a 40 anos.

Tabela 4- Comparação dos números de indivíduos nas duas faixas etárias nos cinco grupos de estudo

-	<40/anos	> 40/anos	Total
CT	18 (32.14)*	11 (13.75)	29
IND	18 (32.14)*	12 (05.00)	30
C L	9 (16.07)	21 (26.25)*	30
C G	4 (07.14)	24 (30.00)*	28
CSC	7 (12.50)	12 (15.00)	19
Total	56	80	136

* $p \leq 0,05$

As Tabelas 5 e 6 apresentam as comparações da PCR entre as faixas etárias menores e maiores que 40 anos, para cada um dos cinco grupos de estudo. Verificou-se que houve diferença significativa para os grupos CG e CSC.

Tabela 5- Comparação das variáveis entre faixas etárias dos cinco grupos nas formas clínicas da doença de Chagas para os indivíduos < 40 anos de idade.

GRUPO/PCR	N	Média	Erro Padrão	Valor do P
CT	18	0.049	0.007	ns
IND	18	0.052	0.007	ns
CL	9	0.080	0.020	ns
CG	4	0.315*	0.195	s
CSC	7	0.345*	0.113	s

*p<0,05

Tabela 6- Comparação das variáveis entre faixas etárias dos cinco grupos nas formas clínicas da doença de Chagas para indivíduos ≥ 40 anos

GRUPO/PCR	N	Média	Erro Padrão	Valor do P
CT	10	0.070	0.019	ns
ND	12	0.040	0.008	ns
CL	21	0.110	0.041	s
CG	24	0.310*	0.047	s
CSC	12	0.490*	0.179	s

*P<0,05

4.5- Análise da PCR entre gêneros e as diversas formas clínicas da Doença de Chagas

As Tabelas 7 e 8 apresentam as comparações entre os cinco grupos para as seguintes variáveis no sexo masculino: PCR (maior nos chagásicos graves e nos não chagásicos com cardiopatia). Também, no sexo feminino, houve diferença significativa em relação a esta variável onde PCR foi maior nos chagásicos com cardiopatia grave e nos não chagásicos com cardiopatia em relação aos demais grupos.

Tabela 7- Comparação entre os cinco grupos para o sexo masculino para determinação da PCR

Grupos	Nº	Média/PCR	Erro Padrão	Valor P
CT	14	0.056	0.017	ns
IND	19	0.047	0.011	ns
CL	18	0.054	0.013	ns
CG	19	0.228*	0.052	s
CSC	12	0.261*	0.075	s
Total	82			

*p<0,05

Tabela 8- Comparação entre os cinco grupos para o sexo feminino para determinação da PCR

Grupos	Nº	Média/PCR	Erro Padrão	Valor P
CT	14	0.047	0.012	ns
IND	11	0.051	0.015	ns
CL	12	0.175	0.050	ns
CG	09	0.484*	0.161	s
CSC	09	0.470*	0.156	s
Total	55			

*p<0,05

4.6- Análise da idade entre indivíduos masculinos e femininos nos diferentes grupos

As Tabelas 9 e 10 apresentam as comparações das idades entre os gêneros dos sujeitos, para cada um dos cinco grupos de estudo. Verifica-se na Tabela 10 que houve diferença significativa na idade para o sexo feminino em relação ao sexo masculino.

Tabela 9- Comparação das variáveis para o sexo masculino entre os cinco grupos, em relação à idade.

Grupos	Nº	Média/Idade	Erro Padrão	Valor P
CT	14	37.93	0.29	ns
IND	19	40.26	0.36	ns
CL	18	44.22	0.43	ns
CG	19	48.63	0.40	ns
CSC	12	46.27	0.30	ns
Total	82			

*p=0.087

Tabela 10- Comparação das variáveis para o sexo feminino entre os cinco grupos, em relação à idade.

Grupos	Nº	Média/Idade	Erro Padrão	Valor P
CT	15	34.93	0.01	ns
IND	11	36.09	0.01	ns
CL	12	43.42	0.07	ns
CG	09	53.11 *	0.09	s
CSC	08	40.13	0.02	ns
Total	55			

*P≤0.05

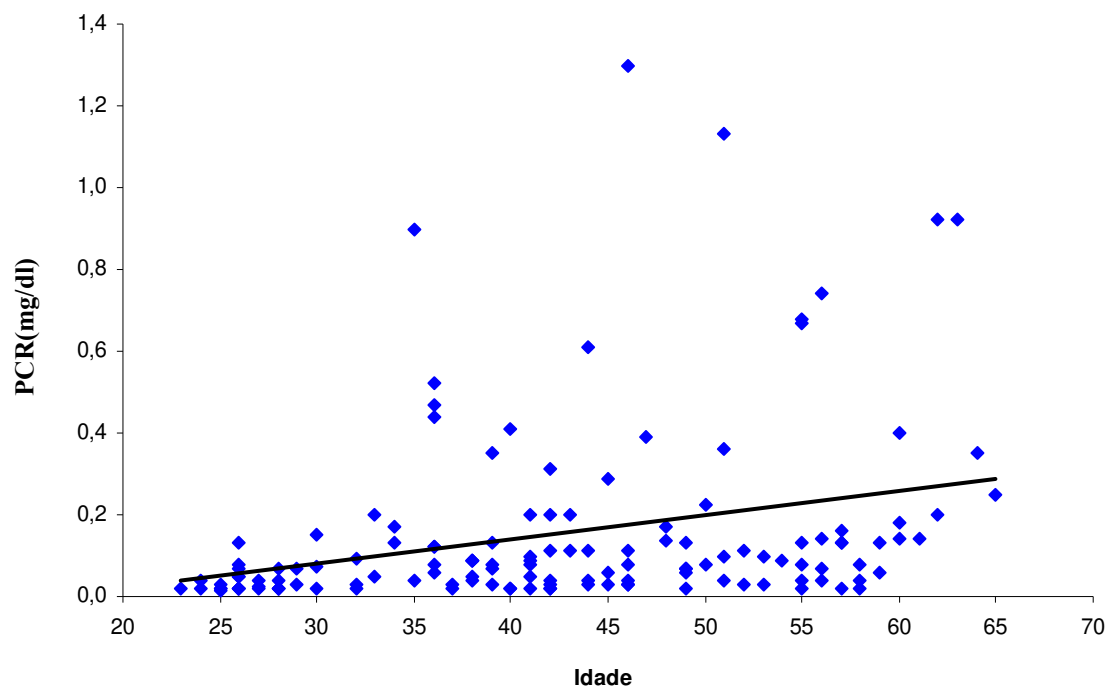


Figura 3- Correlação Linear entre a Proteína C- Reativa e Idade

A Figura 3 mostra resultado de correlação linear entre a PCR e idade em todos os 136 indivíduos estudados.

$$R=0,407 / p<0,001$$

5- DISCUSSÃO

Poucos estudos têm sido realizados a fim de estabelecer qual é a relação da PCR e a doença de Chagas (Brodskyn e Barral-Neto, 2000). No entanto, já em 1958, autores brasileiros estudaram a proteína C reativa na forma crônica da moléstia de Chagas (Veiga e Fiorillo; 1958), uma vez que consideravam ocorrer processo inflamatório no coração e tubo digestivo de indivíduos com esta doença, como fenômenos dependentes de isquemia, particularmente notáveis no miocárdio. Salientaram os autores que a investigação da proteína C reativa seria interessante, uma vez que ela poderia identificar tais fenômenos inflamatórios e isquêmicos. Também, o estudo foi feito exclusivamente em casos crônicos da infecção, uma vez que esta proteína poderia identificar eventuais surtos de novas lesões. Em se tratando de fase crônica seria de valor a identificação de reagudizações da doença, o que poderia possibilitar intervenções terapêuticas. Hoje, este fato tem sido cogitado na vigência de imunossupressão em chagásicos submetidos a tratamentos imunossupresores ou na co-infecção Chagas HIV/AIDS (Galhardo, 1999). A dosagem da proteína C reativa no estudo de Veigas e Fiorillo, 1958 foi realizada em indivíduos apenas com sorologia para Chagas reagente sem manifestações da doença, em cardiopatas e em portadores de megas digestivos. Os autores identificaram maiores níveis da proteína nos casos de cardiopatias já com insuficiência cardíaca e nos casos com megacolon e megaesôfago, portanto, nos casos mais graves da doença. Não consideraram, todavia, que houvesse significância entre os dados, levando-se em conta a flutuação das amostras e de possibilidade de outras causas secundárias para o aumento da proteína, como infecções intercorrentes, os fenômenos isquêmicos e a insuficiência cardíaca. Atualmente, sabe-se que tais eventos são responsáveis por elevação da PCR e que na insuficiência coronariana este exame é considerado como fator preditivo, fazendo parte do arsenal diagnóstico em indivíduos com fatores de risco para tal situação (Satto et al, 1999; Milo et al, 2003).

Villacorta et al, (2007) consideraram que a PCR é um fator preditor independente de mortalidade cardiovascular em pacientes com insuficiência cardíaca, em estudo realizado em pacientes atendidos em sala de emergência, não levando em consideração se eram chagásicos ou não, indicando que a inflamação representa componente importante na fisiopatologia da síndrome. Veiga e Fiorillo 1958, também, aventaram a possibilidade de se ligar à positividade da prova, fases evolutivas, transitórias das lesões decorrentes da própria infecção chagásica, uma vez que esta se positivou

coincidentemente com a piora do quadro cardíaco em alguns casos. A apresentação pormenorizada do estudo de Veiga e Fiorillo nos pareceu importante, uma vez que estes autores enfocaram o assunto com metodologia e objetivos semelhantes ao presente estudo. Embora a atual PCR seja a mesma identificada pelo descobridor (Willians e Francis, 1930) e dosada por Veiga e Fiorello, 1958, novos avanços na tecnologia para sua identificação, como a nefelometria e a introdução de rotina automatizada, compreende avanços que determinam maior sensibilidade ao método e justifica o seu estudo na doença de Chagas. Outro fato que torna o assunto atual é que em nosso conhecimento, no período de 50 anos que separa o trabalho de Veiga e Fiorillo até o presente, apenas quatro estudos foram identificados na literatura abordando a relação PCR e a doença de Chagas (Medrano, 1995; Coutinho et al, 1998; Lopez, 2005). Destes, três correspondem a estudos clínicos, sendo dois relacionados à fase aguda da doença e realizados em região onde esta é endêmica e o vetor ainda não foi controlado (Bolívia) e um em doentes na fase crônica da doença. Um quarto se refere a estudo do parasito, investigando a presença de substância semelhante à PCR presente na membrana do *T. cruzi*, portanto, é pesquisa básica e não clínica. Neste sentido, o presente estudo é original acrescentando conhecimento ao tema o qual tem importância clínica na abordagem de doentes de Chagas, na fase crônica.

Uma das preocupações no desenho do presente trabalho foi em relação ao gênero e a idade dos doentes, uma vez que pudesse haver diferenças nos níveis da PCR em relação a estes parâmetros. Assim, não foram incluídas crianças nem adultos muito idosos, uma vez que a PCR pode encontrar-se aumentada em relação aos valores de referências nestas faixas etárias em consequência de incidência subclínica aumentada de doenças, mormente as infecciosas (Pepys et al, 2003). Já em relação ao gênero não é descrito influência nos valores da PCR. Na Tabela 1 pode ser observado que não houve diferenças significativas em relação ao gênero para os diferentes grupos de estudo, assim como as faixas etárias encontram-se pareadas. Isto torna a casuística homogênea e os demais resultados passíveis de serem interpretados corretamente. No entanto, a média de idade para as mulheres do grupo CG, no qual estão os indivíduos com cardiopatia chagásica grave, foi significativamente maior em relação aos demais grupos. O mesmo ocorreu para os homens, porém não de forma significativa. O estudo estatístico não foi realizado comparando a idade média das mulheres do grupo CG com os homens deste grupo, mas pela proximidade

dos valores é provável que não haja significância. O fato de haver indivíduos mais velhos neste grupo reflete o que está ocorrendo com a doença de Chagas no Brasil. Em vista do controle vetorial e transfusional da doença está havendo um envelhecimento da população de chagásicos como um todo (Bertanha et al, 2008). Como se trata de doença evolutiva, as formas graves tenderão a ocorrer cada vez mais tardiamente o que já tem sido demonstrado por estudos das formas clínicas da doença em população idosa (Almeida, 1985; Guariento, 1998).

Assim, Almeida et al em 1985 verificaram que a cardiopatia chagásica em seus diferentes graus de gravidade está presente em idosos atendidos no Grupo de Estudos em Doença de Chagas-GEDoCh no estado de São Paulo, Brasil. No presente estudo, uma vez que não se trata de indivíduos em idades muito avançada e foram tomados os cuidados de se excluírem aqueles com prováveis doenças agudas ou crônicas que habitualmente cursam com valores elevados da PCR, é provável que a idade não tenha influenciado os maiores valores encontrados no grupo CG. No trabalho de Veiga e Fiorillo 1958, os parâmetros idade e sexo não foram levados em consideração, assim como em outros estudos envolvendo o aparelho cardiovascular em indivíduos não chagásicos (Storino, 1998), o que demonstra que estas duas variáveis não influenciam por si só os resultados da PCR. López e col. 2006, abordando o tema PCR e doença de Chagas na Argentina, também não encontraram diferenças em relação à idade dos seus doentes, as formas clínicas e os valores de PCR, sendo que a média de idade geral dos chagásicos foi de 62 anos o que demonstra que na América Latina a população chagásica está envelhecendo.

Na tabela 2 e Figura 4 estão os resultados fins do presente estudo onde se observam os valores da PCR total nos diferentes grupos de estudo, com aumentos significantes a partir do grupo de indivíduos com a cardiopatia chagásica leve (CL) e grave (CG), referendando os resultados obtidos por Veiga e Fiorillo 1958, para os cardiopatas chagásicos com insuficiência cardíaca. Com os conhecimentos atuais sobre a patogênese da cardiopatia chagásica, tendo como resultado final o processo inflamatório crônico fibrosante, de caráter evolutivo e tanto mais intenso, quanto mais grave a cardiopatia (Higuchi; 1993) não é surpreendente que esta proteína encontre-se aumentada, refletindo

tais eventos. Embora faça parte do grupo de proteínas ditas como marcadores de fase aguda ela pode muito bem representar os eventos na cardiopatia chagásica crônica, uma vez que reflete, também, lesão tecidual o que é constante nesta forma da doença de Chagas, além do processo inflamatório. Discussão deve ser feita, entretanto, separando os dois grupos, caso se queira realmente atribuir o aumento de PCR ao processo patogênico dependente apenas da doença de Chagas. Isto se faz necessário, uma vez que no grupo CG encontram-se aqueles indivíduos graves e, possivelmente, com disfunção ventricular e insuficiência cardíaca.

Estas duas situações, por si só, alteram para mais os valores da PCR (Postan, Dvorak, McDaniel;1983) e podem mascarar a responsabilidade da miocardite e lesão tecidual dependente da doença de Chagas como causa e efeito. Outro fato a favor de que estas duas situações possam interferir na análise deste resultado é que no grupo de cardiopatas de etiologia não chagásica (CSC) os valores da PCR, também estão aumentados de modo significativo. Isto demonstra que outros fatores além da doença de Chagas, mas comum entre as diferentes cardiopatias podem estar contribuindo para este aumento. Deste modo a PCR estaria deixando de ser valorizada como marcador de gravidade da cardiopatia chagásica crônica, mas apenas de gravidade, correspondendo aos eventos fisiopatológicos comuns à descompensação das cardiopatias de um modo geral. A favor desta interpretação encontram-se os valores médios muito próximos dos grupos CG e CSC, não significativos. A análise estatística foi realizada entre os grupos com cardiopatia em relação ao controle (CT) e forma indeterminada (IND) figura 4. Com diferença significativa entre os grupos CG, CSC e o grupo CL. Assim, é provável que a PCR aumentada, realmente, tenha valor como marcador da cardiopatia chagásica. Esta afirmativa tem base na análise dos resultados do grupo IND e CL, cujos valores do grupo CL se mostraram aumentado significativamente em relação ao IND. Interpretando apenas o valor aumentado da PCR do grupo CL, ele não teria grande valor, uma vez que o exame clínico não demonstrando sintomas ou sinais de descompensação cardíaca, mas, principalmente as alterações do ECG, no grupo CL já demonstram não haver cardiopatia grave. Na ausência destes dois elementos e sorologia para Chagas positiva, talvez a PCR aumentada pudesse acenar para a existência de cardiopatia. No entanto, em um indivíduo com a forma indeterminada da doença de Chagas (IND), um valor de PCR aumentado deveria ser interpretado como a provável ocorrência de

cardiopatias, previamente aos outros exames ainda normais. Desta forma, os resultados podem estar contribuindo como marcador precoce da existência da cardiopatia chagásica crônica.

No estudo de López e col 2006, os autores concluíram que a PCR estaria relacionada à presença de insuficiência cardíaca, pois esteve aumentada apenas nos casos de maior gravidade da cardiopatia, ocorrendo tardiamente. Tais autores avaliaram a interleucina 6 nos mesmos doentes e afirmaram que esta funcionaria como marcador de progressão da doença com maior acuidade que a PCR. Os resultados do presente estudo foram, em parte, diferentes dos relatados e interpretados por López e col, em 2006. Assim, novos estudos devem ser realizados com os mesmos objetivos com a finalidade de se definir tal controvérsia, uma vez que não parece haver diferenças metodológicas que por si só justifiquem tais diferenças.

Na Tabela 2 e Figura 4 e, pormenorizadamente nas Tabelas 7, 8, 9 e 10, também, encontram-se os resultados em relação aos valores da PCR e o gênero dos indivíduos dos diferentes grupos. Estes resultados para as mulheres é o espelho dos resultados para os valores totais. No entanto, para os homens estes valores só correspondem aos totais nos grupos CG e CSC. Assim, a PCR deveria funcionar como marcador de cardiopatia chagásica apenas para as mulheres e, para os homens, apenas como marcador de gravidade da cardiopatia. A literatura médica sobre a doença de Chagas é quase unânime em considerar que esta doença, principalmente a cardiopatia, é mais grave no homem (Zicker, 1990; Pereira-Barreto et al., 1993). O estudo de López e col 2006 demonstrou o contrário do achado do presente estudo, uma vez que os autores encontraram um predomínio de homens nas formas mais graves da cardiopatia chagásica, onde estavam os valores mais elevados da PCR. Embora não tenham encontrado significância estatística, o dado ganhou valor por estar em acordo com a literatura de que a cardiopatia chagásica é mais freqüente e mais grave em homens do que em mulheres.

Sendo assim, o resultado gerou controvérsia e deve ser certificado com uma amostragem maior e, talvez, com indivíduos atendidos em outro local que não um hospital terciário, fora da região endêmica para a doença de Chagas. Outros estudos sobre esta

doença têm demonstrado diferenças entre amostras populacionais, tais como aqueles envolvendo a hipertensão arterial e a doença de Chagas (Guariento *et al*, 1998).

Nas Tabelas 3 e 4 a casuística foi separada em duas faixas etárias: menor que 40 anos e maior ou igual a 40 anos de idade. Esta divisão visou a valorizar a influência que a idade poderia ter nos valores da PCR, independente da causa deste aumento, como já salientado anteriormente. Na Tabela 4 estão distribuídos os indivíduos nas duas faixas de idade, por grupo, e observa-se que os abaixo de 40 anos são maioria nos grupos CT e IND e os maiores nos grupos CL, CG e CSC, confirmando os achados vistos na Tabela 1 e já discutido. Isto deve refletir o controle da doença de Chagas, nas suas principais formas de transmissão, gerando o envelhecimento da população com sorologia positiva para o *T. cruzi* e, conseqüentemente, o deslocamento para a direita da curva de gravidade da doença (Bertanha *et al*, 2008). Como os maiores valores da PCR foram encontrados nos grupos de cardiopatias mais graves (Tabela 2) já era esperado que estes estivessem mais concentrados nos indivíduos com idades mais avançadas, como se encontra pormenorizado nas Tabelas 3, 5 e 6.

Na Figura 3 estão colocados os resultados em relação aos valores da PCR em todos os indivíduos da casuística entre a faixa etária estudada. O que se observa é que houve uma distribuição destes valores de modo homogêneo abaixo da média em todas as idades. Isto significa que a amostra foi homogênea em relação a este parâmetro.

Os resultados do presente estudo envolvendo a PCR e a forma crônica cardíaca da doença de Chagas traz à tona os problemas relacionados a aquelas situações onde vários fatores podem estar envolvidos.

Fica difícil excluir aqueles que podem interferir no objetivo principal do estudo que foi o de atribuir à PCR o papel de marcador da cardiopatia chagásica. Isto é factível uma vez que esta proteína é entre aquelas relacionadas à fase aguda dos processos patológicos, a mais estável no soro ou no plasma, cujas técnicas de dosagem são mais padronizadas, reproduzíveis e facilmente disponíveis (Pepys *et al*, 2003). A associação desta proteína com as doenças cardiovasculares, principalmente isquêmicas, embora muito prováveis, ainda não é consenso entre os estudiosos como realmente verdade

(Donesh et al, 2004). O mesmo pode se dizer em relação à doença de Chagas, sendo que outros estudos envolvendo maior número de doentes, de áreas endêmicas diferentes, com a finalidade de reprodução de resultados e, assim, definir o real valor da PCR como marcador da cardiopatia chagásica crônica devam ser realizados. O fundamento de que a doença de Chaga é evolutiva, de caráter infeccioso, inflamatório, imunológico e isquêmico (Galhardo, 1999), com prováveis períodos de reagudizações e geração de novas lesões, associado à escassez de material disponível na literatura médica, mantém atraente este tema, devendo continuar a ser amplamente pesquisado.

No presente estudos existem algumas limitações que impede a conclusão incontestável de alguns pontos. Por exemplo, a casuística não foi definida quanto à presença de disfunção ventricular e, se presente, qual a frequência de insuficiência cardíaca. Este ponto seria muito interessante uma vez que estes dados já são conhecidos por aumentarem os valores da PCR (Pepys, 2003).

Os doentes poderiam ser avaliados pelo ecocardiograma, um exame objetivo na definição da presença e do grau de cardiopatia, como foi utilizado por López e col. 2006, e como tem sido orientação do Consenso sobre doença de Chagas do Ministério da saúde do Brasil (Who 2002) para classificação da cardiopatia chagásica crônica. Definir quais as outras etiologias responsáveis pelas cardiopatias no grupo CSC, com vistas a discutir fatores inerentes a cada uma delas que pudessem influenciar os resultados. Introduzir doentes com outras formas da doença de Chagas para verificar possíveis diferenças na PCR, uma vez que, embora os mecanismos fisiopatológicos básicos sejam os mesmos, esta doença é polimórfica em todos os seus aspectos. Uma maior casuística poderia talvez originar resultados diferentes. Todavia, mesmo com algumas limitações pode-se concluir que a PCR deva ser vista como um provável marcador da cardiopatia chagásica crônica.

6- CONCLUSÃO

A Proteína C - Reativa (PCR):

- Encontra-se em valores maiores que os de referências na forma crônica cardíaca da doença de Chagas.
- Pode ser considerada como um marcador da evolução da doença de Chagas para a forma crônica cardíaca.
- Não deve ser considerada marcador da forma crônica cardíaca grave da doença de Chagas.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acquatella H, Catalioti F, Gómez-Mancebo JR, Davalos V, Villalobos L. Long-term control of Chagas disease in Venezuela: effects on serologic findings, electrocardiographic abnormalities and clinical outcome. **Circulation** 1987/1989; 76: 556 - 62.

Almeida EA, Curti HJV, Couto OC, Oliveira MAP, Santos MAL, Carvalhal SS. Doença de Chagas em pacientes acima de 60 anos. Análise de 10 casos necropsiados com ênfase à cardiopatia. *In: Anais da II Reunião Anual em Pesquisa Aplicada em Doença de Chagas, Araxá, p. 34, 1985.*

Andrade JA, Andrade S. Patologia. **In: Brener Z, Andrade Z. Trypanossoma cruzi e Doença de Chagas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1979.**

Andrade Z. Immunopathology of Chagas Disease. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz** 1999; 94 :71-80.

Arteaga, Fernandez E, Barreto ACP, Ianni, B.M. Relação entre arritmia ventricular e função cardíaca na doença de Chagas. **Arq. Bras. Cardiol** 1997 / 1989; 52: 189-92.

Barral-Netto M. *Trypanosoma cruzi* e a doença de Chagas. 2ª ed. **Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p 379-388; 2000.**

Bertanha L, Guariento M E, Magna LA, Almeida E A. Caracterização clínico-laboratorial de chagásicos hipertensos sem insuficiência cardíaca manifesta Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical mar-abr, 2008; 41(2): 163-168.

Betarello A, Pinotti HW, Gama HABR. A Fisiopatologia da atividade motora do tubo digestivo em pacientes com doença de Chagas. **In: Raia AA ed. Manifestações digestivas da doença de Chagas. São Paulo: Sarvier Editora de livros Médicos; 85-95 1983.**

Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G, Altamura S, Caligiuri G, Moaco C, Rebuzzi, A G, Gilberto G, Maseri A. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. **Circulation**, 1996; 94: 874 - 877.

Brasil Ministério de Saúde de Oficina de Prioridades de Pesquisas em Doença Negligencia. Bol **Informativo**, ano 1, n2, p. 6-10, disponível em: WWW.portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/novomodelonegligenciadas.pdf. Acesso em: 20 de Setembro 2006.

Brener Z, Gazzinelli R T. Immunological control of *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. **Int Arch Allergy Immunol**, 1997, 114: 103-110.

Brodskyn CI Barral-Netto M. Resposta imune humana na doença de Chagas. **In:** Brener Z, Andrade Z, Barral-Netto M. *Trypanosoma cruzi* e a doença de Chagas. 2ª ed. Rio de Janeiro: **Guanabara Koogan**; p. 171-176, 2000.

Bulló M, Garcia-Lorda P, Megias, L, Salas-Salvadó J. - Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. **Obesity Research**, 11 (4); 525-31, 2003.

Chagas C, - "Nova Tripanosomíase Humana. Estudos sobre a Morfologia e o Ciclo Evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n., gênero, n., espécie, Agente Etiológico de Nova Entidade Mórbida do Homem". **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. Rio de Janeiro, 1909; 1: 159-218.

Chagas C, Villela E. Forma cardíaca da Tripanosomíase Americana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz** 1922; 14:5-61.

Connon JG. Inflammatory cytokines in nonpathological states. **News Physiol Sci**; in press, 2000.

Costa J, Jurberg J, Barth MO. Estudos morfológicos de *Cavernícola lenti* Barrett & Arias, 1985 (Hemiptera, Reduviidae, Triatominae). **Mem Inst Oswaldo Cruz** 1991; 86: 247-263.

Coura JR. Tripanossomíase, doença de Chagas; **Ciência e Cultura**; 2003, Vol.55 nº 1. São Paulo- Jan/May.

Coutinho C M LM, Cavalcanti GH, Bonaldo, MC, Mortensen RF, Araujo-Jorge TC. *Trypanosoma cruzi*: Detection of a surface antigen cross-reactive to human c-reactive protein. *Experimental Parasitology* 1998; 90: 143-153.

Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GDO, Pepys MB, Gudnason V, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 1 April 2004; V. 350 (14):pp1387-97

Dias JCP. O controle da doença de Chagas no Brasil. In: O Controle da Doença de Chagas nos Países do Cone Sul da América. Uberaba: RSBMT, cap. 4, pp. 145-250; 2002.

Dias JC, Schoefield CJ. Controle da transmissão transfusional da doença de Chagas na Iniciativa do Cone Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** 1998, 31: 373 -383.

Dias JCP, Coura JR. Epidemiologia. **In:** Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Ed. Fiocruz 1997; p. 33-65.

Dias JCP, Brener S. Chagas disease and blood transfusion, Mem. **Inst. Oswaldo Cruz**; 1984 79 (Supl.): 139-147.

Dias JCP, Silveira AC, Schofield CJ. The impact of Chagas disease control in Latin America: a review. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**. 2002, 97: 603-612.

Dias JCP. A história natural da doença de Chagas. **Revista de Patologia Tropical** 2000; v. 29, Jan/Jun, p. 47-67.

Dias JCP. Epidemiology of Chagas disease. **In:** Wendel, S, Brener Z, Camargo ME, ;Rassi A. (Orgs.). *Chagas disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical Medicine*. São Paulo, ISBT Brazil, 1992.

Dinarelllo CA. Cytokines as endogenous pyrogens. **J Infect Dis** 1999; 179: S294- S 304.

Dos Reis GA. Cell-mediated immunity in experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *Parasitol today* 1997; 13: 335-342.

Ferreira AW, Ávila SLM. **Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-imunes**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.

Ferreira MS, Borges AS. Some aspects of protozoan infections in immunocompromised patients – A review. **Memória Inst ituto Oswaldo Cruz**, 2002; 97 (4): 443-457.

Galhardo MCG, Martins IA, Moreno AH, Xavier SS, Coelho JMC, Vasconcelos ACY, Ribeiro RS et al. Reativação da infecção por *Trypanosoma cruzi* em paciente com síndrome da imunodeficiência adquirida. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical** 1999; 32: 291-294.

Ganter U, Arcone, R, Toniatti C, Morrone G, Ciliberto G. Dual control of C-reactive protein gene expression by IL-1 and IL-6. **Embo Journal** 8 pp. 3773–3779; 1989.

Gewurz H, Zhang XH, LINT TF. Structure and function of the pentraxins. **Current Opinion in Immunology** 1995; 7 pp. 54–64.

Guariento ME, Orosz JEB, Gontijo JAR. Interação clínica entre moléstia de Chagas e hipertensão arterial primária em um serviço de referência ambulatorial. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia* 70: 431-434, 1998.

Haidari M et al. Evalutuation of C-reactive protein, a sensitive marker of inflammation, as a risk factor for stable coronary artery disease. **Clin Biochem**; 2001; 34 (4): 309-15.

Haverkate F. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. **Lancet** 1997; 349: 462-66.

Higuchi ML, Brito T, Reis M, Bellotti G, Pereira-Barretto AC, Pileggi F. Correlation between *T. cruzi* parasitism and myocardial inflammation in human chronic chagasic myocarditis. Light microscopy and immunohistochemical findings. *Cardiovasc Pathol* 1993; 2: 101-106.

Lana M, Tafuri WL. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. In: **Parasitologia Humana**. 10. ed. São Paulo: **Atheneu**; p. 73-96 ;2000.

Lanni BM, Mady C. Forma indeterminada da doença de Chagas. Mitos vs fatos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, .68 (3) 1997.

Linhares AX. Vetores do *Trypanossoma cruzi*. **Revista de Patologia Tropical**; (29) 83-89; 2000.

Lopes ER, Chapadeiro E. Anatomia Patológica na Doença de Chagas Humana. in: DiasJCP, Coura JR. *Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas*. Rio de Janeiro, Fiocruz, pp. 67-84, 1997.

López L, Arai K, Gimenez E, et al. C-Reactive Protein and Interleukin-6 Serum Levels Increase as Chagas Disease Progresses Towards Cardiac Failure Revista Espanhola de Cardiologia. Jan; 2006; 59 (1):50-6.

Macedo AM, Pena SDJ. “Genetic variability of *Trypanosoma cruzi*: implication for the pathogenesis of Chagas diseases”. **Parasitol. Today**; 14: 119- 123, 1998.

Macedo VO. Forma indeterminada da doença de Chagas. **in: Clínica e terapêutica da doença de Chagas**. Ed. Fiocruz. P. 135-152, 1997.

Mady C, Barreto AC, Stolf N, Lopes EA, Dauar D, Wjngarten M. Biopsia miocárdica na forma indeterminada da doença de Chagas. **Arq Bras Cardiol**. 36: 387-90; 1994 - 1981.

Matsubara M, Namioka K, Katayose S. Decreased plasma adiponectin concentrations in women with low grade C-reactive protein elevation. **Eur J Endocrinol**, 148: 657-62, 2003.

Medrano NM, Luz MR, Cabello PH, Tapia GT, Van Leuven F, Araujo-Jorge TC. Acute Chagas’ disease: plasma levels of alpha- 2-macroglobulin and C-reactive protein in children under 13 years in a high endemic area of Bolivia. **J Trop Pediatr**.1996; 42: 68-74.

Medrano-Mercado N, Luz MR, Torrico F, Tapia G, Van Leuven F, Araujo-Jorge TC. Acute-phase proteins and serologic profiles of chagasic children from an endemic area in Bolivia. **Am J Trop Med Hyg**. 1996;54:154-61.

Milei J, Storino R A, Matturil, Rossi L. Anatomico-clinical and epidemiologic study of Chagas disease; **Pathologica** 88: 117-27, 1996.

Milo O, Cotter G, Kaluski E, Brill A, Blatt A, Krakover R, et al. Comparison of inflammatory and neurohormonal activation in cardiogenic pulmonary edema secondary to ischemic versus nonischemic causes. **Am J Cardiol**. 2003; 92:222-7.

Moncayo A. Chagas disease: Current epidemiological trends after The interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone Countries. **Mem Inst. OSWALDO CRUZ**, 98, 577-591; 2003.

Moncayo RHB, Lindquist M, Egbertis ACG. An ABC of drug related problem. *Drug Saf.*; 22, (6) 415- 423; 2000.

Monteon, V.M. American trypanosomosis: *in situ* and generalized features of parasitism and inflammation in a murine model. *Exp. Parasitol.* 83, 267–274; 1996.

Padovan W. Manifestações neuroviscerais na moléstia de Chagas. **Arq. Courandi Cardiolgia**, 9: 16-32, 1978.

Pasceri V, Willerson JT, Yeh ETH. Direct proinflammatory effect of c- reactive protein on human endothelial cells. **Circulation**, 102: 2165-2168, 2000.

Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3 RD, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. **Circulation** 107: 499-511, 2003.

Pepys MB, Hirschfield GM. C- reactive protein: a critical update. **J Clin invest.**; 111: 1805 – 12, 2003.

Pessoas SB, Martins AV. Doença de Chagas. **In: Parasitologia Médica**. 11^a.Ed. Guanabara Koogan. P. 143-163; 1982.

Postan, M., Dvorak, J.A. and McDaniel, J.P. (1983) Studies of *Trypanosoma cruzi* clones in inbred mice I. A comparison of the course of infection of C3H/HEN-mice with two clones isolated from a common source. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 32, 497–506

Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C- reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 Diabetes Mellitus. **JAMA**, 286(3): 327-34, 2001.

Raia AA, Gama HABR. Megacólon. **in: RAIA AA ed. Manifestações digestivas da doença de Chagas**. São Paulo: **Sarvier Editora de Livros Médicos**, 207-216, 1983.

Rassi A, et al. Tratamento específico da doença de Chagas. Uma visão de 1962 a 1999. **Revista de Patologia Tropical**, v. 29, jan/jun, p.157-163; 2000.

Reis MM, Higuchi ML, Benvenuti LA. An in situ quantitative immunohistochemical study of cytokines and IL-2R+ in chronic human chagasic myocarditis: correlation with the presence of myocardial *Trypanosoma cruzi* antigens. **Clin Immunol Immunopath**; 83: 165-172; 1997.

Rey L. Parasitologia. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 161-178, 2002.

Riarte A, Luna C, Sabatiello R, Sinagra A, Schiavelli R, Rissio A, Maiolo E, Garcia Mm, Jacob N, Lauricella M, Segura El, Vazquez M. Chagas' disease in patients with kidney transplants: 7 years of experience Clin Infect Dis. 29:561-567, 1989-1996.

Ribeiro ALP, Rocha MOC. Forma indeterminada da doença de Chagas. In: *Trypanosoma cruzi e doença de Chagas*. Guanabara Koogan. 2ª. Ed .p.246-265; 2000.

Ridker PM, Hennekens CH, Buring J E. C - Reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N. Engl. J. Med.**, 342: 836- 843; 2000.

Ridker PM, Glynn R J, Hennekens C H. C- reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. **Circulation**; 97: 2007-2011, 1998.

Roggero E, Perez A, Tamae-Kakazu M, Piazzon I, Nepomnaschy I, Wietzerbin J, Serra E, Revelli S, Bottaso O. Differential susceptibility to acute *Trypanosoma cruzi* infection in BALB/c and C57BL/6 mice is not associated with a distinct parasite load but cytokine abnormalities. **Clin Exp Immunol**. 28: 421-428, 2002.

Rossi MA, Bestetti RB. The challenge of chagasic cardiomyopathy. The pathologic roles of autonomic abnormalities, autoimmune mechanisms and microvascular changes, and therapeutic implications. **Cardiology**. 86 (1): 1-7. 1995; Review.

Sato y, Takatsu Y, Kataoka k, Yamada T, Taniguchi R, Sasayama S, et al. Serial circulating concentrations of C- reactive protein, interleukin IL-4, and IL-6 in patients with acute left heart descompensation. *clinical cardiology* , 1999; 22: 811-3.

Schultz DR, Arnold PI. Properfies of four acute phase proteins: C- reactive, serum amyloid a protein, a₂-acid glycoprotein, and fibrinogen. *Semin. Arthritis Rheum*, 20: 129-47, 1990.

Soares MBP e Ribeiro Santos R. Immunopathology of cardiomyopathy in the experiemntal Chagas disease. **Mem Inst Osw Cruz**. 94, Suppl I: 257-262, 1999.

Storino R, Auger S, Wojdyla D, Urrutia MI, Jörg M. Análisis estadístico multivariado de la enfermedad de Chagas en 2260 pacientes. Premio “Fundación Pedro Cossio”. Otorgado por la Sociedad Argentina de Cardiología. *Revista Argentina de Cardiología* 66:17-43, 1998.

Tafuri WL. Pathogenesis of lesions of the autonomic nervous system of the mouse in experimental acute Chagas' disease. Light and electron microscope studies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.** v.19 (3), p.405-417, 1970.

Tafuri WL. Patogenia da doença de Chagas. **Rev. Instituto. Medicina. Tropical. S. Paulo**, 29: 194-199, 1987.

Tillett WS, Francis T. Sorológicos em reações com pneumonia uma fração nonprotein somáticas do pneumococo. *J Exp Med* a nonprotein somatic fraction of pneumococcus. *J Exp* 1930; 52 : 561-71. 1930; 52: 561-71.

Urbina JA, Docampo R. Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. **Trends in Parasitol.** 19: 495-500; 2003.

Veiga, A. A; Fiorillo, A. M. A Proteína C- reativa na forma crônica da moléstia de Chagas. Departamento de Clínica Médica- Falculdade de Medicina de Ribeirão Preto- S. Paulo “O Hospital “vol. 53 (4): 112- 121; 1 958.

Villacorta H, Masetto AC. Mesquita, ET. Proteína C- reativa: Marcador Inflamatório com valor prognóstico em pacientes com insuficiência cardíaca descompensada, Universidde Federal Fluminense- Falculdade de Ciências Médicas/ Departamento de Emergência do Hospital Pró- Cardíaco – Rio de Janeiro,RJ; 2006.

World Health Organization Report of the control of Chagas disease. Report a Who Expert Committee . Geneva, **WHO Technical Report Series**, 905:85; 2002.

ZICKER, F. et al. Exercise electrocardiogram tests in manual workers with and without antibodies to *trypanosoma cruzi*: a population-based study. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hygiene* 84: 787 – 91, 1990. 92.

8- ANEXOS

ANEXO 1

Termo de consentimento livre e esclarecido

“CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS SÉRICOS DE PROTEÍNA C-REATIVA E AS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS.”

Equipe de Pesquisa: Conceição Aparecida da Silva

Prof^o. Dr. Eros Antônio de Almeida

Prof^a. Dra. Maria Elena Guariento

Justificativa

Esse estudo tem como objetivo avaliar e comparar a concentração sanguínea de uma proteína inflamatória, chamada proteína -C reativa, entre **pacientes portadores da doença de Chagas**, com diferentes formas e gravidade, paciente cardiopatas não chagásicos, e indivíduos sadios.

Procedimentos

Se você concordar em participar, haverá um registro de seus dados (idade, sexo, peso, altura, etc..), uma entrevista com um questionário para coleta de informações clínicas (como por exemplo, histórico de doenças na família). Haverá também uma coleta de sangue, num total de 10 ml, para quantificação da proteína - C reativa, que será analisada no laboratório da Unidade Metabólica do HC-UNICAMP.

Riscos

Ao participar da pesquisa, você não estará correndo nenhum risco de vida. Haverá a coleta de 10 ml de sangue que não acarreta risco algum à sua saúde. A coleta será realizada após a consulta previamente agendada no Ambulatório do GEDoCh do Hospital das Clínicas-HC da UNICAMP.

O material utilizado para coleta será totalmente descartável, excluindo a possibilidade de qualquer contaminação. Os exames descritos acima são seguros e não trazem risco à saúde.

Você receberá tratamento médico e indenização por parte do órgão financiador **caso haja danos que os justifiquem, causados diretamente pela pesquisa.**

Benefícios

Você será informado (a) sobre todos os resultados dos exames realizados, além de contribuir para possíveis projetos que visem a melhora da qualidade de vida, tanto no aspecto imunológico, como psicológico.

Participação e Afastamento

Sua participação é voluntária, não havendo ajuda de custo relativa a transporte ou alimentação. Além disso, você poderá deixar de participar da pesquisa a qualquer momento, sem penalização ou prejuízo à sua saúde.

Sigilo

Os resultados obtidos serão mantidos em sigilo e sua identidade não será divulgada em apresentações ou publicações.

Telefones para contato

Se você tiver alguma dúvida, comentário ou reclamação, pode entrar em contato com a equipe de pesquisa:

- Prof^o. Dr. Eros Antônio de Almeida - Departamento de Clínica médica - F: (19) 35217878
- Profa. Dra. Maria Elena Guariento - Departamento de Clínica médica - F: (19) 35217878
- Conceição Aparecida da Silva - Laboratório de Unidade Metabólica - F: (19) 35217155
- ou com a **Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa: F: (19) 3521-8936**

Consentimento:

Eu _____, data nasc. ____/____/____ RG _____

Residente

à _____,
estou suficientemente informado e concordo em participar desta pesquisa.

Assinatura do voluntário

Data

Assinatura do pesquisador

ANEXO 2

Title: “Evaluación de los niveles plasmáticos de la Proteína C-Reactiva en pacientes Chagásicos en las diferentes formas clínicas de la enfermedad”

Resumen

Introducción y objetivos: La enfermedad de Chagas es causada por la infección por el *Trypanosoma cruzi* y aún permanece como un importante problema de salud pública en países en vías de desarrollo en América Latina. El comprometimiento cardíaco puede llevar a anomalías de la micro circulación y a disfunción cardíaca crónica progresiva. Este trabajo tuvo como objetivo establecer la relación entre la disfunción cardíaca crónica y los niveles serológicos de proteína C reactiva, como un posible indicador de la inflamación y de la progresión de la Enfermedad de Chagas.

Métodos: 136 individuos fueron evaluados por el Grupo de Estudios del Mal de Chagas (GEDoCh). Estos individuos fueron inicialmente divididos de acuerdo a patrones de CD Cardíacos o Indeterminados y posteriormente el Grupo de patrón Cardíaco fue dividido en cardiopatía severa y moderada. La proteína C reactiva (CRP) fue cuantificada por inmunonefelometría, utilizando kits altamente sensibles.

Discusión: El análisis de la cuantificación de CRP en el suero, cuando estratificada en las diferentes presentaciones clínicas de CD demostró que el SC y el NCC tienen estadísticamente niveles más elevados de CRP que otros grupos ($p < 0.05$). En enfermedades cardiopáticas más intensas (SC y NCC), CRP alcanzó niveles más altos cuando comparada al grupo control, UND y MC, incluso cuando la muestra fue estratificada de acuerdo a la edad < 40 y > 40 años).

Hubo una correlación lineal entre edad y CRP, mostrando que mientras mayor la edad de los individuos en la población global, más elevados fueron los niveles de CRP.

Conclusión: Estos datos refuerzan la asociación de un episodio de inflamación crónica en el desarrollo de disfunción cardíaca. Aunque CRP no esté específicamente relacionada a CD, puede ser un indicador factible de la evolución de la enfermedad de Chagas para etapas más avanzadas.

Palabras Claves: Enfermedad de Chagas. Inflamación. Proteína C-reactiva. Disfunción Cardíaca.

Abreviaciones:

CD: Enfermedad de Chagas (Chagas disease)

CRP: proteína C-reactiva (C-reactive protein)

CT: control

IL: interleucina (interleukin)

MC: cardiopatía moderada (mild cardiopathy)

NCC: cardiopatía no chagásica (non-Chagas cardiopathy)

SC: cardiopatía severa (severe cardiopathy)

TNF: factor de necrosis tumoral (tumoral necrosis factor)

UND: Enfermedad de Chagas indeterminada (undetermined Chagas Disease)

- Introducción

La Enfermedad de Chagas (en inglés CD) es una infección causada por un protozoo flagelado denominado *Trypanosoma cruzi*. En general se caracteriza por una etapa aguda de señales y síntomas inespecíficos que pueden desembocar en una fase crónica en la cual es posible tener manifestaciones cardíacas y/o afecciones gástricas.

Según algunos autores, la evolución de la enfermedad de Chagas hacia la última etapa se observa en aproximadamente 30% de los individuos infectados y la frecuencia de las manifestaciones cardíacas varía considerablemente. Datos de la Organización Mundial de la Salud indican que la prevalencia de la enfermedad de Chagas en América del Sur es de 16 millones de personas infectadas por el parásito, de las cuales cerca de 2 a 3 millones viven en Brasil.

Los pacientes con comprometimiento cardíaco generalmente desarrollan un cuadro de arritmias y/o insuficiencia cardíaca y estudios muestran que el proceso inflamatorio puede tener un papel protagonista en la patogenia de la disfunción cardíaca observada en los portadores crónicos del parásito¹.

Aún existe mucha controversia acerca de las lesiones patológicas encontradas en los tejidos del corazón de los enfermos del Mal de Chagas. Estas pueden estar relacionadas a la manutención de la infección y/o a antígenos o a una inadecuada respuesta inmunológica.

La carditis desarrollada en tales casos lleva a una fibrosis, hipertrofia del miocardio y a anomalías de la micro circulación que, en conjunto, pueden explicar la evolución de la enfermedad hacia una disfunción cardíaca progresiva²⁻⁴. Durante la etapa aguda de la infección, la respuesta inmunológica celular es muy importante en el control de las formas replicativas de los protozoarios amastigotes intracelulares.

En la primera semana de la etapa de infección ocurre una activación de la célula policlonal B y los parásitos inducen una producción de quemoquinas efectuada por los macrófagos¹.

Esta intensa respuesta a través de la producción de quemoquinas, TNF- α e IL-12, conduce a la activación de células CD4+ y CD8+ T capaces de producir INF- γ , y consecuentemente, a la destrucción de los protozoarios por el óxido nítrico secretado por los macrófagos^{5,6}.

Es importante destacar la participación del óxido nítrico proveniente de los macrófagos en el control del crecimiento de los parásitos en la etapa inicial de la enfermedad. Simultáneamente ocurre una inmunodepresión a medida que la producción de IL-2 se reduce y alrededor de la sexta semana de infección se alcanza la máxima parasitemia⁷. Por otro lado, varias citoquinas tales como IL-10 e IL-4 y TGF- β tienen un importante papel

como inhibidores de las células Th1, lo que resulta en una interferencia en la habilidad del hospedero para lidiar con la infección⁸.

Aunque las quemoquinas y citoquinas tienen una función clave en la activación del proceso inflamatorio, necesario para el control parasitario, una inflamación excesiva o incontrolable puede estar asociada a formas severas y crónicas de la Enfermedad de Chagas⁹⁻¹². IL-6 está involucrado en la patogénesis y evolución de enfermedades cardiovasculares. De hecho, se ha encontrado una correlación entre niveles séricos elevados de IL-6 y una disfunción severa del ventrículo izquierdo. Como IL-1, IL-6 y TNF- α son factores estimuladores de proteínas inflamatorias de fase aguda, sintetizadas por el hígado y están posiblemente también relacionadas a respuestas inflamatorias agudas del miocardio afectado por la Enfermedad de Chagas, la hipótesis levantada en este trabajo es que la producción de la proteína C Reactiva (CRP) podría ser usada como un marcador en el monitoreo de la evolución de la disfunción cardíaca en los casos de enfermos del Mal de Chagas^{8,13-15}.

- Pacientes y Métodos

En este trabajo, el Grupo de Estudios del Mal de Chagas del Hospital de las Clínicas de la Universidad Estatal de Campinas (GEDoCh), Facultad de Ciencias Médicas evaluó 136 individuos portadores de la enfermedad.

Todos los pacientes, con edades entre 20 y 60 años, mantenían un seguimiento regular en el mencionado hospital y presentaban por lo menos dos resultados serológicos positivos para infección por tripanosoma cruzi. Para un estudio comparativo fueron constituidos grupos de control formados por individuos saludables y pacientes cardíacos con tests serológicos negativos para CD, ambos grupos con edades similares. El Proyecto de Investigación fue sometido al Comité de Ética local y una vez informados de los objetivos y procedimientos del estudio en curso, todos los pacientes firmaron un Término de Consentimiento.

Los pacientes con Mal de Chagas fueron divididos en grupos de acuerdo al nivel de gravedad de las manifestaciones clínicas y al patrón de clasificación de la enfermedad. De esta forma, los individuos fueron, al inicio, divididos de acuerdo a patrones Cardíacos o

Inespecíficos para Mal de Chagas. Los criterios adoptados para clasificación por CD inespecífico fueron (1) la serología positiva para CD, (2) pacientes asintomáticos, (3) radiografía de tórax normal, (4) electrocardiografía normal y (5) ausencia de comprometimiento del esófago y del colon.

A seguir, el grupo Cardíaco fue dividido de acuerdo a la clasificación de su cardiopatía: moderada y severa.

En el primer grupo fue encontrada por lo menos una de las siguientes características: bloqueo atrio ventricular de primer grado, anormalidades en la conducción intra ventricular definidas como bloqueo completo de rama derecha y/o hemibloqueo anterior izquierdo; extrasístole atrial aislada y unifocal ; extrasístole ventricular aislada y unifocal.

En las cardiopatías severas, por lo menos una de los siguientes hallazgos: bloqueo atrio ventricular de segundo o tercer grado, extrasístole atrial multifocal , extrasístole ventricular multifocal, fibrosis atrial, presencia de disfunción sistólica, dilatación cardíaca, algún grado de disnea , evidencia de enfermedad trombo embólica con origen de embolia cardíaca .

Fueron colectadas muestras de sangre de todos los individuos y el suero fue mantenido a una temperatura de -20°C. La Proteína C-Reactiva (CRP) fue cuantificada por el metodo de inmunonefelometría, utilizando kits altamente sensibles (Dade Behring, Germany) de acuerdo a los protocolos correspondientes.

Para las comparaciones de variables categóricas entre los grupos fueron utilizados los Tests Q-Square y Fisher. Los Tests Mann-Whitney y Kruskal-Wallis fueron adoptados para la comparación de variables numéricas entre dos y tres grupos respectivamente.

Fueron también analizadas las variables numéricas a través del Test de Correlación Spearman, debido a que no fue posible caracterizar ninguna distribución normal.

Para las comparaciones entre los niveles CRP en los cinco grupos analizados, con ajustes de género y edad, fue utilizado el Test de Covarianza ANCOVA y también el Test Tukey-Kramer. Debido a la ausencia de distribución normal o a la presencia de valores asimétricos o discrepantes, las variables fueron estratificadas.

- Resultados

Las características de la población estudiada son presentadas en la tabla 1. El grupo no presentó ninguna diferencia significativa en género, sin embargo, se observó que, exclusivamente entre las mujeres, los pacientes SC eran mayores que los CT, UND y NCC, con significancia estadística.

Los valores medios de CRP en mujeres (0.212 ± 0.286) fueron mayores que los observados en los hombres (0.123 ± 0.176), pese a que no fueron de significancia estadística ($p > 0.05$) visto que todos los valores medios presentaron una gran variabilidad. El análisis de cuantificación CRP en el suero, cuando estratificado en la diferentes presentaciones clínicas del Mal de Chagas, mostró que el SC y NCC tienen niveles de más altos de CRP que otros grupos, con significancia estadística ($p < 0.05$).

A partir de esto, fue posible verificar la tendencia de aumento de la expresión CRP mientras el CD empeora, y en ambas enfermedades cardiopáticas más intensas (SC y NCC) el CRP alcanzó niveles más altos cuando comparado al grupo control, UND y MC, como muestra la tabla 2 y el gráfico 1. Estos resultados fueron observados aun cuando el grupo fue dividido según el género.

Los niveles CRP promedio se presentaron aumentados en las mujeres (0.24mg/ml) en comparación a los hombres (0.12mg/ml), sin embargo, no se encontró relevancia estadística en la comparación entre hombres y mujeres en la población total estudiada.

La edad promedio por género en la muestra total de individuos no fue estadísticamente diferente, hombres y mujeres con 43.5 y 40.7 años respectivamente (Mann-Whitney Test). Otra variable considerada en el análisis fue la influencia de la edad en la expresión de CRP.

La población total fue separada en individuos menores y mayores de 40 años con miras al establecimiento de un parámetro para el análisis por edad, y los niveles fueron 0.1mg/ml y 0.21mg/ml ($p = 0.001$), respectivamente, sugiriendo una estrecha correlación. De hecho, cuando el Coeficiente de Correlación de Spearman fue aplicado, se encontró una correlación lineal entre edad y CRP, mostrando que cuanto mayores eran los individuos en la población total, mas altos eran los niveles de CRP (Gráfico 2).

El CRP presentó valores medios superiores ($p < 0.0001$, Test Kruskal-Wallis) entre SC y grupos NCC en comparación con grupos CT, UND y MC, incluso cuando la muestra fue estratificada de acuerdo a la edad (<40 y >40 de cuarenta años).

Como se aprecia en la Tabla 3, hubo una predominancia de individuos CT y UND en la faja de edad menor de 40 años, mientras que arriba de los 40 años, los pacientes MC y SC fueron estadísticamente más frecuentes ($p < 0.001$, Test Q-Square).

Pese a estos hallazgos que sugieren la interferencia de la edad en los niveles CRP, el Análisis de Covarianza (ANCOVA) fue llevado a cabo comparando las variables en grupos ajustados por género y edad, y los CRP fueron más altos entre los SC y NCC cuando comparados con CT, UND y MC ($p < 0.001$). No hubo diferencia en los niveles CRP entre pacientes NCC y SC.

-Discusión

La disfunción cardíaca crónica ha sido considerada un estado de respuesta inflamatoria a largo plazo, con una notoria activación inmune y un balance muy sensible de los niveles de circulación de las citoquinas pro- y anti- inflamatorias.

Los principales mecanismos por los cuales las lesiones cardíacas pueden ser reguladas, a partir de un punto de vista inmune están relacionados a la activación del sistema inmune por estimulación antigénica directa. Esto puede ser observado en miocarditis agudas, en trasplante de corazón y en activación inmune debido a lesión cardíaca que puede provocar exposición antigénica capaz de desencadenar una respuesta del sistema inmune contra el tejido cardíaco, como se observa en un infarto del miocardio^{9,11,16}. Muchas citoquinas inflamatorias están presentes en el desarrollo de disfunción cardíaca crónica, tal como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), IL-1 β e IL-2^{9,10}. La mayoría de los estudios acerca de la relación entre las citoquinas pro-inflamatorias y la progresión de la disfunción cardíaca son limitados a pacientes con un cuadro de enfermedad sintomática o disfunción sistólica documentada. Sin embargo, el conocimiento de posibles marcadores importantes para el reconocimiento de individuos de alto riesgo de desarrollo de

disfunciones cardíacas, aún permanece en fase de investigación. Como se describe en otras formas de enfermedades crónicas del corazón la inflamación puede tener un papel preponderante en la evolución de cardiomiopatías chagásicas crónicas^{1,3,6,17,18}. El proceso inflamatorio que compromete el tejido del miocardio tiene como resultado una expresiva respuesta de fase aguda, la cual puede ser entendida como indicadores sensibles de la evolución de las cardiopatías chagásicas y, en última instancia, puede ser utilizada como factor de pronósticos^{12,15,19}.

La cuantificación de CRP en suero mostró niveles más altos en SC y NCC, cuando comparados con los otros grupos clínicos. La elevación de CRP en los casos más severos de cardiomiopatía sugiere que esto puede estar relacionado a la evolución de la lesión cardíaca. Una importante consideración a destacar es la observación de una correlación positiva entre el aumento de CRP y la edad.

Los grupos no presentaron ninguna diferencia relacionada al género, sin embargo, en el análisis fue verificado que, exclusivamente entre las mujeres, los pacientes SC eran mayores en edad que los pacientes de los grupos CT, UND y NCC.

A pesar de estas observaciones, es posible referirse a una probable inferencia de la hiperproducción CRP asociada a la evolución de la disfunción cardíaca crónica, visto que hay un considerable número de datos que sugieren un proceso de inflamación crónica en las formas más severas de disfunción cardíaca. El predominio de manifestaciones UND y MC entre los pacientes más jóvenes podría sugerir un patrón de progresión cronológica de la enfermedad.

Cuando los pacientes fueron estratificados de acuerdo a la edad, utilizando la faja de los 40 años, se observó que los grupos SC y NCC mantuvieron los niveles más altos de CRP en suero. De hecho, fue también comprobado a través del análisis de covarianza que, incluso con ajustes de edad y género, la producción CRP aumentó en individuos SC y NCC. Los datos disponibles muestran la elevación de IL-6 en circulación en el suero de pacientes con disfunción cardíaca. Hay incluso evidencias de que la correlación de IL-6 está relacionada al grado de disfunción ventricular izquierda.

Pese a la conocida y significativa expresión de IL-6 en la etapa aguda de la Enfermedad de Chagas, cuando los parásitos alcanzan los niveles más altos en la fase aguda de la infección, el papel de IL-6 en la evolución crónica hacia una cardiomiopatía chagásica aún no está bien determinado²⁰. Un aumento del riesgo de desarrollo de disfunción cardíaca crónica está asociado al aumento en el contenido de las células sanguíneas mononucleares en circulación, TNF α y IL-6.

En el mismo estudio fue demostrado que individuos con elevación CRP acusaron 2.2-doble de riesgo más alto de progresión de la disfunción cardíaca como también ocurrió en pacientes que presentaron aumento concomitante en los niveles IL-6, CRP, células sanguíneas mononucleares periféricas y TNF, lo que elevó el riesgo del desarrollo de disfunción cardíaca crónica en 4.1-doble^{14,21}. Estudios anteriores también mostraron la asociación de niveles TNF α e IL-6 en un grupo de pacientes seleccionado de forma aleatoria en la Asociación Clase Funcional I a III de Nueva Cork, cuando comparado a individuos saludables agrupados por edad. A partir de esta base, fue verificada una expresión más alta de TNF α e IL-6 a medida que la función cardíaca se deterioraba^{21,22}. López et al. analizaron, de forma análoga, el IL-6 en pacientes con el Mal de Chagas.

Fue posible observar que los niveles séricos IL-6 y CRP aumentaron en la etapa más avanzada de la enfermedad y hubo una correlación positiva del índice de masa del ventrículo izquierdo superior y la producción de IL-6¹⁵.

- Conclusion

Considerados en conjunto, estos datos refuerzan la asociación de un episodio de inflamación crónica en el desarrollo de una disfunción cardíaca. En este estudio concluimos que la elevación de CRP no puede ser asociada exclusivamente con la progresión de CD sino que debe ser entendida como parte de un papel más intrigante de la inflamación y de las citoquinas en la degeneración del miocardio, dentro de un cuadro de disfunción cardíaca. Aunque CRP no esté específicamente relacionada a CD, puede ser usada como un indicador factible de la evolución de la enfermedad de Chagas para etapas más avanzadas de disfunción cardíaca.

- References

1. Higuchi MD, Benvenuti LA, Reis MM, Metzger M. Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. *Cardiovascular Research*. 2003 Oct 15;60(1):96-107.
2. Carrasco Guerra HA, Palacios-Pru E, Dagert de Scorza C, Molina C, Inglessis G, Mendoza RV. Clinical, histochemical, and ultrastructural correlation in septal endomyocardial biopsies from chronic chagasic patients: detection of early myocardial damage. *American heart journal*. 1987 Mar;113(3):716-24.
3. Higuchi ML, De Moraes CF, Pereira Barreto AC, et al. The role of active myocarditis in the development of heart failure in chronic Chagas' disease: a study based on endomyocardial biopsies. *Clinical cardiology*. 1987 Nov;10(11):665-70.
4. 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 (New York, NY)*. 1992 Jul 17;257(5068):387-9.
5. Soares MB, Silva-Mota KN, Lima RS, Bellintani MC, Pontes-de-Carvalho L, Ribeiro-dos-Santos R. Modulation of chagasic cardiomyopathy by interleukin-4: dissociation between inflammation and tissue parasitism. *The American journal of pathology*. 2001 Aug;159(2):703-9.
6. Martin D, Tarleton R. Generation, specificity, and function of CD8+ T cells in *Trypanosoma cruzi* infection. *Immunological reviews*. 2004 Oct;201:304-17.
7. Briceno L, Mosca W. Defective production of interleukin 2 in patients with Chagas' disease. Purified IL-2 augments in vitro response in patients with chagasic cardiomyopathy. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1996 Sep-Oct;91(5):601-7.
8. Silva JS, Morrissey PJ, Grabstein KH, Mohler KM, Anderson D, Reed SG. Interleukin 10 and interferon gamma regulation of experimental *Trypanosoma cruzi* infection. *The Journal of experimental medicine*. 1992 Jan 1;175(1):169-74.

9. Chen D, Assad-Kottner C, Orrego C, Torre-Amione G. Cytokines and acute heart failure. *Critical care medicine*. 2008 Jan;36(1 Suppl):S9-16.
10. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation*. 2001 Apr 24;103(16):2055-9.
11. El-Menyar AA. Cytokines and myocardial dysfunction: state of the art. *Journal of cardiac failure*. 2008 Feb;14(1):61-74.
12. Teixeira MM, Gazzinelli RT, Silva JS. Chemokines, inflammation and *Trypanosoma cruzi* infection. *Trends in parasitology*. 2002 Jun;18(6):262-5.
13. Aliberti JC, Souto JT, Marino AP, et al. Modulation of chemokine production and inflammatory responses in interferon-gamma- and tumor necrosis factor-R1-deficient mice during *Trypanosoma cruzi* infection. *The American journal of pathology*. 2001 Apr;158(4):1433-40.
14. Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, et al. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2003 Mar 25;107(11):1486-91.
15. Lopez L, Arai K, Gimenez E, et al. [C-reactive protein and interleukin-6 serum levels increase as Chagas disease progresses towards cardiac failure]. *Revista espanola de cardiologia*. 2006 Jan;59(1):50-6.
16. Nian M, Lee P, Khaper N, Liu P. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circulation research*. 2004 Jun 25;94(12):1543-53.
17. Cardoni RL. [Inflammatory response to acute *Trypanosoma cruzi* infection]. *Medicina*. 1997;57(2):227-34.
18. Dutra WO, Rocha MO, Teixeira MM. The clinical immunology of human Chagas disease. *Trends in parasitology*. 2005 Dec;21(12):581-7.

19. Kanda T, Takahashi T. Interleukin-6 and cardiovascular diseases. Japanese heart journal. 2004 Mar;45(2):183-93.
20. Gao W, Pereira MA. Interleukin-6 is required for parasite specific response and host resistance to Trypanosoma cruzi. International journal for parasitology. 2002 Feb;32(2):167-70.
21. Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). Journal of the American College of Cardiology. 1996 Apr;27(5):1201-6.
22. Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ, Jr., et al. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. Circulation. 1998 Apr 14;97(14):1382-91.

Tabla 1- Distribución de Género y Edad de acuerdo a grupos⁺ en la población estudiada

Grupos	CT (n=29)	UND (n=30)	MC (n=30)	SC (n=28)	NCC(n=20)
Género. n (%)					
Mujeres	15 (51.7)	11 (36.7)	12 (40.0)	9 (32.1)	8 (40.0)
Hombres	14 (48.3)	19 (63.3)	18 (60.0)	19 (67.9)	12 (60.0)
Edad					
Mujer (media±?) (min-max)	34.90± 2.06 (24 – 60)	36.1± 2.21 (24 – 58)	43.40 ± 3.39 (23 – 63)	53.1± 2.23* (30 – 65)	39.9 ± 1.60 (26 – 60)
Hombre (media±?) (min-max)	37.90 ±3.43	40.3 ±2.80	44.20 ± 2.32	48.6 ± 2.23	46.3 ± 3.31

*p<0.001, Kruskal-Wallis Test (SC vs CT, SC vs UND y SC vs NCC).

⁺ Grupos: CT-Control; UND- Mal de Chagas no determinado; MC- Cardiopatía leve; SC- Cardiopatía severa y NCC- Cardiopatía no chagásica.

Tabla 2- Valores medios^{\$} de CRP distribuidos de acuerdo a grupos y género.

	CT	UND	MC	SC	NCC
Total	0.052 (0.008)	0.048 (0.005)	0.102 (0.030)	0.311 (0.047)*	0.345 (0.080)*
Género					
Mujer	0.047 (0.01)	0.051 (0.009)	0.175 (0.07)	0.484 (0.093)*	0.470 (0.145)*
Hombre	0.056 (0.014)	0.047 (0.007)	0.054 (0.009)	0.228 (0.044)*	0.261 (0.09)*

^{\$} () SEM.

*p<0.0001 (SC vs MC, SC vs UND, SC vs CT, NCC vs MC, NCC vs UND, NCC vs CT)

Tabla 3- Distribución de individuos reclutados, de acuerdo a la faja de edad, grupos clínicos y al promedio de nivel CRP.

Grupo	<40 años	>40 años
CT	18* (0.04±0.007)	11 (0.07±0.019)
UND	18* (0.05±0.007)	12 (0.04±0.008)
MC	9 (0.08±0.020)	21* (0.11±0.041)
SC	4 (0.31±0.195) [§]	24* (0.31±0.047) [§]
NCC	7 (0.30±0.113) [§]	12 (0.49±0.179) [§]
n (CRP±SEM mg/dl)	56 (0.10±0.020)	80 (0.21±0.038)

*Individuos CT y UND fueron más frecuentes en la faja de edad de menos de 40 años, mientras que arriba de los 40 hubo predominio de pacientes MC y SC ($p < 0.001$, Test Q-Square).^{§EIE}

El CRP presentó valores medios superiores ($p < 0.0001$, Kruskal-Wallis Test) entre grupos SC y NCC comparados con grupos CT, UND y MC.

Figure 1

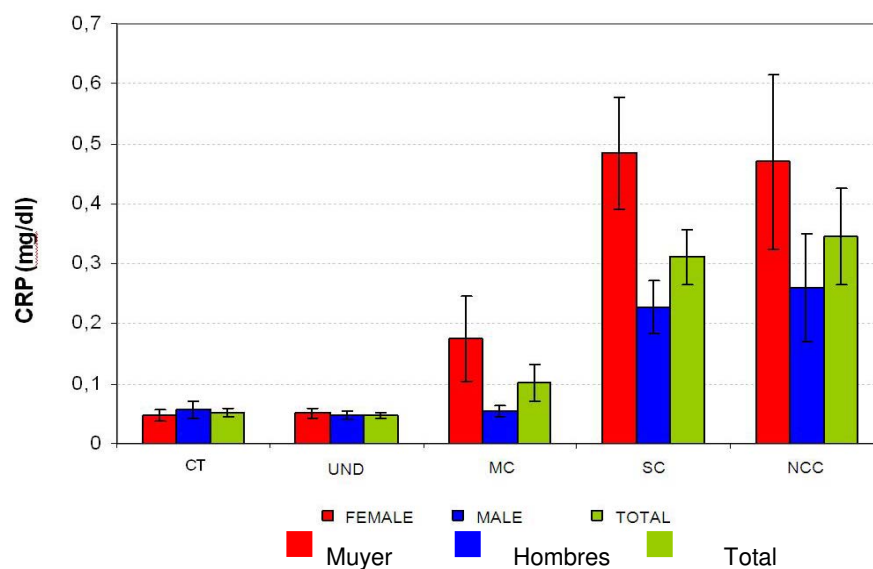


Gráfico1- Análisis cuantitativo de CRP y SEM, estratificado por género y patrón clínico de CD, en comparación con individuos de control (CT) y cardiopatías severas de origen no chagásico (NCC).

Figure 2

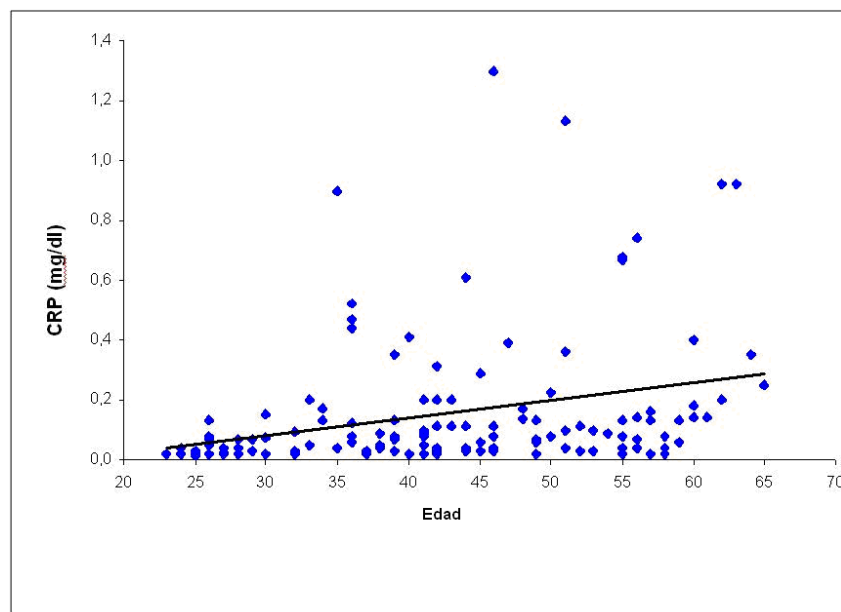


Gráfico 2- Correlación Lineal entre niveles de CRP y la edad en el grupo total estudiado.