

PROJETO DE PESQUISA

Interação entre fibrose miocárdica e norepinefrina urinária com arritmia ventricular na cardiopatia chagásica crônica com fração de ejeção preservada ou discretamente alterada

Eduardo Marinho Tassi

Orientador: Dr. Roberto Coury Pedrosa

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 cerca de dois milhões de pessoas acometidas, sendo um terço delas cardiopata, dos quais dois terços com coração minimamente comprometido.^[1]

A taxa anual de morte em pacientes é aproximadamente de 24/1.000 pacientes-ano, sendo que, em termos absolutos, a maioria dos pacientes possui Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo (FEVE) preservada ou minimamente comprometida.^[2] A morte súbita é um dos principais modos de morte na DC e pode ocorrer em qualquer fase da doença, sendo que 10% delas são decorrentes de um primeiro evento arritmico. Em pacientes com disfunção ventricular moderada a grave, arritmias cardíacas complexas (Extrassístoles ventriculares > 10/hora e/ou taquicardia ventricular) são marcadores de morte súbita na DC.^[3]

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.^[4,5]

Sabe-se que insuficiência cardíaca crônica é indicador de alto risco para morte súbita, independentemente de sua etiologia. Contudo, na população de CCC, a estratificação de risco para prevenção primária de morte súbita em pacientes com disfunção ventricular preservada ou minimamente preservada ainda é motivo de muito debate.

O mecanismo que envolve a gênese das arritmias ventriculares nas fases precoces da CCC pode estar relacionado com a denervação autonômica - característica marcante da doença de Chagas.^[3, 6, 7] Estudos na última década demonstraram que a denervação autonômica cardíaca simpática é achado comum em pacientes com CCC e ocorre em fases iniciais da doença.^[4, 8, 9]

Segundo Myerburg e cols.^[10], há necessidade de três fatores para a morte súbita elétrica: o substrato arritmogênico, os eventos deflagradores e as alterações funcionais. É no primeiro item que se contextualiza a relevância do processo fibrótico. No paciente com DC, é possível identificar claramente esses três fatores: o substrato arritmogênico

seria representado pelas zonas fibróticas e inflamatórias do miocárdio; os eventos deflagrações, pelas extrasístoles ventriculares tão presentes; e as alterações funcionais, pelas mudanças fisiológicas do sistema nervoso autônomo.

Landesmann^[8], em 2011, evidenciou 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.

Já Gadioli e cols^[4], em artigo recente, estudaram a relação da presença de taquicardia ventricular sustentada (TVS) ou não sustentada (TVNS) com a extensão da denervação pelo 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 se sabe que 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.^[11]

A Ressonância Magnética Cardíaca (RMC) é o melhor método na atualidade para avaliação da função ventricular^[12] e para a detecção de alteração segmentar^[13], agregando também, por meio da técnica do realce tardio^[14], a avaliação de fibrose miocárdica, já sendo descrita sua capacidade em se detectarem alterações na CCC.^[15-17]

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^[18] e cardiomiopatias dilatadas não-isquêmicas.^[19-21] 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.

Tassi e cols^[16], evidenciaram objetivamente que, mesmo no paciente com DC 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,

mostrou uma boa correlação inversa entre a FEVE e a presença de fibrose (R^2 de -0,37), visto que 79% dos pacientes com instabilidade elétrica apresentavam alteração segmentar.

Estudos experimentais em ratos infectados pelo *Trypanosoma cruzi* já mostraram o comprometimento do SNA simpático e parassimpático na fase aguda e crônica da doença de Chagas^[22]. Na insuficiência cardíaca observamos uma generalizada ativação adrenérgica e uma inibição do sistema parassimpático[23], que resulta na presença de taquicardia, retenção de sódio, liberação de renina e generalizada vasoconstrição sistêmica. 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.

Referindo-se à insuficiência cardíaca congestiva, observa-se que os níveis de NE circulante em repouso encontram-se muito elevados, geralmente duas a três vezes o nível encontrado em indivíduos normais^[24-27]. Thomas e Marks^[25], analisando os níveis de NE circulante em dezenove pacientes com insuficiência cardíaca classe funcional II, III e IV-NYHA, encontraram níveis de NE plasmática elevados e diretamente proporcionais à gravidade da disfunção ventricular. Chidsey et al.^[27] já demonstraram que a excreção urinária de NE estava aumentada na maioria dos pacientes com insuficiência cardíaca, enquanto Leimbach et al.^[28], com o objetivo de determinar se a atividade nervosa simpática para o músculo (mSNA) estava aumentada em pacientes com insuficiência cardíaca, e se os níveis de NE se correlacionavam com os níveis de mSNA nessa condição clínica, obtiveram a primeira evidência direta de que a atividade nervosa simpática central aparece aumentada na insuficiência cardíaca. Além de encontrar uma razoável correlação entre mSNA e níveis plasmáticos de NE, observaram significativo aumento do mSNA nos pacientes com insuficiência cardíaca. Considerando a importância dos dados de literatura sobre os valores elevados de NE na insuficiência cardíaca, sobretudo em classe funcional avançada, Cunha e cols, ao estudar a NE como marcador de disautonomia na Doença de Chagas^[29] estipulou um grupo controle de pacientes cardiopatas não-chagásicos em classe funcional IV da NYHA e avaliou os seus níveis de NE em urina de 24h para posteriormente confrontá-los com os níveis obtidos em cardiopatas chagásicos com equivalente nível de comprometimento cardíaco. Foi encontrado para os cardiopatas não-chagásicos (controle) valor médio de NE de 2.820,30 nmol/24h, enquanto os indivíduos normais

apresentaram valor médio de NE de 685,59 nmol/24h, o que demonstrou uma significativa diferença ($p=0,0001$). Tais dados relacionam-se perfeitamente com a literatura a respeito dos níveis de NE na insuficiência cardíaca de etiologia não-chagásica.

As evidências de agressão ao SNA nos pacientes com DC, demonstradas por estudos experimentais na fase aguda e crônica^[22, 23, 30], evidenciam peculiaridades na cardiopatia chagásica ao compará-la à insuficiência cardíaca de outras etiologias, pois níveis de NE normais podem ser encontrados em pacientes com DC com avançado comprometimento cardíaco^[29]. Esses pacientes parecem apresentar denervação simpática causada por progressiva destruição neuronal, refletida pelos níveis de NE normais em pacientes com ICC (insuficiência cardíaca congestiva), quando se deveria encontrar níveis elevados idênticos aos encontrados na cardiopatia não-chagásica avançada^[29]. Isto sugere que a ativação simpática exacerbada presente na cardiopatia avançada de outras etiologias está ausente na cardiopatia chagásica crônica em fase avançada (grupo III).

Percebe-se então que ao se conjugar um método para avaliar a função ventricular e fibrose com acurácia com a dosagem urinária de norepinefrina indicando denervação do sistema autônomo pode ser possível encontrar sinais precoces de gravidade na CCC.

2-) OBJETIVOS

- 1- Verificar a interação entre número de arritmias ventriculares pelo Holter x extensão da fibrose (gramatura/percentagem) pela RMC x norepinefrina urinária.
- 2- Verificar a relação da norepinefrina urinária com a fibrose pela RMC.

3-) PACIENTES E MÉTODOS

Os pacientes são oriundos do Ambulatório de Cardiopatia Chagásica do Serviço de Cardiologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho, de responsabilidade do Dr. Roberto Coury Pedrosa. Os dados clínicos/laboratorial são obtidos de modo consecutivo à medida do arrolamento do paciente no ambulatório. Serão selecionados de modo retrospectivo todos os pacientes que já realizaram a RMC cardíaca com os dados de norepinefrina urinária e número de arritmias ventricular no Holter de 24h e analisar-se-á os resultados dos exames e suas variáveis: fração de ejeção, fibrose miocárdica (em %), presença ou não de arritmias ventriculares e dosagem de norepinefrina urinária.

- Critérios de inclusão:

Serão avaliados de forma prospectiva 59 pacientes com diagnóstico sorológico de Chagas, homens ou mulheres, com idade superior a 20 anos, sem cardiopatia aparente, nenhuma outra doença associada aparentemente e pacientes que tenham a RMC, Holter e dosagem de norepinefrina urinárias já realizados.

- Critérios de exclusão:

Doença coronariana prévia, diabetes, uso de tratamento específico para a infecção chagásica, presença de anemia significativa, clearance de creatinina estimado < 30ml/min, doença pulmonar obstrutiva crônica, uso de antiarrítmicos (amiodarona e outros), fibrilação atrial crônica (ou paroxística no momento do exame), disfunção do nódulo sinusal, mais que dois fatores de risco para DAC, valvopatia, claustrofobia, gestantes, contra-indicação ao estudo por RM (marcapasso definitivo, cardiodesfibrilador implantado, cliques neurocirúrgicos ou implante coclear), recusa do paciente em receber gadolínio ou qualquer motivo em que o paciente esteja impossibilitado em decidir por livre arbítrio (inimputabilidade).

- 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 Manginhos-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 Luquette 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.

- Método de Imagem por RM:

Os pacientes realizaram estudo de RMC em um equipamento GE de 1,5 Tesla (HDX) sendo adquiridas duas sequências de pulso: a primeira foi *steady-state free precession* (Cine-RM) em eixo longo e eixo curto para mensuração e cálculo de massa, volumes e fração de ejeção de ventrículo esquerdo e direito. Após injeção de 0,2mmol/kg de gadolínio, a segunda sequência foi um gradiente-eco com recuperação de inversão (técnica do realce tardio) em eixo longo e eixo curto para pesquisar fibrose

miocárdica, que, se presente, foi mensurada e seu padrão discriminado (epicárdico, mesocárdico, endocárdico, transmural, focal ou difuso).

Foram anotados a fração de ejeção biventricular, qualquer déficit segmentar presente, Volume Diastólico Final, padrão de fibrose detectável e massa infartada total.

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.

- 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.

- Dosagem de Norepinefrina urinária em 24 horas:

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), ou de fármacos que pudessem interferir na concentração de norepinefrina pelo menos 24h antes e durante o período de armazenamento da urina. 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 em urina teve como base a proposição de Muskiet et al.^[31]

– Definições das variáveis analisadas

. Instabilidade elétrica ao Holter de 24 horas: Arritmias ventriculares complexas (extrasístoles 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 > 30/h foi baseado em estudos demonstrando que arritmias ventriculares frequentes tem relação com pior prognóstico em pacientes com Doença de Chagas;

. 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: presença de hipocinesia, acinesia ou discinesia.
- Disfunção sistólica do ventrículo direito: presença de fração de ejeção < 40%.

4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Este estudo foi realizado sob a consultoria estatística da Comissão de Investigação Científica (CIC) da Divisão de Pesquisa (DPq) do HUCFF/UFRJ.

Para definir os pontos de corte das variáveis, foram realizadas árvores de regressão com cada variável de cada vez como desfecho e foram encontrados como pontos de corte: Arritmia 1000, Fibrose 10%, Norepinefrina 1500 e FEVE 50%. Em seguida foi realizado modelo log linear que indicou as relações entre as variáveis fibrose (em %), norepinefrina urinária, FEVE e Arritmia Ventricular.

5 RESULTADOS

Do grupo total de 328 pacientes do ambulatório, 61 (23 pacientes masculinos) preencheram os critérios para participar do estudo. Duas pacientes não realizaram a fase pós-contraste (realce tardio) da RMC, uma por dificuldade de acesso venoso e outra devido a história de atopia ao gadolínio, e foram excluídas. A mediana da idade foi 63 anos e a distribuição por idade podem ser avaliadas na figura 1.

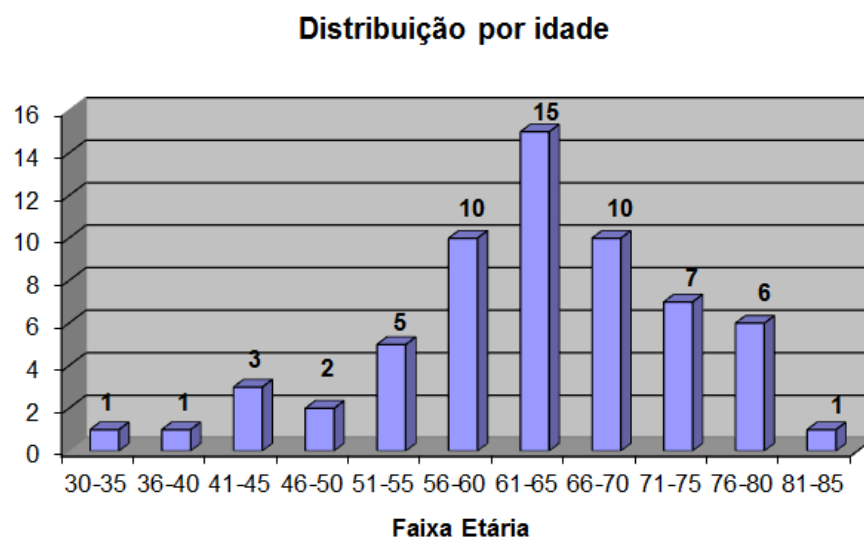


Figura 1– Distribuição dos pacientes do estudo por idade.

O modelo Loglinear mostra que a quantificação da arritmia não tem relação com a FEVE, fibrose e/ou norepinefrina e a fibrose tem relação com norepinefrina urinária condicionada a FEVE. Há dados da literatura em Doença de Chagas de que a presença de arritmia ventricular e/ou BRD (bloqueio de ramo direito) não são marcadores prognósticos independentes para morte em geral. O mecanismo de morte

súbita na Doença de Chagas é por TVS ou FV não necessariamente precedido de arritmias complexas, estas estão mais relacionadas com disfunção de VE.

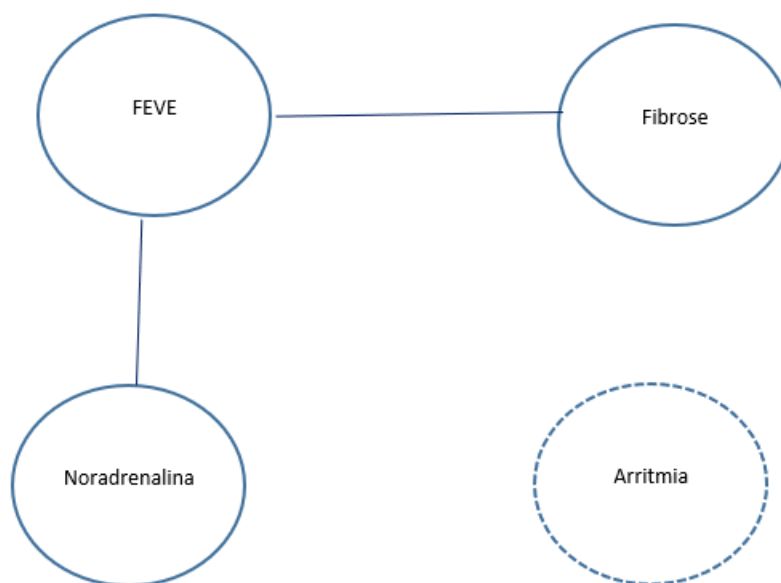


Figura 2 - Modelo loglinear evidenciando que a Arritmia ventricular não tem relação com FEVE, fibrose e norepinefrina urinária. A linha pontilhada significa ausência de significância estatística.

4-) RISCOS E BENEFÍCIOS

Não há riscos, pois os exames já foram realizados através da linha de pesquisa sobre cardiopatia chagásica crônica do Serviço de Cardiologia do HUCFF.

5-) IMPLICAÇÃO CLÍNICA

A implicação clínica é tentar encontrar uma ferramenta acurada suficiente para detectar alto risco de morte súbita em pacientes com CCC em fase precoce.

6-) FACTIBILIDADE DO PROJETO

Por tratar-se de uma análise retrospectiva, foram analisados o prontuário e os exames já realizados pelos pacientes selecionados.

7-) ORÇAMENTO

Não existe orçamento previsto, pois os pacientes incluídos no estudo já realizaram os exames propostos pela rotina do ambulatório de cardiopatia chagásica como parte das normas de acompanhamento do referido ambulatório. O responsável pelo ambulatório é o Dr. Roberto Coury Pedrosa (um dos proponentes do estudo).

8-) CRONOGRAMA

O projeto já está bem encaminhado com a coleta e análise estatística dos dados já terminada.

	TRIMESTRES				
	1º	2º	3º	4º	5º
Busca dos prontuários	Feito				
Coleta dos dados	Feito				
Análise dos dados		Feito			
Redação da tese			X	X	
Defesa					X

9-) OBTENÇÃO DO TERMO DE CONSENTIMENTO

Sem necessidade, pois trata-se de revisão de prontuários de dados de pesquisa já realizados no passado quando foi assinado o termo de consentimento na época.

10-) DECLARAÇÕES

Compromisso de todos os pesquisadores envolvidos neste projeto em tornar públicos os resultados da pesquisa.

11-) REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Dias, J.C., A. Prata, and D. Correia, *Problems and perspectives for Chagas disease control: in search of a realistic analysis*. Rev Soc Bras Med Trop, 2008. **41**(2): p. 193-6.
2. Rassi, A., Jr., et al., *Development and validation of a risk score for predicting death in Chagas' heart disease*. N Engl J Med, 2006. **355**(8): p. 799-808.
3. Rassi, A., Jr., S.G. Rassi, and A. Rassi, *Sudden death in Chagas' disease*. Arq Bras Cardiol, 2001. **76**(1): p. 75-96.
4. Gadioli, L.P., 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*. J Nucl Cardiol, 2016.
5. Jacobson, A.F., 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): p. 2212-21.
6. Barretto, A.C., et al., *[Comparison of histologic changes in Chagas' cardiomyopathy and dilated cardiomyopathy]*. Arq Bras Cardiol, 1989. **52**(2): p. 79-83.
7. Marin-Neto, J.A., et al., *Pathogenesis of chronic Chagas heart disease*. Circulation, 2007. **115**(9): p. 1109-23.
8. Landesmann, M.C., 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): p. 757-61.
9. Simoes, M.V., et al., *Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbance to wall motion impairment in Chagas' cardiomyopathy*. Am J Cardiol, 2000. **86**(9): p. 975-81.
10. Myerburg, R.J., et al., *A biological approach to sudden cardiac death: structure, function and cause*. Am J Cardiol, 1989. **63**(20): p. 1512-6.
11. Wagner, A., 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): p. 374-9.
12. Grothues, F., 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): p. 29-34.
13. Peshock, R.M., et al., *Assessment of myocardial systolic wall thickening using nuclear magnetic resonance imaging*. J Am Coll Cardiol, 1989. **14**(3): p. 653-9.
14. Simonetti, O.P., et al., *An improved MR imaging technique for the visualization of myocardial infarction*. Radiology, 2001. **218**(1): p. 215-23.
15. Rochitte, C.E., 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): p. 1553-8.
16. Tassi, E.M., et al., *Relationship between fibrosis and ventricular arrhythmias in Chagas heart disease without ventricular dysfunction*. Arq Bras Cardiol, 2014. **102**(5): p. 456-64.
17. Uellendahl, M., et al., *Cardiac Magnetic Resonance-Verified Myocardial Fibrosis in Chagas Disease: Clinical Correlates and Risk Stratification*. Arq Bras Cardiol, 2016. **107**(5): p. 460-466.

18. Mahrholdt, H., et al., *Presentation, patterns of myocardial damage, and clinical course of viral myocarditis*. *Circulation*, 2006. **114**(15): p. 1581-90.
19. Assomull, R.G., et al., *Cardiovascular magnetic resonance, fibrosis, and prognosis in dilated cardiomyopathy*. *J Am Coll Cardiol*, 2006. **48**(10): p. 1977-85.
20. Bogun, F.M., et al., *Delayed-enhanced magnetic resonance imaging in nonischemic cardiomyopathy: utility for identifying the ventricular arrhythmia substrate*. *J Am Coll Cardiol*, 2009. **53**(13): p. 1138-45.
21. Mahrholdt, H., et al., *Delayed enhancement cardiovascular magnetic resonance assessment of non-ischaemic cardiomyopathies*. *Eur Heart J*, 2005. **26**(15): p. 1461-74.
22. Machado, C.R. and A.L. Ribeiro, *Experimental American trypanomiasis in rats: sympathetic denervation, parasitism and inflammatory process*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 1989. **84**(4): p. 549-56.
23. Floras, J.S., *Clinical aspects of sympathetic activation and parasympathetic withdrawal in heart failure*. *J Am Coll Cardiol*, 1993. **22**(4 Suppl A): p. 72A-84A.
24. Viquerat, C.E., et al., *Endogenous catecholamine levels in chronic heart failure. Relation to the severity of hemodynamic abnormalities*. *Am J Med*, 1985. **78**(3): p. 455-60.
25. Thomas, J.A. and B.H. Marks, *Plasma norepinephrine in congestive heart failure*. *Am J Cardiol*, 1978. **41**(2): p. 233-43.
26. Francis, G.S., 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): p. 1724-9.
27. Chidsey, C.A., E. Braunwald, and A.G. Morrow, *Catecholamine Excretion and Cardiac Stores of Norepinephrine in Congestive Heart Failure*. *Am J Med*, 1965. **39**: p. 442-51.
28. Leimbach, W.N., Jr., et al., *Direct evidence from intraneural recordings for increased central sympathetic outflow in patients with heart failure*. *Circulation*, 1986. **73**(5): p. 913-9.
29. Cunha, A.B., et al., *Norepinephrine and heart rate variability: a marker of dysautonomia in chronic Chagas cardiopathy*. *Rev Port Cardiol*, 2003. **22**(1): p. 29-52.
30. Tafuri, W.L., *Pathogenesis of lesions of the autonomic nervous system of the mouse in experimental acute Chagas' disease. Light and electron microscope studies*. *Am J Trop Med Hyg*, 1970. **19**(3): p. 405-17.
31. Muskiet, F.A., et al., *Determination of catecholamines and their 3-O-methylated metabolites in urine by mass fragmentography with use of deuterated internal standards*. *Clin Chem*, 1979. **25**(3): p. 453-60.