

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

EDUARDO MARINHO TASSI

Relação entre norepinefrina
urinária, fibrose e arritmias na
cardiopatía chagásica crônica com
fração de ejeção preservada ou
discretamente reduzida

Rio de Janeiro

2021

Eduardo Marinho Tassi

Relação entre norepinefrina urinária, fibrose e arritmias na cardiopatía chagásica crônica com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida

Tese submetida ao Corpo Docente do programa de Pós-Graduação em Medicina (Cardiologia) do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina e do Instituto do Coração Edson Saad, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Ciências Cardiovasculares.

Orientadores: Dr. Roberto Coury Pedrosa

Prof. Dr. Basílio de Bragança Pereira

Rio de Janeiro

2021

Tassi, Eduardo Marinho

Relação entre norepinefrina urinária, fibrose e arritmias na cardiopatia chagásica crônica com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida

XX f55; 31 cm.

Orientadores: Roberto Coury Pedrosa e Basílio de Bragança Pereira

Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro,

Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina (Área de concentração: Cardiologia), 2021.

Referências bibliográficas: f.48 - 54

1. Cardiomiopatia Chagásica. 2. Doença de Chagas. 3. Morte Súbita Cardíaca. 4. Disfunção Ventricular. 5. Arritmias Cardíacas. Cardiologia - Tese. I. Pedrosa, Roberto Coury. II. Pereira, Basílio de Bragança. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Pós-Graduação em Medicina (Área de concentração: Cardiologia). IV. Título.

Eduardo Marinho Tassi

Relação entre norepinefrina urinária, fibrose e arritmias na cardiopatia chagásica crônica com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida

Tese submetida ao Corpo Docente do programa de Pós-Graduação em Medicina (Cardiologia) do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina e do Instituto do Coração Edson Saad da Universidade Federal do Rio de Janeiro como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Ciências Cardiovasculares.

Orientadores: Dr. Roberto Coury Pedrosa
Prof. Dr. Basílio de Bragança Pereira

Aprovada em _____ de _____ de 2021

Banca Examinadora:

Dr. XXXXXXXX

Dr. XXXXXXXX

Dr. XXXXXXXX

Dr. XXXXXXXX

Dr. XXXXXXXX

AGRADECIMENTOS

Se temos dados, vamos olhar os dados. Se só temos opiniões, ficamos com a minha”.

James Barksdale

Executivo Americano

RESUMO

Fundamentação: Na Cardiomiopatia Chagásica Crônica (CCC), se impõem estudos com proposta de identificar fatores de risco arritmogênicos em pacientes onde disfunção ventricular moderada a grave não está presente.

Objetivos: Verificar a dependência entre arritmias ventriculares frequentes (ARV), fração de ejeção de ventrículo esquerdo (FEVE), extensão da fibrose pela ressonância magnética cardíaca (RMC) e dosagem de norepinefrina urinária na CCC com FEVE preservada ou minimamente comprometida.

Métodos: Foi analisado no Holter a presença de extrassístoles ventriculares > 30/h. Na RMC foram avaliados a fração de ejeção biventricular, presença de alteração segmentar e detecção e quantificação de massa fibrosada pela técnica do realce tardio. Foi realizada a dosagem de norepinefrina urinária pelo método de Muskiet. A matriz de coeficiente de correlação foi calculada para medir a capacidade preditiva das variáveis preverem outra sendo considerado significativo $p < 0,05$.

Resultados: Um total de 59 pacientes foram incluídos. Idade média foi de $57,9 \pm 10,94$ anos. ARV foi detectada em 28 pacientes. A variável fibrose mostrou-se inversamente proporcional à FEVE encontrada (R^2 de - 0,61) e à norepinefrina urinária (R^2 de -0,68), assim como a variável arritmia mostrou-se pobremente inversamente proporcional à FEVE (R^2 de -0,33) e à norepinefrina urinária (R^2 de -0,27). Já a FEVE mostrou-se diretamente proporcional à norepinefrina (R^2 de 0,83). As variáveis fibrose, FEVE e NOREPI apresentaram um alto poder de associação entre si pela estatística de Cramér's V (fibrose e norepinefrina 0,64, FEVE e norepinefrina 0,63 e fibrose e FEVE 0,53).

Conclusão: Nesta amostra de conveniência, nos pacientes na forma cardíaca da dC com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida, observa-se integridade do sistema nervoso autonômico em corações com pouca fibrose e FEVE mais elevada apesar da presença de tradicionais fatores de risco para morte súbita cardíaca. Há dependência entre os níveis de norepinefrina urinária, FEVE e fibrose miocárdica, mas não com a presença de arritmias ventriculares frequentes.

Palavras-chave: Doença de Chagas, disfunção ventricular esquerda, arritmia ventricular frequente, ressonância magnética cardíaca, realce tardio, fibrose miocárdica, disautonomia, sistema nervoso autonômico, norepinefrina.

ABSTRACT

Background: In Chronic Chagas Cardiomyopathy (CCC), studies are needed to identify arrhythmogenic risk factors in patients where moderate to severe ventricular dysfunction is not present.

Objectives: To verify the dependence between frequent ventricular arrhythmias (ARV), left ventricular ejection fraction (LVEF), extension of fibrosis by cardiac magnetic resonance (CMR) and urinary norepinephrine measurement in CCC with preserved or minimally compromised LVEF.

Methods: The presence of ventricular extrasystoles $> 30/h$ was analyzed on Holter. In CMR, the biventricular ejection fraction, presence of segmental alteration and detection and quantification of fibrosis mass using the delayed enhancement technique were evaluated. Urinary norepinephrine was measured using the Muskiet method. The correlation coefficient matrix was calculated to measure the predictive ability of the variables to predict another, being considered significant $p < 0.05$.

Results: A total of 59 patients were included. Mean age was 57.9 ± 10.94 years. ARV was detected in 28 patients. The variable fibrosis was inversely proportional to the LVEF found (R^2 of -0.61) and urinary norepinephrine (R^2 of -0.68), as well as the variable arrhythmia was poorly inversely proportional to the LVEF (R^2 of -0.33) and to urinary norepinephrine (R^2 of -0.27). LVEF was directly proportional to norepinephrine (R^2 of 0.83). The variables fibrosis, LVEF and NOREPI showed a high power of association with each other according to Cramér's V statistics (fibrosis and norepinephrine 0.64, LVEF and norepinephrine 0.63 and fibrosis and LVEF 0.53).

Conclusion: In this convenience sample, in patients with the cardiac form of dC with preserved or slightly reduced ejection fraction, integrity of the autonomic nervous system is observed in hearts with little fibrosis and higher LVEF despite the presence of traditional risk factors for death sudden cardiac arrest. There is a dependence between the levels of urinary norepinephrine, LVEF and myocardial fibrosis, but not with the presence of frequent ventricular arrhythmias.

Keywords: Chagas disease, left ventricular dysfunction, frequent ventricular arrhythmia, cardiac magnetic resonance, delayed enhancement, myocardial fibrosis, dysautonomia, autonomic nervous system, norepinephrine.

LISTA DAS FIGURAS

Figura 1 – Modelo esquemático da inervação do SNA no coração	14
Figura 2 – Estruturas cardíacas que o <i>Trypanosoma cruzi</i> pode afetar	17
Figura 3 – Desenho do estudo	23
Figura 4 - Distribuição dos pacientes do estudo por idade	34
Figura 5 - Árvore de regressão linear para valores de corte para FEVE	36
Figura 6 - Árvore de regressão linear para valores de corte para fibrose	36
Figura 7 - Árvore de regressão linear para valores de corte para norepinefrina	37
Figura 8 – Modelo Log-Linear	38
Figura 9 - Matriz de Correlação	40

LISTA DAS TABELAS

Tabela 1 – Dados gerais da população estudada	35
Tabela 2 – Resultados da árvore de regressão linear	37
Tabela 3 – Matriz de coeficiente de explicação (valores em R).	39

ABREVIATURAS

CCC	-	Cardiopatia Chagásica Crônica
CMP	-	Cardiomiopatia
DM	-	Diabetes Mellitus
dC	-	Doença de Chagas
ECG	-	Eletrocardiograma
ECO	-	Ecocardiograma bidimensional
ELISA	-	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
ESV	-	Extra-sístole ventricular
FEVE	-	Fração de Ejeção Ventricular Esquerda
FV	-	Fibrilação Ventricular
HAS	-	Hipertensão Arterial Sistêmica
HUCFF	-	Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
ICES	-	Instituto de Cardiologia Edson Saad
IMC	-	Índice de Massa Corporal
MIBG	-	Metaiodobenzilguanidina
NYHA	-	<i>New York Heart Association</i>
RMC	-	Ressonância Magnética Cardíaca
SNA	-	Sistema Nervoso Autônomo
TVS	-	Taquicardia Ventricular Sustentada
TVNS	-	Taquicardia Ventricular Não-Sustentada
VFC	-	Variabilidade da Frequência Cardíaca
VE	-	Ventrículo Esquerdo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	JUSTIFICATIVA	21
3	HIPÓTESE E OBJETIVOS	22
4	PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS	23
4.1	Seleção dos pacientes e delineamento do estudo	23
4.1.1	Critérios de inclusão	24
4.1.2	Critérios de exclusão	24
4.1.3	Conflitos de interesse	25
4.2	Aspectos bioéticos	25
4.3	Definições	26
4.3.1	Definições dos fatores de risco para doença arterial coronariana	26
4.3.2	Definições das variáveis analisadas	26
4.4	Método	27
4.4.1	Protocolos de avaliação utilizados na seleção	27
a)	Diagnóstico sorológico da doença de Chagas	27
b)	Exame Clínico	28
c)	Eletrocardiograma	29
d)	Eletrocardiograma dinâmico contínuo (sistema Holter)	29
e)	Dosagem de Norepinefrina Urinária	30
f)	Método de Imagem por Ressonância Magnética	30
g)	Técnicas de pós-processamento e mensuração utilizadas	31
5	ANÁLISE ESTATÍSTICA	32
6	RESULTADOS	34
7	DISCUSSÃO	41
8	LIMITAÇÕES	45
9	CONCLUSÃO	46
10	PERSPECTIVAS	47
11	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
12	ANEXO 1 – ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO	55

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas (dC) ainda apresenta marcada importância epidemiológica, devido ao contingente de infectados com potencial para desenvolvimento de formas graves. Estima-se que, no Brasil, haja 1,2 milhão de pessoas acometidas⁽¹⁾, sendo um terço delas cardiopata, dos quais dois terços com coração minimamente comprometido.⁽²⁾

A cardiomiopatia chagásica crônica (CCC) é considerada uma condição arritmogênica devido à presença de uma miríade variável de arritmias potencialmente fatais, principalmente em estágios mais avançados da doença (grupo com maior risco individual de morte súbita elétrica cardíaca)^(3,4). Embora os pacientes de alto risco para morte súbita elétrica possam ser identificados por seus fatores de risco, na população com dC, o maior número de casos de morte súbita elétrica ocorre em pacientes não previamente determinados como de alto risco⁽³⁾. Esse aparente paradoxo dificulta a adoção de medidas preventivas em larga escala e justifica estudos neste grupo de pacientes com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida ainda que seja motivo de debate^(3,4).

O mecanismo que envolve a gênese das arritmias ventriculares nos estágios precoces da CCC pode estar relacionado com a denervação autonômica - característica marcante da dC⁽⁴⁻⁶⁾. Estudos na última década⁽⁷⁻¹⁰⁾ demonstraram que a denervação autonômica cardíaca (com diferentes níveis de gravidade) é achado comum em pacientes com dC e é ocasionado por inflamação neuronal e ganglionar sendo que a destruição com perda variável de células nervosas se inicia na fase aguda e continua na fase crônica, ocorrendo por mecanismos imune ou parasitário agindo exclusivamente ou em combinação^(11,12). A denervação autonômica tem importância no entendimento da patogênese, assim como na história natural da CCC.

Atenção especial tem sido direcionada à hipótese de que os neurônios parassimpáticos cardíacos e em menor grau os neurônios simpáticos são irreversivelmente danificados durante a forma indeterminada da doença^(5,13). Conseqüentemente, o sistema nervoso simpático residual cardíaco não tem oposição e os efeitos tóxicos da ativação simpática excessiva seriam responsáveis pela disautonomia⁽¹³⁾. As investigações também correlacionaram a presença de anticorpos

com propriedades semelhantes a agonistas nos receptores autonômicos cardíacos e disautonomia⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. É possível que estes anticorpos possam ou ativar permanentemente esses receptores ou os regular para baixo, em ambos os casos induzindo distúrbios autonômicos.⁽¹⁷⁾

O SNA modula todas as propriedades eletrofisiológicas dos tecidos elétricos e contráteis cardíacos cujas alterações são as causas primárias da arritmogênese. As fibras adrenérgicas estão distribuídas da base até o ápice do coração e penetram do epicárdio para o endocárdio paralelamente aos vasos coronarianos (**Figura 1**). As fibras parassimpáticas provenientes do nervo vago são em número muito menor e penetram a partir do endocárdio em direção à superfície do epicárdio. As inervações do SNA no coração fazem a maior parte da regulação da função cardíaca.⁽¹⁸⁾

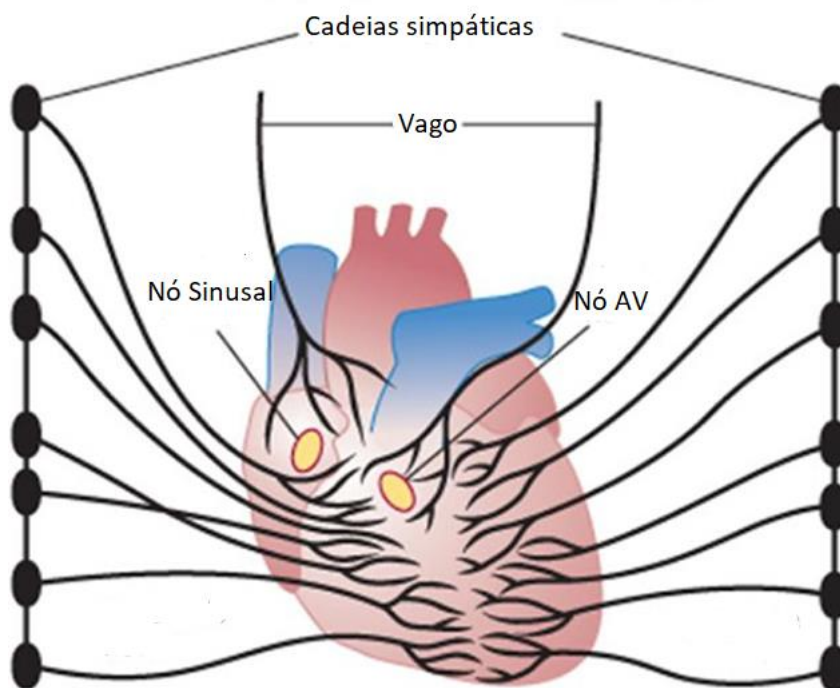


Figura 1 – Modelo esquemático da inervação do Sistema Nervoso Autônomo no coração. Adaptado de Guyton & Hall. *Textbook of Medical Physiology*. 11ª edição.

O sistema parassimpático exerce efeito eletrofisiológico anti-arritmogênico estabilizante ou depressivo e inotropismo negativo, enquanto o sistema simpático tem um efeito estimulatório pró-arritmogênico e exerce inotropismo positivo; um balanço adequado entre as influências autonômicas no coração é essencial para manter a estabilidade elétrica do miocárdio e do sistema excitatório e de condução.⁽¹²⁾ Por isso,

uma depressão parassimpática ou hiperatividade simpática pode aumentar a vulnerabilidade à arritmogênese.

Segundo Myerburg e cols.,⁽¹⁹⁾ há necessidade de três fatores para a morte súbita elétrica: o substrato arritmogênico, os eventos deflagradores e as alterações funcionais. No paciente com CCC, é possível identificar claramente esses três fatores: o substrato arritmogênico seria representado pelas zonas fibróticas e inflamatórias do miocárdio; os eventos deflagradores, pelas extrassístoles ventriculares tão presentes; e as alterações funcionais, pela deterioração hemodinâmica aguda, hipoxemia, distúrbios eletrolíticos, uso de medicamentos com potencial pró-arritmico e, principalmente, alterações no SNA são exemplos de fatores que podem causar instabilidade do substrato arritmogênico. Talvez por isso não são encontradas diferenças anátomo-histológicas significativas, do ponto de vista qualitativo quando se compara corações de pacientes com CCC que morreram repentinamente com corações de outros que morreram durante a evolução da insuficiência cardíaca.

Em outras palavras; mudanças estruturais e eletrofisiológicas no miocárdio do paciente com CCC levam a manifestações clínicas progressivas. Ilhas de fibrose fornecem substratos para arritmia ventricular e circuitos de reentrada. Muitos estudos⁽²⁰⁻²³⁾ evidenciaram que o padrão de ativação de inflamação modifica o arranjo miocitário promovendo arritmia e piorando a contratilidade miocárdica regional causando cronicamente disfunção cardiomiocitária e insuficiência cardíaca⁽²⁴⁾. Para completar, a denervação causa disautonomia sendo outro fator pró-arritmogênico possivelmente mais importante que a própria fibrose miocárdica⁽⁹⁾.

Outro aspecto importante que precisa ser enfatizado diz respeito à potencial associação entre o distúrbio autonômico e a morte súbita. Sabe-se que em casos de dilatação ventricular, mesmo na ausência de franca insuficiência cardíaca, ocorre redução do tônus vagal e consequente diminuição do limiar de fibrilação ventricular⁽²⁵⁾. É, portanto, razoável a suposição de que a associação de lesão funcional e lesão anatômica (ao nível cardíaco ou extra-cardíaco) possa facilitar ainda mais o aparecimento de arritmia ventricular maligna no contexto da CCC. Isso poderia estar de acordo com os achados de Lopes e cols.⁽²⁶⁾ que, ao contrário do que se nota em outras cardiopatias, verificaram que os episódios de morte súbita em pacientes com dC ocorrem preferencialmente no período vespertino, geralmente após o trabalho braçal, ocasião em que deveria ocorrer aumento do tônus vagal.

Estudos experimentais em ratos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* evidenciaram o comprometimento do SNA simpático e parassimpático na fase aguda e crônica da doença de Chagas⁽²⁷⁾. É sabido que na insuficiência cardíaca observamos uma generalizada ativação adrenérgica e uma inibição do sistema parassimpático⁽²⁸⁾, que resulta na presença de taquicardia, retenção de sódio, liberação de renina e generalizada vasoconstrição sistêmica.

No sentido de relacionar os níveis de norepinefrina como um indicador da atividade simpática, muitos autores⁽²⁹⁻³¹⁾ já demonstraram a relação direta entre estimulação neural simpática e norepinefrina.

É sabido, por exemplo, que a norepinefrina plasmática aumenta duas vezes ao se permanecer em posição ortostática⁽³²⁾, relacionada ao disparo do simpático em resposta à estimulação do reflexo barorreceptor por causa da redução do *clearance* renal. O estímulo da ativação simpática contribui para a constrição arterial e venosa e aumenta a resistência periférica compensando a queda do volume sistólico e redução do retorno venoso. Em pacientes com ICC, a hiperatividade simpática é persistente e relacionada aos sintomas clássicos de estímulo adrenérgico, tais como taquicardia, sudorese fria, diarreia e ansiedade. Porém, na cardiopatia chagásica esses aspectos permanecem controversos, havendo indicadores de que o sistema simpático caminha para a exaustão na medida em que avança o comprometimento cardíaco.

Cunha e cols,⁽³³⁾ avaliaram os níveis urinários de norepinefrina em pacientes com dC e compararam estes valores com outro grupo com insuficiência cardíaca não-chagásica. Foi constatado que no grupo de Chagas com sintomas clínicos mínimos ou alterações eletrocardiográficas sem sintomas apresentavam níveis de norepinefrina normais ou elevados e já pacientes com insuficiência cardíaca Classe III ou IV apresentavam sinais de denervação parcial por apresentar nível mais baixo de norepinefrina. Os achados de redução dos níveis de norepinefrina estão em contraste com os elevados níveis plasmáticos de norepinefrina em pacientes sem dC com insuficiência cardíaca classe III e IV com hiperatividade simpática.

No coração, a disfunção autonômica pode afetar exclusivamente ou em combinação as propriedades elétricas do nó sinusal e atrioventricular e o sistema de condução intraventricular, chamada de disfunção autonômica cardíaca primária, assim como as propriedades mecânicas e elétricas atriais e ventriculares (disfunção autonômica secundária).⁽¹²⁾ A **figura 2** explicita os mecanismos fisiopatológicos já

comprovados e prováveis da disautonomia causada pelo *Trypanosoma cruzi* a qual pode levar a diferentes manifestações clínicas e funcionais.

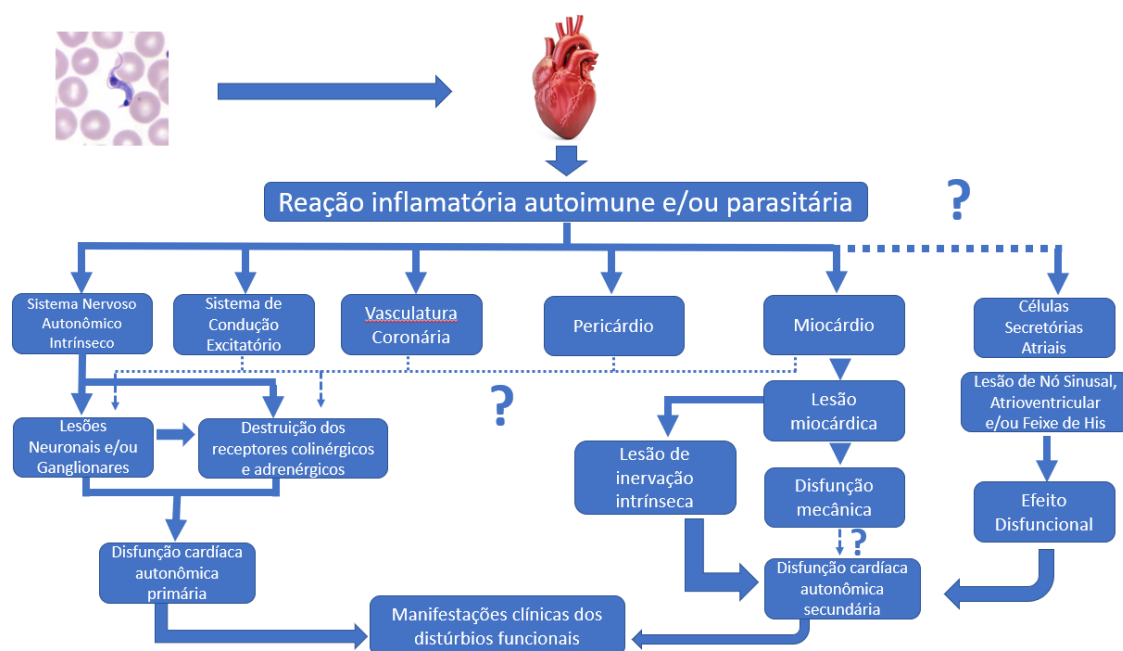


Figura 2 - Todas as estruturas cardíacas que o *Trypanosoma cruzi* pode afetar por mecanismos inflamatórios ou tóxicos resultando em lesões que afetam a inervação intrínseca autônoma, sistema de condução excitatório e miocárdio. Adaptado de Junqueira Jr, e cols. Rev Soc Bras Med Trop, 2012. 45(2): p. 243-52.

Parece que a disautonomia não tem relação direta com disfunção ventricular, podendo já ocorrer em corações sem lesão estrutural aparente, o que já foi relatado por Thiers e cols⁽¹⁵⁾ ao estudar o comprometimento do SNA através de anticorpos funcionalmente ativos contra receptores anti- μ_2 e anti- β_1 em pacientes com CCC com FEVE preservada. De forma semelhante, Merejo Peña e cols⁽³⁴⁾ observaram que tanto o componente parassimpático quanto o simpático, respectivamente avaliados pela variabilidade da frequência cardíaca (VFC) e estimulação simpática pelo teste de inclinação, estão afetados mesmo em pacientes com dC de baixo risco de morte súbita, apesar de ser mais intenso em grupos de maior risco.

Através da medicina nuclear é possível se detectar análogos da norepinefrina pelos neurônios adrenérgicos nas terminações simpáticas cardíacas, destacando-se o radiofármaco Metaiodobenzilguanidina (MIBG), um falso neurotransmissor que não participa do metabolismo intracelular e que é utilizado para o estudo do sistema nervoso simpático cardíaco por apresentar alta captação nesse órgão. A utilização do MIBG

marcado com Iodo-123 permite a avaliação do papel do sistema nervoso simpático cardíaco em condições fisiológicas e fisiopatológicas. ⁽³⁵⁾

Alteração autonômica cardiovascular é um preditor de mortalidade em pacientes com cardiomiopatia dilatada, sendo que estudos com MIBG tem se estabelecido como confiáveis e reprodutíveis como marcadores da função cardíaca autonômica por avaliarem denervação cardíaca simpática em nível ventricular. ^(9, 36)

O envolvimento comum de áreas distais do miocárdio de VE, como o ápice e segmentos ínfero-laterais basais sugerem uma inflamação aguda levando a isquemia miocárdica devido à desregulação microvascular na patogênese da fibrose miocárdica desses pacientes. Corroborando com isto, a regulação do fluxo anormal micro-vascular na presença de inflamação miocárdica crônica na CCC foi demonstrada por cintilografia⁽³⁷⁻³⁹⁾. Essas anormalidades de perfusão geralmente precedem o aparecimento de alteração segmentar, sugerindo que distúrbios microvasculares podem se desenvolver antes do início de dano miocárdico e pode ser um agente causador de fibrose miocárdica.

Simões e cols⁽⁷⁾, no ano de 2000, avaliaram pacientes com dC em vários estágios de doença através de MIBG e evidenciaram que defeitos de perfusão miocárdica ocorrem precocemente em todos os estágios, mas a denervação simpática aumenta com a piora da alteração segmentar e disfunção ventricular, parecendo que a inflamação causada pelo parasita se iniciaria com um padrão neurogênico para depois passar para o miocitário com desarranjo e fibrose posterior.

Em artigo recente, Barizon e cols⁽¹⁰⁾ reafirmaram o mesmo ao realizar estudo com MIBG, single-photo emission computed tomography (SPECT) em estresse e repouso com ^{99m}Tc-Sestamibi (MIBI) e ressonância magnética cardíaca (RMC) para avaliação de fibrose miocárdica. Os resultados mostraram uma concordância anatômica entre hipoperfusão, denervação e fibrose, sendo que a denervação foi quantitativamente mais associada à hipoperfusão do que a fibrose.

Com resultados semelhantes, Landesmann e cols⁽⁸⁾, em 2011, evidenciaram que pacientes com CCC com FEVE preservada, mas com alteração eletrocardiográfica já apresentavam alteração na modulação autonômica simpática em comparação com pacientes sem alterações eletrocardiográficas.

Miranda e cols⁽⁴⁰⁾, no mesmo ano, avaliaram quantitativamente a associação entre denervação simpática ventricular pela cintilografia com MIBG e TVS em pacientes com dC com função ventricular preservada (FE > 50%). Os autores concluíram que a quantidade de miocárdio denervado simpaticamente está diretamente associada com a ocorrência de TVS.

Já Gadioli e cols⁽⁹⁾, em artigo de 2016, estudaram a relação da presença de taquicardia ventricular sustentada (TVS) ou não sustentada (TVNS) com a extensão da denervação pela MIBG e fibrose avaliada através da cintilografia em repouso com ^{99m}Tc-Sestamibi e concluíram que a extensão da denervação é quantitativamente maior em pacientes com episódios de TVS do que no grupo com TVNS ou sem arritmia complexa e a fibrose encontrada pela cintilografia não apresentou importância estatística. Contudo, a cintilografia por sua baixa resolução espacial somente é capaz de detectar áreas de fibrose extensas, geralmente transmuralis, o que pode explicar o fato da fibrose não ter sido relevante para a presença de arritmia complexa⁽⁴¹⁾.

A Ressonância Magnética Cardíaca é o melhor método para avaliação da função ventricular⁽⁴²⁾ e para a detecção de alteração segmentar⁽⁴³⁾, agregando também, por meio da técnica do realce tardio⁽⁴⁴⁾, a avaliação de fibrose miocárdica, já sendo descrita sua capacidade em se detectarem alterações na CCC.⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾

É sabido que a RMC consegue detectar com extrema acurácia áreas de fibrose que outrora passavam despercebidas por qualquer outro método não-invasivo, principalmente em infartos subendocárdicos e também pequenos focos de fibrose típicos de doenças como miocardites⁽⁴⁸⁾ e cardiomiopatias dilatadas não-isquêmicas⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾. A explicação para que a cintilografia não consiga detectar áreas de fibrose não-transmuralis é a sua baixa resolução espacial (cerca de 10 mm), o que corresponde aproximadamente à espessura da musculatura do ventrículo esquerdo. Já a RMC consegue detectar áreas tão pequenas quanto 1 grama, pois possui resolução espacial de aproximadamente 10 pixels.

A relação entre os achados da RMC e arritmias na CCC já foi avaliada por muitos estudos e atualmente é recomendada por *experts* para pacientes com arritmia ventricular grave para quantificar a extensão de fibrose miocárdica e risco de morte súbita.⁽⁵²⁾

Senra e cols⁽⁵³⁾ mostraram, ao acompanhar a sobrevida de 130 pacientes com dC por 5,4 anos, que a fibrose miocárdica detectada pela RMC é fator prognóstico

independente de outros fatores de risco, tais como FEVE e/ou presença de arritmias ventriculares. Mais importante foi a observação que pacientes com ausência de fibrose miocárdica detectável apresentaram sobrevida livre de eventos.

Tassi e cols⁽⁴⁷⁾ evidenciaram que, mesmo no paciente com CCC com função de VE preservada ou minimamente comprometida, a instabilidade elétrica inicial pode estar presente. Esta foi demonstrada pela presença de arritmias ventriculares induzida por esforço ou espontâneas em um terço dos pacientes (32%) e, mais ainda, houve uma boa correlação inversa entre a FEVE e a presença de fibrose (R^2 de -0,37), além do que 79% dos pacientes com instabilidade elétrica apresentavam alteração segmentar pela RMC.

Mello e cols⁽⁵⁴⁾ e mais recentemente Melendez Ramirez e cols⁽⁵⁵⁾ demonstraram também em pacientes com CCC que a fibrose encontrada na RMC é preditora de TVNS e TVS.

Assim, o grupo populacional portador de dC com potencial em desenvolver uma complicação cardíaca é suficientemente grande para justificar estratégias diagnósticas que identifiquem grupos de risco⁽⁵⁶⁾. Portanto, a necessidade de continuar a busca por um perfil de risco individual não limitado à extensão do comprometimento miocárdico se impõe neste grupo de pacientes, como a combinação com outros marcadores de risco tais como aqueles que refletem a disfunção autonômica e a presença de inflamação subclínica ou desarranjo celular (fibrose). Na medida em que os fatores determinantes que influenciam o aparecimento da cardiopatia são identificados, com quantificação do risco atribuível a cada variável, estratégias no sentido de se eliminar ou controlar cada fator podem ser estabelecidas.

2 JUSTIFICATIVA

A dC é um problema de saúde pública na América Latina⁽⁵⁷⁾ e nas últimas décadas a doença tem recebido atenção como doença emergente na América do Norte e Europa devido a migrações provenientes de áreas endêmicas⁽⁵⁸⁾.

A morte súbita é o modo de morte em até dois terços dos pacientes com CCC, contudo o risco anual entre aqueles na forma cardíaca com fatores de risco identificáveis (grupo de alto risco) representam uma parcela muito pequena da população chagásica como um todo (2/1000 pacientes), resultando em um alto número absoluto de eventos (morte súbita elétrica) no grupo de pacientes não previamente determinado como de alto risco. Este aparente paradoxo em relação a morte súbita elétrica na CCC foi chamado atenção por Rassi e cols desde 2001 ⁽⁵⁷⁾ fazendo com que medidas preventivas em grande escala tornam-se difíceis de serem implementadas. Ou seja, qualquer intervenção para prevenção em larga escala teria que ser aplicada a um enorme contingente de indivíduos que nunca irão desenvolver qualquer evento, na tentativa de beneficiar uma minoria. Por outro lado, adotando medidas terapêuticas apenas em subgrupos de alto risco pode até poupar muitas vidas **entre** os indivíduos tratados, contudo teria um pequeno impacto na redução do número total de mortes súbitas devido ao universo mais restrito. Portanto, epidemiologicamente e considerando a relação custo-benefício, focar nos subgrupos de risco intermediário que apresentam um número absoluto maior de eventos fatais, ou seja, os com algum grau de comprometimento miocárdico, seja mais adequado e certamente importante⁽⁴⁾.

Então, neste grupo de pacientes, onde paradoxalmente o maior número de casos de morte súbita elétrica ocorre e tradicional fator de risco como disfunção ventricular moderada a grave não está presente, estudos com proposta de identificar tradicionais fatores de risco arritmogênico se impõem. O presente estudo é original e relevante na medida em que associa metodologias recentes e pouco estudadas (quantificação da fibrose pela ressonância magnética cardíaca e dosagem de norepinefrina urinária) para responder se a presença de tradicionais fatores de risco (fibrose miocárdica, alteração segmentar miocárdica, função ventricular e carga adrenérgica) em pacientes na forma cardíaca da dC com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida justificaria a presença de instabilidade elétrica ventricular.

2 HIPÓTESE

A presença de tradicionais fatores de risco em pacientes na forma cardíaca da dC com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida justificaria a presença da instabilidade elétrica ventricular.

3 OBJETIVOS

Verificar a dependência entre arritmia ventricular, extensão da fibrose (gramatura/percentagem), função ventricular, alteração segmentar e dosagem de norepinefrina urinária.

4 PACIENTES, MATERIAL E MÉTODOS

4.1 SELEÇÃO DOS PACIENTES E DELINEAMENTO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo retrospectivo que incluiu uma amostra de conveniência composta de pacientes com doença de Chagas crônica regularmente e ativamente atendidos no Ambulatório de Cardiopatia Chagásica do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF). O desenho do estudo está resumido na **Figura 3**.

Este estudo faz parte da linha de pesquisa em dC (Mecanismos envolvidos na progressão do dano miocárdio na doença de Chagas com perspectivas prognósticas e terapêuticas: disfunção autonômica - marcadores precoces) cadastrada no CNPq e coordenada pelo Dr. Roberto Coury Pedrosa do Serviço de Cardiologia do HUCFF/ICES-UFRJ.

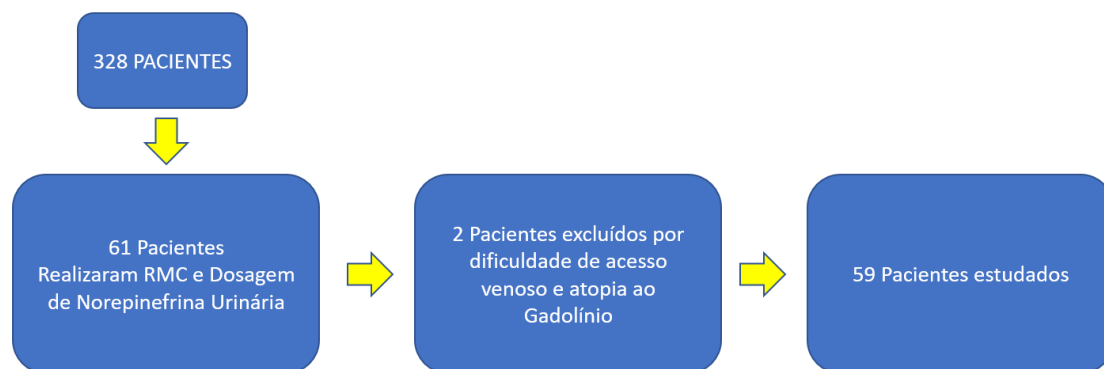


Figura 3 – Desenho do estudo.

4.1.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos os pacientes com CCC com idade superior a 21 anos e função ventricular esquerda preservada ou minimamente comprometida ($FE > 45\%$) à RMC e que possuíam dosagem de norepinefrina urinária anteriores à data da RMC a qual foi realizada entre março e dezembro de 2010 e precedida de ECG e Holter de 24h. Somente foram incluídos pacientes assintomáticos afastados de zona endêmica há mais de 20 anos.

4.1.2 Critérios de exclusão

Os pacientes foram excluídos do presente estudo caso apresentassem qualquer uma das características a seguir:

- Protocolo inicial de admissão incompleto;
- Tratamento prévio especificamente para a infecção chagásica;
- Dados clínicos ou laboratoriais sugestivos de doença hepática grave ou disfunção tireoideana;
- Clearance de creatinina estimado < 30 ml/min;
- História prévia de doença pulmonar obstrutiva crônica, diabetes mellitus em uso de hipoglicemiante e/ou insulina ou outra doença sistêmica;
- Doença coronariana prévia ou sinais, sintomas ou história clínica de cardiopatia isquêmica confirmada após investigação;
- Fibrilação atrial crônica (ou paroxística no momento do exame)
- Mais que dois fatores de risco para DAC;
- Valvopatia;
- Anemia crônica;
- Alcoolismo crônico de acordo com critérios do questionário CAGE (1984);
- Tabagismo;
- Outras miocardiopatias diagnosticadas;
- Doença de Parkinson e outras neuropatias diagnosticadas;

- Gravidez ou amamentação;
- Claustrofobia impeditiva para o estudo em RM;
- Contraindicação ao estudo por RM (marcapasso definitivo, cardiodesfibrilador implantado, cliques neurocirúrgicos ou implante coclear).

4.1.3 Conflitos de interesse

O pesquisador responsável pela coleta dos dados, coordenador e autor desta linha de pesquisa não foi subvencionado. Não há nenhum interesse, particular ou financeiro, por parte do mesmo ou dos seus pesquisadores associados na terapia ou nos exames estabelecidos nos pacientes com dC.

4.2 Aspectos bioéticos

A população estudada no presente estudo faz parte de uma coorte dinâmica iniciada em 1990, antes da atual normatização para pesquisa médica no Brasil (1996). É um programa clínico protocolizado longitudinal onde todas as intervenções diagnósticas e terapêuticas seguem as recomendações das diretrizes específicas para acompanhamento e tratamento das complicações da cardiopatia chagásica crônica.

Este projeto do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do HUCFF-UFRJ atendendo às diretrizes nacionais e internacionais para pesquisa em seres humanos (Resolução nº 196 do Conselho Nacional de Saúde), que regulamentam experimentos envolvendo pessoas através do parecer CEP nº 651/09; sob o protocolo de pesquisa nº 015/2009. O Dr. Roberto Coury Pedrosa foi o responsável pelo esclarecimento dos pacientes para a inclusão deles no estudo.

4.3 DEFINIÇÕES

4.3.1 Definições dos fatores de risco para doença arterial coronariana

. Hipertensão arterial sistêmica (HAS): Foram considerados hipertensos todos os pacientes com diagnóstico de HAS (com descrição no prontuário médico), assim como aqueles com história de HAS em uso de medicação anti-hipertensiva.

. Diabetes Mellitus (DM): Pacientes com diagnóstico de DM (comprovado em prontuário médico ou por resultado de exame laboratorial com glicemia de jejum ≥ 126 mg/dl), ou aqueles em uso de medicação hipoglicemiante.

. Dislipidemia: Foram considerados dislipidêmicos os pacientes com história documentada por laudo médico ou por exames laboratoriais com dosagem de colesterol ou triglicerídeos acima dos valores preconizados pela Diretriz de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia⁽⁵⁹⁾ e aqueles que estivessem em uso de medicação hipolipemiante.

. Tabagismo: Qualquer carga tabágica atual ou que tenha cessado uso até um ano antes da entrada no protocolo.

. História Familiar para DAC: Foi considerada positiva caso apresentasse história de acidente vascular cerebral, infarto do miocárdio ou revascularização miocárdica em pai ou irmão até os 55 anos e/ou mãe ou irmã com menos de 65 anos.

4.3.2 – Definições das variáveis analisadas

- Eletrocardiograma Normal: Ausência de qualquer alteração listada como “borderline” com o ritmo sinusal regular normal. Os seguintes foram incluídos: onda R amplitude

aumentada em V5 se não associada com alterações da onda T ou do segmento ST e rr' em V1 se não tiver outro critério para bloqueio incompleto de ramo direito.

- Cine-Ressonância Magnética Cardíaca alterada: Presença de qualquer alteração contrátil segmentar (hipocinesia, acinesia ou discinesia) e/ou disfunção ventricular.

- Fibrose miocárdica detectável: Qualquer sinal hiperintenso no miocárdio de ventrículo esquerdo na sequência de realce tardio detectável pela RMC e quantificável pelo software específico de análise.

- Disfunção ventricular: presença de disfunção sistólica de ventrículo esquerdo na Cine-RMC.

- Disfunção sistólica do ventrículo esquerdo: presença de disfunção sistólica global e/ou segmentar;
 - Disfunção sistólica global do ventrículo esquerdo: presença de fração de ejeção < 50%;
 - Disfunção segmentar ou regional do ventrículo esquerdo (alteração segmentar): presença de hipocinesia, acinesia ou discinesia.
- Disfunção sistólica do ventrículo direito: presença de fração de ejeção < 40%.

- Arritmias ventriculares frequentes ao Holter de 24 horas: Extra-sístoles ventriculares > 30/hora, episódios de taquicardia ventricular monomórfica sustentada (definida como mais de 3 batimentos consecutivos com duração > 30 segundos ou mais) ou episódios de taquicardia ventricular monomórfica não sustentada (definida como 3 ou mais batimentos consecutivos com duração < 30 segundos). A quantidade de ESV (extra-sístole ventricular) > 30/h foi baseado em estudos demonstrando que arritmias ventriculares frequentes tem relação com pior prognóstico em pacientes com dC⁽⁶⁰⁻⁶²⁾;

4.4 MÉTODO

4.4.1 Protocolos de Avaliação Utilizados na Seleção

a) Diagnóstico sorológico da doença de Chagas

Foi realizado em todos os pacientes encaminhados ao ambulatório, mesmo se trouxessem resultados anteriores externos, através da pesquisa de anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*. A diluição considerada reação sorológica positiva foi estabelecida pelo laboratório centro de referência de Manguinhos-FIOCRUZ/RJ. Os exames foram realizados pelo laboratório de Imunologia do HUCFF-UFRJ. O sangue foi coletado sempre pela mesma pessoa, no mesmo dia da semana, na parte da manhã. Foram utilizados dois dos três métodos abaixo para o diagnóstico sorológico:

Imunofluorescência indireta realizada pela técnica padronizada por Camargo (1966) e relatada por Luquetti (1999). Inicialmente a diluição testada foi 1:20 e, quando positiva, foi diluída seriadamente até 1:80. Foi considerada reação sorológica positiva aquela superior ou igual a 1:80.

Reação de hemaglutinação indireta realizada pela técnica padronizada por Camargo (1971) e relatado por Luquetti e Rassi (2000). A reação foi considerada positiva quando a diluição era igual ou superior a 1:64.

Teste imunoenzimático (ELISA, “*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*”): positiva quando superior a 1,2 (razão entre a densidade ótica e o valor limiar de reatividade).

O paciente considerado soropositivo teve dois testes sorológicos positivos, em duas coletas diferentes. Em caso de resultados incongruentes ou limítrofes, novas amostras foram colhidas e testadas. Na persistência de resultados incongruentes, a prioridade foi dada ao resultado do teste de imunofluorescência indireta.

b) Exame clínico

A avaliação clínica foi realizada para verificar a presença de sinais e sintomas cardiovasculares e digestivos, compatíveis com a doença de Chagas, assim como para fazer o diagnóstico diferencial com outras cardiopatias ou doenças não cardíacas que afetassem o sistema cardiovascular. Os pacientes foram examinados por uma única pessoa durante as consultas ambulatoriais.

Após confirmação sorológica, todos os pacientes foram submetidos a uma avaliação clínica inicial padronizada, composta de anamnese, história epidemiológica e exame físico. Na semana de admissão, todos os pacientes fizeram telerradiografia de tórax pósterio-anterior e perfil, o ECG convencional de repouso com 12 derivações e

uma avaliação laboratorial incluindo hemograma completo, glicemia, uréia e creatinina, ácido úrico, colesterol total, LDL, HDL, triglicerídeos, sódio, cálcio e potássio, proteínas totais e frações, provas de função hepática e tireoidiana, exame parasitológico de fezes e análise de urina para elementos anormais e sedimentos. Nos 30 primeiros dias após admissão foram realizados os seguintes exames: monitorização eletrocardiográfica ambulatorial dinâmica de 24 horas (sistema Holter) e ecocardiograma bidimensional com Doppler.

c) Eletrocardiograma

O ECG foi realizado com 12 derivações, em repouso, analisado de forma cega, sem conhecimento de dados clínicos ou de outros métodos complementares, por dois observadores. Em caso de discordância entre as duas análises, um diagnóstico de consenso foi obtido após discussão conjunta do traçado eletrocardiográfico. As alterações eletrocardiográficas foram classificadas conforme os critérios da *New York Heart Association*, utilizando-se o código de Minnesota modificado para a cardiopatia chagásica.⁽⁶³⁾ Em 2011, os mesmos critérios para classificação eletrocardiográfica foram adotadas pela Diretriz Latino Americana para Diagnóstico e Tratamento de Cardiopatia Chagásica.⁽⁶⁴⁾

d) Eletrocardiograma dinâmico contínuo (sistema Holter)

Todos os pacientes do estudo foram submetidos à monitorização eletrocardiográfica contínua por 24 horas, como parte da avaliação clínica rotineira no ambulatório de cardiopatia chagásica crônica. Os exames utilizaram o sistema de gravação TT1000 da HOLTER SYSTEM-SPACE LABS INC, com registro de duas derivações simultâneas (CM5 e CM1) em fita cassete.

Para análise da gravação, foi utilizado um módulo de análise de arritmia em microcomputador SPACE LABS, acoplado ao analisador SOFTWARE PACKAGE para qualificação e impressão de dados, os quais foram interpretados pelo Dr. Roberto Coury Pedrosa. Os resultados foram analisados pelo software da DMS, com a possível interação do médico analisador, caso houvesse discordância dos resultados.

A análise do traçado eletrocardiográfico do Holter foi realizada de maneira prospectiva, com ampla interação com o analisador, que foi solicitado a classificar os

batimentos como normais ou ectópicos à medida que o sistema processava a informação. A leitura do Holter foi feita duas vezes, em momentos diferentes, por um mesmo observador. A primeira, logo após a realização do exame e o resultado foi utilizado para a condução clínica dos pacientes. A segunda, foi realizada durante a coleta de dados para este estudo, quando as fitas foram reavaliadas, para detectar, quantificar e qualificar a presença de alterações do ritmo sinusal; extrassistolia supraventricular e ventricular; taquicardia supraventricular e ventricular; distúrbios da condução intra-atrial, atrioventricular, intraventricular; fibrilação ou flutter atrial. Os exames de cada etapa foram analisados de acordo com a mesma metodologia.

e) Dosagem de Norepinefrina urinária

A dosagem de norepinefrina urinária foi realizada ao longo dos anos de 2004 a 2006. Todos os pacientes foram orientados para evitar ingestão de alimentos que contêm tiramina (substância que facilita a liberação da norepinefrina dos locais de armazenamento no interior dos neurônios), que pudessem interferir na concentração de norepinefrina pelo menos 24h antes e durante o período de armazenamento da urina. O uso de beta-bloqueadores não foi suspenso durante a coleta. A coleta de urina foi realizada no domingo, iniciando às 06h da manhã, seguindo por um período de 24h e armazenando cumulativamente todas as amostras em dois frascos de polietileno com capacidade de um litro cada um, contendo cada frasco 1 ml de HCl 6 M (pH 1.0), com a recomendação de que mantivessem as amostras a 4° C durante o período de coleta (24h). O método utilizado para determinação da norepinefrina urinária teve como base a proposição de Muskiet e cols⁽⁶⁵⁾.

f) Método de Imagem por Ressonância Magnética

Após 3 horas de jejum, os pacientes realizaram estudo de Ressonância Magnética Cardíaca (RMC) em um equipamento GE de 1,5 Tesla (*HDX*[®]) sendo adquiridas duas sequências de pulso: a primeira foi cine-RMC (*steady-state free precession*) em eixo longo e eixo curto para mensuração e cálculo de massa, volumes e fração de ejeção de ventrículo esquerdo e direito. O corte mais basal no eixo curto foi posicionado logo após o anel átrio-ventricular e todas as subseqüentes pausas respiratórias em expiração máxima foram adquiridas com 8 mm de espessura e com espaçamento de 2 mm entre os demais cortes até o ápice de VE. Os parâmetros

utilizados foram FOV (*field of view*) 400 mm, matriz 224×224 , 20-24 linhas/segmento, resolução temporal < 50 ms, TR = 3,9 ms, TE = 1,5 ms, *flip angle* de 50° e NEX de 1.

Após 3 minutos da injeção de 0,3 mmol/kg de gadolínio (Dotarem[®], Guerbet[®]), a segunda sequência foi gradiente-eco com recuperação de inversão (técnica do realce tardio) em eixo longo e eixo curto para pesquisar fibrose miocárdica com os seguintes parâmetros: FOV (*field of view*) 360 mm, matriz 224×192 , 24 linhas/segmento, TE = 2,9 ms, *flip angle* de 20° , espessura de corte de 8 mm com espaçamento de 2 mm e NEX de 2.

g) Técnicas de pós-processamento e mensuração utilizadas:

Após aquisição das imagens, todos os exames foram pós-processados em estação de trabalho dedicada para exames cardiológicos por RM através de software específico (*ReportCard*[®] versão 3.6, GE[®]). A mensuração e cálculos de medidas de ventrículo esquerdo e direito foram realizadas independentemente por dois investigadores cegos sobre a qual grupo os pacientes pertenciam.

Imagens em diástole e sístole máximas foram escolhidas na visualização cinemática com o máximo relaxamento e máxima contração, respectivamente. Para cálculo da massa ventricular, foram utilizadas as bordas endocárdicas e epicárdicas em sístole e diástole finais sendo traçadas manualmente para cada corte, tanto para ventrículo esquerdo, quanto para ventrículo direito. Os músculos papilares foram excluídos das medidas volumétricas e acrescentados no cálculo da massa ventricular. Essas áreas foram multiplicadas pela espessura do corte (8 mm + 2 mm do espaçamento) e somadas para os diversos cortes para obter o volume sistólico final e volume diastólico final, respectivamente. A fração de ejeção foi calculada como volume diastólico final menos volume sistólico final dividido pelo volume diastólico final. Cada um dos 17 segmentos de VE foi classificado em normocinético, hipocinético, discinético ou acinético.

O cálculo da massa fibrosada - se presente - foi realizado através de aplicativo específico do software através da detecção semi-quantitativa de áreas hiperintensas compatíveis com a fibrose nas sequências de realce tardio em eixo curto sendo que o investigador tinha a liberdade de editar os limites da área de fibrose.

5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Este estudo foi realizado sob a consultoria estatística da Divisão de Pesquisa (DPq) do Instituto de Cardiologia Edson Saad (ICES) do HUCFF/UFRJ através do Prof. Dr. Basílio Bragança Pereira e Dra. Emilia Matos.

Baseados em estudos prévios, foram utilizadas as variáveis já conhecidas de fatores de risco para instabilidade elétrica: > 30 extra-sístolias por hora⁽⁶¹⁾, idade⁽⁶⁶⁾, alteração segmentar^(47, 66), FEVE e fibrose miocárdica^(47, 53, 67). Além dessas, acrescentamos o nível de norepinefrina urinária.

A normalidade dos dados foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk juntamente com o boxplot e o gráfico quartil-quartil. As variáveis normalmente distribuídas foram expressas através da média \pm desvio-padrão e as que não seguem a distribuição normal, pela mediana e intervalo interquartil.

Para a análise de arritmia foi utilizado ponto de corte de 720 extra-sístolias em 24 horas ou presença de TVNS⁽⁶⁸⁾. Já alteração segmentar foi avaliada pela presença ou ausência pela RMC (categórica). Para definir os pontos de corte das variáveis FEVE, fibrose miocárdica, nível de norepinefrina urinária e idade, foram realizadas árvores de regressão utilizando como desfecho arritmia.

Na sequência, com o ponto de corte já estabelecido, um modelo Log-linear foi utilizado para mensurar as dependências das variáveis acima descritas e para confirmar os resultados obtidos através da árvore de regressão. A concepção do modelo log-linear é utilizada para detectar o padrão de dependência (mesmo que interação) entre variáveis categóricas. A partir de um determinado conjunto de dados são possíveis vários padrões de dependência entre os dados. Neste modelo não há diferenciação de variáveis como dependente ou independentes, todas são variáveis-respostas que determinam o valor esperado de cada célula da tabela de contingência e as relações entre as variáveis são analisadas. As arestas de cada gráfico apresentam a medida de dependência entre as variáveis discretas e apresentam um número chamado Cramér's V o qual é um algarismo entre 0 e 1 que indica quão fortemente duas variáveis categóricas estão associadas. Aqui cabe uma rápida explicação estatística; se quisermos saber se 2 variáveis categóricas estão associadas, nossa primeira opção é o teste de independência do qui-quadrado. Um valor p próximo de zero significa que é muito improvável que nossas variáveis sejam completamente desassociadas em alguma população. No entanto,

isso não significa que as variáveis estejam fortemente associadas; uma medida que indica a força da associação é o Cramér's V.

Depois, foi realizada a matriz de coeficiente de correlação para medir a capacidade preditiva de uma variável contínua prever outra sendo analisadas: idade, FEVE, fibrose, arritmia e norepinefrina urinária. O software R foi utilizado para a análise dos dados. Foi considerado significativo valor de $p < 0,05$.

6 RESULTADOS

Do grupo de 328 pacientes do ambulatório, um total de 61 (23 pacientes masculinos) preencheram os critérios para participar do estudo. Dois pacientes não realizaram a fase pós-contraste da RMC (realce tardio), uma por dificuldade de acesso venoso e outra devido a história de atopia ao gadolínio, e foram excluídos posteriormente.

A idade média foi de 57,9 anos e a distribuição por idade pode ser avaliada na **figura 4**.

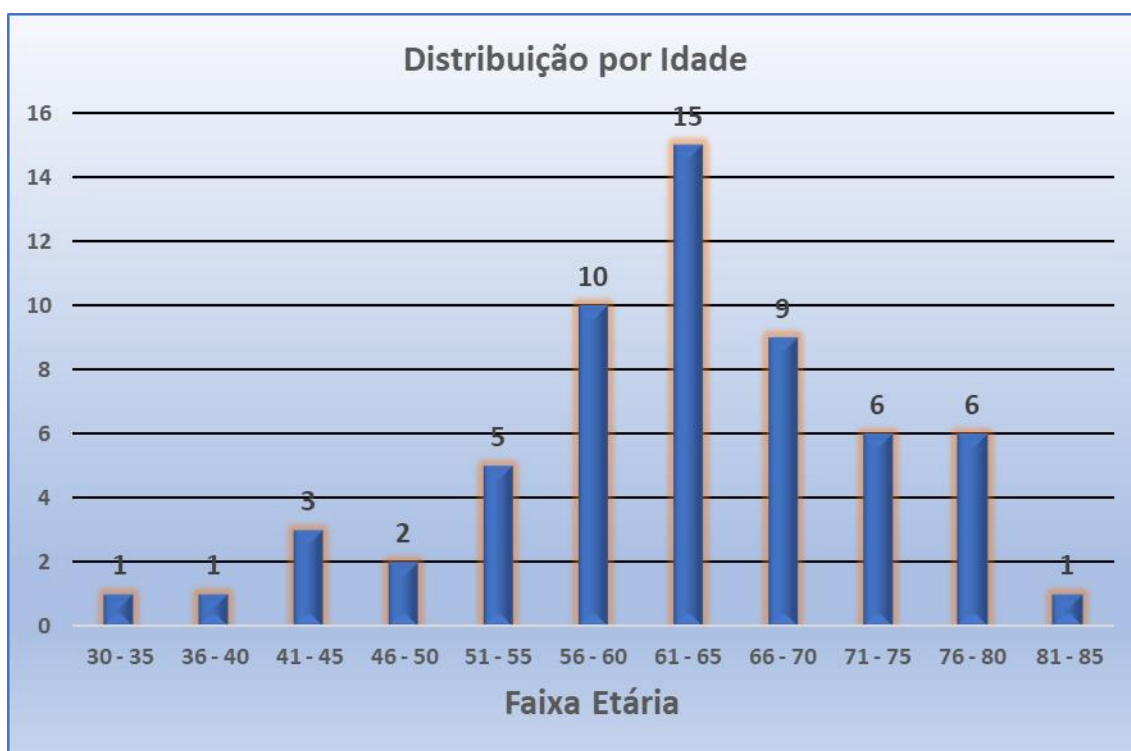


Figura 4 – Distribuição dos pacientes do estudo por idade.

Os principais dados da amostra estão na **tabela 1**. Trata-se de pacientes cardiopatas crônicos com fração de ejeção normal ou discretamente diminuída. A carga fibrótica cardíaca (média de 15g) esteve presente em praticamente metade dos pacientes e arritmias ventriculares significativas em 47% dos mesmos. Os níveis de norepinefrina urinária foram variáveis.

IMC – Índice de Massa Corporal. ECG – Eletrocardiograma. HBASE – Hemibloqueio ântero-superior-esquerdo. BRD – Bloqueio de Ramo Direito. BRE – Bloqueio de Ramo Esquerdo. BAV – Bloqueio Átrio-Ventricular. FEVE – Fração de Ejeção de Ventrículo Esquerdo. ESV – Extra-sístole Ventricular.

Idade		
	Média ± DP	57,9 ± 10,9
IMC		
	Média ± DP	26,1 ± 4,8
Gênero		
	Feminino	36
	Masculino	23
ECG		
	Alt. Repolarização	33
	HBASE	5
	BRD	1
	BRE	1
	BRD + HBASE	18
	BAV 1º grau	1
Alteração segmentar		
	Sim	19
	Não	40
FEVE		
	45-50%	7
	> 50%	52
	Média ± DP (%)	66,8 ± 11,9
Fibrose (realce tardio)		
	Presente	27
	Ausente	32
	Mediana (IQ) (g)	0 (0; 10,9)
Holter		
	Sem Arritmias	12
	Entre 1 e 719 ESV	19
	> 720 ESV	28
	Mediana (IQ)	489,0 (3,0; 1813,5)
Norepinefrina		
	Mediana (IQ)	2369,6 (2233,6; 2502,1)
	Sem arritmia (IQ)	2429,1 (2334,5; 2497,6)
	Com arritmia (IQ)	2364,1 (2180,1; 2512,3)
	Sem fibrose (IQ)	2437,1 (2342,9; 2759,7)
	Com fibrose (IQ)	2327,4 (1461,1; 2429,1)

As árvores de regressão linear para cálculo de ponto de corte da FEVE, fibrose e norepinefrina são mostradas nas **figuras 5, 6 e 7**, respectivamente.

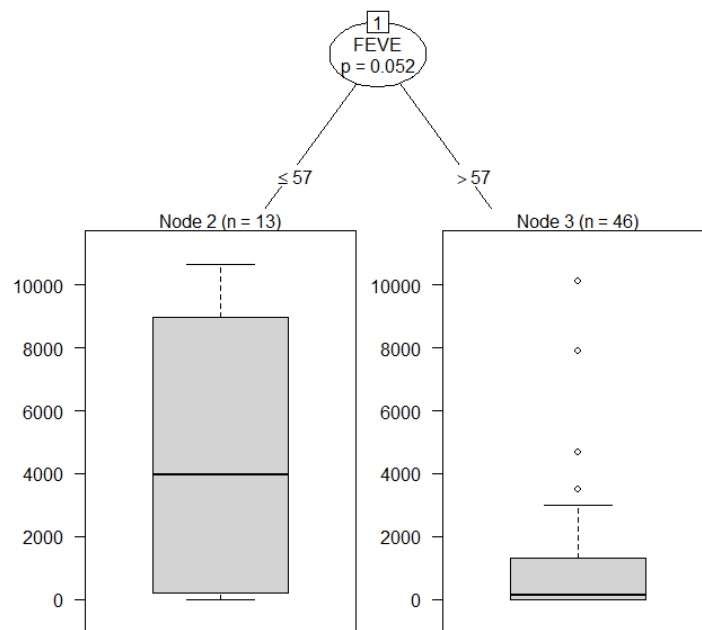


Figura 5 – Árvore de regressão linear para valores de corte para fração de ejeção de ventrículo esquerdo (FEVE) utilizando como desfecho arritmia ventricular.

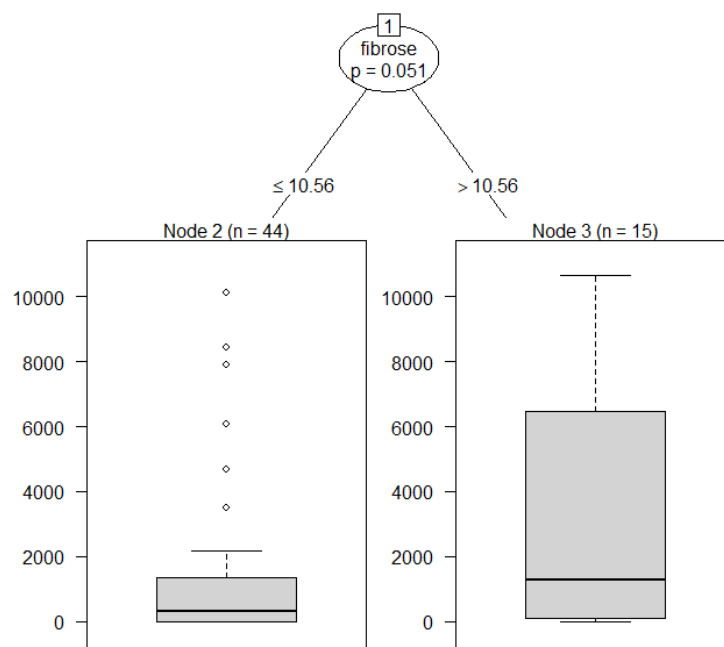


Figura 6 – Árvore de regressão linear para valores de corte para fibrose utilizando como desfecho arritmia ventricular.

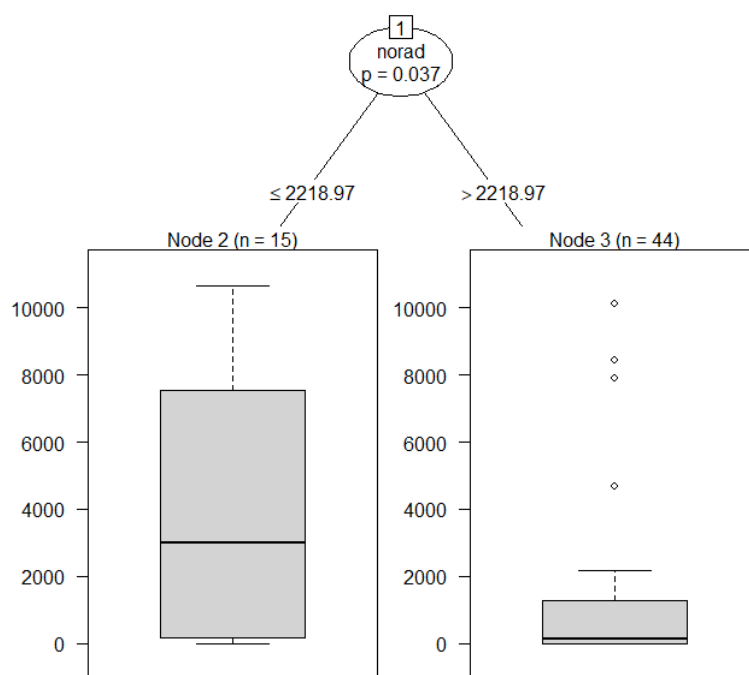


Figura 7 – Árvore de regressão linear para valores de corte para norepinefrina (norad) utilizando como desfecho arritmia ventricular.

Na **tabela 2** encontram-se os valores de corte encontrados pelas árvores de regressão linear.

Tabela 2 – Resultados da árvore de regressão linear para os pontos de corte para o loglinear

FEVE (n)	Alteração segmentar (n)	Arritmia (n)	Fibrose (n)	Norepinefrina (n)	Idade (n)
≤57: 13	Não: 41	Não: 31	≤10.56: 44	≤2218.97: 15	≤54: 20
>57: 46	Sim: 18	Sim: 28	>10.56: 15	>2218.97: 44	>54: 39

A análise multivariada através do modelo Loglinear foi utilizada para verificar o padrão de interação (dependência) das variáveis demonstradas na **figura 8**.

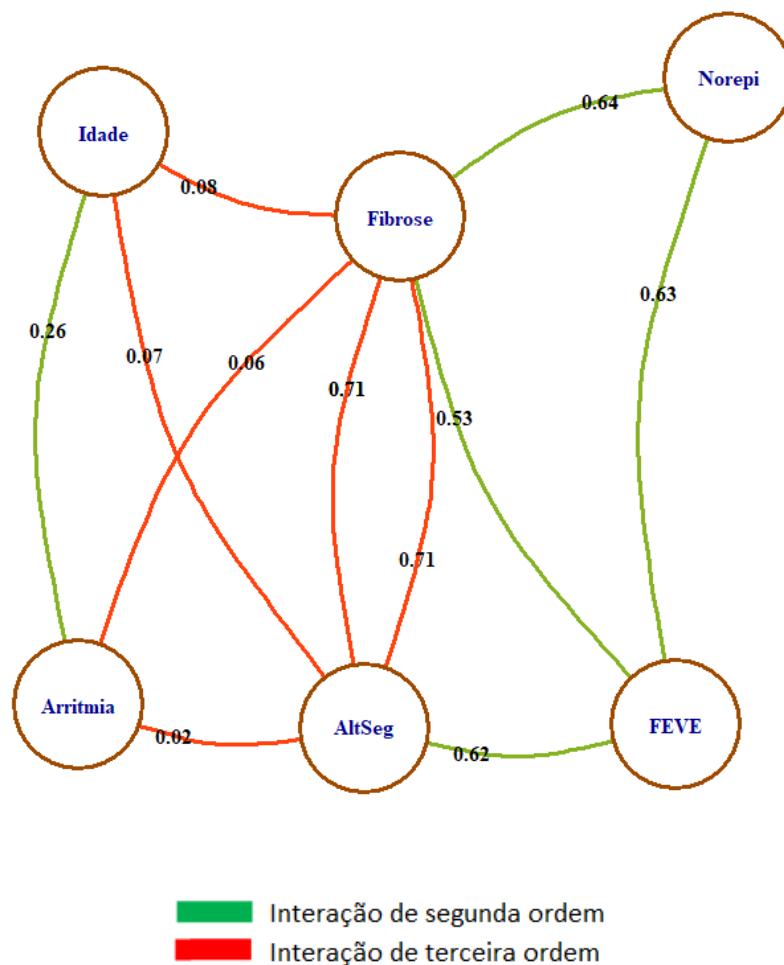


Figura 8 – Modelo Log-Linear. Os pesos nas arestas correspondem à estatística Cramér's V (medida de dependência entre as variáveis discretas).

Observa-se que as variáveis fibrose, FEVE e norepinefrina apresentam um padrão direto de interação (dependência) com um alto poder de associação entre si (fibrose e norepinefrina 0,64, FEVE e norepinefrina 0,63 e fibrose e FEVE 0,53). Estas interações são de segunda ordem. A fibrose está relacionada à arritmia na dependência de alterações segmentares através de uma interação de terceira ordem, ou seja, as três variáveis têm que estar presentes. Observa-se também que não há interação direta entre arritmia e norepinefrina.

Em seguida foi realizada a matriz de coeficiente de correlação (tabela 3) onde o R demonstra em % quanto as 5 variáveis estão correlacionadas entre si (diretamente ou inversamente proporcional). Os asteriscos representam o nível de significância de acordo com o valor de p (***) $p < 0.001$, ** $p < 0.1$, * $p < 0.05$). A variável fibrose mostrou-se inversamente proporcional à FEVE encontrada (R de - 0,61) e à

norepinefrina urinária (R de -0,68). Assim como a variável arritmia mostrou-se com uma relação inversa à FEVE (R de -0,33) e à norepinefrina urinária (R de -0,27). Já a FEVE mostrou-se diretamente proporcional à norepinefrina (R de 0,83).

*Tabela 3 - Matriz de coeficiente de correlação (valores em R).
FEVE – Fração de ejeção de ventrículo esquerdo. NOREPI – Norepinefrina.*

	IDADE	FEVE	FIBROSE	NOREPI	ARRITMIA
IDADE	1				
FEVE	0,08	1			
FIBROSE	-0,10	-0,61	1		
NOREPI	0,00	0,83	-0,68	1	
ARRITMIA	0,13	-0,33	0,26	-0,27	1

Já na **figura 9** evidencia-se a correlação das 5 variáveis entre si de um modo gráfico para facilitar a visualização entre elas através da matriz de correlação, sendo que as variáveis com maior relação (diretamente ou inversamente proporcional) se encontram com a circunferência mais ovalada.

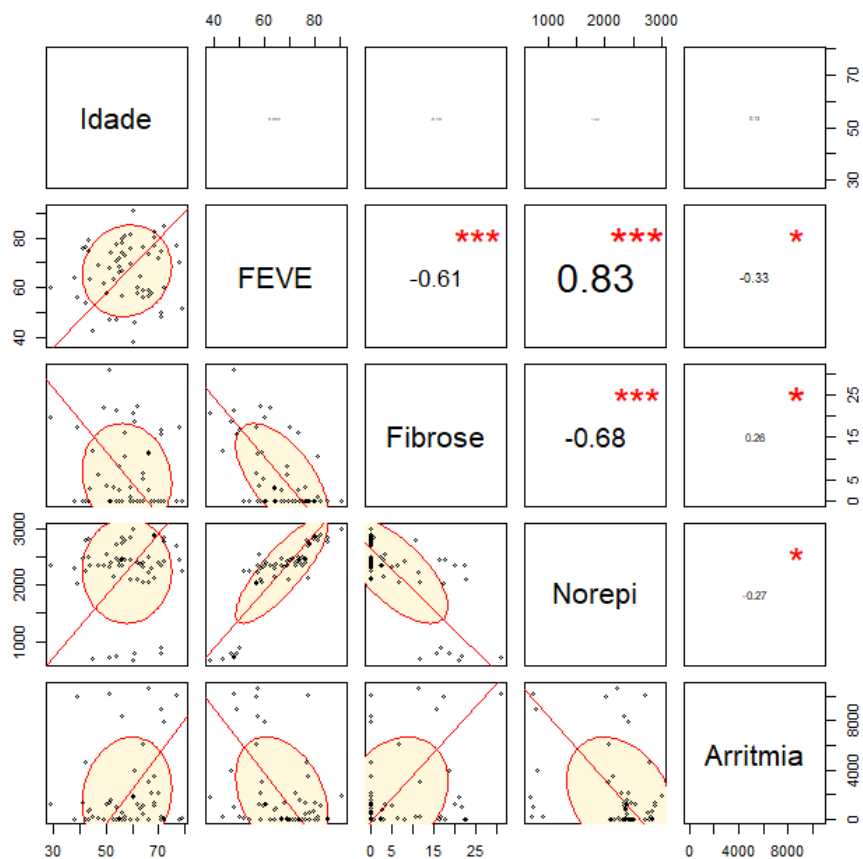


Figura 9 - Matriz de Coeficiente de Correlação (valores em R). Quanto mais ovalado melhor é a correlação. Os asteriscos representam a significância de acordo com o valor de p . (***) $p < 0.001$, (**) $p < 0.1$, (*) $p < 0.05$).

7-) DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo na CCC com coração estruturalmente preservado com pouca fibrose e FEVE preservada ou minimamente alterada, a mostrar dependência significativa entre os fatores de risco tradicionais, pois, pacientes com mais fibrose apresentam níveis de norepinefrina mais baixos e, quanto maior a FEVE, maiores os níveis de norepinefrina, como demonstrado na Matriz de Correlação com excelente associação (-0,68 e 0,83, respectivamente). Também foi evidenciado que a presença de arritmia não tem interação significativa com as demais variáveis.

Esta publicação é original ao mostrar pela primeira vez que mesmo em pacientes com pouca ou nenhuma disfunção ventricular, fatores de risco para morte súbita já podem estar presentes tais como denervação simpática (demonstrada pelos níveis de norepinefrina urinária), fibrose miocárdica e a presença de arritmias ventriculares frequentes. Ademais, traz maior relevância ao se lembrar que a maior parte dos pacientes com dC estão no grupo com nenhuma ou discreta disfunção ventricular.

A dependência dos valores de norepinefrina mais elevados com a presença de maior FEVE através da matriz de correlação (R de 0,83) neste trabalho foi mostrado também com Iosa e cols⁽⁶⁹⁾, mas com outro desenho de estudo, onde demonstraram a relação inversa da disfunção cardíaca na CCC com os níveis de norepinefrina ao evidenciar que nas fases tardias da cardiopatia chagásica os níveis plasmáticos de norepinefrina permaneceram normais, diferentemente dos pacientes com insuficiência cardíaca não-chagásica os quais apresentavam nível de norepinefrina mais elevada quanto maior a disfunção ventricular.

As evidências de lesão ao SNA já demonstradas em estudos experimentais na fase aguda e crônica da dC justificam as dependências entre os níveis de norepinefrina, fibrose e FEVE que foi observada neste estudo. Esses pacientes parecem apresentar denervação simpática causada por progressiva destruição neuronal refletida pela relação inversa entre os níveis de norepinefrina e fibrose miocárdica como mostrada na matriz de correlação (Figura 9).

É possível que anticorpos circulantes funcionalmente ativos capazes de interferir com receptores de ambos os sistemas parassimpático e simpático afetem fisiopatologicamente o comportamento autonômico cardíaco desencadeando arritmias ventriculares complexas. Em concordância com esta ideia, verifica-se o predomínio de

taquicardia sinusal na fase aguda ou indeterminada da dC e de bradicardia sinusal na fase crônica, evidenciando uma estimulação do SNA simpático e uma exaustão do mesmo nas fases tardias conforme mostrado nos trabalhos de Iosa e cols⁽¹³⁾ e de Goin e cols⁽⁷⁰⁾ em que foi evidenciado a presença de autoanticorpos contra receptores β -adrenérgicos nos pacientes com dC assintomáticos na forma indeterminada com disautonomia. Os autoanticorpos possivelmente patogênicos na CCC são aqueles que modulam a função dos receptores responsáveis pela regulação da frequência cardíaca e contratilidade pelo SNA. É inegável a existência, nos pacientes com CCC, de anticorpos circulantes capazes de interagir com a célula cardíaca, contudo ainda é controverso se seriam causa ou consequência da disautonomia ou até mesmo da disfunção cardíaca⁽¹⁶⁾. Vasta é a literatura^(15, 16, 71-73) a qual demonstra a interação de anticorpos com receptores de neurotransmissores (β , $\mu 2$ e $\alpha 1$) na CCC, que modulam o desempenho cardíaco, produzindo mudanças elétricas e mecânicas. A ativação dos receptores muscarínicos diminui a frequência cardíaca, bloqueia a condução atrioventricular e pode mesmo prolongar o tempo de repolarização ventricular.

É sabida a grande variabilidade nos níveis de catecolaminas durante o ciclo circadiano ou até mesmo pela punção venosa para coleta da norepinefrina plasmática⁽⁷⁴⁾ ou mesmo se o paciente encontra-se internado ou não⁽⁷⁵⁾. Grande parte dos resultados de análises de norepinefrina publicados são baseados em amostras de plasma e poucos estudos foram em dC. Ross e cols⁽⁷⁶⁾ demonstrou que a determinação de norepinefrina em urina de 24 horas reduz o índice de resultados falso-negativos em pacientes com feocromocitoma.

Foi encontrado apenas um estudo clínico utilizando norepinefrina urinária na dC. Cunha e cols,⁽³³⁾ avaliaram o envolvimento do SNA na patogênese da CCC e evidenciou uma diminuição dos níveis de norepinefrina urinária em CCC com disfunção ventricular e, de maneira inversa, níveis normais ou até aumentados em pacientes na forma indeterminada da DC.

Entretanto, os níveis de norepinefrina circulante ainda constituem um assunto controverso na literatura. Dávila e cols⁽⁷⁷⁾ estudaram 36 pacientes chagásicos, sendo 20 da classe funcional I (NYHA), 10 da classe II e apenas 6 da classe III-IV. Esses autores encontraram níveis de norepinefrina normais nos pacientes assintomáticos e níveis elevados nos pacientes sintomáticos, concluindo que a ativação simpática está presente nos cardiopatas chagásicos sintomáticos e se relaciona ao grau de disfunção ventricular esquerda. Esse estudo, apresenta limitações, tais como utilizar o volume diastólico final

de ventrículo esquerdo para se correlacionar com nível de norepinefrina e não a disfunção ventricular, o número reduzido de casos na classe III-IV constituindo esse o principal foco do trabalho, assim como a falta de um grupo controle de cardiopatas não-chagásicos para confirmar o que se toma como verdadeiro.

Como já demonstrado pelo nosso grupo anteriormente⁽⁴⁷⁾ a fibrose tem relação inversa com a FEVE e, neste atual estudo fica nítido através do Loglinear as interações de segunda ordem (dependência direta) da fibrose, alteração segmentar e norepinefrina com a FEVE, o que em conjunto ou individualmente provocam uma remodelação ventricular justificando em parte o modelo de Myerburg⁽¹⁹⁾. No estudo anterior havia uma interação de terceira ordem (as três variáveis têm que estar presentes) entre fibrose, arritmia e FEVE que não se manteve no estudo atual, provavelmente isto pode ser explicado por dois motivos; em primeiro lugar, já que morfológicamente a denervação simpática ocorre antes da instalação da fibrose^(9, 27), isto pode equilibrar a dependência da arritmia perdendo poder explicativo e o segundo motivo é de desenho, pois no primeiro estudo o log-linear somente levou em consideração os pacientes com FEVE acima de 50% pela RMC, ou seja, ao se retirar sete pacientes com disfunção discreta (FEVE entre 45-50%) dos quais seis tinham arritmias frequentes justificaria a perda de interação das variáveis.

Em nosso estudo, a média de gramatura de fibrose miocárdica foi de 15,02g (Tabela 1), sendo que o valor de 10,56% (10,01g) determinou a presença de arritmias frequentes de acordo com a árvore de regressão. Recentemente, Senra e cols⁽⁵³⁾ observaram em um estudo prognóstico retrospectivo que a fibrose miocárdica é um preditor independente de risco (morte, disparo de cardiodesfibrilador implantável e transplante cardíaco) na CCC e que a cada 1g adicional de fibrose aumentaria em 3,1% o risco de evento duro. Eles detectaram uma gramatura média de fibrose em quantidade semelhante a encontrada em nosso estudo (15,02g) e pela curva ROC determinaram que o ponto de corte de 12,3g é um preditor de evento maior. No mesmo ano, Volpe e cols⁽⁶⁷⁾ em outro estudo prognóstico retrospectivo de cerca de 3 anos de seguimento em pacientes com CCC detectaram 10,4g de fibrose (9,2% de massa de VE) e ocorreu 11 óbitos sendo que 10 tinham fibrose detectável.

O modelo Loglinear do presente estudo mostra que a quantificação da arritmia não tem relação com a FEVE, fibrose e/ou norepinefrina e a fibrose tem relação com norepinefrina urinária e à FEVE com poder de explicação semelhante entre si (estatística de Cramér's V de 0,53, 0,63 e 0,64). Realmente, há dados da literatura em

dC de que a presença de arritmia ventricular e/ou BRD (bloqueio de ramo direito) não são marcadores prognósticos independentes para morte em geral, contudo são marcadores de envolvimento cardíaco⁽⁶⁸⁾. O mecanismo de morte súbita na dC é por TVS ou FV não necessariamente precedido de arritmias complexas, estas estão mais relacionadas com disfunção de VE⁽⁴⁾.

O estudo de Gadioli e cols⁽⁹⁾ encontrou relação proporcional entre a gravidade da arritmia (TVS e TVNS) com a extensão da denervação simpática de forma semelhante a qual foi evidenciada neste estudo através da presença de arritmia com níveis mais baixos de norepinefrina, denotando maior denervação. Contudo, eles não encontraram relação entre fibrose detectada por ^{99m}Tc-Sestamibi com arritmia ventricular, o que ocorreu neste estudo. Isto pode ser explicado pela maior resolução da RMC para detectar fibrose miocárdica frente à cintilografia miocárdica.

8 LIMITAÇÕES

A definição de arritmia ventricular frequente no presente estudo foi extrasístolias superiores a 30/h, fato que pode ser questionável do ponto de vista clínico, porém não funcional em termos de modulação neurogênica. Contudo, ao utilizar uma população de dC de baixo risco (FEVE > 45% e idade mediana de 57 anos) e focando na fundamentação anatomopatológica do substrato arritmogênico da fibrose e não na instabilidade clínica por arritmia maligna, confirma-se que o substrato arritmogênico já se encontra presente em tal população. Da mesma forma, evidencia-se neste estudo que o mecanismo patogênico predominante nesta população em questão é neurogênico e não cardíaco fato também já publicado por outros autores. ^(8, 40)

Embora não possamos descartar definitivamente o diagnóstico de doença cardíaca coronária como um importante fator de confusão, dados clínicos (exclusão de mais de dois fatores de risco e ausência de sinais e sintomas de DAC) e padrão de fibrose distinto de doença isquêmica à RMC, permitem inferir a ausência de doença coronariana obstrutiva funcionalmente significativa. Ademais, este grupo de pacientes, invariavelmente não apresentava indicações para realização de coronariografia⁽⁷⁸⁾.

A latência de tempo entre a dosagem de norepinefrina urinária e a realização da RMC (cerca de 6 anos) pode parecer grande, contudo é importante lembrar que a progressão de pacientes no grupos de estágios iniciais de comprometimento cardíaco é muito lento, cerca de 1,48 casos/100 pacientes-ano⁽⁷⁹⁾, ou seja, talvez e no máximo, seis pacientes possam ter alterado de grupo ao longo do estudo⁽⁸⁰⁾.

Os pacientes faziam uso prévio (mínimo de 6 meses) de betabloqueadores e inibidores da enzima conversora de angiotensina. Todos utilizaram as drogas para controlar as complicações de acordo com recomendações na literatura para dC⁽⁸¹⁾ na forma cardíaca (estádios A e B1). A decisão de tratamento farmacológico foi dentro do contexto clínico e não para controle ou tratamento de arritmias. Portanto, mesmo que estas drogas modulem a resposta neurohormonal, as mesmas não seriam uma limitação do estudo uma vez que a carga adrenérgica foi estabelecida na vigência do uso crônico destes fármacos.

9 CONCLUSÕES

Nesta amostra de conveniência, nos pacientes na forma cardíaca da dC com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida, observa-se integridade do SNA em corações com pouca fibrose e FEVE mais elevada apesar da presença de tradicionais fatores de risco para morte súbita cardíaca. Há dependência entre os níveis de norepinefrina urinária, FEVE e fibrose miocárdica, mas não com a presença de arritmias ventriculares frequentes.

10 PERSPECTIVAS

A realização de um estudo longitudinal, prospectivo, multicêntrico com número maior de pacientes e tempo suficiente de seguimento composto de pacientes com fração de ejeção preservada ou discretamente reduzida e fatores de riscos para morte súbita seria interessante para identificar que paciente de fato poderia se beneficiar do implante de cardiodesfibrilador implantável.

11 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martins-Melo FR, Ramos AN, Jr., Alencar CH, Heukelbach J. Prevalence of Chagas disease in Brazil: a systematic review and meta-analysis. *Acta tropica*. 2014;130:167-74.
2. Dias JC, Prata A, Correia D. Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;41(2):193-6.
3. Rassi A, Jr., Rassi A, Little WC, Xavier SS, Rassi SG, Rassi AG, et al. Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease. *N Engl J Med*. 2006;355(8):799-808.
4. Rassi A, Jr., Rassi SG, Rassi A. Sudden death in Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol*. 2001;76(1):75-96.
5. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simoes MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation*. 2007;115(9):1109-23.
6. Barretto AC, Higuchi ML, da Luz PL, Lopes EA, Bellotti G, Mady C, et al. [Comparison of histologic changes in Chagas' cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy]. *Arq Bras Cardiol*. 1989;52(2):79-83.
7. Simoes MV, Pintya AO, Bromberg-Marin G, Sarabanda AV, Antloga CM, Pazin-Filho A, et al. Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy. *Am J Cardiol*. 2000;86(9):975-81.
8. Landesmann MC, da Fonseca LM, de BPB, do Nascimento EM, Rosado-de-Castro PH, de Souza SA, et al. Iodine-123 metaiodobenzylguanidine cardiac imaging as a method to detect early sympathetic neuronal dysfunction in chagasic patients with normal or borderline electrocardiogram and preserved ventricular function. *Clin Nucl Med*. 2011;36(9):757-61.
9. Gadioli LP, Miranda CH, Pintya AO, de Figueiredo AB, Schmidt A, Maciel BC, et al. The severity of ventricular arrhythmia correlates with the extent of myocardial sympathetic denervation, but not with myocardial fibrosis extent in chronic Chagas cardiomyopathy : Chagas disease, denervation and arrhythmia. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*. 2016;1:75-83.
10. Barizon GC, Simoes MV, Schmidt A, Gadioli LP, Murta Junior LO. Relationship between microvascular changes, autonomic denervation, and myocardial fibrosis in Chagas cardiomyopathy: Evaluation by MRI and SPECT imaging. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*. 2020;27(2):434-44.

11. Engman DM, Leon JS. Pathogenesis of Chagas heart disease: role of autoimmunity. *Acta tropica*. 2002;81(2):123-32.
12. Junqueira LF, Jr. Insights into the clinical and functional significance of cardiac autonomic dysfunction in Chagas disease. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;45(2):243-52.
13. Iosa D, Dequattro V, Lee DD, Elkayam U, Caeiro T, Palmero H. Pathogenesis of cardiac neuro-myopathy in Chagas' disease and the role of the autonomic nervous system. *J Auton Nerv Syst*. 1990;30 Suppl:S83-7.
14. Medei EH, Nascimento JH, Pedrosa RC, Carvalho AC. Role of autoantibodies in the physiopathology of Chagas' disease. *Arq Bras Cardiol*. 2008;91(4):257-62, 81-6.
15. Thiers CA, Barbosa JL, Pereira Bde B, Nascimento EM, Nascimento JH, Medei EH, et al. Autonomic dysfunction and anti-M2 and anti-beta1 receptor antibodies in Chagas disease patients. *Arq Bras Cardiol*. 2012;99(2):732-9.
16. Altschuller MB, Pedrosa RC, Pereira Bde B, Correa Filho WB, Medeiros AS, Costa PC, et al. [Chronic Chagas disease patients with sinus node dysfunction: is the presence of IgG antibodies with muscarinic agonist action independent of left ventricular dysfunction?]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2007;40(6):665-71.
17. Maciel L, Pedrosa RC, Campos de Carvalho AC, Nascimento JH, Medei E. Ventricular arrhythmias are related to the presence of autoantibodies with adrenergic activity in chronic chagasic patients with preserved left ventricular function. *J Card Fail*. 2012;18(5):423-31.
18. Flotats A, Carrio I. Cardiac neurotransmission SPECT imaging. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*. 2004;11(5):587-602.
19. Myerburg RJ, Kessler KM, Bassett AL, Castellanos A. A biological approach to sudden cardiac death: structure, function and cause. *Am J Cardiol*. 1989;63(20):1512-6.
20. Cruz JS, Machado FS, Ropert C, Roman-Campos D. Molecular mechanisms of cardiac electromechanical remodeling during Chagas disease: Role of TNF and TGF-beta. *Trends Cardiovasc Med*. 2017;27(2):81-91.
21. de Carvalho AC, Tanowitz HB, Wittner M, Dermietzel R, Roy C, Hertzberg EL, et al. Gap junction distribution is altered between cardiac myocytes infected with *Trypanosoma cruzi*. *Circ Res*. 1992;70(4):733-42.
22. Pacioretty LM, Barr SC, Han WP, Gilmour RF, Jr. Reduction of the transient outward potassium current in a canine model of Chagas' disease. *The American journal of physiology*. 1995;268(3 Pt 2):H1258-64.
23. Waghabi MC, Coutinho-Silva R, Feige JJ, Higuchi Mde L, Becker D, Burnstock G, et al. Gap junction reduction in cardiomyocytes following transforming growth factor-beta treatment and *Trypanosoma cruzi* infection. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2009;104(8):1083-90.

24. Sousa AC, Marin-Neto JA, Maciel BC, Gallo Junior L, Amorim Dde S, Barreto-Martins LE. [Systolic and diastolic dysfunction in the indeterminate, digestive and chronic cardiac forms of Chagas' disease]. *Arq Bras Cardiol.* 1988;50(5):293-9.
25. Tuininga YS, van Veldhuisen DJ, Brouwer J, Haaksma J, Crijns HJ, Man in't Veld AJ, et al. Heart rate variability in left ventricular dysfunction and heart failure: effects and implications of drug treatment. *Br Heart J.* 1994;72(6):509-13.
26. Lopes ER, da Cunha LF, dos Santos TA, Resende AV, Jorge BH, Salomao LA, et al. [Daily and weekly circadian variations in sudden death in Chagas disease]. *Arq Bras Cardiol.* 1993;61(6):345-8.
27. Machado CR, Ribeiro AL. Experimental American trypanomiasis in rats: sympathetic denervation, parasitism and inflammatory process. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 1989;84(4):549-56.
28. Floras JS. Clinical aspects of sympathetic activation and parasympathetic withdrawal in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22(4 Suppl A):72A-84A.
29. Francis GS, Benedict C, Johnstone DE, Kirlin PC, Nicklas J, Liang CS, et al. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation.* 1990;82(5):1724-9.
30. Viquerat CE, Daly P, Swedberg K, Evers C, Curran D, Parmley WW, et al. Endogenous catecholamine levels in chronic heart failure. Relation to the severity of hemodynamic abnormalities. *The American journal of medicine.* 1985;78(3):455-60.
31. Yamaguchi N, de Champlain J, Nadeau R. Correlation between the response of the heart to sympathetic stimulation and the release of endogenous catecholamines into the coronary sinus of the dog. *Circ Res.* 1975;36(5):662-8.
32. Esler M, Jennings G, Korner P, Willett I, Dudley F, Hasking G, et al. Assessment of human sympathetic nervous system activity from measurements of norepinephrine turnover. *Hypertension.* 1988;11(1):3-20.
33. Cunha AB, Cunha DM, Pedrosa RC, Flammini F, Silva AJ, Saad EA, et al. Norepinephrine and heart rate variability: a marker of dysautonomia in chronic Chagas cardiopathy. *Revista portuguesa de cardiologia : orgao oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia = Portuguese journal of cardiology : an official journal of the Portuguese Society of Cardiology.* 2003;22(1):29-52.
34. Merejo Pena CM, Reis MS, Pereira BB, Nascimento EMD, Pedrosa RC. Dysautonomy in different death risk groups (Rassi score) in patients with Chagas heart disease. *Pacing Clin Electrophysiol.* 2018;41(3):238-45.
35. Zhao C, Shuke N, Yamamoto W, Okizaki A, Sato J, Ishikawa Y, et al. Comparison of cardiac sympathetic nervous function with left ventricular function and perfusion in cardiomyopathies by (123)I-MIBG SPECT and (99m)Tc-tetrofosmin electrocardiographically gated SPECT. *J Nucl Med.* 2001;42(7):1017-24.

36. Jacobson AF, Senior R, Cerqueira MD, Wong ND, Thomas GS, Lopez VA, et al. Myocardial iodine-123 meta-iodobenzylguanidine imaging and cardiac events in heart failure. Results of the prospective ADMIRE-HF (AdreView Myocardial Imaging for Risk Evaluation in Heart Failure) study. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(20):2212-21.
37. Hiss FC, Lascala TF, Maciel BC, Marin-Neto JA, Simoes MV. Changes in myocardial perfusion correlate with deterioration of left ventricular systolic function in chronic Chagas' cardiomyopathy. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2009;2(2):164-72.
38. Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C, Gallo Junior L, Maciel BC, Bellina CR, et al. Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas' disease as detected by thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol*. 1992;69(8):780-4.
39. Marin-Neto JA, Simoes MV, Ayres-Neto EM, Attab-Santos JL, Gallo L, Jr., Amorim DS, et al. Studies of the coronary circulation in Chagas' heart disease. *Sao Paulo Med J*. 1995;113(2):826-34.
40. Miranda CH, Figueiredo AB, Maciel BC, Marin-Neto JA, Simoes MV. Sustained ventricular tachycardia is associated with regional myocardial sympathetic denervation assessed with 123I-metaiodobenzylguanidine in chronic Chagas cardiomyopathy. *J Nucl Med*. 2011;52(4):504-10.
41. Wagner A, Mahrholdt H, Holly TA, Elliott MD, Regenfus M, Parker M, et al. Contrast-enhanced MRI and routine single photon emission computed tomography (SPECT) perfusion imaging for detection of subendocardial myocardial infarcts: an imaging study. *Lancet*. 2003;361(9355):374-9.
42. Grothues F, Smith GC, Moon JC, Bellenger NG, Collins P, Klein HU, et al. Comparison of interstudy reproducibility of cardiovascular magnetic resonance with two-dimensional echocardiography in normal subjects and in patients with heart failure or left ventricular hypertrophy. *Am J Cardiol*. 2002;90(1):29-34.
43. Peshock RM, Rokey R, Malloy GM, McNamee P, Buja LM, Parkey RW, et al. Assessment of myocardial systolic wall thickening using nuclear magnetic resonance imaging. *J Am Coll Cardiol*. 1989;14(3):653-9.
44. Simonetti OP, Kim RJ, Fieno DS, Hillenbrand HB, Wu E, Bundy JM, et al. An improved MR imaging technique for the visualization of myocardial infarction. *Radiology*. 2001;218(1):215-23.
45. Rochitte CE, Oliveira PF, Andrade JM, Ianni BM, Parga JR, Avila LF, et al. Myocardial delayed enhancement by magnetic resonance imaging in patients with Chagas' disease: a marker of disease severity. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(8):1553-8.
46. Uellendahl M, Siqueira ME, Calado EB, Kalil-Filho R, Sobral D, Ribeiro C, et al. Cardiac Magnetic Resonance-Verified Myocardial Fibrosis in Chagas Disease: Clinical Correlates and Risk Stratification. *Arq Bras Cardiol*. 2016;107(5):460-6.
47. Tassi EM, Continentino MA, Nascimento EM, Pereira B de B, Pedrosa RC. Relationship between fibrosis and ventricular arrhythmias in Chagas heart disease without ventricular dysfunction. *Arq Bras Cardiol*. 2014;102(5):456-64.

48. Mahrholdt H, Wagner A, Deluigi CC, Kispert E, Hager S, Meinhardt G, et al. Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis. *Circulation*. 2006;114(15):1581-90.
49. Assomull RG, Prasad SK, Lyne J, Smith G, Burman ED, Khan M, et al. Cardiovascular magnetic resonance, fibrosis, and prognosis in dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(10):1977-85.
50. Bogun FM, Desjardins B, Good E, Gupta S, Crawford T, Oral H, et al. Delayed-enhanced magnetic resonance imaging in nonischemic cardiomyopathy: utility for identifying the ventricular arrhythmia substrate. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(13):1138-45.
51. Mahrholdt H, Wagner A, Judd RM, Sechtem U, Kim RJ. Delayed enhancement cardiovascular magnetic resonance assessment of non-ischaemic cardiomyopathies. *European heart journal*. 2005;26(15):1461-74.
52. Nunes MCP, Badano LP, Marin-Neto JA, Edvardsen T, Fernandez-Golfín C, Bucciarelli-Ducci C, et al. Multimodality imaging evaluation of Chagas disease: an expert consensus of Brazilian Cardiovascular Imaging Department (DIC) and the European Association of Cardiovascular Imaging (EACVI). *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2018;19(4):459-60n.
53. Senra T, Ianni BM, Costa ACP, Mady C, Martinelli-Filho M, Kalil-Filho R, et al. Long-Term Prognostic Value of Myocardial Fibrosis in Patients With Chagas Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2018;72(21):2577-87.
54. Mello RP, Szarf G, Schwartzman PR, Nakano EM, Espinosa MM, Szejnfeld D, et al. Delayed Enhancement Cardiac Magnetic Resonance Imaging can Identify the Risk for Ventricular Tachycardia in Chronic Chagas' Heart Disease. *Arq Bras Cardiol*. 2012.
55. Melendez-Ramirez G, Soto ME, Velasquez Alvarez LC, Meave A, Juarez-Orozco LE, Guarner-Lans V, et al. Comparison of the amount and patterns of late enhancement in Chagas disease according to the presence and type of ventricular tachycardia. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2019;30(9):1517-25.
56. Leveque A, De Muynck A. [Chronic Chagas cardiomyopathy: methods for identifying groups at risk and/or risk behaviors]. *Med Trop (Mars)*. 1993;53(4):443-53.
57. Moncayo A, Silveira AC. Current epidemiological trends for Chagas disease in Latin America and future challenges in epidemiology, surveillance and health policy. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2009;104 Suppl 1:17-30.
58. Schmunis GA, Yadon ZE. Chagas disease: a Latin American health problem becoming a world health problem. *Acta tropica*. 2010;115(1-2):14-21.
59. Faludi AA, Izar MCO, Saraiva JFK, Chacra APM, Bianco HT, Afiune AN, et al. *Arq Bras Cardiol*. 2017;109(2 Supl 1):1-76.
60. Pedrosa RC, Campos MC. [Exercise testing and 24 hours Holter monitoring in the detection of complex ventricular arrhythmias in different stages of chronic Chagas' heart disease]. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2004;37(5):376-83.

61. Rassi Junior A, Gabriel Rassi A, Gabriel Rassi S, Rassi Junior L, Rassi A. [Ventricular arrhythmia in Chagas disease. Diagnostic, prognostic, and therapeutic features]. *Arq Bras Cardiol.* 1995;65(4):377-87.
62. Santana OO. Arritmia ventricular e evolução clínica de pacientes na fase crônica da doença de Chagas. [Tese de Doutorado]: Universidade Federal da Bahia; 1987.
63. Maguire JH, Mott KE, Souza JA, Almeida EC, Ramos NB, Guimaraes AC. Electrocardiographic classification and abbreviated lead system for population-based studies of Chagas' disease. *Bulletin of the Pan American Health Organization.* 1982;16(1):47-58.
64. Andrade JP, Marin Neto JA, Paola AA, Vilas-Boas F, Oliveira GM, Bacal F, et al. I Latin American Guidelines for the diagnosis and treatment of chagas' heart disease: executive summary. *Arq Bras Cardiol.* 2011;96(6):434-42.
65. Muskiet FA, Thomasson CG, Gerding AM, Fremouw-Ottevangers DC, Nagel GT, Wolthers BG. Determination of catecholamines and their 3-O-methylated metabolites in urine by mass fragmentography with use of deuterated internal standards. *Clinical chemistry.* 1979;25(3):453-60.
66. Terzi FV, Siqueira Filho AG, Nascimento EM, Pereira Bde B, Pedrosa RC. Regional left ventricular dysfunction and its association with complex ventricular arrhythmia, in chagasic patients with normal or borderline electrocardiogram. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2010;43(5):557-61.
67. Volpe GJ, Moreira HT, Trad HS, Wu KC, Braggion-Santos MF, Santos MK, et al. Left Ventricular Scar and Prognosis in Chronic Chagas Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2018;72(21):2567-76.
68. Rassi A, Jr., Rassi A, Rassi SG. Predictors of mortality in chronic Chagas disease: a systematic review of observational studies. *Circulation.* 2007;115(9):1101-8.
69. Iosa D, DeQuattro V, Lee DD, Elkayam U, Palmero H. Plasma norepinephrine in Chagas' cardioneuromyopathy: a marker of progressive dysautonomia. *American heart journal.* 1989;117(4):882-7.
70. Goin JC, Leiros CP, Borda E, Sterin-Borda L. Interaction of human chagasic IgG with the second extracellular loop of the human heart muscarinic acetylcholine receptor: functional and pathological implications. *FASEB J.* 1997;11(1):77-83.
71. Costa PC, Fortes FS, Machado AB, Almeida NA, Olivares EL, Cabral PR, et al. Sera from chronic chagasic patients depress cardiac electrogenesis and conduction. *Braz J Med Biol Res.* 2000;33(4):439-46.
72. de Carvalho AC, Masuda MO, Tanowitz HB, Wittner M, Goldenberg RC, Spray DC. Conduction defects and arrhythmias in Chagas' disease: possible role of gap junctions and humoral mechanisms. *J Cardiovasc Electrophysiol.* 1994;5(8):686-98.
73. de Oliveira SF, Pedrosa RC, Nascimento JH, Campos de Carvalho AC, Masuda MO. Sera from chronic chagasic patients with complex cardiac arrhythmias depress electrogenesis and conduction in isolated rabbit hearts. *Circulation.* 1997;96(6):2031-7.

74. Bravo EL, Tarazi RC, Gifford RW, Stewart BH. Circulating and urinary catecholamines in pheochromocytoma. Diagnostic and pathophysiologic implications. *N Engl J Med.* 1979;301(13):682-6.
75. Mannelli M. Diagnostic problems in pheochromocytoma. *J Endocrinol Invest.* 1989;12(10):739-57.
76. Ross GA, Newbould EC, Thomas J, Bouloux PM, Besser GM, Perrett D, et al. Plasma and 24 h-urinary catecholamine concentrations in normal and patient populations. *Ann Clin Biochem.* 1993;30 (Pt 1):38-44.
77. Davila DF, Bellabarba G, Hernandez L, Calmon G, Torres A, Donis JH, et al. Plasma norepinephrine, myocardial damage and left ventricular systolic function in Chagas' heart disease. *Int J Cardiol.* 1995;52(2):145-51.
78. Andrade JP, Marin Neto JA, Paola AA, Vilas-Boas F, Oliveira GM, Bacal F, et al. I Latin American Guidelines for the diagnosis and treatment of Chagas' heart disease: executive summary. *Arq Bras Cardiol.* 2011;96(6):434-42.
79. Hasslocher-Moreno AM, Xavier SS, Saraiva RM, Sangenis LHC, Holanda MT, Veloso HH, et al. Progression Rate from the Indeterminate Form to the Cardiac Form in Patients with Chronic Chagas Disease: Twenty-Two-Year Follow-Up in a Brazilian Urban Cohort. *Trop Med Infect Dis.* 2020;5(2).
80. Sabino EC, Ribeiro AL, Salemi VM, Di Lorenzo Oliveira C, Antunes AP, Menezes MM, et al. Ten-year incidence of Chagas cardiomyopathy among asymptomatic *Trypanosoma cruzi*-seropositive former blood donors. *Circulation.* 2013;127(10):1105-15.
81. Dias JC, Ramos AN, Jr., Gontijo ED, Luquetti A, Shikanai-Yasuda MA, Coura JR, et al. [Brazilian Consensus on Chagas Disease, 2015]. *Epidemiol Serv Saude.* 2016;25(spe):7-86.

ANEXO 1 – ARTIGO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO

Arquivos Brasileiros de Cardiologia - Decision on Manuscript ID/Decisão sobre ID do Manuscrito ABC-2021-0400.R2

1 mensagem

Carlos Rochitte <onbehalf@manuscriptcentral.com>
Responder a: rochitte@cardiol.br
Para: etassi@gmail.com

1 de setembro de 2021 13:04

Dear Dr. Marinho Tassi:

It is a pleasure to accept your manuscript entitled "Relação entre norepinefrina urinária, fibrose e arritmias na cardiopatia chagásica crônica com fração de ejeção preservada ou minimamente reduzida." in its current form for publication in the Arquivos Brasileiros de Cardiologia. The comments of the reviewer(s) who reviewed your manuscript are included at the bottom of this letter.

Send the following forms below completed and signed to revista@cardiol.br and inform the Manuscript ID:

Transfer of Author's Copyright: <https://bit.ly/2KB8kSq>Statement of Potential Conflict of Interest: <https://bit.ly/2rPnb54>Author Contribution: <https://bit.ly/2rSKo5z>Statement of Informed Consent and Statement of Human and Animal Rights: <https://bit.ly/2lOhH3X>

Thank you for your fine contribution. On behalf of the Editors of the Arquivos Brasileiros de Cardiologia, we look forward to your continued contributions to the journal.

Sincerely,
Dr. Carlos Rochitte
Editor-in-Chief
rochitte@cardiol.br
Arquivos Brasileiros de Cardiologia

Associate Editor
Comments to the Author:
(There are no comments.)