



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde:
Infectologia e Medicina Tropical

Angela Braga Rodrigues

**AVALIAÇÃO DA PERMEABILIDADE INTESTINAL EM PACIENTES COM
CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA**

Belo Horizonte - MG
2018

Angela Braga Rodrigues

**AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO DE BARREIRA DA MUCOSA INTESTINAL EM
PACIENTES COM CARDIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de doutor em Medicina

Área de concentração: Medicina Tropical.

Orientador: Prof Fernando Antonio Botoni

Co-Orientadores: Prof. Henrique Oswaldo da Gama Torres

Belo Horizonte - MG
2018

R696a Rodrigues, Angela Braga.
Avaliação da permeabilidade intestinal em pacientes com Cardiopatia Chagásica Crônica [recursos eletrônicos]. / Angela Braga Rodrigues. - - Belo Horizonte: 2018.
158f.: il.
Formato: PDF.
Requisitos do Sistema: Adobe Digital Editions.

Orientador (a): Fernando Antônio Botoni.
Coorientador (a): Henrique Oswaldo da Gama Torres.
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.
Tese (doutorado): Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Permeabilidade. 2. Doença de Chagas. 3. Cardiomiopatia Chagásica. 4. Dissertação Acadêmica. I Botoni, Fernando Antônio. II. Torres, Henrique Oswaldo da Gama. III. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. IV. Título.

NLM: WC 705

Bibliotecário responsável: Fabian Rodrigo dos Santos CRB-6/2697



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - INFECTOLOGIA E
MEDICINA TROPICAL

UFMG

ATA DA DEFESA DE TESE DA ALUNA ANGELA BRAGA RODRIGUES

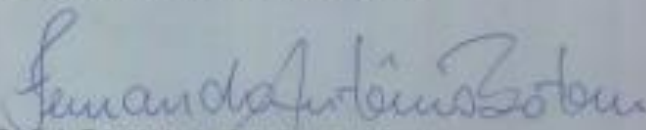
Realizou-se, no dia 25 de setembro de 2018, às 14:00 horas, Sala 526, 5º andar, Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Minas Gerais, a defesa de tese, intitulada *Avaliação da permeabilidade intestinal em pacientes com cardiopatia chagásica crônica*, apresentada por ANGELA BRAGA RODRIGUES, número de registro 2014662851, graduada no curso de MEDICINA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Doutor em CIÊNCIAS DA SAÚDE, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Fernando Antônio Botoni - Orientador (UFMG), Prof(a). Henrique Oswald da Gama Torres (UFMG), Prof(a). Antonio Luiz Pinho Ribeiro (UFMG), Prof(a). Maria de Lourdes de Abreu Ferrari (UFMG), Prof(a). Manoel Domingos de Carvalho Oliveira (Hospital Felício Rocho), Prof(a). Bruno Squarcio Fernandes Sanches (Hospital Biocor).

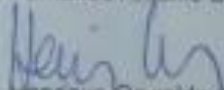
A Comissão considerou a tese:

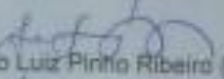
Aprovada

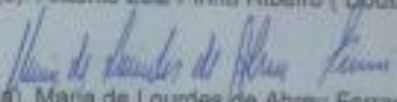
Reprovada

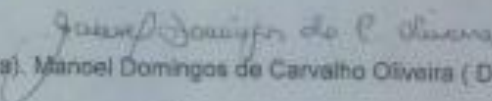
Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.
Belo Horizonte, 25 de setembro de 2018.

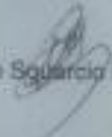

Prof(a). Fernando Antônio Botoni (Doutor)


Prof(a). Henrique Oswald da Gama Torres (Doutor)


Prof(a). Antonio Luiz Pinho Ribeiro (Doutor)


Prof(a). Maria de Lourdes de Abreu Ferrari (Doutor)


Prof(a). Manoel Domingos de Carvalho Oliveira (Doutor)


Prof(a). Bruno Squarcio Fernandes Sanches (Doutor)

Dedicatória,

A minha linda família, luz da minha vida.

Brenda, Carlos Eduardo,

Anielo e Suzana,

Aline, Lenir

AGRADECIMENTOS

A Deus sempre em primeiro lugar.

Ao Professor Fernando Antonio Botoni por mais uma imensa oportunidade oferecida, entre outras tantas ao longo da minha vida. Muito obrigada pelos brilhantes ensinamentos, pelo amparo e compreensão e, sobretudo, por especial amizade.

Ao Professor Henrique Oswaldo Gama Torres por sua receptividade, gentileza, e por valiosas discussões.

Ao Professor Manuel Otávio da Costa Rocha por sua receptividade e grande apoio, prestado sempre com muito entusiasmo.

A Professora Maria do Carmo Pereira Nunes por importante e imprescindível participação nesse estudo.

A Dra Aline Braga Rodrigues por valiosa colaboração na execução de tarefas, discussões e revisões, apoio e amizade constantes.

A Laura Lopes Pinto por sua presteza e eficiente contribuição ao estudo, com auxílio fundamental na coleta dos biomarcadores.

RESUMO

A doença de Chagas ao completar mais de um século de sua descrição original, continua representando terrível impacto sobre a humanidade. Estima-se que cerca de 6 milhões de indivíduos estão acometidos na América Latina e atualmente, devido à globalização se tornou um problema de saúde pública mundial. Entre os indivíduos infectados, 30% têm ou terão alguma forma de comprometimento cardíaco e 15% apresentam ou apresentarão formas mais graves de insuficiência ventricular esquerda, principal marcador de sua morbimortalidade. A fisiopatologia da insuficiência cardíaca consequente à cardiopatia chagásica não parece diferir das outras etiologias de miocardiopatia, no que diz respeito à alterações hemodinâmicas e neurohormonais. Recentemente, o papel do intestino na patogênese da insuficiência cardíaca (IC) tem despertado o interesse da comunidade científica. A IC é reconhecida como uma doença multisistêmica e um estado de inflamação crônica de baixo grau. Propõe-se que a disfunção intestinal, em condições de baixo débito cardíaco, favoreceria à translocação bacteriana que por sua vez ativaria a cascata de inflamação, o que provocaria piora funcional cardíaca, sintomatologia mais exuberante e pior prognóstico.

O estudo buscou alterações da permeabilidade intestinal em 50 pacientes chagásicos com fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) menor que 55%. Convidou-se um grupo de 27 indivíduos saudáveis para participar como controle. Foi um estudo prospectivo observacional. Analisamos parâmetros hemodinâmicos obtidos pelo ecocardiograma, manifestações clínicas da IC, marcadores neuro-hormonais e inflamatórios, assim como o desfecho de forma comparativa com o teste da permeabilidade intestinal.

O teste da permeabilidade intestinal baseia-se na ingestão de dois marcadores de açúcares, no caso o manitol e a lactulose, que são recuperados na urina conforme sua taxa de permeação pela mucosa intestinal.

Pacientes com disfunção sistólica do ventrículo esquerdo com manifestações clínicas mais pronunciadas de congestão sistêmica e os que evoluíram de forma desfavorável apresentaram níveis reduzidos de excreção urinária do manitol quando comparados ao grupo controle. Não houve diferença entre a taxa de excreção urinária da lactulose e a taxa de excreção da lactulose pelo manitol com relação aos parâmetros estudados.

Portanto, esse estudo sugeriu associação entre a gravidade da IC e taxa reduzida de recuperação urinária do manitol.

Palavras Chaves: Cardiopatia chagásica. Permeabilidade intestinal. Insuficiência cardíaca.

ABSTRACT

After more than a century of its original discovery, Chagas disease continues to inflict a heavy burden upon humanity. Around 6 million people are still infected in Latin America, and recently due to globalization, Chagas has become a world health problem. Of the individuals infected around 30% will have involvement of the heart, and 15% will develop the more severe left ventricular dysfunction, which is its most important prognostic marker. Chagas heart disease is not that different from the other forms of heart failure, regarding hemodynamic and neurohormonal abnormalities. Recently, the gut role in the pathogenesis of heart failure has received more attention from the scientific community. Heart failure is now regarded as a multisystemic disease and as a state of chronic low grade inflammation. There is a hypothesis that under conditions of low cardiac output, there would be epithelial intestinal dysfunction, allowing bacteria and its product translocation, which would activate inflammatory cytokines and worsen heart failure.

Our aim was to analyze intestinal permeability abnormalities and compare it to hemodynamic parameters, clinical signs and symptoms, neurohormonal and inflammatory markers and the outcome of Chagas heart disease. We enrolled a group of 50 Chagas heart disease patients and a group of 27 healthy individuals as control.

The intestinal permeability test is based on the urinary recovery of two sugar probes, mannitol and lactulose, that are orally ingested. Patients who had worse left ventricular systolic dysfunction, more pronounced clinical signs of systemic congestion and those with a worse outcome, had reduced levels of urinary excretion rate of mannitol, when compared to the control group. There was no difference of urinary excretion rate of lactulose and urinary excretion rate of lactulose/mannitol regarding the variables analyzed. Therefore, the present study has suggested an association of the severity of heart failure and urinary reduced levels of mannitol recovery.

Keywords: Chagas cardiomyopathy. Intestinal permeability. Heart failure.

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabelas – Artigo 1

Tabela 1: Patients characteristics.	84
Tabela 2: Comparison of intestinal permeability test between patients with CCC and healthy individuals.	85
Tabela 3: Intestinal permeability test – comparison of subgroups of patients with LEVF less and greater than 35% and healthy controls and comparison of subgroups of patients with presence of right ventricular dilation (RVD) on echocardiogram and patients with no right ventricular dilation and healthy controls.....	88
Tabela 4 - Intestinal permeability test and outcome.....	89

Tabelas – Artigo 2

Tabela 1: Patients characteristics.....	99
Tabela 2: Clinical features, echocardiography and laboratorial parameters related to adverse cardiac events	103
Tabela 3: Echocardiography, laboratorial and clinical variables and their relation to death.	104
Tabela 4: Cox Regression univariate analysis.....	105
Tabela 5: Cox Regression multivariate model.....	106

Figuras - Artigo 1

Figura 1: Difference of mannitol urinary excretion rate between patients with peripheral edema, patients with no edema and healthy controls.....	85
Figura 2: Difference between patients with peripheral edema, patients with no edema and healthy controls. A: lactulose urinary excretion ratio, B: lactulose/mannitol urinary excretion ratio.	86
Figura 3: Difference of urinary excretion ratio of mannitol between patients with clinical signs of right heart failure (RHF), patients with no such signs and healthy controls.....	86

Figura 4: Difference of patients with clinical signs of right heart failure (RHF), patients with no such signs and controls: A: lactulose excretion ration, B: lactulose/mannitol excretion ratio.....87

Figuras – Artigo 2

Figura 1: Association of BNP, Ca-125, and uric acid to LVEF.....100

Figura 2: Receiver-operating curve in diagnosis of LVEF less than 35%.....101

Figura 3: Association of BNP and Ca-125 to RV dilation101

Figura 4: Association of uric acid and C-reactive protein to RV dilation102

Figura 5: Association of Framingham Score and BNP and uric acid.....102

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas
- ASE - *American Society of Echocardiography*
- AVE – acidente vascular encefálico
- BCRD - Bloqueio completo do ramo direito
- BNP - Peptídeo natriurético cerebral
- BRD – Bloqueio do ramo direito
- BRE - Bloqueio do ramo esquerdo
- Ca-125 – antígeno carboidrato 125
- CCC - cardiomiopatia chagásica crônica
- COEP- Comitê de Ética e Pesquisa
- CTR-DIP – centro de treinamento e referencia em doenças infecciosas e parasitárias
- DAE - Diâmetro do átrio esquerdo
- DC – débito cardíaco
- DIP - Doença infecciosa e parasitária
- DT – tempo de enchimento precoce diastólico do ventrículo esquerdo
- E/e’-relação entre as velocidades de pico das ondas de enchimento rápido do Doppler espectral da valva mitral e do Doppler tecidual no anel da valva mitral
- ECA - Enzima conversora da angiotensina
- ECG - Eletrocardiograma
- EDTA - Ácido etilenodiaminotetracético
- ELISA - *Enzyme-linked immunoabsorbent assay*
- FEVE - Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
- HBAE - Hemibloqueio anterior esquerdo
- HC/UFMG - Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais
- HIV- vírus da imunodeficiência humana
- HPLC – cromatografia líquida de alta performance
- IC - Insuficiência cardíaca
- ICC - Insuficiência cardíaca congestiva
- ICT - Índice cardiorácico

IECA - Inibidor da enzima conversora da angiotensina

IFN γ – interferon gama

IL - Interleucina

mmii – membros inferiores

NT-pro-BNP – fragment N-terminal do peptídeo natriurético tipo B

NYHA - *New York Heart Association*

OMS – organização mundial de saúde

OPAS- organização pan-americana de saúde

PCR – proteína C-reativa

PCR- polymerase chain reaction

T. cruzi – *Trypanosoma cruzi*

TCLE – termo de consentimento livre esclarecido

TGI – trato gastrointestinal

TNF α - fator de necrose tumoral alfa

TVNS- Taquicardia ventricular não sustentada

TVS – taquicardia ventricular sustentada

US- ultrassom

VD – ventrículo direito

VE – ventrículo esquerdo

VED - Diâmetro do ventrículo em diástole

VES - Diâmetro do ventrículo em sístole

WHO - *World Health Organization*

SUMÁRIO

Nº	Tema	Pg
1	Introdução	17
2	Revisão da literatura	20
2.1.	Doença de Chagas.....	21
2.1.1.	Epidemiologia.....	21
2.1.2.	Mecanismos de transmissão.....	23
2.1.3.	História Natural.....	24
2.1.4.	Patogênese.....	26
2.1.5.	Diagnostico laboratorial.....	28
2.1.6	Cardiopatía chagásica crônica.....	29
2.1.6.1.	Métodos complementares.....	32
2.1.6.2.	Tratamento.....	33
2.1.6.2.1.	Tratamento etiológico.....	33
2.1.6.2.2	Tratamento da cardiomiopatía.....	34
2.1.6.3	Marcadores prognósticos e IC.....	36
2.1.6.4	Biomarcadores na CCC.....	38
2.1.7.	Forma digestiva da doença de Chagas.....	39
2.1.7.1.	Esofagopatía.....	40
2.1.7.2.	Colonopatía.....	43
2.1.7.3.	Enteropatía.....	45
2.1.7.4.	Envolvimento gástrico, glândulas salivares e vias biliares.....	47
2.3.	Alterações da permeabilidade intestinal e IC	51
2.3.2.	Teorias. sobre a permeabilidade intestinal.....	52
2.3.3.	Permeabilidade intestinal e IC.....	54
3.	Objetivos.....	58
3.1.	Objetivos da pesquisa.....	59
3.2.	Objetivos específicos	59
3.3.	Hipótese.....	60
4.	Casuística e métodos	61
4.1.	Caracterização do estudo.....	62
4.2.	Amostra.....	62
4.2.1.	Critérios de inclusão.....	63
4.2.2.	Critérios de exclusão.....	63
4.3.	Procedimentos.....	64
4.3.1.	Avaliação clínica.....	65
4.3.2.	Avaliação eletrocardiográfica.....	65
4.3.3.	Avaliação radiológica.....	66
4.3.4.	Avaliação ecocardiográfica.....	66
4.3.5.	Peptídeos Natriuréticos.....	67
4.3.6.	Citocinas.....	67
4.3.7.	Avaliação da Permeabilidade intestinal.....	68
4.4.	Variáveis	69

4.5.	Análise estatística	71
4.5.1.	Cálculo amostral.....	71
4.5.2.	Metodologia estatística.....	72
4.6.	Normatização técnica e busca bibliográfica.....	72
4.7.	Considerações éticas.....	73
5.	Fluxograma	74
5.1.	Metodologia do estudo.....	75
5.2.	Seleção dos pacientes.....	76
5.3.	Teste da permeabilidade intestinal.....	77
6.	Resultados.....	78
6.1.	Artigo 1.....	79
6.1.1.	Abstract.....	80
6.1.3	Patients and methods.....	81
6.1.4.	Statistical analyses.....	82
6.1.5.	Results.....	82
6.1.6.	Discussion.....	89
6.1.7.	Conclusion.....	92
6.1.8	References	93
6.2	Artigo 2	95
6.2.1	Introduction.....	97
6.2.2	Patients and Methods	97
6.2.3	Statistical analyses.....	97
6.2.4	Results.....	98
6.2.5	Discussion.....	106
6.2.6	Conclusion.....	108
6.2.7	References.....	109
7.	Considerações finais	112
8.	Bibliografia.....	115

1. Introdução

Introdução

A Doença de Chagas é considerada pela Organização Mundial de Saúde como uma doença negligenciada, pois apresenta grande impacto na saúde e qualidade de vida de milhões de pessoas, ao mesmo tempo em que reflete esse padrão de vida. Afeta cerca de 6 milhões de pessoas na América Latina e atualmente, atingiu os países da Europa e os Estados Unidos, graças à imigração e globalização. A cardiopatia chagásica crônica (CCC) é a manifestação mais importante da doença, tanto por sua prevalência como por sua morbimortalidade, afetando os indivíduos no auge da sua vida produtiva. A disfunção ventricular esquerda é o seu mais importante marcador de prognóstico (BENZIGER, 2017; BERN, 2015; RIBEIRO, 2012; RASSI JR, 2012; WHO, 2010; ROCHA, 2007).

A doença de Chagas foi descoberta há pouco mais de um século por Carlos Chagas, que em 1909, identificou o parasita no sangue de uma criança em estado febril. Já em 1911, descreveu episódios de arritmia frequente em indivíduos de menos de 50 anos de idade, diferentemente do encontrado fora das regiões endêmicas. Relacionou o evento de morte súbita em um jovem com extrassistolia ventricular ao exame clínico com o encontro de ninhos de parasita e um infiltrado cardíaco extenso por células mononucleadas, com o acometimento cardíaco da moléstia (CHAGAS, 1922; LARANJA, 1945, BESTETTI, 2016; GACHELIN, 2017).

Sabemos hoje que a morte súbita representa 65% das causas de óbito por CCC, seguido pela insuficiência cardíaca (IC) refratária e os eventos tromboembólicos (RASSI JR, 2012; ROCHA, 2007; ROCHA, 2003).

Já em 1912, Chagas demonstrou que a principal manifestação cardíaca era representada pela IC e notou bradicardia grave, em muitos indivíduos jovens, a ponto de chama-la de “doença do pulso lento” (CHAGAS, 1922; LARANJA, 1945, BESTETTI, 2016).

Hoje é bem reconhecido que as principais manifestações clínicas da CCC compreendem a dispnéia e a fadiga e a arritmogenese com a presença tanto de taquiarritmias como as extrassistolias ventriculares isoladas, em duplas, bigeminismo e também as taquicardias ventriculares sustentadas e não sustentadas. A bradicardia sinusal é bastante frequente, tão como são as bradiarritmias, como a disfunção do nó sinusal e os bloqueios atrioventriculares avançados. A doença de Chagas é a principal causa de implante de marcapasso em indivíduos jovens no Brasil (BENZIGER, 2017; BERN, 2015; RIBEIRO, 2012; RASSI JR, 2012; ROCHA, 2007).

Em 1916, Chagas acrescentou conhecimento à histopatologia da doença, pois além do característico infiltrado cardíaco de mononucleares, descreveu também a fibrose significativa. Associou esses achados às manifestações clínicas e às arritmias da CCC.

Em 1922, com a descrição de 62 casos de pacientes com CCC, estava completa a descrição tanto das características clínicas como morfológicas da CCC. Nessa época já havia identificado o agente etiológico, o vetor e ainda a fase aguda da doença caracterizada pelo encontro de parasitas na corrente sanguínea e a fase crônica cardíaca quando não se evidencia o parasita no sangue (CHAGAS, 1922; LARANJA, 1945, BESTETTI, 2016).

Após o falecimento de Chagas em 1934, a CCC, quase que esquecida pela comunidade médica, re-emergiu com o surgimento do xenodiagnóstico e da reação de fixação de complemento de Machado-Guerreiro (BESTETTI, 2016).

Em 1953, Laranja chamou a atenção para a forma indeterminada da moléstia e pela primeira vez, reconheceu-se seu longo tempo de duração. Laranja também demonstrou que 50% dos acometidos pela doença em região endêmica se encontravam na forma indeterminada. Considera-se este um fato importante para questões aos médicos trabalhistas, pois já havia o estigma de morte súbita ou de falecimento por IC de forma rápida em indivíduos infectados (LARANJA, 1956; BESTETTI, 2016).

Hoje reconhece-se o prognóstico favorável da forma indeterminada em médio prazo e que cerca de 30% dos indivíduos desenvolverão a forma cardíaca. A CCC é moléstia com amplo espectro de manifestações clínicas, desde a apresentação com cardiopatia leve até as temidas complicações de morte súbita e IC refrataria, na qual a disfunção ventricular esquerda é seu principal marcador de prognóstico (RIBEIRO, 2012; NUNES, 2012; ROCHA, 2007).

A CCC não parece diferir das outras formas de IC no que diz respeito às questões hemodinâmicas e neurohormonais. A IC de uma forma geral é hoje, reconhecida como doença multisistêmica, de prognóstico reservado e com estado de inflamação crônica de baixo grau (BOTONI, 2007; SANDEK, 2008). Estudos recentes sugerem que na CCC, o parasitismo é mantido sob controle pela resposta imune do indivíduo e que há tendência a níveis elevados de TNF α e IFG γ (BENZIGER,2017;PEREZ-MOLINA,2017;TANOWIZ,2015).Na IC, os níveis elevados de citocinas foram relacionados a pior prognóstico, pior função cardíaca e limitação funcional dos pacientes (BRAUNWALD,2008;COWBURN,1998).

Muito se especula sobre a origem das citocinas elevadas na IC. A teoria que despertou maior entusiasmo da comunidade científica, envolve o papel da disfunção epitelial do intestino e perda de sua função de barreira protetora, com favorecimento à translocação

bacteriana ou de seus produtos para a corrente sanguínea. Por conseguinte, esses produtos bacterianos ativariam a inflamação e o aumento das citocinas pioraria a função cardíaca.

A disfunção da barreira intestinal é tema de diversas publicações recentes, sugerindo sua associação com doenças intestinais como a doença inflamatória intestinal e a doença celíaca, contudo é também relacionada a doenças sistêmicas como a cirrose hepática e o diabetes insulino-requerente. No caso da IC, a hipótese baseia-se no estado de baixo débito cardíaco e consequente hiper-reativação adrenérgica com resultante hipofluxo esplâncnico que associado ao edema congestivo de alça, provocaria isquemia da mucosa intestinal e consequente disfunção da barreira protetora do organismo (DE-MEO, 2002; BISCHOFF, 2014; ONDEWALD, 2016; SALVO-ROMERO, 2015; TURNER, 2009; SANDEK, 2008; SANDEK, 2007; KRACK, 2005).

Nosso estudo buscou avaliar as alterações da permeabilidade intestinal em pacientes com CCC e FEVE menor que 55% e compará-las com as manifestações clínicas, os parâmetros hemodinâmicos e com o desfecho da doença. Convidamos também um grupo de indivíduos saudáveis para participar como grupo controle do estudo.

2. Revisão da Literatura

2.1. Doença de Chagas

2.1.1. Epidemiologia

A doença de Chagas foi descoberta e descrita por Carlos Chagas em 1909, e após um século de sua descrição ainda afeta milhões de pessoas em todo o mundo. Historicamente, afetava indivíduos residentes na área rural da América Latina e era fortemente associada a condições precárias de moradia. Atualmente, devido ao processo de migração urbana e mesmo migração aos países desenvolvidos como Estados Unidos, Europa, Canadá e Japão, a doença de Chagas se tornou um problema de saúde pública mundial (BENZIGER, 2017; RIBEIRO, 2012; RASSI JR, 2012; WHO, 2010).

Estima-se que hoje existam cerca de 6 milhões de indivíduos infectados na América Latina (baseado em dados coletados em 2010). No Brasil, estima-se que 1156321 pessoas estão infectadas pelo *T. Cruzi* (BENZIGER, 2017; WHO, 2015). Os Estados Unidos são o primeiro país do mundo em número de imigrantes da América Latina seguido pela Espanha. Estima-se, que cerca de 300 000 indivíduos infectados residam nos Estados Unidos e que cerca de 30 000 a 45 000 apresentariam CCC (KUEHN, 2016; BERN, 2015). Já na Europa, estima-se que 4,2% dos imigrantes latino-americanos apresentem doença de Chagas, com maior prevalência entre os bolivianos (18,1%) e paraguaios (5,5%), (PEREZ-MOLINA, 2017).

É considerada endêmica em 21 países da América Latina, Argentina, Belize, Brasil, Bolívia, Chile, Colômbia, Costa Rica, Equador, El Salvador, Guiana, Guiana Francesa, Guatemala, Honduras, México, Nicarágua, Panamá, Paraguai, Peru, Suriname e Uruguai (WHO, 2010). No Brasil e no México com 1% de prevalência desta moléstia e na Argentina com 4.1% de prevalência se encontram 60% dos doentes com Chagas. A prevalência mais elevada é apontada na Bolívia (6,8%), seguida pela Argentina (4,1%), El Salvador (3,4%), Honduras (3,1%) e Paraguai (2,5%) (RASSI JR, 2012).

Nos últimos 25 anos, houve melhor controle da doença após a iniciativa do Cone Sul, America Central e Pacto dos Andes e das Amazonas com apoio da WHO. Através da aplicação sistemática de inseticidas, melhorias nas condições de moradia e higiene, melhor disseminação da informação e comunicação e também de forma muito importante o melhor controle e triagem dos doadores de sangue. Com isso, houve redução importante da transmissão pelos vetores domésticos, modo de transmissão que foi considerada interrompida

em 1997 no Uruguai, no Chile em 1999 e no Brasil em 2006. Como no Chile e no Uruguai, não há risco de infecção secundária, o risco de infecção nesses países hoje é considerado inexistente. Outra importante conquista foi o controle da transmissão por doação de sangue, pois em 19 países da América Latina onde a doença é endêmica, atingiu-se 100% de triagem para infecção por *T. cruzi* nos bancos de sangue.

A Bolívia, o México e a Colômbia são os países aonde ainda há maior número de transmissão por vetor doméstico, sendo que a Bolívia e Argentina apresentam juntos 30,6% dos novos casos na América Latina. A Bolívia é o país com maior incidência e prevalência de doença de Chagas na América Latina (BENZIGER, 2017; WHO, 2015).

Com relação à cardiopatia chagásica crônica (CCC), a Argentina, o Brasil e a Bolívia apresentam cerca de 62,25% dos casos na América Latina. Estima-se que existam 231364 indivíduos com CCC no Brasil (BENZIGER, 2017; WHO, 2015).

A doença de Chagas faz parte do grupo das 17 moléstias consideradas negligenciadas pela WHO. Essas doenças estão fortemente associadas ao baixo nível socioeconômico da população, às condições precárias de moradia e higiene, à alta morbidade e consequente elevada mortalidade com importante impacto sócio econômico. São também associadas com significativas barreiras para o diagnóstico e tratamento e com pouco interesse político e disponibilidade de recursos para seu controle e tratamento (BENZIGER, 2017; WHO, 2015).

A transmissão vetorial doméstica está intimamente associada às condições precárias de moradia, pois a transmissão pelas fezes do barbeiro é considerada muito pouco eficiente com uma incidência anual de 1% nas regiões endêmicas e de 4% nas regiões hiperendêmicas da Bolívia. São anos de exposição repetida ao vetor e a incidência e prevalência da doença costumam a aumentar nas áreas endêmicas com o aumento da idade da população (BERN, 2015; FELICIANGELI, 2003; NOUVELLET, 2013).

2.1.2. Mecanismo de transmissão

A forma mais importante de transmissão é a vetorial pela picada e defecção de barbeiros hematófagos, da ordem *Hemiptera*, da família Reduviidae e da subfamília Triatominae (RASSI JR, 2012). Entretanto, desde 2006, houve mudança no padrão epidemiológico de transmissão no Brasil. Foi em 2006, que o Brasil recebeu o certificado emitido pela OPAS/OMS de interrupção de infecção pelo *Triatoma infestans* (DIAS, 2015).

Nos anos mais recentes, entre 2000-2013, a forma de transmissão mais prevalente foi a oral (68,9%) seguida pela transmissão vetorial com 100 casos/ano (6,4%) (DIAS, 2015).

Há registros da transmissão oral da doença de Chagas desde 1960, todavia em 1970 a região Amazônica não era considerada como área de risco. Atualmente, a transmissão oral, foi relatada, em maior parte, em surtos na região Amazônica, predominantemente, em contextos familiares. O Ministério da Saúde identificou 112 surtos entre 2005 e 2013, tendo como fonte alimentos contaminados pelo parasita. A maioria desses surtos foi no estado do Pará (75,9%), Amapá (12,5%), seguido pelo Amazonas (4,5%), Tocantins (1,8%) e Bahia (1,8%) (DIAS, 2015).

A transmissão oral pode estar associada a surtos ou casos isolados, os surtos podem ser urbanos ou rurais. Em surtos urbanos, relaciona-se à ingestão de açaí semi-industrializado. Nos surtos rurais, está associada à contaminação de alimentos feitos de forma artesanal e normalmente, acomete diversos membros de uma mesma família. Desde 2005, quando o primeiro surto oficial foi investigado em Santa Catarina, relacionado à ingestão de caldo de cana contaminado, o sistema vigilância foi otimizado. Interessante, que entre os casos relatados de 2007 a 2013, mais de 50% apresentaram início entre agosto e novembro, meses esses que coincidem com a safra de açaí do Pará (DIAS, 2015; SHIKANAI-YASUDA, 2012).

Outros mecanismos de transmissão são a congênita e por transfusão de sangue, típicos de regiões não endêmicas e urbanas. Após 1991, o controle dos bancos de sangue se tornou mais rigoroso nos países onde a doença é endêmica e muitos indivíduos assintomáticos são diagnosticados desta forma. Estima-se que o risco de infecção após uma unidade de componente sanguíneo infectado possa alcançar 10 a 20% e este risco é maior após a transfusão de plaquetas. O controle desta forma de transmissão representa importante desafio aos países onde a doença não é endêmica. Nos EUA, 1400 doadores infectados foram detectados desde 2007, quando houve maior controle dos bancos de sangue (RASSI, 2012).

A transmissão congênita é menos comum e normalmente acontece no terceiro trimestre. Estima-se que afete aproximadamente 1-10% das gestações de pacientes com doença crônica nos países endêmicos (TEIXEIRA, 2006; BERN, 2007).

A transmissão da doença também pode ocorrer por acidentes de laboratório e por transplante de órgãos e tecidos de doadores chagásicos. Dados recentes mostraram que a infecção em receptores de rim de doadores infectados pelo *T. cruzi* tem incidência de 0-19%, de fígado de 0-29% e de coração de 75 a 100% (PÉREZ-MOLINA, 2017).

2.1.3. História natural

A história natural caracteriza-se por duas fases bem distintas, uma aguda e outra crônica que se divide em forma indeterminada, cardíaca, digestiva e cardio-digestiva (RIBEIRO, 2012; MARIN-NETO, 1999).

Na fase aguda, os parasitas alcançam a corrente sanguínea ou o sistema linfático e se disseminam livremente pelo organismo, pois a resposta imunológica é representada por células inflamatórias de fase aguda (neutrófilos, macrófagos, células endoteliais e NK) e não específicas. (RIBEIRO, 2012; MARIN-NETO, 1999).

A fase aguda caracteriza-se pelo encontro do parasita no sangue pelo exame direto ou PCR (TANOWITZ, 2015; RIBEIRO, 2012). Na maioria das vezes é assintomática, possivelmente pela baixa carga parasitária (RASSI, 2012). Os sintomas geralmente são leves e inespecíficos, e só são evidentes em 1 a 2 % dos pacientes. Nesses casos, febre e mal estar aparecem em até 5% dos pacientes. Pode haver também anorexia, sudorese, mialgia, adenopatia, edema de face e membros, hepatoesplenomegalia e linfocitose. Até 8% dos pacientes apresentam sinais de inoculação do parasita. O sinal de Romanã é clássico e compreende o edema peri-orbital unilateral, não doloroso que corresponde a porta de entrada do parasita pela conjuntiva ocular. Pode também aparecer um nódulo cutâneo no local de inoculação do parasita, denominado chagoma. O risco de mortalidade na fase aguda é de 0,2 a 0,5% e normalmente são pacientes acometidos por miocardite. A meningoencefalite é mais rara, no entanto, pode acometer os menores de dois anos de idade. Nos casos em que crianças desenvolvem meningoencefalite ou miocardite, a mortalidade pode chegar a 5-10% (RIBEIRO, 2012, BERN, 2015; BENZIGER, 2017; PEREZ-MOLINA, 2017).

Os indivíduos, normalmente, desenvolvem os sintomas após 7 a 10 dias após a inoculação do parasita, todavia, em casos de infecção por transfusão sanguínea o período de incubação é mais prolongado podendo acontecer até 4 meses após a transfusão sanguínea (RIBEIRO,2012)..

Em casos de transmissão oral da doença, os casos apresentam evolução mais grave e com maior mortalidade. A incidência de miocardite é mais comum. Pode aparecer também sangramento digestivo e icterícia hemorrágica (BENZIGER, 2017; BERN, 2015).

No caso de reativação da doença em receptores de transplantes, é comum o desenvolvimento de febre, miocardite, paniculite e lesões cutâneas. O envolvimento do sistema nervoso central é mais raro. Em contrapartida, em casos de reativação por HIV, é mais comum o aparecimento de meningoencefalite e lesões expansivas do sistema nervoso central (RASSI, 2012; BERN, 2007).

As manifestações clínicas da fase aguda, geralmente, desaparecem espontaneamente em 1 a 3 meses e os pacientes, então, evoluem para a fase crônica, quando existe resposta imune específica e o controle do parasita. A imunogenicidade é mantida por toda a fase crônica da infecção e é responsável pelo controle do parasita e pela memória imunológica (ROCHA, 2007; MARIN-NETO, 1999).

A forma indeterminada foi definida em 1985, como sorologia positiva para *T. cruzi* e ausência de sinais e sintomas clínicos de envolvimento cardíaco e digestivo, além de ausência de alterações eletrocardiográficas, radiográficas compatíveis com a doença de Chagas (BENZIGER, 2017; RIBEIRO, 2012).

Normalmente, a fase indeterminada dura cerca de 10 a 30 anos. Cerca de 6% dos infectados evoluem com a forma digestiva e a cardiomiopatia aparece em 30-40% dos indivíduos com a forma crônica. Nas áreas endêmicas, cerca de 50% dos infectados apresentam a forma indeterminada. Cerca de 2-5 % desses pacientes desenvolvem a forma cardíaca ao ano (RIBEIRO, 2012). O óbito quando relacionado à doença de Chagas, normalmente resulta das alterações cardíacas, no entanto, alterações do tubo digestivo são responsáveis por significativa morbidade e caracterizam-se por alterações das funções motoras e absorptivas do esôfago, cólon e outros segmentos do trato gastrointestinal.

A forma cardíaca é caracterizada por uma miocardite crônica, fibrosante e progressiva. Afeta os dois sexos de forma igual e comumente entre os 30-45 anos de idade. O impacto social é enorme, com estimativa de perda de 750 mil anos de vida produtiva por ano. Somente com seguro saúde e licença do trabalho estima-se, no Brasil, perda de 5.6 milhões de dólares por ano (RIBEIRO, 2012; TEIXEIRA, 2006).

2.1.4. Patogênese

Segundo Bogliolo (1976), a miocardiopatia chagásica é a mais violenta das miocardites conhecidas e a que mais desorganiza a arquitetura e estrutura do miocárdio e a relação de seus componentes. É, também, a mais fibrosante (BOGLIOLO, 1976). Todavia, há uma discrepância entre a extensa lesão orgânica e a escassez de parasitas encontrados na fase crônica. A lesão do miocárdio poderia ser explicada pela invasão do tripanosoma ou pela ação de toxinas por eles produzidas e liberadas. No entanto, na fase crônica, o que se encontra evidenciado em cortes de miocárdio é uma carga parasitária baixa e raramente pseudocistos parasitários. Mesmo com novas técnicas de detecção do parasita como a identificação de seu DNA pela PCR (polymerase chain reaction) e a imunohistoquímica, o encontro dos tripanosomas nos tecidos cardíacos ainda é relativamente baixo em comparação com a reação inflamatória e nunca se conseguiu qualquer evidência da ação de toxinas produzidas e liberadas pelo tripanosoma (HIGUCHI, 2003). A principal característica histopatológica das lesões cardíacas na CCC é a presença da miocardite, com lesão importante dos cardiomiócitos, fibrose e presença de infiltrado de células mononucleadas difuso, mas também multifocal e a escassez do encontro do parasita (CUNHA-NETO, 2009).

Um dos principais mecanismos aventados na patogênese está na disfunção neurogênica e perda dos neurônios do sistema nervoso parassimpático. Essa evocação motivou Köberle, em 1959, a denominá-la “miocardiopatia parassimpaticopriva”, devido à extensa desnervação parassimpática observada (KÖBERLE, 1959), a qual ainda não foi observada em qualquer outra cardiomiopatia já estudada além da cardiopatia chagásica crônica. O coração exige como nenhum outro órgão um equilíbrio perfeito entre o sistema nervoso autônomo simpático e parassimpático. Segundo Koberle, para o aparecimento de distúrbios funcionais e consequentes alterações morfológicas, seria necessária redução de 90% da população de neurônios do esôfago, 55% para desenvolvimento do megacolon e 25% de redução dos neurônios para provocar alterações funcionais cardíacas (KÖBERLE, 1968).

Vários estudos clínicos demonstraram alterações da regulação autonômica em pacientes com doença de Chagas. Foram usados diversos estímulos como atropina, manobra

de valsava, tilt test, arritmia sinusal respiratória. Esses testes mostraram que os chagásicos apresentam resposta cronotrópica alterada, principalmente em vigência de alterações bruscas dos níveis pressóricos. No entanto, as alterações neurogênicas não esclarecem toda a complexidade patogênica da doença de Chagas, fato este que o próprio Koberle estava de acordo (KOBERLE, 1968; MARIN-NETO 1999; MARIN-NETO, 2003).

A isquemia do miocárdio é outro fator aventado na patogenia da CCC. É bem conhecido que 20-30% dos pacientes com CCC apresentam dor torácica, mas sem relação com esforço e que não melhora com nitratos. Esses pacientes quando submetidos à cineangiocoronariografia não apresentam obstrução das artérias epicárdicas. Todavia, podem apresentar alterações com relação à resposta ao nitrato e hiperventilação. Presume-se então que esses pacientes possam apresentar lesão em nível da microvasculatura (MARIN-NETO, 2007).

É bem estabelecido que na fase aguda as lesões aos tecidos acometidos estão relacionadas à intenso parasitismo e parasitemia. Ninhos de amastigotas são encontrados principalmente, nos tecidos do miocárdio, do músculo esquelético e liso. A resposta imune inata age para controlar o parasita, no entanto, não o elimina completamente (MARIN-NETO, 2007; PEREZ-MOLINA, 2017). Na fase crônica o parasitismo é mantido sob controle pela resposta imune do hospedeiro. São evidências desse fato, a reativação da doença que ocorre após o uso de imunossupressores em indivíduos transplantados ou com SIDA (MARIN-NETO, 2007; RIBEIRO, 2012).

Na fase aguda da doença, é característica a resposta inflamatória intensa Th1, com produção de TNF α e IFN γ . Na forma indeterminada, predomina ambiente anti-inflamatório, com produção de IL-10 e IL-17. Já na forma cardíaca, a resposta inflamatória é de baixo grau, todavia com níveis predominantes de IFN γ e TNF α e de outros mecanismos imunes que envolvem as células T CD8+ e podem provocar lesão tecidual significativa (BERN, 2015; PEREZ-MOLINA, 2017; BENZIGER, 2017).

A persistência do parasita com fator indutor de lesão cardíaca foi motivo de controversa por longo período de tempo, pois áreas do miocárdio com intensa inflamação apresentavam escasso parasitismo detectado por técnicas histopatológicas usuais. Recentemente, o emprego de técnicas de PCR, de imunohistoquímica e de métodos de hibridização mostrou a presença de material genético do parasita em áreas de miocardite (MARIN-NETO, 2007). A transmissão da doença de Chagas pela forma vertical e por doação de sangue são dois outros fatos que levam a crer na persistência do *T. cruzi* na fase crônica da doença (TANOWITZ, 2015).

No entanto, a relação entre o material genético encontrado do parasita ainda é baixa em relação à intensa inflamação do miocárdio, e há focos em que se encontra o DNA do *T. cruzi*, mas sem a presença de inflamação. Já foram identificados diversos auto-anticorpos no plasma de chagásicos o que leva também a hipótese da autoimunidade como fator causal da patologia cardíaca (MARIN-NETO, 2007).

Hoje está bem estabelecido que a persistência do parasita é o mecanismo mais importante para o desenvolvimento da CCC. A inflamação é necessária para o controle da replicação do *T. cruzi* e esses dois fatores levariam à lesão dos tecidos com fibrose miocárdica e do sistema de condução e conseqüente remodelamento cardíaco. Além disso, a resposta inflamatória poderia levar a autoimunidade, as alterações neurogênicas e de microvasculatura (BERN,2015;BENZIGER,2017).

Outros fatores descritos que podem influenciar o desenvolvimento da CCC são: virulência da cepa do parasita e seu tropismo tissular. Além disso, a verificação que houve redução da gravidade da CCC em áreas endêmicas em que atingiu-se o controle do vetor, levou a suposição que a exposição repetida ao barbeiro e a super-infecção, poderiam manter a presença elevada de antígenos do *T. cruzi* e resposta inflamatória exacerbada provocando lesão mais intensa ao coração (BERN,2015).

2.1.5. Diagnóstico laboratorial

O diagnóstico na fase aguda baseia-se em hemoculturas e em pesquisa direta do parasita no sangue do doente. Já na fase crônica, centra-se nos métodos que detectam anticorpos circulantes que se ligam aos antígenos do parasita. São necessários dois testes sorológicos positivos para a confirmação do diagnóstico, os exames mais usados são o Elisa, a imunofluorescência indireta e a fixação de complemento que se bem realizados podem alcançar sensibilidade e especificidade de cerca de 90% (MARIN-NETO,1999).O teste da PCR deve ser usado quando existir dúvida quanto ao diagnóstico pelo exame sorológico, para

controle de tratamento e em caso de reativação da doença (RIBEIR., 2012; RASSI JR; RASSI, 2012).

2.1.6. Cardiopatia chagásica crônica

A CCC compreende basicamente três síndromes que podem levar ao óbito e existir de forma simultânea no mesmo paciente: morte súbita que é responsável por 60-65% dos óbitos, insuficiência cardíaca por 25 a 30% e os fenômenos tromboembólicos por 10 a 15% (RIBEIRO, 2012; RASSI JR; RASSI; RASSI, 2001). A CCC é a forma clínica da doença de Chagas mais frequente e com maior importância por sua gravidade. A disfunção ventricular esquerda é sua principal característica e o principal marcador de morbi-mortalidade (ROCHA, 2007).

A CCC caracteriza-se por um amplo espectro de manifestações clínicas, desde formas leves com apenas alterações eletrocardiográficas até formas mais graves com insuficiência cardíaca refratária (ROCHA; RIBEIRO; TEIXEIRA 2003; ROCHA; TEIXEIRA; RIBEIRO, 2007). Pode apresentar curso lento e progressivo e pode evoluir de forma rápida. A morte súbita pode ser a primeira manifestação. (CHAGAS; VILLELA, 1922; LARANJA; NOBREGA, 1945; RASSI JR; 2001).

Os sintomas da CCC envolvem manifestações clínicas de IC, como dispneia aos esforços, cansaço e edema. Os pacientes podem também apresentar sintomas relacionados à arritmia cardíaca como síncope, tonteira e palpitações (BENZIGER, 2017). A sintomatologia varia conforme o grau de IC e tipo de distúrbio de ritmo presente. Os sintomas mais comuns compreendem a dispneia e as palpitações. (CHAGAS; VILLELA, 1922; LARANJA; NOBREGA, 1945). Por palpitações, subentende-se a sensação desagradável de percepção dos batimentos cardíacos, que pode acontecer aos esforços, ser deflagrado por emoções ou mesmo aparecer em repouso. A dispneia é também sintoma muito comum, todavia, as crises de dispneia paroxística noturna são raras, ao contrário do que acontece em outras etiologias de IC. Mesmo a dispneia em decúbito pode ser discreta e até ausente (LARANJA; NOBREGA, 1945).

Ao exame clínico pode ser evidenciado sopro holossistólico decorrente de regurgitação mitral ou tricúspide pela dilatação das câmaras cardíacas. O desdobramento da segunda bulha também é comum e devido ao bloqueio fascicular do ramo direito. O ictus

cardíaco é proeminente. Os sinais de insuficiência cardíaca direita (turgência de jugular, edema periférico, hepatomegalia e ascite) são normalmente mais evidentes e pronunciados ao exame clínico que os sinais de insuficiência ventricular esquerda (crepitações pulmonares e taquidispneia) (BENZIGER, 2017; MARIN-NETO, 1999). Em 1945, já dizia Laranja: “ não raro se observam doentes em insuficiência cardíaca congestiva, com acentuada estase hepática e grandes edemas, nos quais falta qualquer dispneia em decúbito , podendo eles permanecer em longo tempo em decúbito horizontal, sem queixar-se de mal estar ” (LARANJA; NOBREGA, 1945).

Até 25% dos pacientes podem queixa-se de dor torácica, que apresenta a mesma localização e às vezes, mesmas características da dor anginosa, todavia, não há melhora com nitratos e nem tão pouca relação com os esforços. O diagnóstico diferencial entre as duas entidades pode ser difícil, devido às alterações eletrocardiográficas e ecocardiográficas características da doença de Chagas (ROCHA, 2007; BENZIGER, 2017).

O eletrocardiograma é o principal exame a ser solicitado, pois quando normal é infrequente a disfunção sistólica e o prognóstico destes indivíduos é ótimo (ROCHA; TEIXEIRA; RIBEIRO, 2007). Em contrapartida, quanto mais alterações existem em um único traçado mais avançada é a lesão cardíaca e mais grave o prognóstico (ROCHA, 2007). São muito frequentes os distúrbios de condução intraventriculares, sendo o bloqueio de ramo direito associado ou não ao bloqueio divisional antero-superior esquerdo, achado característico da forma cardíaca. As seguintes alterações também são consideradas como típicas do envolvimento cardíaco pela doença de Chagas: bloqueio atrioventricular avançado, bradicardia sinusal, disfunção do nó sinusal, fibrilação atrial, área inativa eletricamente, alterações do segmento ST e onda T, taquicardia ventricular não sustentada. (RIBEIRO, 2012; RASSI JR; RASSI, 2012; ROCHA, 2007).

Peculiaridade de extrema importância na CCC é sua característica arritmogenicidade. São muito comuns as taquiarritmias, mas as bradiarritmias também podem ocorrer, sendo a doença de Chagas a principal causa de bloqueios atrioventriculares na América Latina (ROCHA, 2007). O acometimento por bloqueio atrioventricular avançado em paciente com menos de 40 anos, faz suspeitar a etiologia de doença de Chagas, principalmente se residente em área endêmica. O bloqueio atrioventricular de primeiro grau é um dos tipos mais frequentes e mais precoces na CCC. O distúrbio de condução intraventricular do ramo direito é também característico da CCC, e não é visto de forma tão comum em nenhuma outra etiologia de cardiopatia. Chagas já havia observado que as arritmias eram a regra na CCC e assinalou a importância dos distúrbios de condução e de formação de estímulos com o a

extrassistolia ventricular, outro distúrbio muito comum da doença. Já a fibrilação e o flutter atrial aparecem em estados avançados de acometimento cardíaco (LARANJA; NOBREGA, 1945).

São descritas diversos tipos de arritmias, como a disfunção do nó sinusal, muitas vezes com necessidade de implante de marcapasso em pacientes mais jovens (ROCHA, 2007). A taquicardia ventricular sustentada e não sustentada são típicas da CCC. Podem originar-se de ambos os ventrículos, no entanto, o principal foco é representado pela fibrose da parede ínfero-posterior do ventrículo esquerdo (TANOWITZ, 2017). A gravidade das arritmias ventriculares tende a correlacionar-se com a intensidade da disfunção ventricular esquerda, todavia podem aparecer em pacientes com função ventricular preservada. A grande maioria dos pacientes com disfunção ventricular esquerda apresenta extrassistolia ventricular e mesmo salvos de taquicardia ventricular não sustentada (ROCHA, 2007).

A morte súbita principal causa de óbito na CCC afeta principalmente indivíduos jovens, entre os 30 e 50 anos, é mais rara após os 60 anos e é mais comum em homens (RASSI JR, 2001). Pode aparecer como primeira manifestação da doença, no entanto, é muito rara em indivíduos com eletrocardiograma normal. Pode ser também, o evento final de anos de insuficiência cardíaca. Pode estar relacionada com esforço físico ou emoções e tem pico de incidência no período vespertino (RASSI JR; RASSI; RASSI, 2001). Eventos de morte súbita em indivíduos jovens, trabalhadores braçais e de aparente boa saúde, todavia com alterações eletrocardiográficas foram descritos por Chagas (LARANJA; NOBREGA, 1945).

Os fenômenos tromboembólicos representam a terceira causa de óbitos em pacientes com CCC (RIBEIRO 2012, RASSI JR, 2012). O aneurisma apical do ventrículo esquerdo é muito comum na CCC. No entanto, os trombos podem originar-se de ambas as câmaras cardíacas e com igual frequência. O óbito por embolia pulmonar é mais comum, e os trombos podem ter origem tanto no ventrículo direito como na circulação sistêmica pela estase venosa causada pelo baixo débito cardíaco (MARIN-NETO, 1999; BENZIGER, 2017). Deve sempre ser lembrada a possibilidade da etiologia chagásica em casos de acidente vascular encefálico (AVE) em indivíduos jovens na América Latina (ROCHA; NUNES; RIBEIRO, 2009). A doença de Chagas é fator de risco para AVE que tem sua principal origem nos êmbolos cardíacos e está relacionado à depressão da função sistólica. São outros fatores de risco: IC, aumento do átrio esquerdo, aneurisma apical, arritmias, presença de trombo intra-cardíaco. A fibrilação atrial presente em casos avançados de IC é por si só conhecido fator de risco para AVE. Entretanto, os fatores clássicos de risco para AVE como diabetes, hipertensão e tabagismo são menos encontrados nos chagásicos (TANOWITZ, 2015).

Existem vários sistemas de classificação para a CCC, e baseiam-se em alterações eletrocardiográficas, na presença de disfunção sistólica e nas manifestações clínicas de IC, com pouca diferença entre eles. A classificação estabelecida pelo Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (DIAS, 2015) segue os seguintes critérios:

(A) alteração eletrocardiográfica, ecocardiograma normal e ausência de manifestações clínicas de IC.

(B1) alteração eletrocardiográfica, alteração ecocardiográfica mas com FEVE > 45% e ausência manifestações clínicas de IC.

(B2) alterações eletrocardiográficas e ecocardiográficas com FEVE < 45% e ausência de manifestações clínicas IC

(C) Alterações eletrocardiográficas e ecocardiográficas e manifestações clínicas de IC

(D) Alterações eletrocardiográficas e ecocardiográficas com ICC refrataria ao tratamento.

2.1.6.1. Métodos complementares

O estudo radiológico do tórax e o ecocardiograma são importantes instrumentos de diagnóstico e acompanhamento em pacientes chagásicos. Em pacientes com CCC é comum verificar uma dissociação entre a significativa cardiomegalia e as alterações venosas pulmonares que, embora frequentes, são de pouca intensidade (LARANJA; NOBREGA, 1945). O aumento do índice cardio-torácico não é um bom marcador para disfunção sistólica, em contrapartida é um indicador de prognóstico ruim (RIBEIRO, 2012).

O ecocardiograma é o principal exame utilizado para avaliação da função sistólica do ventrículo esquerdo (VE). São, também, características os déficits de contratilidade segmentares, que podem ser inclusive manifestações precoces da CCC. Com a progressão da doença, aparecem as dilatações das câmaras cardíacas e até 50% dos pacientes podem apresentar déficits segmentar ínfero-posterior e do ápex. O aneurisma vortitilar também é achado frequente em pacientes com acometimento cardíaco moderado a grave. É um preditor independente de AVE e está associado à presença de arritmia ventricular. A disfunção diastólica está frequentemente associada à disfunção sistólica. A disfunção do ventrículo direito (VD), normalmente, está acompanhada pela disfunção do VE e é importante marcador de prognóstico desfavorável (RIBEIRO, 2012).

A eletrocardiografia dinâmica por 24 horas é importante para identificar as arritmias ventriculares complexas, as taquicardias ventriculares não sustentadas e as prolongadas e também para detectar a disfunção do nó sinusal e bloqueios-atrioventriculares. Muitos desses distúrbios podem ser assintomáticos, o contrário também é verdadeiro, a ausência de arritmias no exame de 24 horas não excluiu a sua presença e a possibilidade de morte súbita.

O teste de esforço também é importante exame complementar na CCC. Não é útil na identificação de doença isquêmica, mas, pode identificar taquicardia ventricular induzida pelo esforço. São comuns também as respostas anormais da pressão arterial e a insuficiência cronotrópica em pacientes chagásicos.

A cintilografia de perfusão miocárdica pode mostrar alterações de perfusão transitórias e irreversíveis, não sendo útil muitas vezes no diagnóstico diferencial da dor anginosa, quando faz-se necessária a cineangiocoronariografia.

A ressonância nuclear magnética adquire cada vez mais importância, no que fornece informações sobre morfologia, função, tamanho e presença de fibrose das câmaras cardíacas.

A eletrofisiologia está indicada para esclarecimento diagnóstico no caso de síncope, para identificar a presença de disfunção do nó sinusal, bloqueio atrioventricular avançado e presença de taquicardia ventricular sustentada e não sustentada. É importante também no direcionamento e indicação de terapia para os eventos arrítmicos, como o implante de cardiodesfibrilador, marcapasso ou apenas a indicação de terapia medicamentosa (BENZIGER, 2017; RIBEIRO, 2012; ROCHA, 2007).

2.1.6.2. Tratamento

2.1.6.2.1. Tratamento etiológico específico

O benznidazole e o nifurtimox são as drogas com ação contra o tripanosoma. Devem ser tratados todos aqueles doentes em fase aguda, independente da forma de transmissão o mais rápido possível. Os pacientes com reativação da doença por tratamento com imunossupressores ou por HIV também devem ser tratados. Advoga-se o tratamento em pacientes com menos de 18 anos e em mulheres em idade reprodutiva, pois há aparente redução na transmissão congênita. (BENZIGER, 2017; PEREZ-MOLINA, 2017; RIBEIRO,

2012; BERN, 2015). Há também consenso que não devem ser tratados os pacientes com forma digestiva ou cardíaca avançada (BERN, 2011).

O nifurtimox e o benznidazole foram desenvolvidos nas décadas de 1960 e 1970, respectivamente. São comuns os efeitos adversos o que limita o tratamento em até 50% dos indivíduos. O benznidazol, geralmente, é mais bem tolerado e constitui a primeira linha de tratamento. A dermatite e fotossensibilidade aparecem em um terço dos pacientes, a droga deve ser descontinuada em caso de dermatite espoliativa e em caso de febre e adenopatia. A neuropatia periférica pode acometer até 30% dos pacientes, a suspensão do medicamento também está indicada, geralmente é reversível, mas pode persistir por alguns meses após a interrupção do tratamento. A aplasia de medula pode acometer até 1% dos doentes. Até 50 a 75% dos pacientes tratados com nifurtimox podem apresentar alterações gastrointestinais, alterações neurológicas com parestesias, insônia, tonteira, irritabilidade podem aparecer em 50% dos indivíduos. A neuropatia periférica é mais rara, todavia pode aparecer (BERN, 2011).

Há controversas em relação ao tratamento dos indivíduos na fase crônica. O estudo randomizado BENFIT, publicado em 2015, tratou com benznidazole, pacientes com CCC com FEVE média de 54%. Os pacientes foram acompanhados por cerca de 5,4 anos, houve redução da positividade do exame sanguíneo de PCR para o parasita, todavia os eventos cardiovasculares foram iguais no grupo tratado com o medicamento e no grupo tratado com placebo (MORILLO,2015).

2.1.6.2.2. Tratamento da cardiomiopatia

São poucos os estudos clínicos dirigidos aos pacientes com CCC. O tratamento segue o recomendado pelas diretrizes internacionais, pois a ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e do sistema simpático é praticamente o mesmo na CCC como nas outras formas de cardiopatia. Em 2007, estudo duplo cego randomizado, realizado por BOTONI (2007), mostrou que tanto os inibidores da angiotensina como os beta-bloqueadores são seguros e bem tolerados por esses pacientes e que houve uma tendência de melhora na fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) dos pacientes em uso de carvedilol. A estratégia recomendada é compensar os sintomas congestivos, inicialmente, com diuréticos e inibidores da enzima conversora da angiotensina (IECA) e em seguida, com a melhora clínica, a iniciar o uso do

beta-bloqueador. Se necessário, procede-se a redução da dose do IECA, pois esses pacientes apresentam valores de pressão arterial sistólica mais baixos. Os bloqueadores do receptor da angiotensina (BRA) são alternativas para pacientes que não toleram o uso do IECA. O uso de espironolactona para pacientes em classe funcional NYHA III e IV também está recomendado (BOTONI, 2007; BOTONI, 2013).

Em estudo observacional de BESTETTI, analisou-se a sobrevida em 231 pacientes com CCC média de FEVE de 35%. Desses 231 pacientes, em 9% foi necessário o transplante cardíaco e 52% dos pacientes evoluíram ao óbito. Apenas cerca de 50% faziam uso de beta-bloqueador e o uso desse medicamento foi associado de forma negativa com a mortalidade (BESTETTI, 2010).

A análise de subgrupo de pacientes com doença de Chagas incluídos no REMADHE, estudo prospectivo randomizado, também encontrou associação entre o uso de beta-bloqueador e sobrevida. Interessante, que o subgrupo de pacientes chagásicos quando comparado com pacientes com outras formas de cardiopatia, apresentavam menor valor de pressão arterial média e frequência cardíaca, menor incidência de fibrilação atrial, maior uso de marcapasso e menor proporção de pacientes em uso de beta-bloqueador (ISSA, 2010).

São poucos os estudos randomizados sobre o tratamento das arritmias ventriculares. O fármaco mais utilizado é a amiodarona. Antes da prescrição de um antiarrítmico, o tratamento clínico deve estar otimizado. O uso de amiodarona está indicado pelas diretrizes atuais quando presente taquicardia ventricular sustentada e não sustentada, em pacientes com depressão da função sistólica, quando os pacientes são sintomáticos e recuperados de morte súbita. A área de maior controversa consiste no tratamento de indivíduos com função sistólica preservada, com taquicardia ventricular não sustentada e assintomáticos (BENZIGER, 2017, DIAS, 2015; RIBEIRO 2012; BOTONI, 2013).

Não há estudos sobre a prevenção primária de morte súbita com o implante de cardiodesfibrilador (CDI) em chagásicos. Atualmente, está indicado em pacientes recuperados de morte súbita e naqueles com taquicardia ventricular sustentada maligna. O consenso brasileiro em doença de Chagas considera recomendação classe I, o implante de CDI em pacientes com taquicardia ventricular sustentada estável e com FEVE menor que 35%. Nos casos, de taquicardia ventricular sustentada estável em pacientes com FEVE maior que 35% é considerado recomendação classe Ia. Nos pacientes com taquicardia ventricular não sustentada e FEVE maior que 35%, o implante de CDI é considerado IIb (DIAS, 2015).

A anticoagulação está indicada para indivíduos com fibrilação atrial, eventos tromboembólicos prévios e trombos intra-cardíacos. O tratamento das bradiarritmias deve seguir as recomendações das diretrizes atuais (RIBEIRO, 2012).

O transplante cardíaco é a alternativa de tratamento para os pacientes com IC refratária, para os que estão dependentes de inotrópicos venosos e em casos menos comuns para os pacientes que persistem com arritmias malignas mesmo em virtude de toda terapêutica instituída. Há risco de reativação da doença de Chagas e a monitorização deve ser rigorosa. Apesar disso, os pacientes chagásicos transplantados tendem a apresentar melhor sobrevida e qualidade de vida quando comparados com os transplantados com outras formas de cardiopatia (BENZIGER, 2017, DIAS, 2015; RIBEIRO 2012). A CCC corresponde à terceira etiologia mais comum de IC em transplantados cardíacos, sendo precedida pela cardiopatia isquêmica e a dilatada (FIORELLI, 2011; BOTONI, 2013).

2.1.6.3. Marcadores prognósticos e CCC

Os estudos envolvendo marcadores prognósticos na CCC encontraram mortalidade de 0,9 a 19,2%, dependendo da população estudada (RASSI JR, 2007). A disfunção ventricular esquerda é o marcador de prognóstico mais forte. A classe funcional NYHA e a presença de taquicardia ventricular não sustentada são também importantes indicadores de mortalidade. Enquanto, idade, sexo masculino e aneurisma vorticilar tiveram significância em alguns estudos e em outros não (NUNES, 2012; RASSI JR, 2007).

O eletrocardiograma normal também confere excelente prognóstico em médio prazo. Em contrapartida, a presença de bloqueio de condução do ramo direito, elevações do segmento ST, fibrilação atrial, frequência cardíaca elevada, extrassistolia ventricular, onda Q patológica e baixa voltagem do complexo QRS são associadas à evolução desfavorável da CCC (NUNES, 2012).

Marcadores ecocardiográficos com a disfunção do VD, alteração do E/e' e aumento do volume do átrio esquerdo são também relacionados ao aumento de mortalidade (NUNES, 2012; NUNES, 2009; NUNES, 2008).

Outros estudos sugeriram associação de: não uso do beta-bloqueador, necessidade de terapia venosa com inotrópica e diâmetro do ventrículo esquerdo em sístole, além da disfunção sistólica esquerda, uso de digoxina e hiponatremia, com prognóstico desfavorável (BESTETTI, 2011; THEODOROPOULOS, 2008).

Rassi acompanhou 424 pacientes com CCC por um período médio de seguimento de 7,9 anos e desenvolveu escore preditor de mortalidade composto por 6 itens. Atribuiu-se 5 pontos à classe funcional NYHA III ou IV e a presença de cardiomegalia à radiografia de tórax. Déficit segmentar de contratilidade ao ecocardiograma e taquicardia ventricular não sustentada ao holter 24h correspondem à 3 pontos. Baixa voltagem do complexo QRS ao eletrocardiograma e sexo masculino representam 2 pontos. Foi estimada mortalidade em 5 anos, de 2% para 0-6 pontos, de 18% para 7-11 pontos e de 63% para 12-10 pontos. A mortalidade de 10 anos também pode ser estimada: 10% com encontro de 0-6 pontos, 44% para 7-11 pontos e 84% corresponde a 12-10 pontos. Esse escore foi validado em análise que envolveu 153 pacientes (RASSI JR, 2006).

Foram acompanhados 75 pacientes chagásicos e 50 pacientes não chagásicos com IC de outras etiologias (idiopática, hipertensiva, isquêmica, peri-parto e alcoólica) por 3 anos. Dos pacientes chagásicos 28% evoluíram ao óbito em comparação com 6% dos pacientes com outras etiologias de cardiopatia dilatada (BESTETTI, 1997). Outro estudo prospectivo acompanhou pacientes com CCC e com cardiopatia idiopática dilatada. A doença de Chagas como fator etiológico foi associada à redução da sobrevida. Em 1 ano, os pacientes com CCC apresentaram mortalidade de 25%, comparado com 11% de mortalidade para o grupo da cardiopatia idiopática. A análise de subgrupo de pacientes com FEVE menor que 30% ampliou ainda mais essa diferença: os chagásicos apresentaram sobrevida de 55% e 26% respectivamente em 1 e 3 anos. Em contrapartida, os pacientes com IC idiopática, apresentaram sobrevida de 82% e 67% em 1 e 3 anos respectivamente (NUNES,2010).

Revisão sistemática e meta-análise, em 2016, sugere que a doença de Chagas está associada a excesso de mortalidade quando comparada a outras formas de cardiopatia e que esse fato afeta todos os chagásicos independente da apresentação clínica (CUCUNUBÁ, 2016).

2.1.6.4. Biomarcadores na CCC

Biomarcadores são moléculas que podem ser mensurados de forma objetiva e fazem parte de um processo biológico ou patológico. Para serem usados na prática clínica os biomarcadores devem atender a três critérios básicos: dosagens de boa acurácia, preço aceitável e ampla disponibilidade. Eles devem ser capazes de acrescentar informações úteis ao exame clínico detalhado e ajudar no processo de decisão clínica (YILMAZ; ZORLU; TANDOGAN, 2011).

Atualmente, existem muitas pesquisas a procura do biomarcador ideal na IC, principalmente marcadores que forneçam estratificação de risco e de prognóstico.

Na CCC, o BNP é o biomarcador mais robusto. Confere boa relação com a disfunção ventricular esquerda, com a classe funcional NYHA, presença de arritmias ventriculares. Em presença de alterações eletrocardiográficas em pacientes com CCC, níveis elevados de BNP (acima de 60,7 pmol/L), apresentaram valor preditivo positivo de 80% e valor preditivo negativo de 97% para diagnóstico de FVE menor que 40% (RIBEIRO,2012;RIBEIRO,2002;LIMA-COSTA,2010).

Estudo realizado na Colômbia também sugeriu relação entre formas mais graves da CCC e níveis elevados de BNP e troponina (ECHEVERRÍA, 2016) e estudo feito na Bolívia sugeriu relação entre BNP e CK-MB e mortalidade em pacientes com CCC (SHERBUK, 2015).

Estudo longitudinal que acompanhou população de indivíduos de 60 anos ou mais, em Bambuí, demonstrou que níveis alterados de BNP tiveram relação com mortalidade (LIMA-COSTA, 2010).

Estudo retrospectivo avaliou painel de 22 biomarcadores em 499 doadores de sangue com sorologia positiva para doença de Chagas, comparados com 488 doadores de sangue saudáveis e com 101 pacientes com CCC com diagnóstico já determinado. Dos 499 doadores com sorologia positiva, 109 apresentavam CCC e outros 341 não apresentavam cardiopatia. Somente 7% dos doadores com CCC apresentavam FEVE menor que 30%, enquanto que no grupo dos pacientes com CCC estabelecida, 42% apresentavam FVE menor que 30%. Nesse estudo, o NT-pro-BNP foi o marcador mais potente para detectar a presença de cardiopatia. Quando comparados, os doadores sanguíneos com CCC com os pacientes com CCC, encontrou-se níveis mais elevados de NT-pro-BNP, troponina, CK-MB e adiponectina, no

grupo dos chagásicos com CCC estabelecida. Os pacientes com CCC também apresentaram níveis mais elevados de IL-10 e IL-6. Quando comparados apenas os doadores de sangue com e sem CCC, encontrou-se apenas diferença nos níveis de troponina e NT-pro-BNP que estavam mais elevados em doadores com CCC. Já em relação aos doadores com sorologia positiva comparados com os saudáveis, demonstrou-se apenas diferença em relação aos níveis de IL-1 β , relacionado com a sorologia positiva para *T. cruzi* (KEATING, 2015).

Outro estudo transversal comparou chagásicos com a forma indeterminada da doença, com pacientes com CCC e com controles saudáveis e analisou a dosagem de IL-10, IL-6, TNF α , INF γ e IL-1 β no plasma desses indivíduos. Os autores demonstraram que pacientes com CCC apresentaram níveis mais elevados de INF- γ , TNF α e IL-6 comparados com os outros dois grupos. Em contrapartida, os indivíduos com a forma indeterminada apresentaram níveis mais elevados de IL-10(SOUSA, 2014).

Estudo publicado em 2009, também sugeriu que pacientes com CCC apresentam produção aumentada de INF γ e TNF α quando comparados com os chagásicos com a forma indeterminada. As células TH1 de resposta inflamatória são as que mais produzem essas citocinas e são frequentemente, encontradas no miocárdio dos pacientes chagásicos com cardiopatia (CUNHA-NETO, 2009).

Recentemente, demonstrou-se que a dosagem de IL-17 plasmática em pacientes com a forma indeterminada da doença, apresentou níveis mais elevados que em chagásicos com cardiopatia (SOUSA, 2017).

2.1.7. Forma digestiva da doença de Chagas

O envolvimento do trato gastrointestinal, em área endêmica de doença, pode aparecer em 15-20 % dos indivíduos infectados, com alterações das funções de motricidade, absorção e secreção do tubo digestivo. Um estudo longitudinal sugeriu que 0,33% dos pacientes com a forma indeterminada da doença desenvolvem esofagopatia com ou sem disfagia, a cada ano (PRATA, 2001). Entretanto, o envolvimento do trato gastrointestinal varia com a região estudada. É encontrado de forma mais frequente no sul da América do Sul. É raro no norte da América do Sul, na América Central e no México. Pensa-se que isso pode acontecer devido a diferentes genótipos do *T. cruzi* (BERN, 2015; RASSI JR, 2012).

Os pacientes raramente falecem de complicações do sistema digestivo, entretanto, os sintomas desse acometimento podem causar impacto devastador na qualidade de vida. Cerca de 50% dos pacientes acometidos pela esofagopatia apresentam alterações eletrocardiográficas compatíveis com acometimento cardíaco (PRATA, 2001).

Segundo Koeberle: “a moléstia de Chagas deve ser considerada como enfermidade que atinge principalmente o sistema nervoso autônomo”. Na fase aguda da doença, há intenso parasitismo intracelular, que pode atingir todos os tecidos do organismo, todavia há preferência pelo tecido do músculo liso, devido ao intenso miotropismo do *T. cruzi* (REZENDE, 1968).

Os trabalhos de Koeberle mostram que o parasita produz mioosite focal disseminada. Esse processo causa lesão irreversível às células nervosas do plexo de Auerbach. Há denervação progressiva do sistema nervoso intrínseco. O plexo mioentérico tem papel fundamental no funcionamento do trato gastrointestinal, pois coordena o funcionamento autônomo das vísceras ocas, principalmente em relação à motricidade.

De todos os segmentos do tubo digestivo os que apresentam manifestações clínicas mais nítidas da denervação e conseqüente alteração motora são o esôfago e colón. No entanto, alterações do sistema nervoso entérico podem ser encontradas em toda extensão do tubo digestivo (REZENDE, 1968; OLIVEIRA, 1998).

2.1.7.1. Esofagopatia

Estudos realizados em área endêmica mostraram que 7-10% dos indivíduos cronicamente infectados apresentavam alterações radiológicas compatíveis com lesão do esôfago, todavia somente 3% desses indivíduos apresentavam o megaesôfago (OLIVEIRA, 1998).

Na história natural da doença de Chagas, a esofagopatia antecede quase sempre a cardiopatia e mesmo a colonopatia. O indivíduo acometido por megaesôfago é potencialmente um cardiopata, enquanto que o inverso é menos provável. Na série histórica de Joffre 82% dos pacientes apresentaram a doença antes dos 40 anos (REZENDE, 1968).

A destruição dos neurônios dos plexos intramurais é responsável pelas alterações motoras que surgem no esôfago, com perda do peristaltismo normal e acalasia do esfíncter esofágico inferior. Por acalasia se entende a perda da capacidade de dilatação desse esfíncter. O desaparecimento da onda de contração do esôfago fez com que alguns autores sugerissem como nome da moléstia aperistalse do esôfago na moléstia de Chagas. Dessa forma por aperistalse se entende a incoordenação motora do esôfago, não se observando nem a propagação da onda motora contrátil e nem a abertura da cárdia com o reflexo da deglutição (REZENDE, 1968).

O espectro do acometimento esofágico é muito variável, podem aparecer desde leves alterações da motilidade até formas graves com dilatação do órgão. A forma ectásica representa a fase terminal da afecção. Existem numerosos casos com alterações da motricidade, todavia sem aumento do calibre do órgão. Muitos desses casos são assintomáticos e somente são diagnosticados por propedêutica especializada (REZENDE, 1968).

A disfagia é a manifestação clínica mais frequente do acometimento esofágico e provavelmente o sintoma mais comum da forma digestiva da doença de Chagas. É também manifestação precoce da doença. Inicialmente, o paciente refere dificuldade para ingerir alimentos sólidos quando se alimenta com pressa ou disfagia para determinados tipos de alimentos, como o arroz. A disfagia pode também surgir de forma súbita com a ingestão de alimento sólido não mastigado o suficiente com um pedaço de carne, isso pode demonstrar a obstrução do esôfago terminal. Com a progressão da doença, a disfagia se torna constante e mais intensa. Paciente pode referir a necessidade de ingerir água ou líquido a cada deglutição (REZENDE, 1968).

Quase todos os pacientes com megaesôfago apresentam disfagia para sólidos. Outras manifestações clínicas do acometimento esofágico são: soluços, regurgitação, tosse, eructações e odinofagia, pirose, hipersalivação e dor torácica. Em fases mais avançadas, pode ocorrer emagrecimento e desnutrição. Entre as complicações mais importantes estão a desnutrição e a pneumonia por aspiração (REZENDE, 1968; KIRCHHOFF, 1996; PRATA, 2001).

A regurgitação de manifestação precoce denota um esôfago hipercinético, já a tardia, que é dependente do decúbito, aparece quando o órgão já está ectasiado. A dor epigástrica ou

retrosternal aparece a qualquer hora do dia ou da noite. Esse tipo de dor ocorre com maior frequência em casos leves a moderados, sendo encontrado pouca vezes em pacientes com o órgão muito dilatado. Na maioria das vezes, a dor desaparece com a ingestão de algum líquido. A odinofagia traduz acentuado espasmo da musculatura lisa ou mesmo esofagite. O soluço está quase sempre relacionado à ingestão de alimento (REZENDE, 1968; KIRCHHOFF, 1996).

Tem sido relatada associação positiva entre o carcinoma epidermóide esofágico e o megaesôfago chagásico. A frequência dessa neoplasia nos pacientes com megaesôfago pode variar de 1,1 a 6,6%. Está provavelmente mais relacionado ao megaesôfago em si do que à infecção pelo *T.cruzi*, pois a associação entre neoplasia não ocorre na cardiopatia ou colonopatia (ADAD, 1999).

O teste da metacolina, que consiste na administração de substância colinérgica, provoca a contração intensa da musculatura lisa do esôfago. Esse teste é explicado pela lei da denervação de Cannon: todo órgão deservado responde exageradamente aos estímulos. Essa resposta exagerada da musculatura esofágica seria a demonstração farmacológica da denervação parassimpática do plexo miotérico. Esse teste pode ter valor prático no diagnóstico diferencial entre a doença de Chagas e causas orgânicas de dilatação esofágica, como inflamatórias ou tumorais (REZENDE, 1968; ERLAN, 1972). É também método muito sensível para detectar casos assintomáticos e aparentemente normais ao exame radiológico (REZENDE, 1968).

O principal exame diagnóstico é o esofagograma com pesquisa de retenção, estudo radiológico baritado do esôfago, que deve ser feito em dois momentos; o primeiro, imediatamente após a ingestão de 150 ml de contraste baritado e, o segundo, um minuto após a ingestão. Com isso, podemos estratificar os pacientes em quatro grupos, o que é importante para escolha da terapêutica.

Grupo 1: esôfago de diâmetro normal, com retenção mínima de contraste, presença de coluna de ar residual acima do meio de contraste.

Grupo 2: esôfago com dilatação moderada, alguma retenção de contraste, hipertrofia do 1/3 inferior do esôfago.

Grupo 3: esôfago com grande aumento no diâmetro, retenção importante do meio de contraste, esôfago hipotônico com atividade motora fraca ou ausente.

Grupo 4: esôfago com aumento importante no diâmetro, alongado e atônico, dolicoesôfago (REZENDE, 1968).

A endoscopia digestiva é parte essencial da propedêutica. Seu principal papel é excluir outras causas de obstrução do esôfago, principalmente as neoplásicas. Além disto, é importante na avaliação da mucosa esofágica, que pode apresentar sangramento e ulcerações devido à retenção de alimentos. Algumas vezes podem ser encontrados resíduos alimentares no esôfago tortuoso e dilatado (KIRCHHOFF, 1996).

A manometria é também exame complementar relevante, pois pode evidenciar a perda da capacidade de contração, parcial ou completa, do esfíncter esofágico inferior, mesmo em pacientes com exame radiológico normal (OLIVEIRA, 1998).

O principal objetivo do tratamento é o alívio da disfagia, para o que se busca reduzir a pressão no esfíncter inferior do esôfago e promover o esvaziamento do órgão. A escolha da terapêutica deve levar em conta diversos fatores como idade, estado nutricional, grau de acometimento do órgão, presença e tipo de comorbidades, infraestrutura hospitalar, experiência dos cirurgiões disponíveis e, o mais importante, a relevância dos sintomas e seu impacto na qualidade de vida do paciente.

A principal conduta clínica baseia-se nas medidas e orientações higienodietéticas, frequentemente bastante eficazes, especialmente em casos leves a moderados.

As refeições devem ser mais frequentes, de três em três horas e com porções menores; os alimentos devem ter consistência pastosa e ser ingeridos lentamente; os alimentos devem ser triturados em um liquidificador, junto com caldo de carne ou galinha, em tablete ou cozido em casa. Deve-se evitar alimentos muito frios ou quentes, buscando-se evitar contrações espasmódicas do órgão desenergizado (Lei de Cannon). Se o paciente tolera ingestão de alimentos sólidos, estes devem ser macios, em pequenos pedaços; os dentes, naturais ou artificiais, devem estar, sempre que possível, em boas condições, a mastigação deve ser lenta e a deglutição pode ser acompanhada pela ingestão de um pouco de água. O tratamento farmacológico restringe-se ao uso de nitratos e bloqueadores de canal de cálcio, que promovem dilatação leve do esfíncter esofágico inferior e podem dar discreto alívio transitório da disfagia. Podem ser usados 5 a 10mg do isorbitol dinitrato, 15 minutos antes da refeição, ou então 10mg de nifedipina nos 30 minutos anteriores à ingestão de alimentos. Esses medicamentos são considerados ineficazes a médio e longo prazo e seu uso é limitado pelos efeitos colaterais, como cefaleia e refluxo (OLIVEIRA, 1998; KIRCHHOFF, 1996).

A intensidade dos sintomas é o principal fator na decisão pela intervenção invasiva. Esta pode ser por via endoscópica, com dilatação com balão esofágico, ou injeção de toxina

botulínica ou cirúrgica. Fator importante na decisão entre cirurgia e endoscopia é o estado geral e risco cirúrgico do paciente. Deve-se levar em conta a presença e grau de desnutrição e de cardiopatia, a qual acompanha cerca de 30% dos casos de megaesôfago.

A dilatação por balão esofágico, a ser realizada sempre por profissionais experientes, está indicada nos pacientes dos grupos II e III. Pode também ser realizada no grupo I se os sintomas forem muito intensos e interferirem na qualidade de vida. Não deve ser feita nos pacientes do grupo IV. A complicação mais temida é a ruptura esofágica, que pode ocorrer em 2 a 3% dos casos. É considerada terapêutica de eficácia moderada a curto e médio prazo. Podem ser necessárias diversas intervenções, o que aumenta o risco de ruptura (OLIVEIRA, 1998; DIAS 2015, WHO, 2002).

A injeção de toxina botulínica no esfíncter inferior, por via endoscópica, surgiu como modalidade terapêutica na acalasia idiopática, que tem características semelhantes ao megaesôfago chagásico. A toxina age nas sinapses, bloqueando a liberação de acetilcolina, com conseguinte inibição da contração do músculo. Na acalasia idiopática, demonstrou-se melhora dos sintomas no primeiro mês, mas com recorrência da disfagia após um ano (BECK, 2011). A aplicação da toxina botulínica não se mostrou mais eficiente que a dilatação por balão, reservando-se seu emprego aos doentes com contraindicações à dilatação por balão ou miotomia (BECK, 2011).

A cardiomiectomia com funduplicatura por videolaparoscopia é a cirurgia mais indicada para os pacientes dos grupos II e III. Já para o grupo IV não há consenso entre os especialistas. Pode ser feito tanto a esofagectomia com anastomose gastrocervical como a ressecção do segmento redundante do esôfago com cardiomiectomia e funduplicatura (DIAS,2015;KIRCHHOFF, 1996).

2.1.7.2. Colonopatia

A perda neuronal nos plexos mioentéricos leva a alterações motoras do cólon, sendo a mais característica a perda da coordenação entre o reto e o sigmoide. A destruição dos neurônios também causa a acalasia do esfíncter interno anal e, além disso, perda de sensibilidade da parede do reto, sendo necessário estímulo mais forte para induzir a necessidade de evacuar (REZENDE, 1968).

Segundo Koeberle as lesões do plexo miotérico são difusas e extensas abrangendo todo o segmento ectasiado (REZENDE, 1968).

A incoordenação motora é o fator responsável pela estagnação do bolo fecal e consequente dilatação e hipertrofia das paredes do colón. Segundo Koeberle, as manifestações clínicas do acometimento do tubo digestivo na doença de Chagas são mais evidentes no esôfago e no colón pela natureza do seu conteúdo ser sólido. Para propulsão do conteúdo sólido é necessário ótima coordenação motora com ondas peristálticas muito eficazes. Já no caso do conteúdo líquido, esse se movimenta facilmente mesmo com alterações do peristaltismo (REZENDE, 1968).

O sigmoide e o reto são os segmentos do intestino grosso mais acometidos pela doença. Pode também acometer o colón transverso e o descendente e todo o intestino grosso, mas é menos comum. Como é no colón esquerdo que acontece a maior absorção de água, há maior dificuldade para propulsão do bolo fecal à medida que esse se aproxima do reto (REZENDE, 1968; ERLAN, 1972).

O aparecimento do megacólon é raro, como manifestação isolada, normalmente associando-se ao megaesôfago e/ou à cardiopatia. Sua prevalência não é bem conhecida pelas dificuldades de seu diagnóstico (OLIVEIRA, 1998). Aparentemente, a evolução da colonopatia é mais lenta que a esofagopatia (REZENDE, 1968).

Em estudos de autópsia, o acometimento colônico é mais frequente que o esofagiano, embora na prática clínica ocorra o oposto. Talvez isso possa ser explicado pelo número de casos que são assintomáticos ou oligosintomáticos. Além de a preponderância da sintomatologia ser motivo importante para o diagnóstico, a disfagia exige atenção médica, enquanto a constipação não só pode ser atribuída a outras causas como passar despercebida em casos mais leves. O diagnóstico de megacólon normalmente acontece em pessoas com idade mais avançada e em locais onde a transmissão da doença não ocorre mais (OLIVEIRA, 1998; MATSUDA, 2009).

A principal manifestação clínica é a constipação intestinal, que normalmente é lenta e progressiva. Inicialmente, o paciente necessita apenas usar laxativos de forma intermitente, em seguida precisa dos laxativos de forma constante e por fim há necessidade de lavagens intestinais (REZENDE, 1968; KIRCHHOFF, 1996; OLIVEIRA, 1998).

A dificuldade para defecar, em que ocorre perda do reflexo da evacuação e necessidade de força da musculatura abdominal para que ocorra a exoneração intestinal, é queixa encontrada em pacientes tanto com exame radiológico normal quanto em pacientes com megacólon (REZENDE, 1968).

A constipação pode se acompanhar de meteorismo, que é manifestação precoce e frequente e de distensão abdominal. O fecaloma e o volvo do sigmoide são as complicações mais frequentes do megacólon. Episódios de pseudo-obstrução e colite isquêmica são menos frequentes (KIRCHHOFF, 1996; OLIVEIRA, 1998).

O teste da metacolina em chagásicos, principalmente com megacolon produz aumento do tônus e da atividade motora do segmento afetado, em contrapartida, em indivíduos saudáveis causa redução ou interrupção da atividade motora. Pode ser usado para identificar acometimento do cólon assintomático e ainda sem evidências radiológicas (REZENDE, 1968).

O principal método de diagnóstico é o enema baritado sem preparo. O sigmoide encontra-se dilatado em quase todos os casos e o reto está acometido em 80% das vezes. Raramente, todo o cólon pode estar dilatado. Em cerca de 25% dos casos constata-se a dilatação ao enema, mas os pacientes são assintomáticos (OLIVEIRA, 1998). A colonoscopia ajuda a excluir outras causas de constipação intestinal. Parece existir uma associação negativa entre neoplasia e megacolon chagásico. Nos casos relatados, o tumor poupava o segmento dilatado do cólon, o mesmo se observando entre doença diverticular e megacolon (MATSUDA, 2009).

O tratamento do megacolon pode ser clínico ou cirúrgico. Atualmente, o tratamento cirúrgico está indicado apenas aos casos refratários ao tratamento clínico.

O tratamento clínico baseia-se em medidas higienodietéticas e no uso de laxantes osmóticos e enemas. As orientações centram-se na mudança do hábito alimentar, privilegiando alimentos que favorecem o funcionamento intestinal (ricos em fibras, ameixa, mamão, laranja) e evitando aqueles que sabidamente causam constipação (banana, goiaba, jabuticaba). A ingestão de água deve ser abundante, mínimo de dois litros por dia. Medicamentos que causam constipação, como opióides, anti-histamínicos, diuréticos, também devem ser evitados (KIRCHHOFF, 1996; OLIVEIRA, 1998).

Pode-se usar Agar-agar ou óleo mineral como laxante, de modo a favorecer as evacuações de uma a duas vezes por semana, sendo que o último não deve ser administrado à noite, pelo risco de aspiração. O enema glicerinado pode ser usado, conforme a necessidade, em casos mais rebeldes. No tratamento do fecaloma, pode ser realizada a extração manual. Se esta não for possível, pode ser usada administração por sonda retal de solução fisiológica gota a gota ou então lavagens múltiplas com solução glicerinada. O limite máximo de administração destas soluções por dia é de 3000 ml, pela possibilidade de distúrbios hidroeletrólíticos (DIAS, 2015; KIRCHHOFF, 1996).

A opção por tratamento cirúrgico, que envolve frequência elevada de complicações, está limitada aos pacientes que já apresentaram complicações como o volvo e fecaloma e para casos resistentes às medidas clínicas (DIAS, 2015; KIRCHHOFF, 1996).

2.1.7.3. Enteropatia

A disfunção do intestino delgado em pacientes chagásicos pode ser demonstrada por testes funcionais mesmo na ausência de sintomatologia. A patogenia também está relacionada ao sofrimento dos neurônios do plexo mioentérico (MENEGHELLI, 2004).

Segundo os trabalhos de Koeberle, o resultado final da denervação do sistema nervoso entérico é a dilatação do órgão envolvido, pois inicialmente, apareceriam alterações relacionadas à coordenação motora, ao que se seguiria retardamento do trânsito e estagnação e retenção do conteúdo do órgão que provocaria distensão contínua das fibras musculares que se tornariam hipertrofiadas e posteriormente, se dilatariam (DIAS, 2015; KIRCHHOFF, 1996).

Em estudo radiológico do intestino delgado, realizado em 40 pacientes com megaesôfago, encontrou-se estase ileal em 32%, trânsito normal em apenas 20% dos indivíduos, ora acelerado, ora retardado, e por vezes alterado em no íleo, às vezes no jejuno e em outras vezes em todo o trajeto do delgado. A motilidade estava reduzida em grande parte dos casos e a hipotonia foi encontrada em 42% das vezes (REZENDE, 1968).

A dilatação do intestino delgado não é comum e normalmente está associada com megaesôfago e megacólon. Foi encontrada em apenas 2% dos casos em estudos de autópsias (ERLAN, 1972; TRONCON, 2000). Presume-se que o intestino delgado seja mais poupado por não apresentar esfíncter de alta funcionalidade como o anal e o esofágico e por acomodar líquidos e não sólidos como o esôfago e o cólon (ERLAN, 1972). No entanto, duodeno é o segmento do tubo digestivo que mais apresenta dilatação, após o esôfago e cólon. O megaíleo é muito raro (MENEGHELLI, 2004; OLIVEIRA, 1998).

No estudo de 250 autópsias realizado por Koeberle, encontrou-se apenas 3 casos de megaduodeno e 1 caso de megajejuno. A discinesia do duodeno é mais frequentemente encontrada e pode estar ou não associada à presença do megaesôfago. O paciente pode apresentar dor e desconforto após as refeições (REZENDE, 1968).

Segundo Meneghelli, a atividade motora do intestino delgado está frequentemente alterada no acometimento do tubo digestivo pela doença de Chagas, pois é altamente dependente da regulação realizada pelo sistema nervoso.

Estudo realizado por Troncon, em 1993, mostrou que o tempo de trânsito do esôfago ao ceco encontrava-se prolongado em paciente com acometimento digestivo chagásico. Há inicialmente, aumento do tempo de esvaziamento gástrico e maior rapidez na porção proximal do intestino delgado, todavia o tempo total do trânsito estava significativamente prolongado em pacientes com doença de Chagas comparados com controle hígidos. Sugere-se que esse atraso aconteça na porção terminal do delgado por retenção do líquido nesse segmento (TRONCON, 1993).

A função de absorção do intestino delgado foi pouco estudada nos chagásicos. Estudos realizados por Meneghelli mostraram alterações na absorção de glicose. Os pacientes com megas apresentaram aumento pico elevado na absorção de glicose inicialmente, seguido por forte queda (MENEGHELLI, 2004).

As manifestações clínicas do acometimento do intestino delgado pela doença de Chagas baseiam-se em três síndromes: super crescimento bacteriano, pseudo- obstrução crônica e dispéptica.

A estagnação do conteúdo no intestino delgado pode propiciar condições que favoreçam o super crescimento bacteriano. Pacientes podem assim apresentar diarreia crônica persistente ou diarreia crônica intercalada com períodos de constipação. Podem aparecer também esteatorréia, anemia e hipocalcemia. O tratamento com antibióticos por 3 a 4 semanas causa remissão desses sintomas (MENEGHELLI, 2004; OLIVEIRA, 1998).

Pacientes com pseudo-obstrução podem apresentar: distensão abdominal, cólicas e constipação. O tratamento pode ser cirúrgico ou clínico, dependendo da extensão do segmento acometido.

Na síndrome dispéptica, os pacientes apresentam sensação de plenitude pós-prandial e desconforto epigástrico. A dor varia de intensidade e de período pós-prandial tardio ou precoce. O tratamento baseia-se em ajustes dietéticos com alimentação mais leve, sem gordura e em pequenas porções. Em casos mais graves, pode ser cirúrgico com anastomose duodeno-jejunal (MENEGHELLI, 2004).

2.1.7.4. Envolvimento gástrico, glândulas salivares e vias biliares.

Existem diversos relatos mostrando alterações secretórias e de motilidade gástrica resultantes da destruição dos neurônios do plexo intramural. A dilatação acentuada do estômago é pouco frequente e geralmente está associada com os casos de acometimento esofágico. Em estudo realizado por Koeberle, em 250 autopsias de chagásicos, foram encontrados apenas 6 casos de megaestômago. Entretanto, em pacientes com megaesôfago, em 40 casos, encontraram hipotonia gástrica em 22, hipoperistaltismo em 15, dilatação em 7, esvaziamento retardado em 4 e estômago em cascata em 1. Estudos com o teste da metacolina demonstraram hiper-reatividade, em estômago de chagásicos, mesmo sem acometimento do colón e esôfago, apesar de menos comum. Os pacientes podem apresentar queixas de digestão demorada, perda e sensação de desconforto e plenitude (REZENDE, 1968).

Foi demonstrado esvaziamento gástrico retardado para sólidos, sem gastroparesia, enquanto que para líquidos o tempo de esvaziamento precoce está acelerado (MENEGHELLI, 2004). Foi relatado também maior prevalência de gastrite por *H. pylori* em chagásicos com acometimento do trato gastrointestinal (OLIVEIRA, 1998).

O acometimento das glândulas salivares, com hipertrofia das glândulas, principalmente das parótidas, foi demonstrado em 25% dos pacientes com megaesôfago (KIRCHHOFF, 1996). Essa hipertrofia pode ser explicada pelo reflexo esôfago-salivar em que se existe obstáculo ao transito de alimentos no esôfago há hiperatividade secretória das glândulas salivares (REZENDE, 1968).

O encontro de megacoledoco e megavesícula é extremamente raro, embora a destruição de neurônios do trato biliar seja, frequentemente, encontrada (OLIVEIRA, 1998).

2. 2. O intestino na insuficiência cardíaca

A IC é cada vez mais compreendida como uma doença sistêmica com comprometimento hemodinâmico, neurohormonal e com alterações inflamatórias que leva ao comprometimento de diversos órgãos e sistemas como os rins, cérebro, sistema musculoesquelético, hepático e imunológico (SANDECK, 2009). Sintomas do trato

gastrointestinal são comuns em pacientes com IC, tais como empachamento, dor abdominal, anorexia e vômitos. Na última década houve maior interesse no estudo da participação do intestino na patogênese da IC, com importantes trabalhos por parte de Sandek e D Anker. Como a IC é atualmente reconhecida como um estado de inflamação crônica sistêmica, os autores estabeleceram uma teoria para explicar a gênese das citocinas pró-inflamatórias na IC. Eles postulam que alterações da função de barreira do trato gastrointestinal, possibilitariam translocação bacteriana ou mesmo apenas maior contato da mucosa do TGI com LPS (lipopolissacarídeo - componente da membrana celular das bactérias bastonetes gram negativos) e assim haveria aumento das citocinas pro inflamatórias que por sua vez levariam a um maior comprometimento da função cardíaca completando um ciclo vicioso.

O intestino delgado e o grosso são altamente vascularizados e recebem cerca de $\frac{1}{4}$ do DC. São vascularizados pela artéria mesentérica superior e inferior. O sangue venoso é coletado pelo sistema porta. A mucosa intestinal é a área metabolicamente mais ativa do intestino e recebe mais da metade do fluxo sanguíneo destinado a esse órgão. As vilosidades compreendem a área de maior demanda metabólica da mucosa intestinal. A circulação sanguínea nas vilosidades se faz por mecanismo de contracorrente, ou seja, as arteríolas e as vênulas correm em paralelo, o que proporciona um mecanismo de shunt nas regiões basais da mucosa em condições de hipofluxo e tornam as vilosidades mais sujeitas a isquemia em situações de hipofluxo sanguíneo. A descarga adrenérgica em resposta ao baixo débito cardíaco (DC) e condições de hipofluxo sanguíneo, privilegiam o fluxo sanguíneo para o cérebro e os rins e com isso causa vasoconstricção do leito esplâncnico e “fuga” sanguínea desse sistema, que é rico em receptores α_1 e α_2 (SANDECK, 2008; SANDECK 2009;SUNDARAM 2016).

Um estudo que fortalece essa hipótese foi realizado por um grupo russo (ARUTYUOV, 2008) em que os autores realizaram biópsia do intestino delgado de 4 grupos diferentes: um controle constituído por indivíduos hígidos, o segundo grupo por pacientes com IC em classe funcional I e II, o terceiro grupo por pacientes em classe funcional III e IV sem caquexia e o quarto grupo por pacientes em classe funcional III e IV mas com caquexia. O conteúdo relativo de colágeno da mucosa intestinal foi diferente nos 4 grupos estudados. Pacientes em classe funcional avançada e principalmente, aqueles com caquexia apresentaram níveis mais elevados de colágeno. O conteúdo relativo de colágeno foi menos expressivo em pacientes em classe funcional I e II, contudo, ainda foi maior em comparação com os indivíduos hígidos. Os pacientes também apresentaram a maior distância entre a membrana basal do enterócito e a parede do capilar. Essa distância foi maior nos pacientes com

diagnóstico de caquexia ($19 \pm 1,2$ Mm) e, nos pacientes em classe funcional III e IV ($18,6 \pm 1,4$ Mm). OS indivíduos saudáveis apresentaram a menor distancia entre o capilar e a membrana basal ($8,4 \pm 0,7$ Mm). Foi também avaliado a perda de gordura e proteína pela análise das fezes desses indivíduos e verificou-se que pacientes em classe funcional avançada com ou sem caquexia apresentaram maior perda desses elementos em comparação ao grupo controle. Sandeck e D Anker (SANDECK, 2008) propuseram que o acúmulo de colágeno corresponderia à “cicatrização” de vários insultos isquêmicos à mucosa intestinal que causariam alterações na função de barreira do intestino.

A circulação venosa do intestino também é afetada e pode influenciar na sintomatologia da IC. O sistema esplâncnico apresenta maior complacência que o sistema venoso dos membros inferiores (mmii) e é rico em receptores $\alpha 1$ e $\alpha 2$. Assim, a descarga adrenérgica leva a redução da sua capacitância (SUNDARAM, 2016)

Estudos recentes (SUNDARAM, 2016), com o uso de um monitor hemodinâmico contínuo, demonstraram que a vasoconstricção esplâncnica pode aumentar o volume sanguíneo efetivo circulante sem que haja alteração global do volume de sangue total. Essas alterações podem explicar sintomas comuns na fase avançada da IC como dor abdominal, náuseas e vômitos. Pode também explicar porque em 40% dos casos de descompensação aguda da IC não houve ganho de peso e a pressão da artéria pulmonar aumentou alguns dias que antecederam o evento, também sem aumento de peso corpóreo associado.

Além disso, a congestão venosa por insuficiência ventricular direita (IVD) com pressões venosas elevadas, com conseqüente congestão do leito esplâncnico e edema da mucosa deteriorariam as condições da microcirculação intestinal.

2.3. Alterações da Permeabilidade Intestinal na Insuficiência cardíaca

2.3.1. Definição de permeabilidade intestinal

A barreira do trato gastrointestinal (TGI) cobre uma extensão de 400m^2 e demanda cerca de 40% dos gastos energéticos do organismo. O epitélio do trato gastrointestinal (TGI)

tem funções complexas, a mais difundida e conhecida é a absorção de nutrientes. No entanto a função de barreira protetora dos estímulos nocivos do meio externo, como antígenos, bactérias e outros produtos hostis não é menos importante. A função da barreira da mucosa do intestino é complexa, pois além de absorver os nutrientes deve proteger o organismo dos estímulos nocivos e promover coexistência pacífica com as bactérias simbióticas do intestino (BISCHOFF, 2014; ONDEWALD, 2016; SALVO-ROMERO, 2015).

São diversos os mecanismos que compõem a função protetora do intestino: mecanismo do lúmen intestinal (peristaltismo, suco gástrico, pancreático, biliar), a camada protetora de muco que envolve a mucosa intestinal, os sistema imune e as citocinas, os peptídeos antimicrobianos, e a IgA. Vale dizer que 70% do sistema imune está presente no TGI (DE-MEO, 2002; BISCHOFF, 2014; ONDEWALD, 2016; SALVO-ROMERO, 2015)

A camada de células epitelial também exerce importante função protetora do organismo. Funciona como uma membrana semipermeável que permite a passagem de nutrientes, água e eletrólitos e impede a passagem de estímulos nocivos. Se intacta impede a passagem de grande parte das substâncias hidrofílicas. Essa única camada de células epiteliais forma a principal barreira física entre o lúmen intestinal e a mucosa. É composta por células especializadas, com renovação contínua a cada 3 a 5 dias. A camada de muco protetora do epitélio é composta por mucina secretada pelas células de Goblet. Essa camada impede que partículas grandes e bactérias intactas entrem em contato com a mucosa intestinal. O componente de muco PE fortificado por peptídeos antimicrobianos e proteicos, com lizoenzimas. (FARHADI, 2003, DE-MEO, 2002; TEIXEIRA, 2014).

Atualmente, há muito interesse no estudo das junções entre as células epiteliais. O espaço entre as células determina a passagem paracelular de fluidos e eletrólitos e é regulado por estruturas que ligam os enterócitos em uma única camada. No aspecto apical as células estão ligadas por “junções-firmes”, as conhecidas “tight junctions” e por junções aderentes. No campo basolateral as células estão conectadas por desmossomos. Esse aparato é também chamado *de complexo juncional apical*. As junções firmes são formadas por proteínas da família da claudina, pela occludina e pelas moléculas da junção de adesão. Essas proteínas se conectam às proteínas chamadas de zonulina e zonula occludens e através delas aos citoesqueleto. A interação entre essas proteínas é altamente complexa e varia ao longo do TGI. Essa junção se conecta ao citoesqueleto e tem relação com o endotélio, o sistema imune da submucosa e o ambiente do lúmen. As “junções-firmes” tem papel fundamental na manutenção da função de barreira (BISCHOFF, 2014; ONDEWALD, 2016; SALVO-ROMERO, 2015; TURNER, 2009).

A disfunção da barreira intestinal está associada há uma grande variedade de moléstias, tanto relacionadas ao TGI como doenças sistêmicas, como a doença inflamatória intestinal, a doença celíaca, o colón irritable, a cirrose hepática, e mesmo o diabetes insulino-requerente, a sepse e queimaduras (BISCHOFF, 2014; QUIGLEY, 2016; CAMILLERI, 2012).

Há muita confusão entre os termos permeabilidade intestinal e função de barreira gastrointestinal. A permeabilidade intestinal pode ser definida como elemento ou característica da função de barreira e foi mesmo considerado por alguns autores com uma “característica mensurável” da barreira (BISCHOFF, 2014; QUIGLEY, 2016).

Apesar de muita confusão no seu uso, os estudos originais de TRAVIS e MENZIES (1992) definiam permeabilidade intestinal como a função protetora do epitélio intestinal. A permeabilidade refere-se à propriedade de uma membrana em permitir a passagem de moléculas por difusão não mediada, ou seja, não há auxílio de um sistema carreador de transporte. Segundo MENZIES (1992) o termo permeação refere-se ao ato da difusão não mediada, por um gradiente simples de concentração ou pressão.

A permeabilidade intestinal é um processo altamente dinâmico, como foi evidenciado por seu comportamento frente ao estresse hiperosmótico quando aparecem alterações na função de barreira do intestino que são reversíveis após algumas horas (HOLLANDER, 1995) A permeabilidade intestinal também pode ser alterada por drogas, citocinas, doenças e álcool. Já idade, fatores hereditários e raça não parecem exercer grande influência (MENZIES, 1992; FARHADI, 2003).

Os primeiros estudos não invasivos com marcadores de alterações de barreira intestinal foram realizados em 1673 por Martin Lister e em 1701 por Musgrave, que utilizaram leite com tintura (índigo) para avaliar a passagem de substância através da membrana intestinal de cães. Em 1930, McCane e Madders foram os primeiros a estudar os açúcares como marcadores não invasivos da função intestinal (MENZIES, 1992). São usados monossacarídeos como o manitol e L-rhamnose e oligossacarídeos como a celobiose e a lactulose. Os oligossacarídeos não apresentam capacidade de atravessar a membrana celular, pois quando são injetados por via endovenosa são encontrados apenas no componente extracelular. Existem duas teorias sobre o processo de “permeação” dos açúcares através da membrana intestinal que são discutidas a seguir.

2.3.2. Teorias sobre a permeabilidade intestinal

A teoria clássica (MENZIES, 1992) refere-se basicamente a duas rotas de passagens das moléculas: transcelular ou pela superfície das células e paracelular – por entre as células. Essa teoria baseia-se na presença de poros aquosos grandes e pequenos na superfície da membrana por onde passariam moléculas não lipofílicas. Sugeriu-se a existência de pequenos poros na membrana celular pela facilidade com que moléculas não lipídicas passavam pela membrana celular altamente lipídica. O estudo de Naftalin e Tripathi, em 1985 demonstrou a presença de pequenos poros eletroneutros (0,4 nm de radio) na membrana do intestino de coelhos. Já poros maiores com radio de 6,5 nm foram encontrados na membrana basolateral. Eles sugeriram que esses poros funcionam como canais de água com natureza dinâmica, pois podem sofrer alterações com processos patológicos ou mesmo com estresse hiperosmolar.

Acredita-se que os poros menores estão presentes em quantidade maior na membrana celular, pois os monossacarídeos atravessam a membrana intestinal em quantidade muito superior aos dissacarídeos, assim propõe-se que os dissacarídeos penetram a membrana dos enterócitos pela rota paracelular, cujo principal componente é representado pelas junções firmes ou “tigh junctions”. (MENZIES, 1992).

As junções firmes (MENZIES, 1992) são estruturas que envolvem as células pelo seu polo apical e além de conectarem as células com os componentes celulares adjacentes, mantêm a devida polaridade celular, separando a membrana apical da membrana basolateral. O orifício entre as células epiteliais mede cerca de 20 nm, todavia, é preenchido por diversos fios de proteína, que estão conectados ao citoesqueleto. Isso demonstra que as junções firmes representam muito mais que um local de simples passagem entre as células. Mediadores intracelulares como os íons de cálcio e AMP cíclico, podem alterar a resistência das junções firmes. Além disso, a permeabilidade das junções firmes varia ao longo do epitélio. As junções firmes nas criptas do epitélio apresentam menor resistência, ou seja, são mais “frouxas” em relação às junções firmes das vilosidades.

Pela teoria clássica da permeabilidade intestinal moléculas menores como os monossacarídeos atravessariam a membrana do enterócito pela grande quantidade de poros menores aquosos existentes nas membranas, já os dissacarídeos atravessariam a membrana pelos poros maiores existentes apenas nas criptas e pela rota paracelular (MENZIES, 1992).

Hollander propôs em 1995 uma hipótese alternativa para justificar o diferente comportamento dos açúcares em relação à passagem através do epitélio intestinal. Hollander aventou a hipótese que todos os açúcares atravessam a membrana intestinal pela rota paracelular. No entanto, as junções firmes permitiriam a passagem de moléculas maiores e menores nas criptas e apenas de moléculas menores nas vilosidades, ou seja, haveria uma maior “firmeza” das junções localizadas nas vilosidades. Dessa forma, segundo essa teoria, a atrofia das vilosidades aumentaria a exposição das moléculas maiores às junções das criptas e aumentaria a permeabilidade intestinal (HOLLANDER, 1995).

O marcador ideal para avaliação da função de barreira protetora da mucosa intestinal deve ser inerte e atravessar o epitélio intestinal por difusão não mediada por rotas de passagem previamente conhecidas. Variações do indivíduo como tempo de esvaziamento gástrico, trânsito intestinal, função renal e técnica na coleta da urina podem alterar o desempenho do teste quando um só marcador é utilizado. Por isso ficou tão popular a combinação de um monossacarídeo com um dissacarídeo (MENZIES, 1992; HOLLANDER, 1995). Normalmente, a dosagem do açúcar é feita por sua taxa de excreção na urina por atingir concentrações muito superiores as do plasma. Assim o marcador ideal deve ser totalmente excretado pelos rins sem reabsorção tubular.

A permeabilidade paracelular é afetada por drogas, citocinas e estresse hiperosmótico, já a permeabilidade transcelular é afetada por alterações da composição e contiguidade da membrana celular do enterócito.

2.3.3. Permeabilidade intestinal e insuficiência cardíaca

Em 1999, motivado pela teoria que a translocação bacteriana pela mucosa intestinal provocaria estímulo à cascata de citocinas pró-inflamatórias, Niebauer e colaboradores compararam a dosagem de endotoxina bacteriana e citocinas pró-inflamatórias no plasma de pacientes com IC com edema e sem edema de membros inferiores (mmii). Foi demonstrado que pacientes com edema de mmii apresentaram níveis mais elevados de endotoxina bacteriana e de citocinas pró-inflamatórias. Após a compensação da IC (terapia intensiva e prolongada com diurético) houve redução dos níveis de endotoxina, mas não dos marcadores inflamatórios. Vale ressaltar que os valores de endotoxina circulante são muito menores que os encontrados no plasma de pacientes sépticos (NIEBAUER, 1999).

Os primeiros autores a estudarem a permeabilidade intestinal em pacientes com IC foram Sandek e D. Anker, em 2007. Nesse estudo, foram selecionados 22 pacientes com FEVE <40% com condição clínica estável e a maioria em classe NYHA II. Esses pacientes foram comparados com um grupo controle de indivíduos hígidos. Os autores encontraram aumento de 35% da taxa de permeabilidade intestinal dos doentes em relação ao grupo controle. Além disso, foi realizada ultrassonografia abdominal para mensuração da espessura da parede intestinal e biópsia do sigmoide por sigmoidoscopia. Os pacientes com IC apresentaram maior espessura da parede do íleo terminal, do colón e do sigmoide em comparação ao controle. Nos fragmentos de biópsia do sigmoide foi avaliada a densidade de bactérias na camada de muco. Nos pacientes com IC as bactérias eram mais numerosas e mais aderentes a mucosa intestinal. Esse trabalho foi o primeiro a mostrar alterações morfológicas e funcionais no intestino de pacientes com IC e que poderiam estar implicadas na patogênese da doença (SANDECK, D. ANKER 2007).

Nos anos seguintes, outros estudos envolvendo alterações da permeabilidade intestinal e IC foram publicados. Em 2007, Schaufelberger e colaboradores compararam o comportamento da permeabilidade intestinal paracelular entre um grupo de pacientes com FEVE <40%, e dois grupos controle, um grupo de indivíduos saudáveis e outro grupo de pacientes pré-transplante de medula óssea. Não foi encontrada diferença significativa entre a permeabilidade intestinal, calculada pela taxa de excreção do Cr-EDTA (ácido etilenediaminetetraacético - marcado pelo Cr – isótopo de peso molecular de 359 daltons utilizado como marcador em testes da permeabilidade intestinal) entre os três grupos. Coletou-se, também, amostras de plasma dos pacientes com IC para avaliação de endotoxina bacteriana, e esta estava abaixo do limite de detecção em todos os pacientes (SCHAUFELBERGER, 2007)

Em 2012, Sandeck e D. Anker publicaram novo estudo dessa vez com pacientes com FEVE <40% mas divididos em três grupos um com quadro de congestão sistêmica representada por edema de membros inferiores, outro sem edema de membros e o grupo controle de indivíduos hígidos. Nesse estudo a permeabilidade intestinal foi estudada com l-ramnose (monossacarídeo – rota transcelular) e melbiose (oligossacarídeo – rota paracelular). Não foi encontrada diferença significativa da permeabilidade intestinal entre o grupo de doentes com edema de membros, doentes sem edema de membros e em indivíduos hígidos. Esses três grupos foram também comparados quanto à excreção urinária de um marcador absorvido por um processo ativo de transporte: 3-OMG ((3-)-metil-D-glicose) e a D-xilose que é absorvida por um mecanismo de transporte passivo. Os pacientes com IC, principalmente aqueles com

edema de mmmi mostraram 54% de redução da taxa de excreção do 3-OMG que representa a absorção por um transporte de carreador ativo e essa redução foi mais marcantes naqueles pacientes com edema de mmii. Houve também 34% na redução da taxa de excreção da D-xilose que refletiria o sistema carreador passivo. Foi também avaliado a concentração de citocinas e LPS no plasma dos pacientes com IC e aqueles com congestão sistêmica apresentaram concentração plasmática de LPS mais elevada em comparação ao grupo de indivíduos hígidos e aos pacientes sem edema de mmii. Foi verificada a mesma condição em relação às citocinas. Nesse mesmo estudo, os autores ainda seguiram prospectivamente um grupo de pacientes com IC e durante a fase de congestão sistêmica verificaram níveis plasmáticos mais elevados de LPS em relação a fase de estabilização da doença cardíaca (SANDECK, D. ANKER, 2012).

Em 2015, Pasini e colaboradores avaliaram as alterações da permeabilidade intestinal em 60 pacientes com IC comparados com um grupo controle. A permeabilidade paracelular foi avaliada com uso da celubiose, um dissacarídeo restrito ao meio extracelular e que não é excretado pelos rins. Os pacientes receberam uma mistura de açúcares contendo 2g de manitol, 5g de celubiose e 20 g de sucrose em 150 ml de água, solução total com osmolaridade de cerca de 1500 mOsm/l. Os valores da excreção da celubiose estavam acima do valor de referência em 78% dos cardiopatas e os indivíduos em classe funcional mais avançada foram os que apresentaram os valores mais elevados. Além disso, os autores realizaram cultura de amostras de fezes dos pacientes e verificaram maior crescimento de bactérias patogênicas em culturas dos pacientes com IC. Os pacientes com classe funcional mais avançada apresentaram maior crescimento de *Candida*, *Campylobacter* e *Shigella* quando comparados com os indivíduos em classe funcional I e II (PASINI, 2015).

Estudo recente sugeriu redução de fluxo sanguíneo nas artérias mesentérica superior e inferior e no tronco celíaco (medido por ultrassom com Doppler de alta- resolução) de pacientes com FEVE menor que 40% comparado com grupo de indivíduos hígidos. Houve correlação entre a redução do fluxo sanguíneo na mesentérica superior e a gravidade da IC (SANDEK, 2014).

Com vistas na gravidade e prognóstico ominoso da CCC em pacientes com dilatação de câmaras cardíacas e disfunção sistólica, e também nas dúvidas em relação à sua patogênese e tratamento adequado, propor-se a realização desse estudo. A disfunção de barreira da mucosa intestinal está associada à diversas doenças com inflamação crônica em baixo grau, como a diabetes tipo I e a doença inflamatória intestinal. Tanto a CCC como a IC são caracterizadas por um processo de inflamação crônica de baixo grau. Por conseguinte,

postulou-se que as alterações da permeabilidade intestinal poderiam favorecer a translocação bacteriana e conseqüentemente ativar a cascata da inflamação e piorar o estado funcional e o desfecho desses indivíduos.

3. Objetivos

3.1. Objetivo da pesquisa

Analisar o comportamento da permeabilidade intestinal - e sua relação com a apresentação clínica, com o perfil neurohormonal (BNP) e inflamatório (TNF- α , IL1- β , IL6, IL-8, IL10, IL12), além de parâmetros hemodinâmicos obtidos através da ecocardiografia bidimensional de pacientes com cardiopatia chagásica crônica (CCC). Analisar comparativamente o teste da permeabilidade intestinal desse grupo de pacientes com CCC e com um grupo controle de indivíduos hígidos.

3.2. Objetivos Específicos

- Analisar comparativamente as alterações de função de barreira intestinal com os parâmetros hemodinâmicos obtidos através da ecocardiografia bidimensional.
- Analisar comparativamente as alterações de função de barreira da mucosa intestinal com a apresentação clínica da cardiopatia chagásica crônica por meio da escala para análise de descompensação da ICC (score de Framingham) e da classe funcional (NYHA).
- Analisar comparativamente as alterações da permeabilidade intestinal em relação aos níveis séricos de BNP.
- Analisar comparativamente as alterações da permeabilidade intestinal em relação ao desfecho: óbito e eventos cardiovasculares adversos.
- Analisar comparativamente as alterações da permeabilidade intestinal do grupo de pacientes chagásicos em relação a um grupo de voluntários saudáveis.

3.3. Hipótese

Pergunta de pesquisa: Existe alteração da permeabilidade intestinal na Cardiopatia Chagásica Crônica (CCC)?

Hipóteses:

1. O comportamento da permeabilidade intestinal contribui para inflamação crônica que ocorre na IC e, portanto na CCC.
2. O grau de disfunção ventricular se associaria ao aumento da permeabilidade intestinal.
3. Conseqüentemente, os pacientes chagásicos com aumento da permeabilidade intestinal apresentam-se mais sintomáticos e com piores parâmetros morfofuncionais ecocardiográficos.

4. Casuística e Métodos

4.1. Caracterização do estudo

Este é um estudo de um grupo prospectivo observacional em que acompanhamos pacientes com cardiopatia chagásica crônica, selecionados, de forma consecutiva, no Ambulatório de Referência em Doença de Chagas do Serviço da UFMG no CTR-DIP- Orestes Diniz (Centro de Treinamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias- UFMG). O acompanhamento dos pacientes iniciou-se em março de 2011 e terminou em abril de 2013.

4.2 .Amostra

O estudo consistiu em uma coorte prospectiva de 50 pacientes selecionados de forma consecutiva, no Ambulatório de Referência em Doença de Chagas do Serviço da UFMG no CTR-DIP- Orestes Diniz (centro de treinamento e referência em doenças infecciosas e parasitárias- UFMG). É um estudo observacional.

Na ocasião do convite à participação ao estudo, solicitamos exames laboratoriais necessários ao seguimento de rotina desses pacientes. O estudo ecocardiográfico foi realizado pelo serviço de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular do Hospital das Clínicas da UFMG pela Dra Maria do Carmo Pereira Nunes. Nessa mesma ocasião, coletou-se o sangue para análise dos níveis séricos de BNP e marcadores inflamatórios. A coleta foi realizada por profissional treinado, com técnica de assepsia e com materiais perfurantes descartáveis. Nessa mesma data, foi realizado entrevista para avaliação da apresentação clínica da cardiopatia chagásica crônica. *O acompanhamento ambulatorial dos participantes do estudo seguiu de forma habitual, pela pesquisadora, no centro de Referência em Doença de Chagas do Serviço da UFMG no CTR-DIP- Orestes Diniz (centro de treinamento e referência em doenças infecciosas e parasitárias- UFMG), com exame clínico e exames laboratoriais pertinentes.*

Os pacientes que apresentaram evento cardiovascular adverso foram encaminhados ao pronto socorro do Hospital das Clínicas da UFMG ou ao pronto do Hospital Risoleta Neves.

4.2.1. Critérios de inclusão de pacientes

Foram convidados a participar do estudo: pacientes com sorologia positiva para o *T. cruzi* em pelo menos dois dos seguintes exames: hemaglutinação, imunofluorescência indireta, testes imunoenzimáticos *enzyme-linked immunoabsorbent assay* (ELISA); e com cardiopatia chagásica crônica caracterizada por FEVE menor que 55% e diâmetro ventrículo esquerdo em diástole (VED) >56 mm ao ecocardiograma bidimensional.

4.2.2. Critérios de exclusão de pacientes

Pacientes com moléstias que podem alterar as análises dos dados como: gravidez; diabetes; doença pulmonar obstrutiva crônica; asma-brônquica; alcoolismo crônico; doenças tireoidianas; doença do colágeno; insuficiência hepática ou renal. *A forma digestiva da doença de Chagas foi considerada como critério de exclusão ao estudo e pacientes com qualquer sinal ou sintoma relacionado ao trato gastrointestinal, como disfagia, odinofagia, regurgitação e/ou constipação foram excluídos. Alteração em qualquer exame de imagem referente ao sistema digestivo também foi critério de exclusão. Ascite, hepatomegalia e alterações laboratoriais referentes ao comprometimento de função hepática não foram consideradas como critério de exclusão.*

4.3. Procedimentos

4.3.1. Avaliação clínica

Todos os participantes foram submetidos à avaliação clínica pelo mesma pesquisadora, constituída da anamnese e exame físico pormenorizados, à procura, principalmente, de manifestações de insuficiência cardíaca e de alterações do trato gastrointestinal.

Aplicamos os critérios de Framingham (MACKEE, 1971) com o objetivo de aumentar a acurácia, reprodutibilidade e confiabilidade do diagnóstico da insuficiência cardíaca. Esses critérios são subdivididos em sinais maiores e menores, caracterizando o diagnóstico como definitivo, provável ou questionável. O diagnóstico definitivo é marcado por dois sinais maiores ou um maior e dois menores durante a avaliação clínica. Considera-se provável quando o médico examinador tiver a certeza do diagnóstico de ICC, com listagem incompleta dos sinais; e questionável se os sinais encontrados puderem ser atribuídos a outras condições clínicas. Considera-se nessa escala o somatório maior ou igual a dois como diagnóstico definitivo de IC. Critérios maiores: ortopnéia ou dispneia paroxística noturna, ingurgitamento jugular, crepitações pulmonares, edema pulmonar agudo, cardiomegalia, terceira bulha, pressão venosa central maior que 16 cm de água, tempo de circulação maior ou igual a 25 segundos, refluxo hepatojugular. Critérios menores: edema de membros inferiores, tosse noturna, hepatomegalia, derrame pleural, capacidade vital um terço abaixo da máxima prevista e frequência cardíaca acima de 100 batimentos por minuto. Perda de peso de mais de 4,5 kg em cinco dias ao tratamento para a IC é considerado maior e se sem explicação é considerado sinal menor.

Avaliou-se os pacientes quanto a classificação funcional da New York Heart Association, definido como em classe I, os pacientes sem qualquer limitação funcional. Classe II aqueles com limitação funcional leve, com presença de dispneia, cansaço, dor anginosa, palpitações em atividade física de rotina. Classe III são os indivíduos que ainda estão confortáveis ao repouso, mas apresentam sintomas com atividade física leve. Em classe IV, classificam-se os pacientes que apresentam desconforto aos mínimos esforços e os sintomas de IC podem estar presentes mesmo em repouso. Registrou-se essa variável como ordinal: classe I, II, III e IV e também como dicotômica, em que os pacientes foram

agrupados em um primeiro grupo constituído pelas classes I e II e um segundo grupo pelas classes III e IV.

A pressão arterial foi aferida com o paciente em decúbito dorsal, assentado e em ortostatismo. Foi considerada pressão sistólica a correspondente ao primeiro som de Korotkoff e diastólica ao desaparecimento do último som. Foi registrada como variável contínua.

Na ausculta cardíaca procurou-se a presença de bulhas acessórias (B3 e B4) e sopros ejetivos, regurgitativos ou de enchimento com o paciente deitado, a zero grau, em decúbito dorsal e semidecúbito lateral esquerdo. Buscou-se alterações de ritmo cardíaco com a identificação em 1 minuto de possíveis extrassistolias. *Essas alterações foram classificadas como variáveis dicotômicas.*

O aparelho respiratório foi examinado com o paciente em posição sentada. Na ausculta pulmonar verificou-se a presença e localização (terço inferior, médio e/ou superior) das crepitações e de sibilos inspiratórios ou expiratórios. *Definiu-se como variáveis dicotômicas: a presença de alterações de ausculta pulmonar de uma forma geral, e a identificação de crepitações pulmonares e de sibilos inspiratórios ou expiratórios.*

O exame do abdômen foi feito com o paciente em decúbito dorsal a zero grau e com as mãos estendidas ao lado do corpo. O fígado foi avaliado pelo seu tamanho e posição em relação ao rebordo costal direito, *a hepatomegalia foi classificada conforme sua presença ou não como variável dicotômica.* Pesquisou-se também a ocorrência de refluxo hepatojular através de leve compressão do hipocôndrio direito, por cerca de 30 a 60 segundos. Pesquisou-se a presença de ascite por meio da percussão do abdome em busca de macicez móvel e também através do sinal do piparote. Foi feito a pesquisa tanto em decúbito dorsal quanto com o paciente em posição de pé para verificar-se a presença de ascite de pequeno volume (menor que 500 ml), Verificou-se a presença de distensão de alças intestinais pela palpação abdominal.

A jugular externa direita foi avaliada para a pesquisa de turgência. Por meio de uma régua graduada colocada perpendicularmente ao ângulo de Louis, com a parte dorsal do pescoço do paciente a 45° com o plano da cama e, paralelamente, a uma linha imaginária tangente ao seu queixo, verificaram-se as pulsações ou distensão das veias cervicais. No ponto mais alto das pulsações ou da distensão das veias jugulares, traçou-se uma linha perpendicular à referida régua, sendo o ponto de cruzamento entre ambas o valor estimado da

pressão venosa. Valores até 4,0cm foram considerados normais, ou seja, sem ingurgitamento jugular. Essa variável foi classificada de forma categórica conforme sua existência ou não.

Os membros inferiores foram avaliados quanto à presença de edema. Os edemas foram registrados como variável dicotômica, ou seja, conforme ou não a sua presença.

4.3.2. Avaliação eletrocardiográfica

O eletrocardiograma (ECG) de 12 derivações foi realizado no serviço de Cardiologia e Cirurgia Cardiovascular do HC-UFMG. Os valores de referência para as variáveis quantitativas do ECG foram obtidos nas tabelas recomendadas pelo *The Criteria Committee of the New York Heart Association* (1979). Avaliou-se presença de ritmo sinusal, de fibrilação atrial, de bloqueios de condução do ramo direito e esquerdo assim como dos hemibloqueios anterior-esquerdo e postero-inferior. A presença de extrassistolia ventricular simples ou complexa (bigeminismo, em pares, multifocais). Foi também avaliado a existência de bloqueio atrioventricular de primeiro e segundo grau e de dissociação atrioventricular. Alterações de inatividade e sua respectiva localização e alterações de repolarização ventricular também foram registradas.

4.3.3. Avaliação radiológica do tórax

O exame radiológico foi realizado nas posições pósterio-anterior e perfil e analisados quanto à presença de cardiomegalia, definida como índice cardiorácico (relação entre o raio transversal do diâmetro cardíaco pelo diâmetro máximo da parede torácica interna. Valor

normal menor que 50% em caucasianos e 55% em negros). Avaliou-se também quanto à presença de infiltrado intersticial sugestivo de congestão venosa pulmonar, inclusive a presença de linhas septais e espessamento de cissuras pulmonares. Verificou-se o comportamento dos vasos pulmonares e se havia inversão ou equalização de fluxo. Determinou-se a presença ou ausência de derrame pleural.

4.3.4. Avaliação Ecocardiográfica

Todos os pacientes foram submetidos ao estudo ecocardiográfico no aparelho iE Philips Medical System- Dover-MA. Foram realizadas avaliações no modo-M, bidimensional, Doppler em cores, pulsado e contínuo. Todas as imagens foram adquiridas pelo mesmo médico especialista em Ecocardiografia (Professora Maria do Carmo Pereira Nunes). E a quantificação das dimensões das câmaras cardíacas realizadas seguindo as recomendações da Sociedade Americana de Ecocardiografia.

Ao estudo bidimensional avaliou-se a morfologia das câmaras cardíacas e descritas possíveis alterações segmentares da contratilidade e achados compatíveis com trombo intracavitário.

A avaliação da fração de ejeção do ventrículo esquerdo foi feita utilizando-se o método de Simpson modificado. A morfologia e a função sistólica do ventrículo direito foram analisadas qualitativamente em múltiplos cortes e planos ecográficos.

Os fluxos valvares mitral e tricúspide foram avaliados utilizando-se o Doppler em cores, pulsado e contínuo e a presença de regurgitação quantificada em leve, moderada ou grave.

4.3.5. Peptídeos Natriuréticos

O nível circulante do BNP foi realizado em amostra de sangue venoso (5ml) coletado em veia periférica, por técnico treinado, em tubos contendo EDTA potássico (1mg/ml de sangue) após 20 minutos de repouso em decúbito dorsal. As amostras foram processadas e submetidas à centrifugação e o plasma foi separado e armazenado a menos 70 graus. Posteriormente, foi usado o Triage BNP test (Biosite Inc, San Diego, USA) que é um método que usa imunofluorescência para a determinação quantitativa do BNP, previamente descrito por (MORRISON, 2002). O método detecta valores de BNP entre 5 e 1.300.0 pg/ml.

4.3.6. Citocinas

A amostra plasmática para determinação das citocinas, mais especificamente do TNF α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12 foram coletadas na mesma data reservada para realização do ecocardiograma. Foi feito punção venosa periférica em veia antecubital por profissional treinado e com materiais estéreis e descartáveis.

A análise foi realizada no laboratório de Morfologia ICB-UFMG, sob a colaboração da Professora Juliana Estanislau. A determinação das citocinas foi realizada conforme descrição previa de Chen et al (1999.) Esse método permite a detecção de um painel de citocinas com uma única amostra plasmática. Utiliza anticorpos direcionados à citocinas com diferentes intensidades de fluorescência que são processados em um citômetro de fluxo e comparados com uma curva de calibração conhecida. As amostras foram analisadas no CBA (cytometric bead array – Becton Dicksison), segundo a metodologia de Gomes et al 2012.

4.3.7. Avaliação da permeabilidade intestinal

Os pacientes realizaram o exame no Laboratório do Grupo de Estudos da Barreira Gastrointestinal localizado na Faculdade de Medicina da UFMG, 1º andar, na sala 103. Foram supervisionados por estudantes bolsistas de iniciação científica. Já os controles hígidos realizam o teste da permeabilidade intestinal no Hospital Risoleta Neves e foram

supervisionados pela própria pesquisadora e na mesma data a amostra de urina foi encaminhada ao Laboratório do Grupo de Estudos da Barreira Gastrointestinal.

Para o cálculo da permeabilidade intestinal, os pacientes e controle hígidos receberam uma dose de solução isosmolar contendo 6g de lactulose (PA Sigma-Aldrich®, Pensilvânia, EUA) e 3 g de manitol (PA Sigma-Aldrich®, Steinheim, Alemanha) que foram diluídos em um copo d' água até completar 120 ml. Foram então, orientados a permanecer em jejum nas duas horas seguintes à ingestão, podendo alimentar-se normalmente após a ingestão. A marcação do tempo para coleta de urina iniciava-se a partir do momento da ingestão da solução. Nesse momento, os participantes foram orientados a esvaziar a bexiga. A coleta de urina iniciava-se após a primeira micção. Durante as 6 horas que se seguiram qualquer volume de urina foi coletado em frascos apropriados. Ao término do tempo de coleta, o conteúdo total de urina foi homogeneizado através de movimentos circulares e uma amostra de 50 ml de urina do volume total foi recolhido e armazenado em frascos especiais. Foi adicionado 0,01g de timerosal para evitar o crescimento bacteriano. A urina foi armazenada em frascos com tampa de rosca para evitar a perda ou evaporação e guardada em freezers a - 20°. O volume total de urina era anotado e o restante desprezado.

A dosagem da lactulose e do manitol presentes na urina foi realizada com o aparelho de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC), Shimadzu (Japão), composto por uma bomba injetora, um auto-injetor, um controlador integrado a um “software” que permitia que as leituras fossem interpretadas sob uma plataforma do tipo “workstation”, e um medidor de índice de refração.

Cinquenta mililitros de urina, depois de filtrada (filtros Milipore, 0,2 mm, São Paulo, Brazil) e passada por uma resina de troca iônica (Mixed Bed Resin TMD-8, Sigma Chemical Co, St. Louis, Missouri, EUA), foram introduzidos no aparelho através de um auto-injetor. Simultaneamente, uma solução de ácido fosfórico a 0,1% era utilizada na fase móvel a um fluxo pré-determinado de 0,5mL/min. Uma pré-coluna (Supelcogel 33H□, Sigma-Aldrich, Pensilvânia, EUA) e uma coluna (Supelcogel C-610H□, Sigma-Aldrich, Pensilvânia, EUA) foram utilizadas para separar as substâncias. No módulo que opera por índice de refração, amplitudes diferentes de ondas geradas pela solução contendo a lactulose e o manitol foram captadas e interpretadas pela “workstation”. Na “workstation”, tais leituras de amplitude de onda geraram elementos gráficos sob a forma de curvas, sendo que as áreas sob as mesmas são lidas pelo aparelho.

Na Workstation, a área sob a curva do açúcar corresponde à concentração do açúcar na urina. Para o seu cálculo empregou-se a equação da reta da curva $(y = ax + b)$

determinada previamente com valores de lactulose e manitol já conhecidos. A área sob a curva corresponde ao y da equação em mv e o x da curva representa a concentração da molécula em g/L na urina. Para a determinação da concentração do açúcar em g/L, calculo-se a taxa de excreção do açúcar utilizando-se o valor do volume urinário total em 6h e a quantidade administrada da substância 6g para a lactulose e 3g para o manitol. A fórmula utilizada foi a seguinte: $\text{volume urinário total em 6h}/1000/\text{quantidade total do açúcar oferecido} \times 100$.

4.4. Variáveis

As variáveis explicativas são representadas pelos parâmetros hemodinâmicos de função sistólica e diastólica obtidos pelo ecocardiograma bidimensional, tais como: diâmetro ventricular telesistólico e telediastólico; a FEVE medida pelo método de Simpson; o diâmetro e volume do átrio esquerdo, os valores da pressão da artéria pulmonar; a dilatação e hipocontratilidade do ventrículo direito; os valores obtidos através do Doppler de fluxo mitral e tecidual: tempo desaceleração da onda E, onda A, relação E/e' e a avaliação neuro-hormonal representada pelo peptídeo natriurético cerebral.

Constituem também variáveis explicativas: a apresentação clínica da moléstia cardíaca representada pelo score de Framingham, a classe funcional da NYHA e os sinais de insuficiência ventricular direita, definidos como a presença de edema de mmii, a presença de hepatomegalia e de ingurgitamento jugular.

As variáveis independentes são representadas pelo teste da permeabilidade intestinal que corresponde à taxa de excreção do manitol, à taxa de excreção da lactulose e à relação entre a taxa de excreção da lactulose pela taxa de excreção do manitol.

A variável de desfecho engloba os eventos cardiovasculares adversos: a piora funcional progressiva apesar do tratamento adequado; a descompensação do quadro de insuficiência cardíaca; arritmias malignas; eventos tromboembólicos; implante de marcapasso ou cardiodesfibrilador e o óbito.

4.5. Análise Estatística

4.5.1. Cálculo Amostral

O cálculo amostral foi estimado tomando-se como base o estudo de Sandeck e colaboradores em 2007. Nesse estudo, os autores verificaram que pacientes com IC e FEVE <40% apresentavam aumento da permeabilidade intestinal em relação ao grupo controle de voluntários saudáveis. Os autores encontraram uma diferença de 35% entre a taxa de permeabilidade intestinal entre os pacientes com IC e o grupo controle (taxa de permeabilidade intestinal para os pacientes de $0,023 \pm 0,001$ versus $0,017 \pm 0,001$ com $p = 0,006$) (SANDECK, 2007). Foi utilizado o programa *Power and Sample* para o cálculo do tamanho amostral.

Calculou-se o tamanho amostral, presumindo-se significância estatística de 0,05% (erro alfa >5%) e erro beta menor que 20% (poder do teste). O tamanho amostral foi de 45 pacientes com cardiopatia chagásica crônica, e no fim do período do estudo selecionamos 50 pacientes que atendiam aos critérios de inclusão e não apresentavam nenhum critério de exclusão. O grupo de voluntários saudáveis foi composto por 27 indivíduos hígidos.

4.5.2. Metodologia Estatística

Foi realizada com pacote de software IBM SPSS 20.0 A análise descritiva foi realizada pelas medidas de tendência central, média para apresentar variáveis de distribuição normal e mediana para aquelas não paramétricas. Utilizou-se também medidas de variabilidade (desvio padrão, intervalo interquartilico, mínimo e máximo).

Foi verificado se as variáveis contínuas apresentavam distribuição normal e não normal e para tanto foi utilizado do teste de Kolmogorov-Simrnov e Shapiro-Wilk, além da visualização dos gráficos fornecidos pelo SPSS. As variáveis independentes se comportaram da seguinte forma: a taxa de excreção de manitol comportou-se com distribuição normal nos

diferentes grupos e resultados consistentes com visualização gráfica e pelos dois testes citados acima. Já as taxas de excreção da lactulose e da relação da taxa de excreção da lactulose pelo manitol apresentaram comportamento não normal, nos dois testes e na visualização gráfica e nos diferentes grupos avaliados.

Para análise do desfecho, óbito e eventos cardiovasculares adversos, inicialmente, foi realizado comparação das médias e medianas com grupo de óbito, não óbito e controle. Foi realizado também análise das variáveis contínuas clínicas, laboratoriais e ecocardiográficas. Para variáveis dicotômicas foi realizado o teste do quiquadrado. Para a realização da análise de sobrevivência de Kaplan-Meier as variáveis contínuas do teste da permeabilidade intestinal foram transformadas em dicotômicas, tomando-se como valor de corte os valores encontrados para os voluntários saudáveis.

Para a avaliação da mortalidade foi realizada análise univariada e multivariada e Cox. As variáveis foram analisadas em blocos de variáveis clínicas, ecocardiográficas e laboratoriais e as que atingiram valor de $p=0,20$ na univariada foram avaliadas na análise multivariada.

4.6. Normatização técnica e busca da bibliografia

Adotou-se as normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) na elaboração do texto, quadros, figuras, tabelas e nas referências bibliográficas.

Para a revisão bibliográfica foi utilizado o pubmed e também o portal Capes, além do acervo da UFMG para seleção de teses relevantes. As palavras chaves foram: cardiopatia chagásica, doença de Chagas, permeabilidade intestinal, intestino e insuficiência cardíaca e BNP e Chagas.

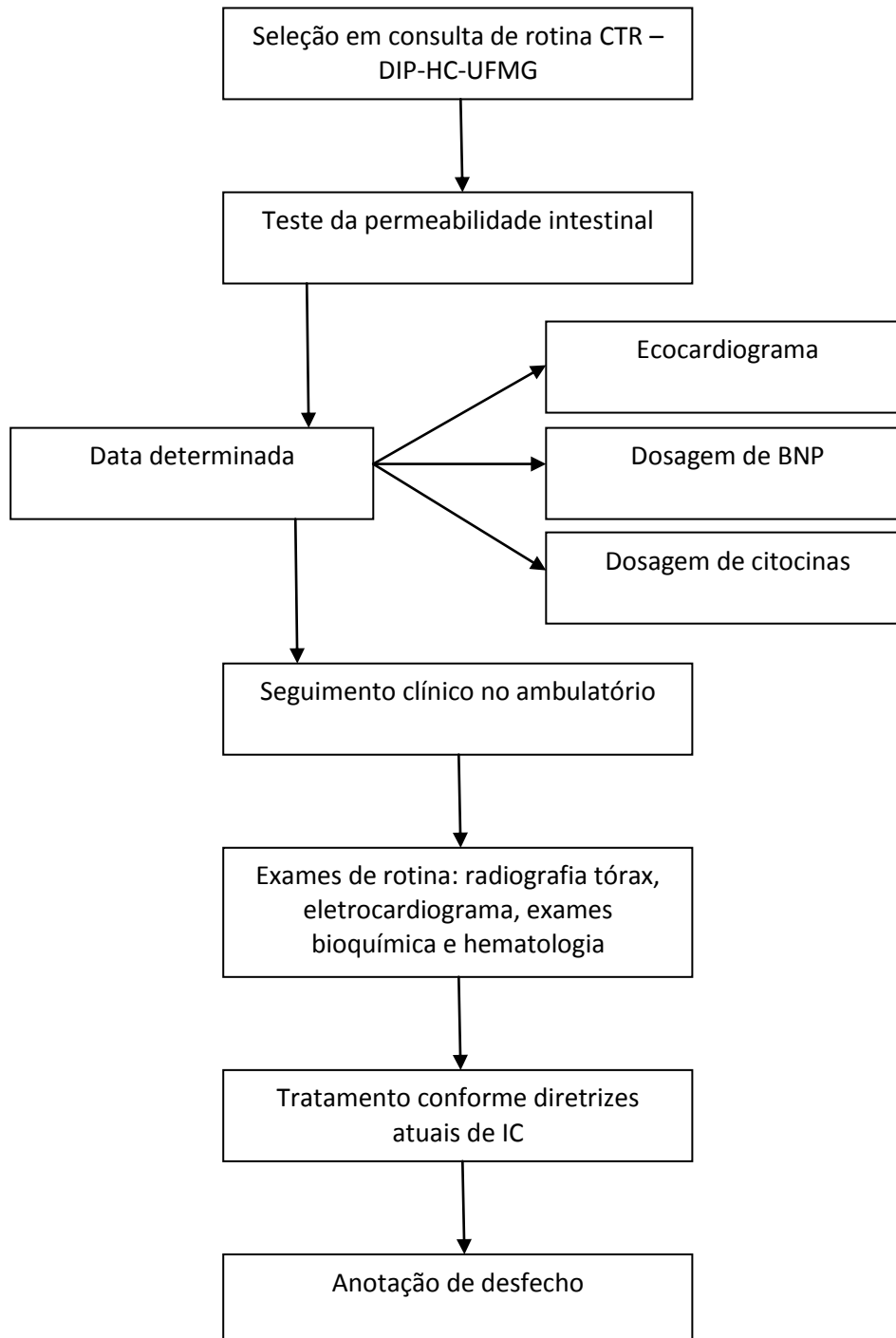
4.7. Considerações éticas

Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética e Pesquisa da UFMG, COEP, sob o número de CAE: 12938613.9.0000.5149.

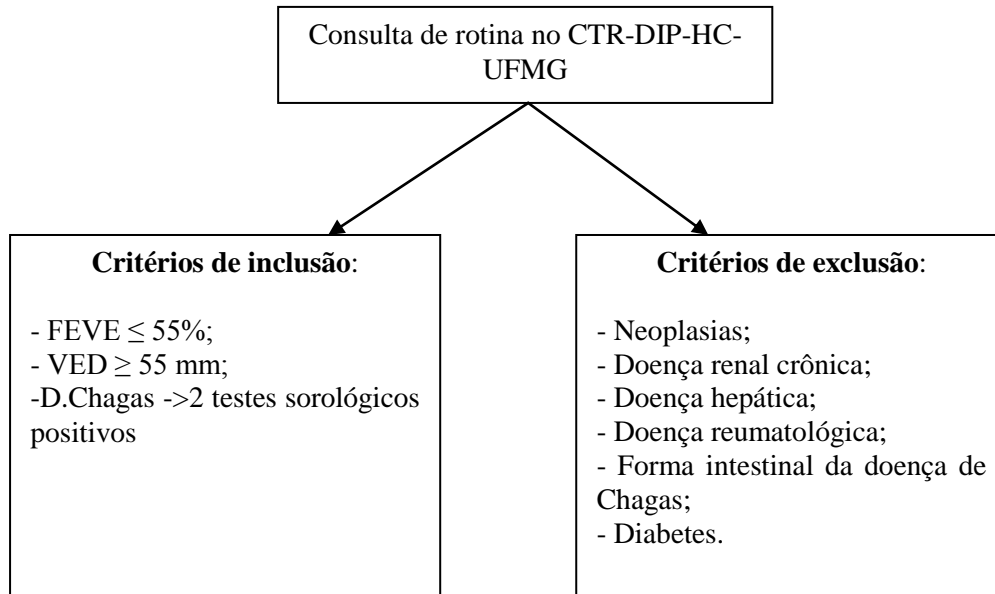
Os investigadores seguiram as diretrizes e normas da Resolução 196 do Conselho Nacional de Saúde, de 10 de outubro de 1996, que regulamentam pesquisas envolvendo seres humanos. Os pacientes que concordaram em participar do estudo o fizeram através da assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido. *O projeto foi aprovado em todas as instâncias da UFMG*

5. Fluxogramas

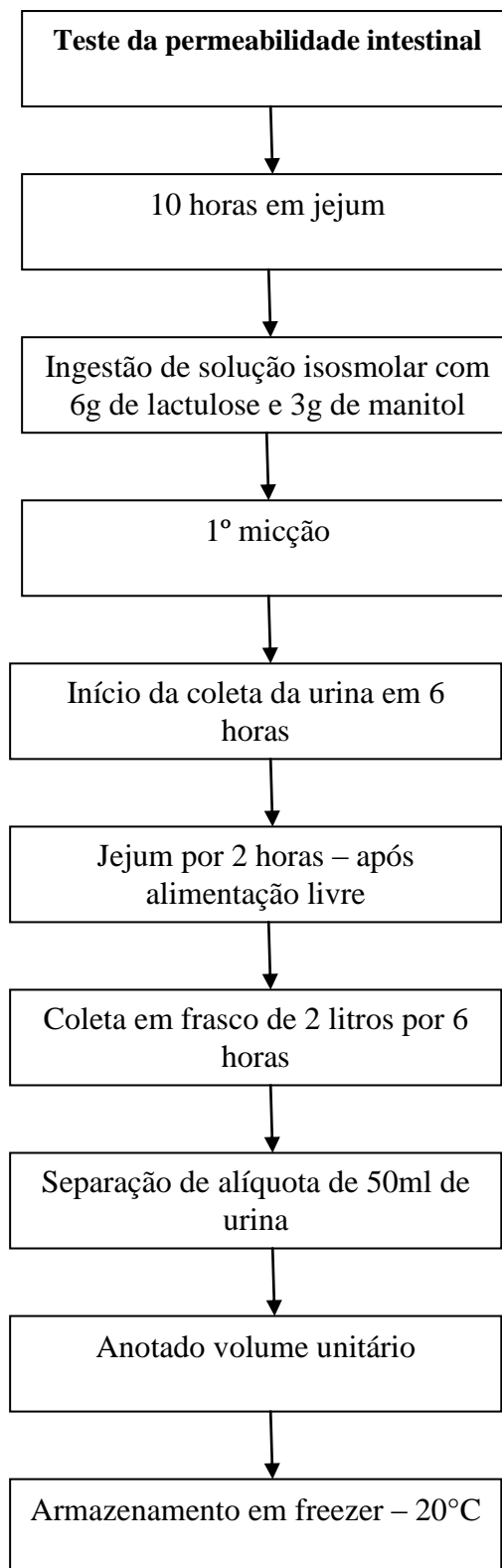
5.1 Fluxograma da Metodologia do Estudo



5.2 Fluxograma da Seleção dos Pacientes



5.3 Fluxograma pré-analítico do Teste da Permeabilidade Intestinal



6. Resultados

6.1. ARTIGO 1

Abstract

Aims: we analyzed intestinal permeability in patients with chronic Chagas cardiomyopathy (CCC) and evaluated its association with clinical manifestations, hemodynamic parameters measured by echocardiogram and disease outcome. Intestinal permeability was compared between CCC patients and a group of healthy controls.

Background: Intestinal dysfunction may contribute to a more severe disease presentation with worse outcome in patients with CCC and chronic heart failure (CHF).

Methods: 50 patients with CCC and left ventricular ejection fraction (LVEF) of less than 50% were prospectively selected and followed for a mean period of 18 ± 8 months. A group of 27 healthy volunteers were also investigated.

Results: patients with CCC who had an adverse cardiovascular event had a 28% ($p=0.022$) reduced mannitol excretion rate compared to healthy controls and patients who died had a 45.35% ($p=0.024$) reduced mannitol urinary excretion rate compared to healthy controls. There was a trend towards significance when comparing patients with LVEF less than 35% ($p=0.061$) and controls. Patients with presented with clinical signs of right heart failure also had a reduced urinary recovery of mannitol ($p=0.011$) compared to controls. Urinary excretion rate of mannitol when compared between CCC patients and healthy controls showed a trend towards significance ($p=0.065$), with patients presenting with a 15.6% reduced excretion.

Lactulose and lactulose/mannitol urinary excretion ratio did not differ between the groups investigated.

Conclusion: Our study showed that patients with CCC had a trend towards a reduced level of urinary recovery of mannitol compared to healthy controls. Furthermore, we found that patients with signs of venous congestion, such as peripheral oedema, hepatomegaly and jugular venous regurgitation had a reduced urinary recovery of mannitol compared to healthy controls. Moreover, patients with a more severe form of CCC, those who had an adverse cardiovascular event and those who died also had a significant reduction of mannitol urinary excretion ratio.

Introduction

Nowadays, Chagas disease still plagues 5.1 million people in Latin America and causes around 10.600 deaths annually. Even though in Latin America the prevalence of the disease has been decreasing, it is now becoming more notable in Europe and the United States, due to global immigration (1, 2).

Chagas disease is an important cause of heart failure and sudden death in Latin America. chronic Chagas cardiomyopathy (CCC) has a mortality rate of 0.2- 19.2% depending on the population studied (3, 4). Left ventricular impairment has consistently been demonstrated as the most important predictor of death (5). In CCC neurohormonal and hemodynamic response seems to be the same as those in other forms of cardiomyopathies and hence have similar prognostic factors (6).

Heart failure (HF) is now considered to be a state of neurohormonal alterations, increased sympathetic tone and low grade systemic inflammation. Much debate exists to explain the origin of increased levels of inflammatory cytokines in HF. Recently, dysfunction of the intestinal protective epithelium has received increased attention from the scientific community as the center for bacterial and/or endotoxin translocation and increased cytokine production (7, 8, 9).

Given that to the best of our knowledge no study looked at intestinal epithelial dysfunction and outcome in HF patients our intention was to shed some light in the association of intestinal barrier dysfunction and a more severe presentation of CCC.

We have followed a cohort of 50 patients with CCC for 18 ± 8 months aiming to compare functional alterations of the gut mucosa with clinical signs of HF, hemodynamic parameters measured by echocardiogram and patients' outcome.

Patients and Methods

Patients were assigned prospectively and followed for a mean time of 18 ± 8 months. They were enrolled at the Chagas Disease Outpatient Clinic of Federal University of Minas Gerais. Inclusion criteria included two positive serology tests confirming Chagas disease and documented left ventricular fraction (LVEF) of less than 55% on echocardiogram. Patients

with rheumatoid arthritis, kidney failure, liver dysfunction, hypertension, diabetes, thyroid diseases, cancer, chronic pulmonary obstructive disease and those with the intestinal form of Chagas disease as well as patients with other etiologies of heart failure such as ischemic or idiopathic were excluded. All patients gave written informed consent and the study was approved by our local Ethics Committee.

The sugar probe test is one of the techniques deployed to evaluate intestinal permeability. It consists in the urinary recovery of sugar probe molecule, in our case: mannitol a monosaccharide and lactulose a disaccharide. The results are expressed as the percentage of the urinary excretion of these sugar markers that were orally ingested (10, 11, and 12).

Subjects were thus given an isosmolar sugar drinking test containing 6g of lactulose (PA Sigma Aldrich® Pennsylvania , USA) and 3g of mannitol (PA Sigma Aldrich®, Steinhein , Germany), dissolved in 120 ml of water. After an overnight fast, subjects were asked to empty their bladder and then drink the sugar test. Urine was collected during the 6 following hours. At the end of 6 hours, urine volume was quantified and an aliquot of 50 ml with 0.01 g of timmerosal (added as a preservative) was stored and kept in a freezer with a temperature of minus 20°. After two hours from the beginning of the collection subjects were allowed to drink and eat freely. Seven days before the test no subjects were taking antibiotics or NSAID other than low dose aspirin.

Sugar probes were analyzed and quantified using a high performance liquid chromatography (Schimadzu- Japan). Results were expressed as a percentage of the dose given orally recovered in the urine. A group of 27 healthy volunteers were also selected and completed the test.

Patients were followed regularly at our outpatient clinic and had their treatment adjusted accordingly to international guidelines. Clinical examination included determination of arterial pressure, heart rate, checking for pulmonary abnormal sounds. Clinical signs of congestion such as peripheral oedema, jugular vein ingurgitation and presence of ascites and hepatomegaly were noted.

Evaluation of the hemodynamic parameters with the echocardiogram was carried out by the same proficient cardiologist with a Philips HDi 5000- ATL (Bothell, WA) echo machine using criteria established by the American Society of Echocardiography. Left ventricular ejection fraction (LVEF) was measured using Simpson technique.

Statistical Analyses

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS). It included mean and standard deviation or median and interquartile range as appropriate. Difference between groups was assessed with Man Whitney test or student t -test depending on their normality of the distribution which was assessed using the Kolmogorov-Smirnov test.

Results

50 consecutive patients with Chronic Chagasic Cardiomyopathy (CCC) were followed for 18 ± 8 months. Their mean age was 53.42 ± 10.3 years and 32(64%) were male. Most of the patients were in NYHA class I and only 2 were on NYHA IV (NYHAI=22/50, II=16/50, III=6/50 and IV=2/50). Patients mean left ventricular ejection fraction assessed by echocardiogram (LVEF) was $37.84 \pm 9.5\%$, and their median circulating BNP was 293(160-530). Most of our group was on Beta-blocker therapy (90%) and 96% were on either angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors or angiotensin receptor blocker (ARB) therapy and 62% were receiving diuretics. Patients' characteristics (demographic, clinical, laboratorial parameters and mortality) are reported in table 1.

Table 1: Patients Characteristics

	Patients (n = 50)	NYHA I/II (n = 37/50)	NYHA III/IV (n = 13/50)	p
Age	53.54 ± 10.23	52±9.53	56±12.25	p=0.2
Sex (% male)	33 (64.7%)	27 (73%)	5 (38.5%)	p=0.03
Systolic blood pressure	102.35 ± 13.35	103.24 ± 13.55	100.7 ± 13.2	p=0.5
Heart rate	61.60 ± 7.13	61 ± 10.85	67.83 ± 17.7	p=0.1
Presence clinical signs of RHF	17(34%)	8 (21.6%)	9 (69.2%)	p=0.003
Presence of Ankle Edema	7(14%)	4 (10.8%)	3 (23.1%)	p=0.2
LVEF	37.44 ± 9.27%	39.4 ± 9	31.8 ± 7.75	p=0.01
LVEDD	65.26 ± 7.91 mm	64 ± 7.64	68.5 ± 8	p=0.082
LA index volume	42.17 ± 18.88	36.5 ± 12.5	56.12 ± 24.8	p=0.002
Presence of RVD	14 (28%)	8 (21.6 %)	6 (46.2%)	p=0.093
Acei or ARB	48 (96 %)	34 (91.9)	7 (53.9%)	p=0.006
Beta-blocker	45 (90 %)	32 (82.5%)	13 (100%)	p=0.2
Diuretics	31 (62%)	19 (51.4%)	12 (92.3%)	p=0.08
BNP	254 (154 - 445)	220 (93.5-387.7)	530 (278.5-1140.5)	p=0.005
C-reactive protein	4.5 (4.5 - 7.3)	4.5 (4.5-7.1)	5 (4.5-9.5)	p=0.1
Lact/mannitol	0.0048(0.001-0.01)	0.005 (0.001-0.014)	0.004 (0.001-0.01)	p=0.9
%Lactulose	0.03(0.01-0.11)	0.04 (0.01-0.14)	0.01 (0.01-0.07)	p=0.2
%Mannitol	10.94±4.59	11.53 ± 4.61	9.3 ± 4.26	p=0.1
Adverse event	18(36%)	10 (27%)	8 (61.5%)	p=0.03
Death	6(12%)	3 (8.1%)	3 (23.1%)	p=0.1

LVEF: left ventricular ejection fraction, **LVEDD:** Left ventricular end-diastolic diameter, **LVESD:** Left ventricular end-systolic diameter, **LA index volume:** left atrial index volume, **BNP:** Natriuretic peptide type B, **Acei:** angiotensin-converting enzyme, **ARB:** angiotensin receptor blocker

Intestinal permeability – difference between CCC patients and controls

Differential urinary excretion ratio of lactulose and lactulose/mannitol excretion ration did not differ significantly between healthy controls and CCC patients. When analyzing only mannitol excretion ratio there was a trend towards significance (p= 0.065) with patients showing a reduced excretion ration of 15.6% compared to controls. Table 2 presents these results.

Table 2: Comparison of intestinal permeability test between patients with CCC and healthy individuals

Subgroups	N	% mannitol	p	%lactulose	p	lact/mannitol	p
Control vs Patients	27 49	12.97 ± 4.59 vs 10.9 ± 4.42	0.065	0.040 (0.010 - 0.12) vs 0.030 (0.01 - 0.11)	0.7	0.0031 (0.0008 - 0.0083) vs 0.0048 (0.0011 - 0.0143)	0.14

%mannitol: urinary excretion rate of mannitol, **%lactulose:** urinary excretion rate of lactulose, **lact/mannitol:** urinary excretion rate of lactulose/mannitol ratio.

Clinical signs of HF and intestinal epithelial dysfunction

We have analyzed patients regarding presence or not of peripheral oedema and urinary recovery of the sugar probes. Patients with peripheral oedema (7 patients – 14% of the entire patient population) compared to healthy controls showed a 40.6% reduced mannitol excretion ration ($p=0.024$). Figure one presents this data. Lactulose and lactulose/mannitol excretion did not differ significantly between controls and edematous patients. This is reported in figure 2.

Figure 1: Difference of mannitol urinary excretion rate between patients with peripheral edema, patients with no edema and healthy controls.

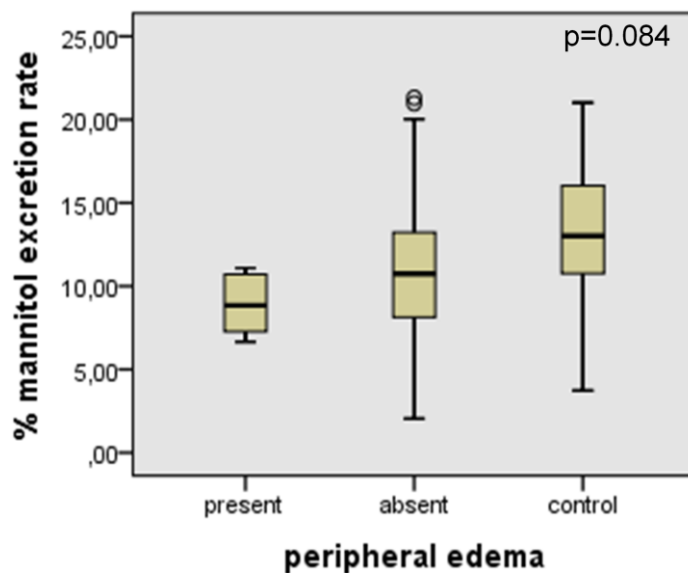
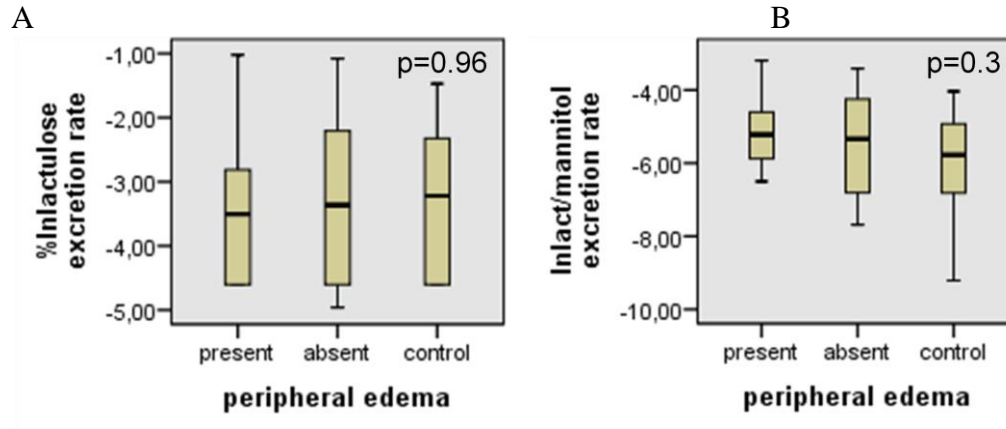


Figure 2: Difference between patients with peripheral edema, patients with no edema and healthy controls. A: lactulose urinary excretion ratio, B: lactulose/mannitol urinary excretion ratio



We further compared the urinary excretion ration of sugar probes with the presence of clinical signs of right ventricular failure (RVF), such as hepatomegaly and ascites, peripheral edema and jugular ingurgitation. Patients which showed clinical signs of RVF (13 patients – 26%) had a reduced recovery of mannitol compared not only to patients who had no such signs ($p=0.022$) but also to healthy controls ($p=0.0022$). Figure 3 presents this data.

No difference was found for lactulose and lactulose/mannitol excretion ration comparing patients with clinical signs of RVF and those without such clinical presentation and healthy controls (figure 4).

Figure 3: Difference of urinary excretion ratio of mannitol between patients with clinical signs of right heart failure (RHF), patients with no such signs and healthy controls.

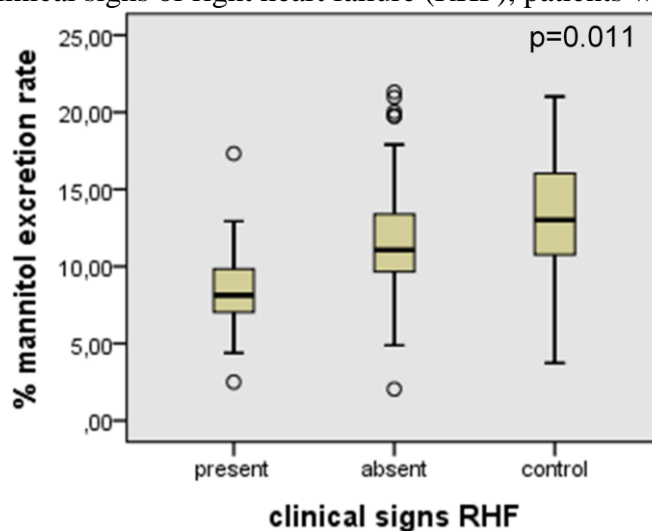
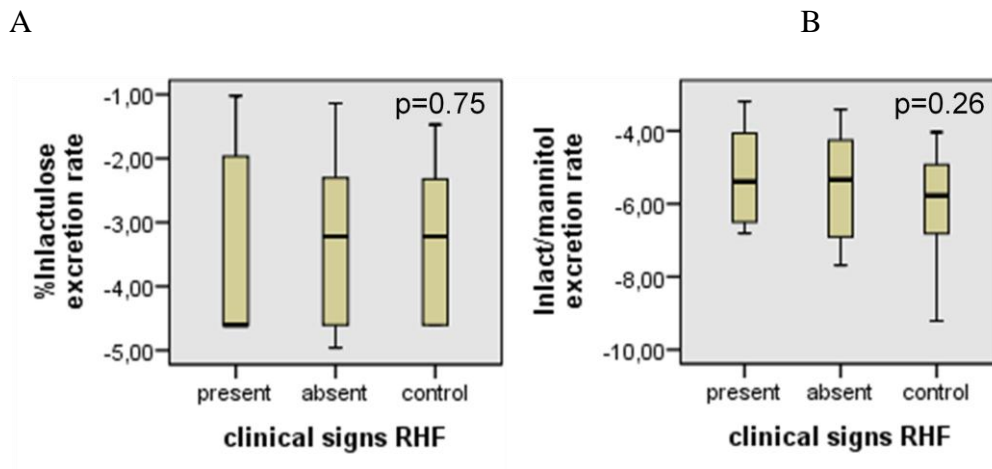


Figure 4: Difference of patients with clinical signs of right heart failure (RHF), patients with no such signs and controls: A: lactulose excretion ration, B: lactulose/mannitol excretion ratio



Intestinal Epithelial Dysfunction and Hemodynamic Parameters

Left Ventricular Ejection Fraction

Since LVEF of less than 55% was our inclusion criteria, 42% of the patients had documented LVEF of less than 35% and 56% had LVEF between 35%-55%. Lactulose and lactulose/mannitol recovery ratio did not differ between these two patients' subgroups and healthy controls. This is presents in table 3.

When analyzing mannitol excretion there was a tendency towards significance ($p=0.061$) with patients with decreased LVEF showing a reduced recovery ratio compared to controls. This is reported in table 3.

When evaluating right ventricular dilation (RVD) on echocardiogram, 72 % of patients had no alteration and 26% of patients presented with right ventricular dilation. Patients with RVD had a tendency towards a reduced excretion of mannitol compared to healthy controls ($p=0.09$). No difference was found regarding lactulose and lactulose/mannitol urinary recovery. This is presented in table 3.

Table 3: Intestinal permeability test – comparison of subgroups of patients with LVEF less and greater than 35% and healthy controls and comparison of subgroups of patients with presence of right ventricular dilation (RVD) on echocardiogram and patients with no right ventricular dilation and healthy controls.

Subgroups	N	% mannitol	p	%lactulose	p	lact/mannitol	p
Control vs LVEF<=35%	27 21	12.97 ±4.42 vs 9.90 ± 3.35	0.011 a0,065 k0.041	0.040 (0.010-0.12) vs 0.040 (0.010 -0.11)	0,87 k0.96	0.0031 (0.0008 - 0.0083) vs 0.0050 (0.0014 - 0.0144)	0,21 k0.34
LVEF<=35% vs LVEF>35%	21 28	9.90 ± 3.35 vs 11.72 ±5.26	0.17	0.040 (0.010 -0.11) vs 0.030 (0.010 - 0.13)	1	0.0050 (0.0014 - 0.0144) vs 0.0048 (0.0010 - 0.015)	0,82
Control vs presence of RVD	27 13	12.97 ±4.42 vs 10.3±4.72	0.08 a0.156 WK0.09	0.040 (0.010-0.12) vs 0.06(0.010-0.24)	0,76 0,8	0.0031 (0.0008 - 0.0083) vs 0 0.0054(0.0019-0.018)	0,22 0.3
presence of RVD vs absence of RVD	13 36	10.3±4.72 vs 11.17±4.49	0.56	0.06(0.010-0.24) vs 0.030 (0.01-0.077)	0,6	0.0054(0.0019-0.018) vs 0.0048(0.001-0.014)	0,52

LVEF: left ventricle ejection fraction, **RVD:** right ventricular dilation on echocardiogram, **% mannitol:** mannitol urinary excretion ration, **%lactulose:** urinary excretion ratio of lactulose, **lact/manntiol:** lactulose/mannitol urinary excretion ratio

Functional Alterations of the Gut Mucosa and Outcome

Adverse Cardiovascular Event

Among 50 patients we have observed 18 cardiovascular adverse events, out of which 6 patients have died, 5 required hospitalization for malignant arrhythmias, 6 had acute decompensated HF and 1 patient had a transient ischemic attack.

Patients who had an adverse cardiovascular event presented a reduced recovery of mannitol compared to healthy controls of 28% (p=0.004) and had also a reduction of 20.3% when compared to patients with no events (p=0.051) This is reported in table 4.

Death

When patients were grouped according to mortality, those who died had a 45.34% reduced mannitol recovery when compared to healthy controls ($p=0.024$) and comparing with those patients who lived, patients that died had a 37.7% reduction on mannitol urinary excretion ratio ($p=0.047$). These results are shown in table 4.

Again no difference was found when analyzing lactulose and lactulose/mannitol excretion ratio (table 4).

Table 4: Intestinal permeability test and outcome

Subgroups	N	% mannitol	p	%lactulose	p	lact/mannitol	p
Control vs Presence of adverse events	27 16	12.97 \pm 4.42 vs 9.19 \pm 3.26	0.04 a0.022	0.040 (0.010-0.12) vs 0.035 (0.01 - 0.077)	0.62 k0.87	0.0031 (0.0008 - 0.0083) vs 0.0049 (0.001 - 0.011)	0.28 k0.34
Presence of adverse events vs absence of adverse events	16 33	9.19 \pm 3.26 vs 11.87 \pm 4.95	0.051	0.035 (0.01 - 0.077) vs 0.03 (0.010 - 0.15)	0.66	0.0049 (0.001 - 0.011) vs 0.03 (0.01 - 0.15)	0.94
Control vs Death	27 5	12.97 \pm 4.42 vs 7.09 \pm 3.43	0.009 a0.024	0.040 (0.010 - 0.12) vs 0.070 (0.010 - 0.215)	0.81 0.89	0.0031 (0.0008 - 0.0083) vs 0.0069 (0.0031 - 0.0240)	0.28
Death vs Survival	5 38	7.09 \pm 3.43 vs 11.38 \pm 4.53	0.047	0.070 (0.010 - 0.215) Vs 0.030 (0.01 - 0.11)	0.69	0.0069 (0.0031 - 0.0240) vs 0.0048 (0.0010 - 0.0144)	0.5

% mannitol: mannitol urinary excretion ratio, **%lactulose:** urinary excretion ratio of lactulose, **lact/manntiol:** lactulose/mannitol urinary excretion ratio

Discussion

Our study showed that patients with CCC had a trend towards a reduced level of urinary recovery of mannitol compared to healthy controls. Furthermore, we found that patients with signs of venous congestion, such as peripheral edema, hepatomegaly and jugular venous regurgitation had a reduced urinal recovery of mannitol compared to healthy controls. Moreover, patients with a more severe form of CCC, those who had an adverse cardiovascular event and those who died also had a significant reduction of mannitol excretion ratio.

Lactulose and lactulose/mannitol excretion ration were not found to be different between patients and healthy controls, regardless of clinical signs of venous congestion, hemodynamic parameters and severity of presentation and outcome.

The sugar drink test is a non-invasive method to asses intestinal epithelial permeability. A variety of molecules has been used to evaluate mucosal barrier integrity. Lactulose and mannitol are one of the markers most widely employed. Usually, it is more correct to use the lactulose/mannitol ratio to exclude influences such as renal clearance, gastric emptying time and intestinal transit time. Both molecules are metabolized by colonic bacteria thus they can only be used to asses small intestinal function (10, 13, 14, 15).

Mannitol is a small molecule (182.2 Dalton) and hence crosses the epithelial membrane not only through the tight junctions on the paracellular space but also through the numerous small aqueous pores on the cell membrane. Mannitol is a marker of transcellular permeability whereas lactulose is a marker of paracellular permeability, since it is a larger molecule (342.3 Daltons) and therefore it crosses the mucosa only by the paracellular route through the tight junctions. Tight junctions are well known to be influenced by inflammatory cytokines and to be disrupted by hypoxia (10, 13, 14, 15).

Nowadays it is well recognized that HF is a state of low grade inflammation. Many theories have been postulated about the origin of the inflammatory cytokines in HF. One of the most praised is the gut origin. Due to low cardiac output and high sympathetic tone, blood is driven away from the splanchnic circulation and also due to the presence of venous congestion; mucosal injury would arise and allow endotoxin translocation to the circulation with stimulation of cytokine production (7, 9, 16).

First study to support this theory was published by Niebauer et al in 1999. The authors have shown that patients with HF and peripheral oedema had higher levels of circulating endotoxin and inflammatory cytokines compared to non-oedematous patients. After intensive

and prolonged diuretic therapy, endotoxin levels were reduced, whereas cytokine levels remained elevated (17).

Following this theory, in 2007, Sandek et al evaluated intestinal permeability, using as sugar probes, lactulose/ mannitol ratio, and found 35% increase in intestinal permeability in patients with LVEF less than 40% compared to healthy controls. Interesting, is that patients had also increased density and adherence of bacteria in sigmoid biopsies. Moreover, patients had increased bowel wall thickness measured by transcutaneous abdominal sonography compared to healthy volunteers (10).

However, a study from Belgium evaluated paracellular permeability using as sugar probe Cr-EDTA and found no difference between patients with LVEF less than 40% and healthy controls and patients awaiting bone marrow transplantation(18).

Recently, Sandek et al evaluated not only intestinal permeability using celubiose/l-ramnose ratio but also analyzed absorption of 3-OMG (3-metil-d-glicose) an active carrier mediated transport marker and D-xylose a passive carrier mediated transport marker. The evaluation of celubiose/l-ramnose (sugar probe for intestinal permeability – passive permeation through the membrane) showed no difference between healthy controls and patients with LVEF less than 40%. Yet, there was a reduction of 54% on the levels of excretion of 3-OMG active carrier mediated; this reduction was even more significantly in edematous patients. Moreover, patients also have shown a 34% reduction of passive carrier mediated d –xylose absorption (19).

To corroborate Sandek's work and also our study, Arutyunov et al examined small intestine biopsies obtained by endoscopy in patients with chronic heart failure (CHF). The authors found that patients with CHF especially those with more advanced disease, had increased levels of the relative amount of collagen content in their intestinal mucosa and also that the distance between the epithelial basal membrane and the endothelial wall was increased(20).

Therefore, bowel wall oedema and mucosal ischemia induced by reduced blood flow in the splanchnic bed due to high sympathetic tone and low cardiac output, together with collagen deposition and the increased absorption distance in the enterocyte could explain why CHF patients in Sandek's work showed reduced absorption of sugar markers and why CCC patients in our study had reduced permeation of mannitol. This could be associated with intestinal abnormal absorption which could eventually lead to cardiac cachexia which carries a devastating prognosis.

We have studied functional alterations of the gut mucosa in patients with Chagas cardiomyopathy. Given that Chagas is a systemic disease despite our efforts to fully exclude patients with the intestinal form, it is not possible to fully exclude functional alterations of the gut mucosa that are due to the parasite. Another limitation is that our follow up time was only of 18 months and although our mortality rate was of 12%, we have had a small number of events to analyze.

Conclusion

CCC is still a neglected disease and it carries a devastating prognosis, affecting people on their most productive years and is an important cause of sudden death and HF in Latin America. In this study we have found association of alterations of the gut mucosa and the outcome of our patient cohort. Patients who died or those who had an adverse cardiovascular event had a significantly reduced urinary recovery of mannitol.

To the best of our knowledge it is the first study to evaluate intestinal epithelial dysfunction and the outcome of patients with a very severe form of cardiomyopathy.

There was no difference in paracellular permeability but there was a consistently epithelial dysfunction measured by the recovery of mannitol in urine, which was associated to mortality and the presence of adverse cardiovascular events.

References

1. World Health Organization. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates= Maladie de Chagas en Amérique latine: le point épidémiologique basé sur les estimations de 2010. *Wkly Epidemiol Rec.* 2015;90(06):33-44.
2. Benziger CP, do Carmo GA, Ribeiro AL. Chagas Cardiomyopathy. *Cardiology clinics.* 2017 Feb 1;35(1):31-47
3. Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease. *Circulation.* 2007 Mar 6;115(9):1101-8
4. Nunes MC, Carmo AA, Rocha MO, Ribeiro AL. Mortality prediction in Chagas heart disease. *Expert review of cardiovascular therapy.* 2012 Sep 1;10(9):1173-84.
5. Nunes MC, Carmo AA, Rocha MO, Ribeiro AL. Mortality prediction in Chagas heart disease. *Expert review of cardiovascular therapy.* 2012 Sep 1;10(9):1173-84.
6. Botoni FA, Poole-Wilson PA, Ribeiro AL, Okonko DO, Oliveira BM, Pinto AS, Teixeira MM, Teixeira AL, Reis AM, Dantas JB, Ferreira CS. A randomized trial of carvedilol after renin-angiotensin system inhibition in chronic Chagas cardiomyopathy. *American heart journal.* 2007 Apr 30;153(4):544-e1.
7. Sandek A, Rauchhaus M, Anker SD, von Haehling S. The emerging role of the gut in chronic heart failure. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care.* 2008 Sep 1;11(5):632-9.
8. Sundaram V, Fang JC. Gastrointestinal and liver issues in heart failure. *Circulation.* 2016 Apr 26;133(17):1696-703.
9. Krack A, Sharma R, Figulla HR, Anker SD. The importance of the gastrointestinal system in the pathogenesis of heart failure. *European heart journal.* 2005 Jun 24;26(22):2368-74.
10. Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, Schroedl W, Karhausen T, Doehner W, Rauchhaus M, Poole-Wilson P. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology.* 2007 Oct 16;50(16):1561-9.
11. da Gama Torres HO, Vilela EG, Da Cunha AS, Goulart EM, Souza MH, Aguirre AC, Azevedo WM, Lodi FM, Silva AA, Bittencourt HN. Efficacy of glutamine-

supplemented parenteral nutrition on short-term survival following allo-SCT: a randomized study. *Bone marrow transplantation*. 2008 Jun 1;41(12):1021-7.

12. Vilela EG, Torres HO, Ferrari ML, Lima AS, Cunha AS. Gut permeability to lactulose and mannitol differs in treated Crohn's disease and celiac disease patients and healthy subjects. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. 2008 Dec;41(12):1105-9.

13. Travis S, Menzies I. Intestinal permeability: functional assessment and significance. *Clinical science*. 1992 May 1;82(5):471-88.

14. Bjarnason I, Macpherson A, Hollander D. Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology*. 1995 May 1;108(5):1566-81.

15. Quigley EM. Leaky gut—concept or clinical entity?. *Current opinion in gastroenterology*. 2016 Mar 1;32(2):74-9.

16. Rogler G, Rosano G. The heart and the gut. *European heart journal*. 2013 Jul 17;35(7):426-30.

17. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, Poole-Wilson PA, Coats AJ, Anker SD. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *The Lancet*. 1999 May 29;353(9167):1838-42.

18. Schaufelberger M, Ekman I, Björnsson E, Kalaitzakis E, Ekman T. Intestinal paracellular permeability is not affected in chronic congestive heart failure. *European journal of heart failure*. 2007 Jun 7;9(6-7):574-8.

19. Sandek A, Bjarnason I, Volk HD, Crane R, Meddings JB, Niebauer J, Kalra PR, Buhner S, Herrmann R, Springer J, Doehner W. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure. *International journal of cardiology*. 2012 May 17;157(1):80-5.

20. Arutyunov GP, Kostyukevich OI, Serov RA, Rylova NV, Bylova NA. Collagen accumulation and dysfunctional mucosal barrier of the small intestine in patients with chronic heart failure. *International journal of cardiology*. 2008 Apr 10;125(2):240-5.

ARTIGO 2

Abstract

Objective

Our primary objective was to observe the relationship between serum levels of BNP, Ca-125, C-reactive protein and uric acid as prognostic and functional markers in patients with chronic Chagas cardiomyopathy(CCC).

Background

BNP is a well recognized prognostic and clinical biomarker not only in chronic heart failure patients but also in patients with CCC. Previous studies have shown Ca-125, C-reactive protein and uric acid to be potentially good prognostic markers in heart failure (HF).

Methods

Patients were assigned consecutively and followed for a mean period of 18 ± 8.3 months. Patients were selected from the Chagas Disease Outpatient Center of University Federal de Minas Gerais.

Results

50 consecutive patients with CCC were selected. Their mean age was 43.42 ± 10.3 years (32 male). Framingham score 4 (2.8-9.3) and NYHA class (NYHA I =22/50, II = 16/50, III = 6/50 and IV = 2/50), LVEF was $37.84 \pm 9.5\%$, BNP was 293 (160-530) pg/ml, Ca-125 8.5 (5.5-16.75) U/ml, uric acid 6.2 ± 2 mg/dl, and C- reactive protein 4.5 (4.5 – 7.3) mg/l.

Patients who had LVEF less than 35 % had higher BNP ($p=0.0023$), Ca-125 ($p=0.027$) and uric acid ($p=0.01$) serum levels. Patients who died also have show higher BNP serum levels ($p=0.01$), uric acid levels ($p=0.05$) and a trend towards higher Ca-125 serum levels ($p=0.056$).

All markers: BNP, Ca-125, uric acid and C-reactive serum levels had good predictability of death in Cox-regression univariate analysis.

Conclusion

Determination of Ca-125, uric acid levels and C-reactive protein may add useful clinical and prognostic information when managing patients with CCC and may be more accessible and cheaper than BNP.

Introduction

Chagas disease is one of WHO neglected diseases affecting 5.7 million people in Latin America (1). Lately it has reached Europe and the US thanks to globalization. Recent data has shown that more than 7 million people coming from endemic areas of Chagas disease are now US legal residents; hence the US is now the seventh country in the Western Hemisphere in number of individuals affected(2). This has led to more interest by the scientific community in studying this serious disease.

Chagas has a heterogeneous presentation with an acute and a chronic phase which can have an indeterminate form which is asymptomatic with no electrocardiographic and echocardiography manifestations (3). Around 2-5% of individuals will progress each year to the chronic determinate forms. Normally it takes 30 years from the original infection and 20 to 40% of individuals will develop the cardiac form (3, 4).

The cardiac form or chronic Chagas cardiomyopathy (CCC) can be defined as two positive serology tests for the parasite and typical electrocardiography alterations (5). It is a heterogeneous condition, ranging from asymptomatic individuals with mild ECG abnormalities to the more severe and morbid condition with an ominous prognosis which is the dilated cardiomyopathy with left ventricular systolic dysfunction (5).

The CCC annual mortality varies from 0.2 to 19.2% per year depending on the population studied (6, 7). The most common causes of death are sudden death (55-65%) due to arrhythmias and refractory heart failure (25-30%), followed by stroke (10-15%)(3,4,5).

The most consistent prognostic factors are left ventricular systolic dysfunction, NYHA functional class and non sustained ventricular tachycardia (3,7). Echocardiography parameters such as RV dysfunction, E'E and left atrium volume have also shown association with death, cardiac transplantation and adverse cardiac events (7,8,9,10).

BNP has already been established as a reliable biomarker for HF diagnosis and prognosis (11). In Chagas disease BNP has been related to left ventricular dysfunction, to ventricular arrhythmias and it has been shown to be a valuable prognostic marker in a prospective trial (12, 13, and 14). Previous studies have also demonstrated that acid uric, C-

reactive protein and tumor marker Ca-125 to be related to prognosis and severity and prognosis in HF(15,16,17,18).

Therefore we investigated if uric acid, C-reactive protein and Ca-125 could be associated to the severity and outcome of CCC in a cohort of 50 chagasic patients. We have also determined serum levels of pro-inflammatory cytokines and evaluated their relation to left ventricular systolic dysfunction.

Patients and Methods

Patients were consecutively selected at our Reference Outpatient Center for Chagas Disease of the Federal University of Minas Gerais. Inclusion criteria consisted of two positive serology tests for Chagas disease and the presence of left ventricular ejection fraction (LVEF) of equal or less than 55% and left ventricular end-diastolic diameter (LVED) greater than 56 mm on echocardiogram. Diseases such as diabetes, thyroidopathies, hypertension, and other etiologies of heart failure such as ischemic, valvular or dilated were excluded, as well as patients with the intestinal and cardiodigestive form of Chagas disease.

The study was approved by our local Ethics Committee and all patients signed a written informed consent.

Patients were followed regularly at our clinic and their treatment was adjusted accordingly to the current guidelines. During the first medical visit variables like NHYA functional class and Framingham score were determined. Levels of Ca-125, acid uric and C-reactive protein were measured at our university laboratory after the first medical visit. BNP levels were assessed by a high sensitivity free radioimmunoassay kit (Triage Meter Plus kits- Peninsula/Bachen laboratories, San Carlos, CA). Cytokines were quantified by ELISA CBA.

Echocardiograms were performed by the same professor on Cardiology using a Philips HDi 5000-ATL (Bothell, WA), echo machine using criteria established by the American Society of Echocardiography and ejection fraction was accessed by the Simpson technique.

Statistical Analyses

Statistical analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS). Data was presented as mean plus standard deviation or median and interquartile range as appropriate. Difference between populations was accessed using student-t test or Mann Whitney accordingly to their normality presentation. Chi-square test was used to evaluate relationship between categorical variables. We performed receiver-operating curve (ROC) and computed areas under the curve to identify a potential marker in the diagnosis of LVEF less than 35%.

Cox proportional hazard analysis was used to assess the association between variables and mortality. Variables with $p < 0.20$ were found to be significant in the univariate analysis and were evaluated using stepwise multiple regression. For the multivariate model, variables were divided in three different blocks accordingly to clinical, echocardiography or laboratorial categories. The final model was set with the most significant variables for predicting death.

Results

50 consecutive patients were selected and followed up for a mean period of 18 ± 8 months. Patient's features are reported in table 1. Patients' mean ejection fraction was 37% and 44% of our group had LVEF less than 35%.

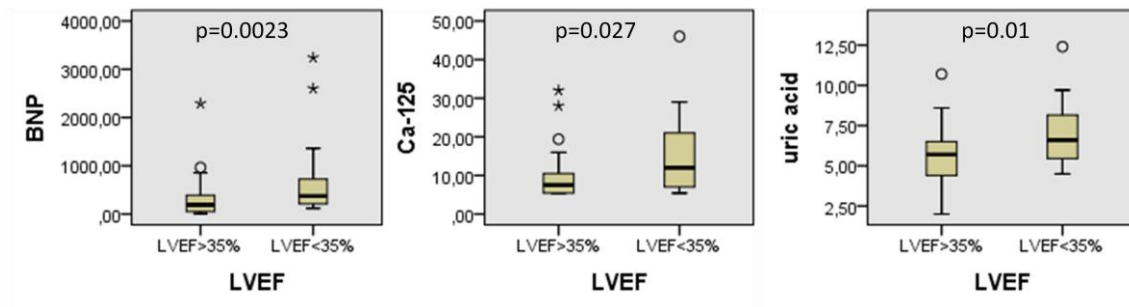
	Patients (n = 50)	LVEF>35% (n = 28 - 56%)	LVEF<35% (n = 22 - 44%)	sig
Age	53.54 ± 10.23	52 ± 10	54 ± 9.7	0.5
Sex (%male)	33 (64.7%)	19 (67.9)	13 (59%)	0.3
Systolic blood pressure	102.35 ± 13.35	104 ± 14	100 ± 12	0.2
Heart rate	61.60 ± 7.13	63 ± 10	62 ± 15	0.8
NYHA class III/IV	13 (26%)	4 (14.3%)	9 (40%)	0.035
Abnormal Framingham score	28 (56%)	12 (42.9%)	16 (72%)	0.033
LVEDD mm	65.26 ± 7.91	62 ± 6.9	69 ± 7.2	0.001
LA index volume ml/m ²	42.17 ± 18.88	36 ± 14	48 ± 2	0.04
Presence of RVD	14 (28%)	4 (14.3%)	10 (45.5%)	0.017
Acei or ARB	48 (96 %)	26 (92.9%)	15 (68.2%)	0.03
Beta-blocker	45 (90 %)	23 (82.1%)	22 (100%)	0.046
Diuretics	31 (62%)	14 (50%)	17 (77%)	0.04
Digoxin	12 (24%)	4 (14.3%)	8 (36.4%)	0.07
Amiodarone	22 (44%)	10 (35.7%)	12 (54.5%)	0.14
BNP	254 (154 - 445)	191 (40-392)	374 (208-766)	0.0023
C-reactive protein	4.5 (4.5 - 7.3)	4.5 (4.5-4.5)	4.5 (4.5-8.8)	0.5
Ca-125	9 (5.5-16.5)	7.5 (5.4-0.7)	12.5 (6.6-22.5)	0.027
Uric acid	6.2 ± 2	5.57 ± 1.84	7.1 ± 0.48	0.01
IL-1β	3.6 (3.3-3.8)	3.5 (3.3-3.7)	3.7 (3.3-4.6)	0.2
TNFα	2.3 (0-2.7)	2.2 (0-2.6)	2.4 (0-2.9)	0.3
IL-10	2.24 (0-2.6)	2 (0-2.5)	2.3 (0-2.7)	0.3
IL-6	3.9 (3.6-5.7)	3.8 (3.6-4.6)	4 (3.3-8.4)	0.5
IL-8	6.7 (5.7-8.6)	6 (5-6.9)	8.2 (6-11.8)	0.013
Adverse event	18(36%)	8 (28.6%)	10 (45.5%)	0.17
Death	6(12%)	3 (10.7%)	3 (13.6%)	0.5

LEEDD: left ventricle end-diastolic diameter, LA: left atrium, Acei : angiotensin-converting enzyme, ARB: angiotensin receptor blocker

Hemodynamic parameters measured by the echocardiogram

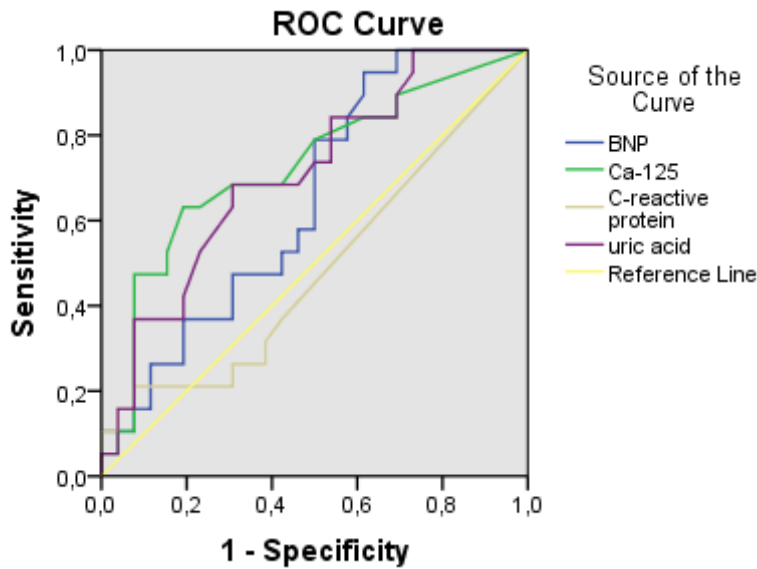
We have observed that patients with LVEF of less than 35% had not only higher levels of BNP but also of uric acid and Ca-125. This data is presented in figure 1 and table 1.

Figure 1: Association of BNP, Ca-125, and uric acid to LVEF



When analyzing receiver-operating curve in diagnosis of LVEF of less than 35%, we have observed an area under the curve of 0.691 ($p=0.023$) for BNP, an area of 0.68 for Ca-125 ($p=0.028$) and an area of 0.720 ($p=0.010$) for uric acid. C-reactive protein had an area under the curve of 0.55 ($p=0.5$). This is demonstrated in figure 2.

Figure 2: Receiver-operating curve in diagnosis of LVEF less than 35%



Right ventricular dilation (RV dilation) has been shown to be an important prognostic factor not only in patients with CCC but also in other etiologies of HF. BNP, uric acid, Ca-125 and CRP have all shown relation to right ventricular dilation. This data is shown in figure 3 and

Figure 3: Association of BNP and Ca-125 to RV dilation

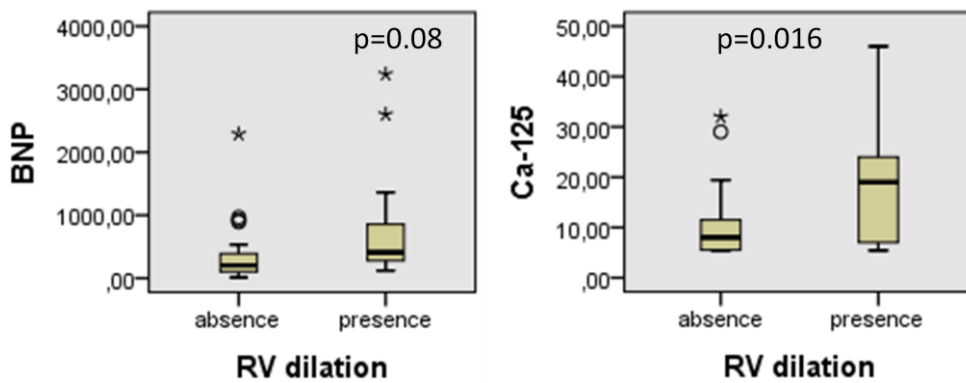
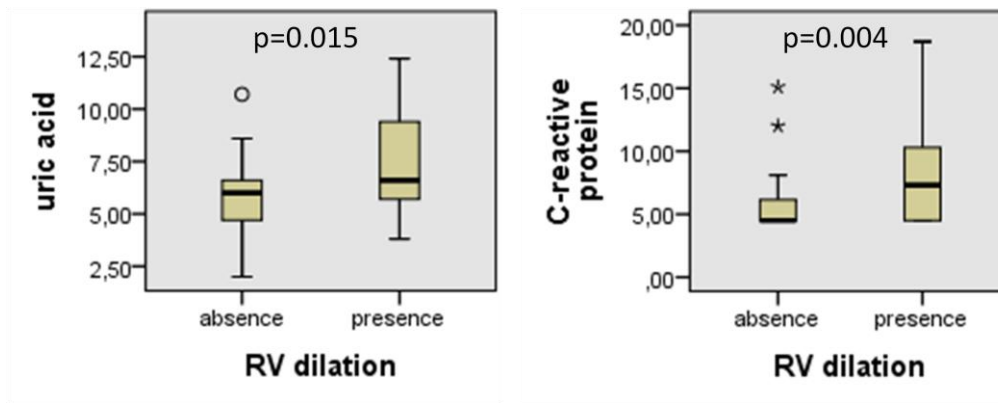
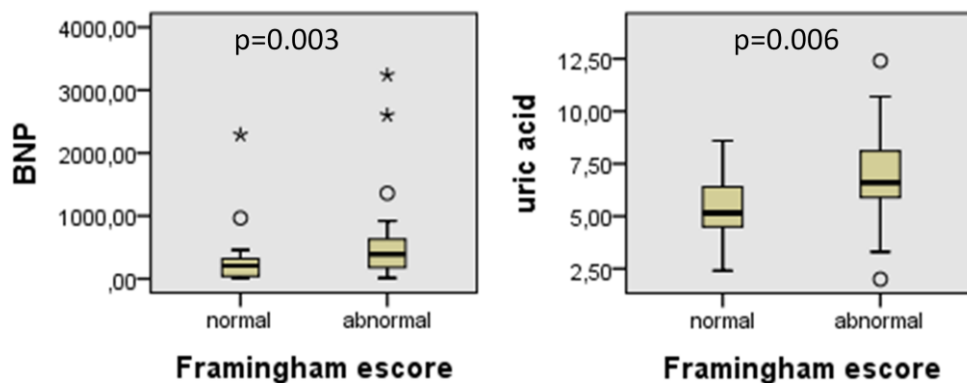


Figure 4: Association of uric acid and C-reactive protein to RV dilation



Another important and consistent prognostic factor in CCC patients is NYHA functional class, but only BNP had any association to the latter ($p=0.005$). In contrast, patients with higher Framingham score had higher BNP levels and higher uric acid levels. This is reported in figure 5.

Figure 5: Association of Framingham Score and BNP and uric acid



We have measured pro-inflammatory cytokines: IL-1 β , TNF α , IL-10, IL-6 and IL-8. Median serum values for our patient population are displayed in table 1. We have verified if we could find any association between the cytokines and subgroup of patients with LVEF less than 35%, with presence of right ventricular dilation on echocardiogram and with patients in

more advanced NYHA functional class. Patients with LVEF less than 35% have shown higher IL-8 serum levels. These values are shown in table 1. We could also observe an association between higher IL-8 serum levels and presence of right ventricular dilation ($p=0.066$) and more advanced functional class ($p=0.019$). IL-6 was only to the presence of right ventricular dilation on echocardiogram ($p=0.059$). TNF α has shown a tendency of relation to more advanced functional class ($p=0.058$). We did not observe any association of IL-1 β and IL-10 to the variables that were tested.

Outcome

During the observation period, we have observed 18 adverse cardiovascular events, 6 patients died, 5 patients required in-hospital treatment due to arrhythmic events, 1 patient had a transient ischemic attack and 6 had progressively worsening HF.

Among the markers tested, BNP was the only one to show any association with adverse cardiovascular events. Clinical, echocardiography and laboratorial parameters related to adverse events are reported in table 2.

Table 2: Clinical features, echocardiography and laboratorial parameters related to adverse cardiac events

	Event-free	Adverse Cardiac Event	p
LVEEDD mm	63 (\pm 8,17)	69 (\pm 5,77)	0,03
LVESD mm	50.59 (\pm 9,76)	57 (\pm 6,88)	0,016
DT ms	214 (85-283)	187 (156-222)	0,064
PSAP mmHg	31,5 (26,2-38,7)	35 (4,5-39)	0,4
E/e'	8.4 (5,8-11,9)	10 (5,45-13)	0,7
LA index volume ml/m ²	58,5 (45-71)	91 (62,5-106)	0,04
Uric acid mg/dl	5,9 (\pm 1,8)	6,7 (\pm 2,32)	0,2
Albumin g/dl	4,3 (\pm 0,37)	4,08 (\pm 0,49)	0,38
Ca-125 U/ml	8,5 (5,5-14,5)	11 (5,8-24)	0,4
BNP pg/ml	201 (93-374)	392 (237-911)	0,04
Sodium meq/L	141 (139-142)	139 (138-141)	0,14
C-reactive protein mg/L	4,5 (4,5 - 6,9)	4,5 (4,5-8,87)	0,2
Use of amiodarone		45,50%	54,50% 0,015
Pulmonary rales		36,40%	63,60% 0,02

RV dilation in echocardiogram 35,70% 64,30% **0,09**

LVEEDD: left ventricle end-diastolic diameter, LVESD: left ventricle systolic diameter, DT deceleration time, PSAP pulmonary artery systolic pressure, E/e' ratio of ratio early transmitral velocity to tissues Doppler mitral annular early diastolic velocity, RV right ventricular

We had a 2 and half year mortality of 12%, 4 patients died from sudden death and 2 from refractory HF. Patients who died had higher serum BNP levels (p= 0.001) and uric acid levels (p=0.005) than those who survived. There was a trend towards higher levels of Ca-125 levels (p= -.0056) in those patients that did not survive. Table 3 reports clinical, echocardiography and laboratory values accordingly to mortality.

Table 3: Echocardiography, laboratorial and clinical variables and their relation to death.

Variables	Non-survivors	Survivors	Sig
LVEEDD mm	69 (±4,6)	64 (± 8,11)	0,14
LVESD mm	58 (± 6,55)	52 (± 9,46)	0,14
DT ms	151 (± 44)	231 (± 72)	0,13
PSAP mmhg	36 (32 - 46)	32 (26 - 39)	0,15
E/e'	13 (5,6 - 21)	8,7 (5,77 - 12)	0,69
LA index vol ml/m ²	60 (59 - 60)	38 (28 - 49)	0,059
Sodium meq/l	140 (138 - 141)	141(138 - 142)	0,6
BNP pg/ml	221 (119-392)	790 (452 – 1063)	0.01
C-reactive protein mg/l	5,7 (4,5 - 18)	4,5 (4,5 - 7)	0,17
Uric acid mg/dl	7,75 (± 2,8)	6 (± 1,85)	0,05
Ca-125 U/ml	20 (10,3 - 74)	8 (5,5 - 14,5)	0,056
Albumim g/dl	4,3 (± 0,32)	4,2 (± 0,44)	0,7
RV dilation	66,7%	22,7%	0,044
Pulmonary rales	66,7%	18,2%	0,024

LVEEDD: left ventricle end-diastolic diameter, LVESD: left ventricle systolic diameter, DT: deceleration time, E/e': ratio of ratio early transmitral velocity to tissues Doppler mitral annular early diastolic velocity, RV: right ventricular dilation on echocardiogram

To evaluate if BNP, uric acid and C-reactive protein and Ca-125 could predict mortality a univariate and multivariate analysis by Cox-regression method was used, with three categories of variables divided according to clinical, laboratorial and echocardiography parameters.

In the univariate analysis, variables that reached a $p < 0.20$, were selected to enter the multivariate analysis. Table 4 shows variables that were significant in the univariate model.

For the final model, variables within categories that were most significant were selected. For clinical variables, presence of pulmonary rales was the most important, for laboratorial variables Ca-125 and IL-1 β were selected and for echocardiography parameters, the most significant was presence of right ventricular dilation. BNP did not reach statistical significance in the univariate analysis but it was included in the final model owing to its relevant clinical meaning. In the final multivariate model IL-1 β was the significant predictor of death.

Table 4: Cox Regression Univariate Analysis

Variables	Significance	Estimated Risk	Confidence interval
RV dilation	0.494	2.752	0.152 - 49.98
LVEDD mm	0.804	0.973	0.786 - 1.205
LA index volume	0.185	1.044	0.980 - 1.111
NHYA class	0.893	1.32	0.022 - 80.603
Hepatomegaly/edema	0.515	0.495	0.59 - 4.11
Ab pulm sounds	0.385	3.355	0.218 - 51.602
Pulmonary rales	0.356	2.222	0.408 - 12.113
C-reactive protein	0.751	0.891	0.437 - 1.817
Ca-125	0.461	1.018	0.971 - 1.067
BNP	0.634	1	0.99 - 1.002
Uric acid	0.061	1.38	0.9-1.9
IL-1 β	0.202	1.199	0.907 - 1.585
TNF α	0.743	1.020	0.905 - 1.1150

LVEDD: Left ventricular end-diastolic diameter RV dilation: right ventricular dilation on echocardiogram, Ab pulm sounds: abnormal pulmonary sounds.

Table 5: Cox Regression Multivariate Model

Variables	Significance	Estimated Risk	Confidence interval
Pulmonary rales	0.233	1.95	0.648 - 5.912
IL-1 β	0.006	1.263	1.069 - 1.491
RV dilation	0.899	0.816	0.036 - 18.59
IL-1 β	0.024	1.23	1.02 - 1.48
Pulmonary rales	0.233	1.95	0.648 - 5.912
IL-1 β	0.035	1.212	1.014 - 1.450

Discussion

Our results have shown that patients with LVEF less than 35% had higher circulating levels of BNP, uric acid and Ca-125. These markers have also shown association to the presence of right ventricular dilation on echocardiogram. When analyzing outcome, patients who died had higher serum levels of BNP and uric acid, and showed a trend towards higher levels of Ca-125. However, patients that had an adverse cardiac event had only higher BNP levels.

In our study BNP was the most powerful marker, not only in relation to hemodynamic parameters measured by the echocardiogram but also to the outcome and to the severity of the clinical manifestations of CCC.

This is in line with previous studies which have shown BNP to be a prognostic marker in a prospective analysis of CCC elderly individuals (14). BNP has been consistently shown to have relation with left ventricular dysfunction and even to be associated with ventricular arrhythmias and diastolic dysfunction in CCC patients (12, 13, and 19).

Ca-125 a glycoprotein that belongs to a family of mucins is a well recognizes marker for ovarian cancer but many recent studies have reported its relation to HF (16, 20).

Furthermore, some publications have shown Ca-125 to have an association to NYHA class, to

congestive signs of HF and even to be a predictor of death in HF non-chagasic patients (21, 22, and 23).

Uric acid, an end-product of purin metabolism, is a well recognized serum diagnostic marker of gout. Although, hyperuricemia association with cardiovascular disease has been described two centuries ago, only recently, clinical trials have demonstrated uric acid to be a marker of impaired vascular function and inflammatory cytokine activation (17, 24, and 25). A recent meta-analysis reported that elevated serum uric acid is associated with all cause mortality, cardiovascular mortality and combined risk of death or cardiovascular events (26).

C-reactive protein, a nonspecific acute phase protein produced by the hepatocytes in response to IL-6 during inflammation and infection, has also been linked to HF in numerous studies and has been associated with worse prognosis (15, 27). In our study, patients who died or who had an adverse cardiac event did not show elevated levels of C-reactive protein, however, this marker, reached good predictive ability in the univariate analysis.

Our results have shown that of the inflammatory markers analyzed (IL-1 β , TNF α , IL-8 and IL-6) only IL-8 had any relation to LVEF, with patients with LVEF less than 35% showing higher IL-8 serum levels. Further, patients with presence of right ventricular dilation on echocardiogram also have shown higher IL-8 levels and IL-6 levels.

A previous study have shown inflammatory markers (such as IFN- γ , IL-1 β , IL-10, IL-6 and MCP-1) to be elevated in patients with a more severe form of CCC compared to a group of blood donors with positive serology to Chagas disease with or without CCC(28). Another work reported that patients with CCC had higher levels of IFN- γ , TNF α and IL-6 when compared to individuals with the indeterminate form of the disease. However, patients with the indeterminate form had higher levels of IL-10 compared to CCC patients (29).

Although subgroups of patients with more severe heart disease and with worse outcome did not show higher serum level, neither of IL-1 β nor of C-reactive protein, both these markers were important predictors in the final multivariate model. In the final analysis IL-1 β was the significant predictor. This is in line with a study with ambulatory patients with idiopathic dilated cardiomyopathy, which has also reported IL-1 β to be the final predictor of death (30).

IL-1 β is an apical proinflammatory cytokine that stimulates C-reactive protein production by induction of IL-6. HF is now recognized as a partially inflammatory disease with several hypotheses proposed to explain the origin of inflammatory cytokines. One of them proposes that a dysfunctional intestinal barrier would allow translocation of bacteria or its product into the circulation and stimulate cytokine production (27, 31)

Conclusion

Our results confirm that BNP is indeed a potent clinical and prognostic marker in CCC patients. Ca-125 and uric acid showed association to left ventricular dysfunction and right ventricular dilation on echocardiogram. There was also association of the latter with death.

Although there was an association of IL-1 β and outcome, the potentially added clinical benefit of its measurement is still not clear.

Once ventricular dysfunction has developed, CCC patients carries an ominous prognosis with mortality ranging from 0.2-19.2% depending on the population studied (. Chagas is still a neglected disease and affects numerous individuals in remote areas in Brazil. A recent cohort study has shown that these patients are still largely undertreated for HF accordingly to the current guidelines(32). It would be very interesting to have other laboratory markers such as Ca-125 and uric acid which are cheaper and easy to assess than BNP to help clinicians, especially those in these remote areas, to make decisions and improve the medical management of CCC patients.

1. World Health Organization. Chagas disease in Latin America: an epidemiological update based on 2010 estimates= Maladie de Chagas en Amérique latine: le point épidémiologique basé sur les estimations de 2010. *Wkly Epidemiol Rec.* 2015;90(06):33-44.
2. Malik LH, Singh GD, Amsterdam EA. Chagas heart disease: an update. *The American journal of medicine.* 2015 Nov 30;128(11):1251-e7
3. Benziger CP, do Carmo GA, Ribeiro AL. Chagas Cardiomyopathy. *Cardiology clinics.* 2017 Feb 1;35(1):31-47
4. Ribeiro AL, Nunes MP, Teixeira MM, Rocha MO. Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. *Nature Reviews Cardiology.* 2012 Oct 1;9(10):576-89.
5. Rocha MO, Teixeira MM, Ribeiro AL. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. *Expert review of anti-infective therapy.* 2007 Aug 1;5(4):727-43.
6. Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease. *Circulation.* 2007 Mar 6;115(9):1101-8
7. Nunes MC, Carmo AA, Rocha MO, Ribeiro AL. Mortality prediction in Chagas heart disease. *Expert review of cardiovascular therapy.* 2012 Sep 1;10(9):1173-84.
8. Maria do Carmo PN, Rocha MO, Ribeiro AL, Colosimo EA, Rezende RA, Carmo GA, Barbosa MM. Right ventricular dysfunction is an independent predictor of survival in patients with dilated chronic Chagas' cardiomyopathy. *International journal of cardiology.* 2008 Jul 21;127(3):372-9.
9. Nunes MC, Barbosa MM, Ribeiro AL, Colosimo EA, Rocha MO. Left atrial volume provides independent prognostic value in patients with Chagas cardiomyopathy. *Journal of the American Society of Echocardiography.* 2009 Jan 31;22(1):82-8.
10. Nunes MP, Colosimo EA, Reis RC, Barbosa MM, da Silva JL, Barbosa F, Botoni FA, Ribeiro AL, Rocha MO. Different prognostic impact of the tissue Doppler-derived E/e' ratio on mortality in Chagas cardiomyopathy patients with heart failure. *The Journal of Heart and Lung Transplantation.* 2012 Jun 30;31(6):634-41.
11. Braunwald E. Biomarkers in heart failure. *New England Journal of Medicine.* 2008 May 15;358(20):2148-59.
12. Ribeiro AL, dos Reis AM, Barros MV, de Sousa MR, Rocha AL, Perez AA, Pereira JB, Machado FS, Rocha MO. Brain natriuretic peptide and left ventricular dysfunction in Chagas' disease. *The Lancet.* 2002 Aug 10;360(9331):461-2.
13. Talvani A, Rocha MO, Cogan J, Maewal P, Lemos JD, Ribeiro AL, Teixeira MM. Brain natriuretic peptide and left ventricular dysfunction in chagasic cardiomyopathy. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2004 Oct;99(6):645-9.

14. Lima-Costa MF, Cesar CC, Peixoto SV, Ribeiro AL. Plasma β -Type Natriuretic Peptide As a Predictor of Mortality in Community-Dwelling Older Adults With Chagas Disease: 10-Year Follow-up of the Bambuí Cohort Study of Aging. *American journal of epidemiology*. 2010 Jun 25;172(2):190-6.
15. Yin WH, Chen JW, Jen HL, Chiang MC, Huang WP, Feng AN, Young MS, Lin SJ. Independent prognostic value of elevated high-sensitivity C-reactive protein in chronic heart failure. *American heart journal*. 2004 May 31;147(5):931-8.
16. D'Aloia A, Faggiano P, Aurigemma G, Bontempi L, Ruggeri G, Metra M, Nodari S, Dei Cas L. Serum levels of carbohydrate antigen 125 in patients with chronic heart failure: relation to clinical severity, hemodynamic and Doppler echocardiographic abnormalities, and short-term prognosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003 May 21;41(10):1805-11.
17. Pontremoli R. The role of urate-lowering treatment on cardiovascular and renal disease: evidence from CARES, FAST, ALL-HEART, and FEATHER studies. *Current medical research and opinion*. 2017 Nov 17;33(sup3):27-32.
18. Niizeki T, Takeishi Y, Kitahara T, Suzuki S, Sasaki T, Ishino M, Kubota I. Combination of conventional biomarkers for risk stratification in chronic heart failure. *Journal of cardiology*. 2009 Apr 30;53(2):179-87.
19. Oliveira BM, Botoni FA, Ribeiro AL, Pinto AS, Reis AM, Nunes MD, Rocha MO. Correlation between BNP levels and Doppler echocardiographic parameters of left ventricle filling pressure in patients with Chagasic cardiomyopathy. *Echocardiography*. 2009 May 1;26(5):521-7.
20. Nägele H, Bahlo M, Klapdor R, Schaeperkoetter D, Rödiger W. CA 125 and its relation to cardiac function. *American heart journal*. 1999 Jun 30;137(6):1044-9.
21. Núñez J, Llàcer P, Bertomeu-González V, Bosch MJ, Merlos P, García-Blas S, Montagud V, Bodí V, Bertomeu-Martínez V, Pedrosa V, Mendizábal A. Carbohydrate Antigen-125-Guided Therapy in Acute Heart Failure: CHANCE-HF: A Randomized Study. *JACC: Heart Failure*. 2016 Nov 30;4(11):833-43
22. Hung CL, Hung TC, Lai YH, Lu CS, Wu YJ, Yeh HI. Beyond malignancy: the role of carbohydrate antigen 125 in heart failure. *Biomarker research*. 2013 Aug 30;1(1):25.
23. Ordu S, Ozhan H, Alemdar R, Aydin M, Caglar O, Yuksel H, Kandis H. Carbohydrate antigen-125 and N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels: compared in heart-failure prognostication. *Texas Heart Institute Journal*. 2012;39(1):30.
24. Anker SD, Doehner W, Rauchhaus M, Sharma R, Francis D, Knosalla C, Davos CH, Ciccoira M, Shamim W, Kemp M, Segal R. Uric acid and survival in chronic heart failure. *Circulation*. 2003 Apr 22;107(15):1991-7.

25. Hamaguchi S, Furumoto T, Tsuchihashi-Makaya M, Goto K, Goto D, Yokota T, Kinugawa S, Yokoshiki H, Takeshita A, Tsutsui H, JCARE-CARD Investigators. Hyperuricemia predicts adverse outcomes in patients with heart failure. *International journal of cardiology*. 2011 Sep 1;151(2):143-7.
26. Huang H, Huang B, Li Y, Huang Y, Li J, Yao H, Jing X, Chen J, Wang J. Uric acid and risk of heart failure: a systematic review and meta-analysis. *European journal of heart failure*. 2014 Jan 1;16(1):15-24.
27. Huynh K, Van Tassell B, Chow SL. Predicting therapeutic response in patients with heart failure: the story of C-reactive protein. *Expert review of cardiovascular therapy*. 2015 Feb 1;13(2):153-61.
28. Keating SM, Deng X, Fernandes F, Cunha-Neto E, Ribeiro AL, Adesina B, Beyer AI, Contestable P, Custer B, Busch MP, Sabino EC. Inflammatory and cardiac biomarkers are differentially expressed in clinical stages of Chagas disease. *International journal of cardiology*. 2015 Nov 15;199:451-9.
29. Sousa GR, Gomes JA, Fares RC, de Souza Damásio MP, Chaves AT, Ferreira KS, Nunes MC, Medeiros NI, Valente VA, Corrêa-Oliveira R, da Costa Rocha MO. Plasma cytokine expression is associated with cardiac morbidity in chagas disease. *PLoS One*. 2014 Mar 6;9(3):e87082.
30. Aleksova A, Beltrami AP, Carriere C, Barbati G, Lesizza P, Perrieri-Montanino M, Isola M, Gentile P, Salvioni E, Not T, Agostoni P. Interleukin-1 β levels predict long-term mortality and need for heart transplantation in ambulatory patients affected by idiopathic dilated cardiomyopathy. *Oncotarget*. 2017 Apr 11;8(15):25131.
31. Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, Schroedl W, Karhausen T, Doehner W, Rauchhaus M, Poole-Wilson P. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007 Oct 16;50(16):1561-9.
32. Cardoso CS, Sabino EC, Oliveira CD, de Oliveira LC, Ferreira AM, Cunha-Neto E, Bierrenbach AL, Ferreira JE, Haikal DS, Reingold AL, Ribeiro AL. Longitudinal study of patients with chronic Chagas cardiomyopathy in Brazil (SaMi-Trop project): a cohort profile. *BMJ open*. 2016 May 1;6(5):e011181.

7. Considerações Finais

Considerações Finais

Os pacientes com disfunção ventricular esquerda (FEVE menor que 35%), com sinais clínicos de congestão sistêmica mais pronunciados e os que apresentaram evento cardiovascular adverso ou foram à óbito apresentaram valores reduzidos de excreção urinária de manitol quando comparados ao grupo controle. Nosso estudo sugeriu associação entre a gravidade da IC e níveis reduzidos de recuperação urinária de manitol. Não observamos diferença entre os parâmetros avaliados e as taxas de excreção urinária de lactulose e de relação de lactulose pelo manitol.

A análise dos biomarcadores sugeriu associação não só do BNP, mas também do ácido úrico e do Ca-125 com a disfunção sistólica ventricular esquerda e com a dilatação do VD ao ecocardiograma. A análise univariada de Cox sugeriu associação dos marcadores Ca-125 e ácido úrico com o óbito. No que diz respeito à análise dos marcadores inflamatórios, somente a IL-8 teve relação com a disfunção sistólica. No entanto, na análise multivariada, foi a IL-1 que obteve associação com óbito.

A doença de Chagas tem por característica amplo polimorfismo na apresentação clínica, variando desde indivíduos assintomáticos e com bom prognóstico, daqueles acometidos com cardiopatia leve e até os acometidos por IC grave e refratária ao tratamento (RIBEIRO, 2012; NUNES, 2012; BERN2015, PEREZ-MOLINA, 2017).

O mesmo polimorfismo está presente na afecção do tubo digestivo pelo *T. cruzi*. O amplo espectro varia de casos graves de megaesôfago e megacolon com significativa sintomatologia à casos oligossintomáticos ou mesmo assintomáticos, contudo com alterações do tubo digestivo evidenciadas por exames radiológicos especializados ou pelo teste da metilcolina (lei de Canon do órgão desnervado). Muitas vezes há perda significativa da população neuronal sem sintomatologia (REZENDE, 1968; KOBERLE, 1968). O acometimento dos neurônios pode estar presente em todo o intestino delgado com importante redução em sua população. O encontro de megaduodeno e megajejuno é raro, todavia, os pacientes podem ser assintomáticos e apresentarem significativa alteração de motilidade e mesmo alteração do tempo de trânsito intestinal (REZENDE, 1968; MENEGHELLI, 2004).

Apesar de critério importante de exclusão, é impossível garantir que indivíduos com algum acometimento do trato gastrointestinal pela doença de Chagas foram totalmente excluídos do estudo. Esses pacientes também não foram submetidos à exames radiológicos ou

à propedêutica para avaliar tempo de transito oro-cecal com teste respiratório que poderia se encontrar alterado mesmo sem manifestação clínica.

Por conseguinte o possível acometimento do tubo digestivo pelo parasita, não diagnosticado, representa fator de limitação do estudo. Não há como garantir que a doença de Chagas não contribuiu para as alterações encontradas do teste da permeabilidade intestinal. Outro fator importante de limitação compreende a ocorrência de poucos eventos do desfecho o que pode dificultar a interpretação dos resultados referentes aos óbitos.

No entanto, é um estudo que tem seu mérito, pois acrescenta informações ao estudo da doença de Chagas que apesar de toda sua gravidade e prognóstico por vezes sombrio, persiste como negligenciada (BENZIGER, 2017; RIBEIRO, 2012; BERN, 2015; PEREZ-MOLINA, 2017) Estudo longitudinal prospectivo recente mostrou que indivíduos com CCC residentes em áreas endêmicas distantes dos grandes centros ainda não recebem tratamento adequado para a CCC/IC conforme recomendado pelas diretrizes atuais (CARDOSO, 2106).

Há ainda muitas dúvidas e controversas à respeito da patogênese e tratamento da doença de Chagas(BENZIGER, 2017; RIBEIRO, 2012; BERN,2015; PEREZ-MOLINA, 2017;CUNHA-NETO,2009;MARIN-NETO,2007). A avaliação do comportamento da permeabilidade intestinal poderia contribuir para possíveis terapêuticas futuras A disfunção da barreira protetora do trato gastrointestinal é uma área que atraiu, recentemente, a atenção da comunidade científica e direcionou novos trabalhos e estudos. A disfunção da barreira protetora da mucosa intestinal e a possível translocação de produtos bacterianos, fomentando a resposta inflamatória não só na IC como também em outras doenças intestinais e inflamatórias sistêmica é objeto diversas investigações recentes (DE-MEO, 2002; BISCHOFF, 2014; ONDEWALD, 2016; SALVO-ROMERO, 2015; TURNER,2009;SANDEK,2008;SANDEK,2007;KRACK,2005).

A questão a ser respondida é: a perda da função protetora da barreira intestinal seria um epifenomeno, seria manifestação clínica precoce ou processo fundamental na gênese dessas moléstias?(CAMILLERI, 2012; QUIGLEY, 2016) Faz-se necessário mais investigações e estudos para tentar responder esse dilema.

8. Bibliografia

- ADAD, S.J. et al. Leiomyosarcoma of the esophagus in a patient with chagasic megaesophagus: case report and literature review. **American Journal Tropical Medicine Hygiene**; v.60: p. 879-881,1999.
- ANKER, S.D. et al. Elevated soluble CD 14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. **Am J Cardiol**, v.79: p.1426-1430, 1997.
- ARUTYNOV, G.P.; KOSTYKEVICH, O.I.; SEROV, R.A.; RYLOVA, N.V.; BYLOVA, N.A. Collagen accumulation and dysfunctional mucosal barrier of the small intestine in patients with chronic heart failure. **International Journal of Cardiology**, v.125:p.240-245,2008.
- BECK, W.C.; SHARP, K.W. Achalasia. **Surgical Clinics North America**; v. 91: 1031-1037,2011.
- BENZIGER, C.P.; DO CARMO, G. A. L.; RIBEIRO, A. L. P. Chagas cardiomyopathy: clinical presentation and management in the Americas. **Cardiology clinics**, v. 35, n. 1: p. 31-47, 2017.
- BERN, C. Antitrypanosomal therapy for chronic Chagas' disease. **New England Journal of Medicine**, v. 364, n.26: p. 2527-2534, 2011.
- BERN, C. Chagas' disease. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 5: p. 456-466, 2015.
- BERN, C. *et al.* Evaluation and treatment of Chagas Disease in the United States. **JAMA**, v.298, n.18: p.2171-2178, 2007.
- BESTETTI, R. B.; MUCCILLO, G. Clinical course of Chagas' heart disease: a comparison with dilated cardiomyopathy. **International journal of cardiology**, v. 60, n. 2: p. 187-193, 1997.
- BESTETTI, R. B.; RESTINI, C.B. A.; COUTO, L.B. Carlos Chagas discoveries as a drop back to scientific construction of chronic Chagas heart disease. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 107, n. 1, p. 63-70, 2016.

- BESTETTI, R.B. et al. Effects of B-Blockers on outcome of patients with Chagas' cardiomyopathy with chronic heart failure. **International journal of cardiology**, v. 151, n. 2: p. 205-208, 2011.
- BESTETTI, R.B. et al. Effects of B-Blockers on outcome of patients with Chagas' cardiomyopathy with chronic heart failure. **International journal of cardiology**, v. 151, n. 2: p. 205-208,2011.
- BESTETTI, R.B.; MUCCILLO, G. Clinical course of Chagas' heart disease: a comparasion with dilated cardiomyopathy. **Int J Cardiol**, Sidney, v.60: p.187-193, 1997.
- BISCHOFF, S. C. et al. Intestinal permeability—a new target for disease prevention and therapy. **BMC gastroenterology**, v. 14, n. 1: p. 189, 2014.
- BJARNASON,I.;MACPHERSON,A.HOLLANDER,D. Intestinal permeability: an overview. **Gastroenterology**, v. 108: p. 1566-1581,1995.
- BLEUMINK, G.S. *et al.* Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure. The Rotterdam Study. **European Heart Journal**, v.25: p. 1614-1619, 2004.
- BOGLIOLO, L. As causas anatômicas da insuficiência cardíaca na cardiopatia (Miocardite) chagásica crônica estudadas comparativamente com as causas anatômicas da insuficiência cardíaca noutras cardiopatias. **Arq Brás Cardiol**, São Paulo, v.29;n.5: p.419-424, 1976.
- BOTONI F.A. , Poole-Wilson PA, Ribeiro AL, *et al.* A randomized trial of carvedilol after renin-angiotensin system inhibition in chronic Chagas cardiomyopathy. **Am Heart J**, Apr; 153:544-8, 2007
- BOTONI, F.A.. et al. Treatment of Chagas cardiomyopathy. **BioMed research international**, v. 2013, 2013.
- BRAGA,J.C.V. *et al.* Is Chagas cardiomyopathy na indepedent risk factor for patients with heart failure? **International Journal of Cardiology**, v.126, p.276-278, 2008.
- BRAUNWALD, E.Biomarkers in heart failure. **N Engl J Med**, Boston, v.358,n.20: p.2148-2159,2 008.
- CAMILLERI, M. et al. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. **Neurogastroenterology & Motility**, v. 24, n. 6: p. 503-512, 2012.
- cardiomyopathy. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 104: p. 252-258, 2009.
- CARDOSO, C.S. et al. Longitudinal study of patients with chronic Chagas cardiomyopathy in Brazil (SaMi-Trop project): a cohort profile. **BMJ open**, v. 6, n. 5: p. e011181, 2016.
- CHAGAS, C.; VILLELA, E. Forma cardíaca da trypanosomíase americana. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.14: p.5-61, 1922.

CHEN,R .*et al.* Simultaneous Quantification of six human cytokines in a single sample using microparticle-based flow cytometric technology. **Clinical chemistry**,v.45, n.9, p.1693-1694, 1999.

COWBURN, P.J. *et al.* Risk stratification in chronic heart failure. **European Heart Journal**, v.19: p. 696-710, 1998.

COWIE, M.R. *et al.* Clinical application of B-type natriuretic peptide (BNP) testing. **European Heart Journal**, v. 24 : p. 1710-1718, 2003.

CUCUNUBÁ, Z. M. *et al.* Increased mortality attributed to Chagas disease: a systematic review and meta-analysis. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1: p. 42, 2016.

CUNHA-NETO, E. *et al.* Immunological and non-immunological effects of cytokines and chemokines in the pathogenesis of chronic Chagas disease

DAVILA, D.F. *et al.* Effects of metoprolol in chagasic patients with severe congestive heart failure. **International Journal of Cardiology**, Sidney, v.85: p.255-260, 2002.

DEMEO, M.T. *et al.* Intestinal permeation and gastrointestinal disease. **Journal of clinical gastroenterology**, v. 34, n. 4: p. 385-396, 2002.

DIAS, E.; LARANJA, F. S.; NOBREGA, G. Doença de Chagas. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 43, n. 3: p. 495-581, 1945.

DIAS, J.C.P. *et al.* II Consenso Brasileiro em doença de Chagas, 2015. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 25, n. ESP, p. 7-86, 2016.

ECHEVERRÍA, L. E. *et al.* Profiles of cardiovascular biomarkers according to severity stages of Chagas cardiomyopathy. **International journal of cardiology**, v. 227:p. 577-582, 2017.

ERLAN, R. J. Gastrointestinal aspects of Chagas' disease. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 17, n. 6: p. 559-571, 1972.

FARHADI,A.;BANAN,A.;FIELDS,J.;KESHAVARZIAN,A. Intestinal barrier: an interface between health and disease. **Journal of Gastroenterology and hepatology**, v.18: p.479-497, 2003.

FELDMAN, M.A.; MACNMARA, D. Myocarditis. **N Engl J Med**; Boston, v.343: p.1388-1398, 2000.

FELICIANGELI, M.D. *et al.* Chagas disease control in Venezuela: lessons for the Andean region and beyond. **Trends in parasitology**, v. 19, n. 1: p. 44-49, 2003.

FIORELLI, A.I. *et al.* Heart transplantation in 107 cases of Chagas' disease. **Transplantation proceedings**,v.43: p.220-224, 2011.

FREITAS, H.F.G.;CHIZZOLA,P.R. *et al.* Risk stratification in a Brazilima hospital-based cohort of 1220 outpatients with heart failure:role of Chagas' heart disease. **International journal of cardiology**, v.102 : p.239-247, 2005.

- GACHELIN, G.; BESTETTI, R. B. Early clinics of the cardiac forms of Chagas' disease: Discovery and study of original medical files (1909–1915). **International journal of cardiology**, v. 244: p. 206-212, 2017.
- HIGUCHI, M.L. *et al.* Pathophysiology of the heart in Chagas' disease: current status and new developments. **Cardiovascular Research**; London, v.60: p.96-107, 2003.
- HUNT, S.A. *et al.* 2009 focused update incorporated into the ACC/AHA 2005 guideline for the diagnosis and management of heart failure in adults: a report of the American College of Cardiology Foundation /American Heart Association. Task force on practice guidelines: developed in collaboration with The International Society for Heart and Lung Transplantation. **Circulation**, Dallas, v.119: p.119:e391-e479, 2009.
- IMA-COSTA, M. F. *et al.* Plasma β -Type Natriuretic Peptide As a Predictor of Mortality in Community-Dwelling Older Adults With Chagas Disease: 10-Year Follow-up of the Bambuí Cohort Study of Aging. **American journal of epidemiology**, v. 172, n. 2: p. 190-196, 2010.
- ISSA, V S. *et al.* Beta-Blocker Therapy and Mortality of Patients with Chagas Cardiomyopathy—a subanalysis of the REMADHE prospective trial. **Circ Heart Fail**, v.110, n3: p.82-88, 2010.
- JR RASSI, A.; RASSI, A.; RASSI, S.G. Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies. **Circulation**; v.115: p.1101-1108, 2007.
- KEATING, S. M. *et al.* Inflammatory and cardiac biomarkers are differentially expressed in clinical stages of Chagas disease. **International journal of cardiology**, v. 199, p. 451-459, 2015.
- KIRCHHOFF, L. V. American trypanosomiasis. **Principles and Practise of Clinical Parasitology**, p. 335-353, 1996.
- KÖBERLE, F. Cardiopathia parasymphaticopriva. **Munch Med, Wochenschr**, v.31; n.101: p.1308-10, Jul. 1959.
- KUEHN, B.M. Chagas Heart disease an emerging Concern in the United states. **Circulation**, v. 134, n. 12: p. 895-896, 2016.
- LARANJA, F. S. *et al.* Chagas' disease: a clinical, epidemiologic, and pathologic study. **Circulation**, v. 14, n. 6: p. 1035-1060, 1956.
- LEVIN, E.R; GARDNER, D.G; SAMSON, W.K. Natriuretic peptides. **N Engl J Méd**, Boston, v.339: p.321, 1998.
- MANN, D.L; YOUNG, J.B. Basic mechanisms in congestive heart failure: recognizing the role of proinflammatory cytokines. **Chest**, Park Ridge, v.105: p.897, 1994.
- MARIN-NETO, J.A; SIMÕES, M.V; SARABANDA, A.V.L. Cardiopatia Chagásica. **Arq Bras Cardiol**, São Paulo, v.72,n.3: p.247-263, 1999.

MARIN-NETO, J.A.; CUNHA-NETO, E. *et al.* Pathogenesis of Chronic Chagas Heart Disease. **Circulation**, Dallas, v.115: p.1109-1123, 2007.

MATSUDA, N.M.; MILLER, S. M.; EVORA, P.R.B. The chronic gastrointestinal manifestations of Chagas disease. **Clinics**, v. 64, n. 12: p. 1219-1224, 2009.

MCKEE, P.A. *et al.* The Natural History of Congestive Heart Failure: The Framingham Study. **N Engl J Med**, Boston, v.285, n.26: p.1441-1446, 1971.

MCMURRAY, J.J.V.; ADAMOPOULOS, S.; ANKER, S. *et al.* ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. **European Heart Journal**; London, v.33: p.1787-1847, 2012.

MENEGHELLI, U. G. Chagasic enteropathy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 37, n. 3: p. 252-260, 2004.

MORILLO, C. A. *et al.* Randomized trial of benznidazole for chronic Chagas' cardiomyopathy. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 14: p. 1295-1306, 2015.

NIEBAUER, J.; VOLK, H-D.; DOMINGUEZ, M.; SCHUMANN, R. R.; RAUCHHAUS, M. POOLE-WILSON, P. A.; COATS, A. J. S.; ANKER, S. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. **The Lancet**, v. 353: p. 1838-1842, 1999

NOUVELLET, P.; DUMONTEIL, E.; GOURBIÈRE, S. The improbable transmission of *Trypanosoma cruzi* to human: the missing link in the dynamics and control of Chagas disease. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 7, n. 11: p. e2505, 2013.

NUNES, M. C.P. *et al.* Predictors of mortality in patients with dilated cardiomyopathy: relevance of Chagas disease as an etiological factor. **Revista Española de Cardiología (English Edition)**, v. 63, n. 7: p. 788-797, 2010.

NUNES, M.C.P. *et al.* Different prognostic impact of the tissue Doppler-derived E/e' ratio on mortality in Chagas cardiomyopathy patients with heart failure. **The Journal of Heart and Lung Transplantation**, v. 31, n. 6: p. 634-641, 2012.

NUNES, M.C.P. *et al.* Left atrial volume provides independent prognostic value in patients with Chagas cardiomyopathy. **Journal of the American Society of Echocardiography**, v. 22, n. 1: p. 82-88, 2009.

NUNES, M.C.P. *et al.* Right ventricular dysfunction is an independent predictor of survival in patients with dilated chronic Chagas' cardiomyopathy. **International journal of cardiology**, v. 127, n. 3: p. 372-379, 2008.

NUNES, M.C.P. *et al.* Mortality prediction in Chagas heart disease. **Expert review of cardiovascular therapy**, v. 10, n. 9: p. 1173-1184, 2012.

NUNES, M.C.P. *et al.* Risk estimation approach in Chagas disease is still needed. **International Journal of cardiology**, v.147, n.2: p.295-296, 2011.

NUNEZ, J.; SANCHIS, J.*et al.* A. Improvement in risk stratification with the combination of the tumour marker antigen carbohydrate 125 and brain natriuretic peptide in patients with acute heart failure. **Eur Heart J**, v.31: p.1752-1763, 2010.

ODENWALD, M. A.; TURNER, J. R. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target?. **Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology**, v. 14, n. 1: p. 9, 2017.

OLIVEIRA, B.M.R. et al. Correlation between BNP levels and Doppler echocardiographic parameters of left ventricle filling pressure in patients with Chagasic cardiomyopathy. **Echocardiography**, v. 26, n. 5, p. 521-527, 2009.

OLIVEIRA, R.B. et al. Gastrointestinal manifestations of Chagas' disease. **The American journal of gastroenterology**, v. 93, n. 6: p. 884-889, 1998.

PASINI,E. et al. Pathogenic gut flora in patients with chronic heart failure. **JAAC: heart failure**, 2015

PAULUS,W.J. How are cytokines activated in heart failure? **European Journal Heart Failure**, Oxford, v.1: p.309-312,1999.

PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease. **The Lancet**,v.391, n. 10115:p.82-94, 2018.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **The Lancet infectious diseases**, v. 1, n. 2: p. 92-100, 2001.

QUIGLEY, E.M.M. Leaky gut—concept or clinical entity?. **Current opinion in gastroenterology**, v. 32, n. 2: p. 74-79, 2016.

RASSI JR, A. et al. Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease. **New England Journal of Medicine**, v. 355, n. 8: p. 799-808, 2006.

RASSI JR, A.; RASSI, S.G.; RASSI, A. Morte súbita na doença de Chagas. **Arq Brás Cardiol**, São Paulo, v.76 ,n.1: p.75-85, 2001.

RASSI JR., RASSI A., RASSI S.G. Predictors of mortality in chronic Chagas disease : a systematic review of observational studies. **Circulation**, Dallas, v. 115: p. 1101-1108, 2007.

RASSI JR.,A.,RASSI,A. American Trypanosomiasis (Chagas Disease). **Infec Dis Clin N Am**, v.26: p.275-291 ,2012.

RIBEIRO, A.L.P. et al. Brain natriuretic peptide and left dysfunction in Chagas' disease. **The Lancet**, London, v.360: p.461-462, 2002.

RIBEIRO, A.L.P.; TEIXEIRA, M.M. et al. Brain natriuretic peptide based strategy to detect left ventricular dysfunction in Chagas disease: A comparison with the conventional approach. **Int J of Cardiology**, v.109:p.34-40, 2006.

RIBEIRO,A.L.;NUNES,M.P.;TEIXEIRA,M.M;ROCHA,M.O.C.Diagnosis and management of Chagas disease and cardiomyopathy. **Nat. Rev. Cardiol**, v.9: p.576-589, 2012.

ROCHA, M.O.C.; RIBEIRO, A.L.P.; TEIXEIRA, M.M. Clinical management of chronic Chagas cardiomyopathy. **Front Biosci**, Basel, v.1; n.8: p.44-54, Jan. 2003.

ROCHA,M.O.C.;NUNES,M.C.P.;RIBEIRO,A.L. Morbidity and prognostic factors in chronic chagasic cardiopathy. **Mem Inst Oswaldo Cruz**,Rio de Janeiro, v.104, n.suppl.1: p.159-166, 2009.

ROCHA,M.O.C.;TEIXEIRA,M.M.,RIBEIRO,A.L. An update on the management of Chagas cardiomyopathy. **Expert Rev. Anti Infect. Ther**, v.5,n.4: p.727-743, 2007.

SALVO ROMERO, E. et al. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. **Rev Esp Enferm Dig**, v. 107, n. 11: p. 686-96, 2015.

SANDEK, A.;D. ANKER, S.; VON HEAHLING, S. The gut and intestinal bacteria in chronic heart failure, **Current Drug Metabolism** v. 10 : p.22-28,2009

SANDEK, A.;RAUCHHAUS, M.; D.ANKER, S.; VON HAEHLING, S. The emerging role of the gut in chronic heart failure. **Current opinion in Clinical Nutrition**, v.11: p.632 – 639, 2008.

SANDEK,A. et al. Studies on bacterial endotoxin and intestinal absorption function in patients with chronic heart failure. **International Journal of cardiology**, v.157: p. 80-85, 2012.

SANDEK, A.; BAUDITZ, J.; SWIDSINSKI, A. S. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. **Journal of the American College of Cardiology**, v.50; n16: p.1561-69, 2007.

SANDEK, A.et al. Intestinal blood flow in patients with chronic heart failure: a link with bacterial growth, gastrointestinal symptoms, and cachexia. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 64, n. 11: p. 1092-1102, 2014.

SCHAUFELBERGER,M.;EKMAN,I.;BJORNSSON,E.;KALAITZAKIS,E.;EKMAN,T.**European Journal of Heart Failure**, v.9; p.574-578, 2007.

SHIKANAI-YASUDA, M.A.; CARVALHO, N.B.Oral transmission of Chagas disease. **Clinical Infectious Diseases**, v. 54, n. 6: p. 845-852, 2012.

SOUSA, G.R. et al. Plasma cytokine expression is associated with cardiac morbidity in chagas disease. **PLoS One**, v. 9, n. 3: p. e87082, 2014.

SOUSA, G.R. et al. The role of interleukin 17-mediated immune response in Chagas disease: High level is correlated with better left ventricular function. **PloS one**, v. 12, n. 3: p. e0172833, 2017

SUNDARAM, V.; FANG, J.C.; Gastrointestinal and liver issues in heart failure. **Circulation**, v.133: p.1696-1703,2016.

TANOWITZ, H. B. et al. Developments in the management of Chagas cardiomyopathy. **Expert review of cardiovascular therapy**, v. 13, n. 12: p. 1393-1409, 2015.

TEIXEIRA, T.F.S. et al. Intestinal permeability measurements: general aspects and possible pitfalls. **Nutricion hospitalaria**, v. 29, n. 2: p. 269-281, 2014.

TEIXEIRA,A.R.L. *et al.* Chagas Disease. **Postgrad Med J**, v.82: p.788-798, 2006.
THEODOROPOULOS, T.A.D. et al. Predictors of all-cause mortality in chronic Chagas' heart disease in the current era of heart failure therapy. **International journal of cardiology**, v. 128, n. 1: p. 22-29, 2008.

THEODOROPOULOS,T.A.D. *et al.* Predictors of all-cause mortality in chronic Chagas' heart disease in the current era of heart failure therapy. **International Journal of Cardiology**, v.12: p.22-29,2008.

TRAVIS,S.;MENIES,I. Intestinal permeability:functional assessment and significance. **Clinical Science**, v. 82; p. 471-488,1992.

TRONCON, L.E. et al. Abnormally rapid gastric emptying of an isosmotic liquid meal in patients with megaduodenum. **Digestive Diseases and Sciences**; v. 45: p. 2145-2150, 2000.

TURNER, J.R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 9, n. 11: p. 799, 2009.

WHO. Chagas disease. Disease Watch 2003. TDR / Nature Reviews Microbiology. Available at: <http://www.who.int/tdr/dw/chagas2003.htm>. Accessed October 11, 2005.

WHO. Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. First WHO report on neglected tropical diseases [on line],http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/97892411564090_eng.pdf(2010).

WHO.Chagas disease:control and elimination (A63/17)[on line], http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA63/A63_17-en.pdf (2010).

WHO.Working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Firt WHO report on neglected tropical diseases[on line],http://whqlidoc.who.int/publications/2010/97892411564090_eng.pdf (2010).