



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
IMUNOLOGIA BÁSICA E APLICADA**



ELDER NASCIMENTO PEREIRA

**AVALIAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO AUTÔNOMO DE PACIENTES COM A
FORMA AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS PRÉ E PÓS TRATAMENTO COM
BENZONIDAZOL**

**MANAUS
2016**

ELDER NASCIMENTO PEREIRA

**AVALIAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO AUTONÔMICO DE PACIENTES COM A
FORMA AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS PRÉ E PÓS TRATAMENTO COM
BENZONIDAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como pré-requisito para obtenção de título de Mestre em Imunologia Básica e Aplicada.

Orientador: Professor Doutor João Marcos Bemfica Barbosa Ferreira (UEA/PPGIBA)

Co-orientador: Prof. Dr. Jorge Augusto de Oliveira Guerra (FMT-HVD)

**MANAUS
2016**

ELDER NASCIMENTO PEREIRA

**AVALIAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO AUTONÔMICO DE PACIENTES COM A
FORMA AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS PRÉ E PÓS TRATAMENTO COM
BENZONIDAZOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Imunologia Básica e Aplicada da Universidade Federal do Amazonas, como pré-requisito para obtenção de título de Mestre em Imunologia Básica e Aplicada.

A comissão julgadora aprova a presente Dissertação em sessão pública realizada em 30/09/2016.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. João Marcos Bemfica Barbosa Ferreira - UEA/AM
(Presidente)

Profa. Dra. Grasiely Faccin Borges – UFSB/BA
(Membro)

Prof. Dr. Antônio Luiz Ribeiro Boechat Lopes – UFAM/AM
(Membro)

A minha esposa Luciana e aos meus filhos, Guilherme, João Pedro e Heitor, responsáveis pela ressignificação da minha vida, com uma nova visão do mundo, definindo o que realmente é importante e o amor incondicional, sendo simplesmente a razão do meu viver;

AGRADECIMENTOS

A Deus por todos os benefícios que me tem proporcionado;

Ao Professor Dr. João Marcos, a quem muito admiro, por toda sua nobreza e compromisso com o conhecimento, tornando possível com sua orientação a realização deste trabalho;

Ao professor Guilherme Peixoto Tinoco Arêas por me acompanhar desde a graduação e ter me incentivado em todos os momentos da minha carreira;

Ao professor Dr. Fernando Marques Barcellos por ter aceitado o convite para me orientar no início do mestrado e por toda dedicação destinada a mim durante esse período;

A professora Dra. Sylvania da Conceição Furtado pelas orientações dadas durante o antigo projeto de dissertação;

Aos amigos e professores Lílian, Jarbas, Maria do Carmo, Cristina Maki, Maria Inês por terem me oferecido o ombro no caminhar nessa batalha;

Aos professores do PPGIBA pelos ensinamentos repassados, puxões de orelha e por toda a carga de amor pela docência que me foram oferecidos;

Aos colegas da turma do mestrado por terem caminhado comigo durante as disciplinas do PPGIBA;

À Professora e AMIGA Dra. Aya Sadahiro por todo o incentivo durante o mestrado;

À minha Família por entender minhas ausências nesse período;

Aos pacientes que aceitaram participar do estudo e puderam tornar esse projeto realidade;

Enfim, não conseguirei ser justo ao agradecer num único momento, e em poucas palavras, o muito que recebi durante estes dois anos. Tudo que construí durante este tempo só foi possível pela presença de muitas pessoas essenciais e importantes na minha vida.

Obrigado!

RESUMO

A doença de Chagas (DC) é uma doença negligenciada endêmica na América Latina, que possui como agente etiológico o protozoário *Trypanosoma cruzi*. Afeta cerca de 10 milhões de pessoas em todo o mundo. O desenvolvimento da doença ocorre em fases aguda e crônica. A fase aguda é marcada por intenso período inflamatório devido à rápida proliferação do protozoário. Uma das características fisiopatológicas da doença de chagas é a presença de disautonomia, no entanto em pacientes com fase aguda não há estudos. O objetivo deste estudo foi avaliar o sistema nervoso autonômico cardíaco dos pacientes chagásicos na forma aguda. Foram avaliados trinta indivíduos divididos em dois grupos: Grupo Controle 15 indivíduos saudáveis e Grupo Chagásico (GCa) composto por 15 pacientes com diagnóstico com Doença de Chagas aguda. Foram realizados exames de eletrocardiograma, ecocardiograma e para a avaliação do sistema nervoso autonômico (SNA) foi avaliada a variabilidade da frequência cardíaca (VFC) com o Holter 24 horas e com um frequencímetro de pulso da marca POLLAR® para avaliação de períodos curtos em posição supina. Não houve diferença entre os grupos, com relação à idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC), pressão arterial sistólica (PAS) ou pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC). Ao exame de eletrocardiograma (ECG) encontramos 12 (73%) pacientes com ECG normal e 3 (27%) com alterações mínimas. No holter 24 horas, tanto os parâmetros de avaliação global do SNA (SDNN e SDANN) quanto os parâmetros de avaliação da atividade parassimpática ($rMSSD$ e $pNN50$) apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos GCa e grupo de comparação e entre as medidas pré e pós tratamento do grupo GCa. Na avaliação da VFC em períodos curtos, os índices de avaliação da atividade parassimpática, tais como: $rMSSD$, $pNN50$ e componente de alta frequência em valores absolutos foram menores no grupo GCa na fase pré tratamento que na fase pós tratamento. Portanto, acreditamos que as alterações no SNA encontradas em nosso estudo ocorrem já na fase aguda da DC e apresentam melhora logo após o tratamento.

Palavras – chave: Variabilidade da frequência cardíaca, Sistema nervoso autonômico, Doença de Chagas aguda.

ABSTRACT

Chagas disease (CD) is a neglected disease endemic in Latin America, which has as etiologic agent the protozoan *Trypanosoma cruzi*. It affects about 10 million people worldwide. The development of disease occurs in acute and chronic stages. The acute phase is characterized by intense inflammatory period due to rapid proliferation of the parasite. One of the pathophysiological characteristics of Chagas disease is the presence of dysautonomia, however in patients with acute phase there are no studies. The aim of this study was to evaluate the autonomic nervous system heart of Chagas patients in acute form. We assessed thirty individuals divided into two groups: control group 15 healthy subjects and chagasic group (CaG) consisted of 15 patients diagnosed with acute Chagas disease. All groups were matched with each other, according to gender and age. electrocardiogram examinations were performed, and echocardiogram to assess autonomic nervous system (ANS) was evaluated heart rate variability (HRV) with 24-hour Holter and a pulse frequency counter POLLAR® the mark for assessment of short periods. There was no difference between groups with respect to age, weight, height, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP) or diastolic blood pressure (DBP) and heart rate (HR). The electrocardiogram test (ECG) found 12 (73%) patients with normal ECG and 3 (27%) with minimal changes. In Holter 24 hours, both the overall assessment of parameters of SNA (SDNN and SDANN) as the evaluation parameters of the parasympathetic activity (rMSSD and pNN50) showed significant differences ($p < 0.05$) between CaG groups and comparison group and between pre and post treatment CaG group. In the evaluation of HRV in short periods, the rates of assessment of parasympathetic activity, such as rMSSD, pNN50 and high-frequency component in absolute values were lower in CaG group in pre-treatment phase in the post-treatment phase. Therefore, we believe that the changes in SNA found in our study underlie our hypothesis that HRV changes manifestations occur already in the acute phase of DC and show improvement after treatment.

Key - words: Heart rate variability, autonomic nervous system, acute Chagas disease.

LISTA DE SIGLAS E ABREVEATURAS

AF	Alta Frequência
AF ab	Alta Frequência Absoluta
AF um	Unidade De Alta Frequência
AM	Estado Do Amazonas
ARV	Alteração de repolarização ventricular
BF	Baixa Frequência
BF um	Unidade De Baixa Frequência
BF/AF	Relação Baixa E Alta Frequência
BPM	Batimentos Por Minutos
CAAE	Certificado de Apresentação para Apreciação Ética
CCC	Cardiomiopatia Chagásica Crônica
CELULA B	Linfócitos B
CÉLULAS T	Linfócitos T
GC	Grupo Controle
D0	Dia Zero
D60	Dia Sessenta
DC	Doença de Chagas
DCA	Doença de Chagas Aguda
DCRD	Distúrbio de condução pelo ramo direito
DDVD	Diâmetro diastólico ventricular direito
DDVE	Diâmetro diastólico ventricular esquerdo
DII	Derivação dois
DTU	Unidades de discriminação discretas
DTU-TC IV	Unidades de discriminação discretas do <i>Trypanosoma cruzi</i> tipo quatro
ECG	Eletrocardiograma
FA	Fibrilação atrial
FAPEAM	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas
FC	Frequência Cardíaca
FEVE	Fração de ejeção ventricular esquerda
GALL-3	Galectina- Três
GCA	Grupo Chagas Agudo
GPI	Glicosil fosfatidil inositol
IFN-Y	Interferón Gama
Igs	Imunoglobulinas
IL-10	Interleucina Dez
IL-12	Interleucina Doze
IL-13	Interleucina Treze
IL-4	Interleucina Quatro
IL-5	Interleucina Cinco
IMC	Índice de Massa Corporal
iRR	Taxa Interna de Retorno
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade
NK	Células Naturais Killer
NO	Óxido Nítrico

NYHA	New York Heart Association
PAD	Pressão Arterial Diastólica
PAS	Pressão Arterial Sistólica
pNN50	Porcentagem dos ciclos adjacentes com diferenças de duração acima de 50 ms
QRS	Complexo das ondas Q, R e S
<i>R. pictipes</i>	<i>Rhodnius pictipes</i>
<i>R. robustus</i>	<i>Rhodnius robustus</i>
rmssd	Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças dos intervalos RR adjacentes
RR	Distância entre duas ondas R sucessivas
S' Tricúspide	Velocidade sistólica do anel tricúspide
SBC-AMB	Sociedade Brasileira de Cardiologia e Associação Médica Brasileira
SD1	Desvio padrão dos intervalos instantâneo do intervalo R-R do tipo I
SD2	Desvio padrão dos intervalos instantâneo do intervalo R-R do tipo II
SDANN	Desvio padrão das médias dos intervalos RR em intervalos de 5 minutos
SDNN	Desvio padrão médio de todos os intervalos RR normais
S' Lateral	Velocidade sistólica do anel mitral lateral
SNA	Sistema Nervoso Autônomo
T 1/2 B	Tempo de Meia Vida Beta
T. cruzi	<i>Trypanosoma cruzi</i>
TCD4	Linfócito T CD4
TCD8	Linfócito T CD8
Th1	Resposta imunológica Th1
Th2	Resposta imunológica Th2
TLR	Receptor Semelhante à TOLL
TNF-a	Fator de Necrose Tumoral Alfa
VAEi	Volume atrial esquerdo indexado pela superfície corpórea
VE	Ventrículo Esquerdo
VFC	Variabilidade da Frequência Cardíaca
VVIR	Detecção ventricular a resposta de inibição e taxa adaptável

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Característica da população estudada.....	34
Tabela 2. Medidas obtidas no ecocardiograma	35
Tabela 3. Índices de análise do SNA no Holter 24 horas.....	36
Tabela 4. Índices de análise do SNA através da variabilidade da frequência cardíaca em períodos curtos (posição supina)	37

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo do <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
Figura 2. Fluxograma da casuística.....	28
Figura 3. Eletrocardiograma dos pacientes do grupo chagas agudo.....	35

LISTA DE ANEXOS

Anexo A. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas	50
--	----

LISTA DE APÊNDICE

Apêndice A – Produção Bibliográfica Referente à Dissertação	52
--	-----------

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	5
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	6
2.1 Doença de Chagas	6
2.2 Doença de Chagas na Amazônia	10
2.3 Resposta Imune à infecção pelo Trypanosoma cruzi	13
2.3.1 Resposta Imune Inata.....	13
2.3.2 Resposta Imune Adaptativa.....	14
2.4 O Benzonidazol na Doença de Chagas.....	17
2.5 Sistema Nervoso Autônomo (SNA).....	19
2.6 Acometimento do SNA na doença de Chagas	22
3JUSTIFICATIVA.....	24
4OBJETIVOS.....	26
4.1 Objetivo geral:	26
5 CASUÍSTICA E MÉTODOS	27
6 RESULTADOS.....	33
6.1 Características Clínicas e Sociodemográficas da População Estudada	33
6.2 Ecocardiograma Transtorácico.....	34
6.3 Avaliação do Sistema Nervoso Autônomo	35
6.3.1 Análise do Holter 24 horas.....	35
6.3.2 Variabilidade da Frequência Cardíaca em períodos curtos.....	35
7 DISCUSSÃO	37
8 CONCLUSÕES	41
REFERÊNCIAS.....	42
ANEXOS	50

1 INTRODUÇÃO

A Tripanossomíase americana, mais conhecida como doença de Chagas (DC), é uma antroponose causada pelo parasita cinetoplastida protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi*, a qual pode acometer o homem e os animais domésticos e selvagens (MEIRA, *et al*, 2012). Epidemiologicamente, os mais importantes animais são aqueles que estão mais próximos do homem, como cães, gatos, ratos e porcos (BRASIL, 2010). A transmissão da DC nos países endêmicos ocorre principalmente por insetos hematófagos, triatomíneos, conhecidos como “barbeiros” ou “chupões” (FERREIRA & SILVA, 2006).

A doença de Chagas é endêmica em algumas regiões do Brasil, onde são diagnosticados com maior frequência os casos crônicos, entretanto na Amazônia e, particularmente, no estado do Amazonas, a doença sempre foi pouco documentada. Sendo a forma aguda a fase que mais chama atenção na região, principalmente em casos de surtos da enfermidade.

A forma aguda da doença de Chagas (DCa) é caracterizada com síndromes febris, tremores e fadiga. No Amazonas, às vezes, pode ser negligenciada por seus sintomas parecerem muito com doenças endêmicas no estado, tais como a dengue e a malária. Na DCa o sistema nervoso autonômico cardíaco pode ser comprometido causando desnervação do complexo estimulante do coração, prejudicando o funcionamento do órgão.

Köberle *et al.* (1957), estudaram sobretudo, as lesões degenerativas periféricas do sistema nervoso autônomo visceral, intramural com métodos transversalmente diversos dos autores que os precederam, fazendo contagens neuronais em seres humanos portadores de aperistalse e enteromegalias e em animais inoculados artificialmente e constataram diminuição do número das células nervosas dos plexos intramurais.

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo avaliar o sistema nervoso autonômico cardíaco dos pacientes chagásicos na forma aguda autóctones da Amazônia Brasileira, a fim de elucidar mecanismos de algumas das manifestações clínicas da DC na forma crônica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

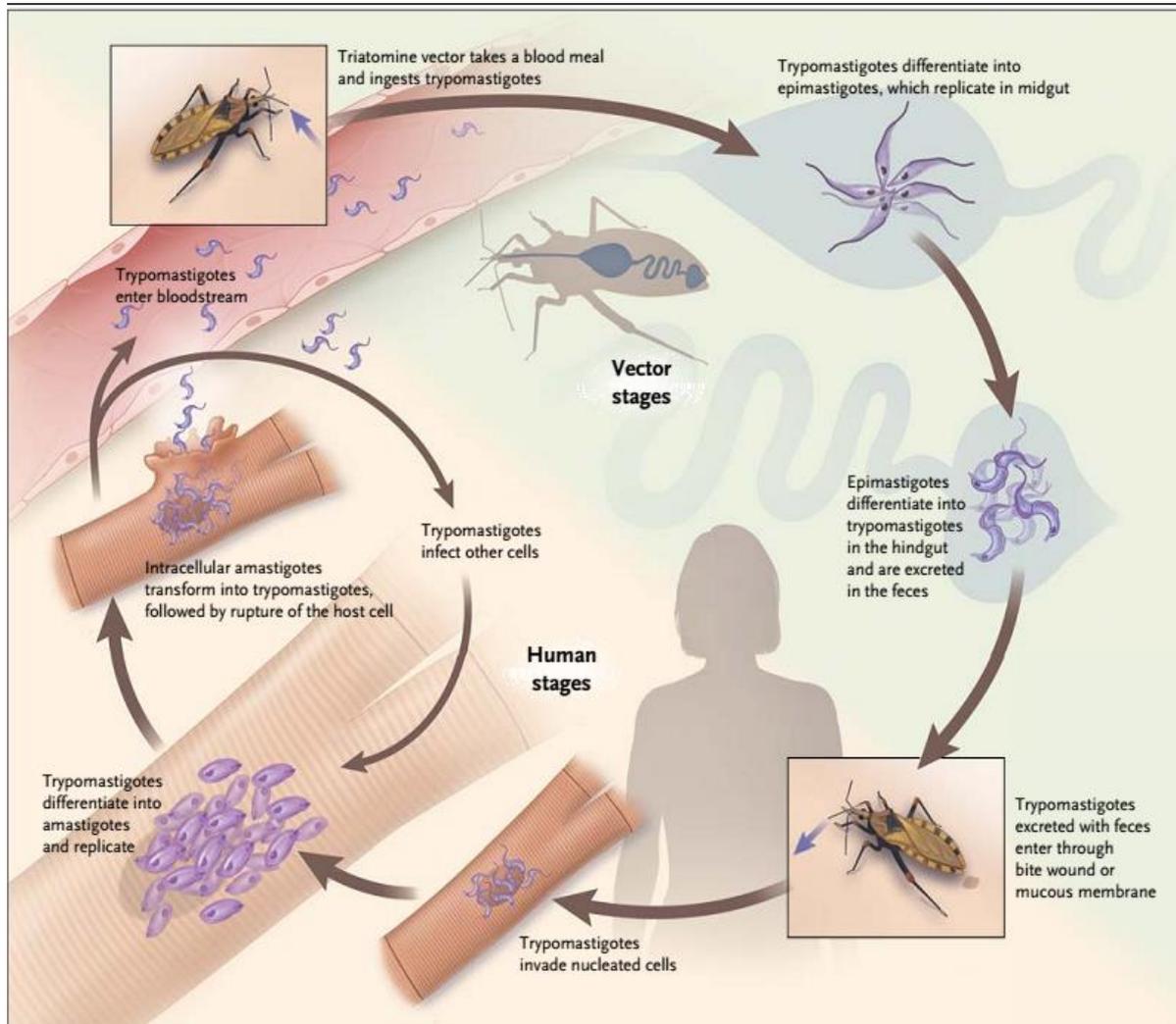
2.1 Doença de Chagas

A doença de Chagas é uma doença parasitária endêmica com alta prevalência na América Latina. Seu descobridor, Carlos Chagas, em 1909, revelou que a mesma é causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* e representa um grande problema de saúde pública, afetando cerca de 13 milhões de pessoas e causando cerca de 50.000 mortes por ano (MACHADO, 2012).

O *T. cruzi* é o agente etiológico da doença de Chagas. Trata-se de um parasita que primariamente se hospeda em invertebrados das diversas espécies de hemípteras hematófagos da família *Reduviidae* e subfamília *Triatominae*, sendo comumente chamados de “barbeiros” ou “chupões”. Em seu ciclo evolutivo, apresenta três formas que se distinguem pela posição do seu flagelo e cinetoplasto em relação ao núcleo. Na fase tripomastigota, fase infectante do *T. cruzi*, o flagelo parte de uma estrutura denominada bolsa flagelar e o cinetoplasto emerge da porção subterminal ou terminal do flagelo. Na forma epimastigota, quando ocorre a multiplicação do parasita no vetor, a bolsa flagelar e cinetoplasto encontram-se anteriormente ao núcleo; e na forma amastigota, quando ocorre a multiplicação das formas evolutivas dentro das células hospedeiras, o *T. cruzi* é cilíndrico e apresenta discretos flagelos. Quando o invertebrado se alimenta com o sangue de animais infectados, ele suga, além do sangue, o *T. cruzi*, tornando-se um barbeiro infectado. O *T. cruzi* então se desenvolve no intestino do chupão, onde será eliminado através das fezes ou da urina. A via clássica de contaminação humana ocorre pela picada do triatomíneo, que geralmente ocorre no período noturno, que após a alimentação deposita fezes sobre a pele do indivíduo. A picada geralmente causa prurido local e o ato de coçar causa escoriações na pele o que facilita a entrada do *T. cruzi*.

Na figura 1 pode-se observar o ciclo do *Tripanossoma cruzi*.

Figura 1 – Ciclo do *Tripanossoma cruzi*.



Fonte: Bern, Caryn. Chagas Disease, 2015. The New England Journal of Medicine.

Além da transmissão vetorial a DC têm outros mecanismos de contaminação tais como transfusão de sangue, caso o doador seja portador da doença; transmissão congênita da mãe chagásica, para o filho via placenta. A transmissão pela via oral ocorre principalmente por ingestão de material contaminado com triatomíneos infectados ou suas fezes, ingestão de carne crua, ou mal cozida, ou ainda pelas secreções de alguns mamíferos infectados (COURA, 2006).

A doença de Chagas apresenta-se em duas fases: aguda e crônica. Enquanto a primeira gera quadro de miocardite com marcante presença do *T. cruzi* no miocárdio e intenso infiltrado inflamatório, a segunda inicia-se após um período de latência de 2 a 4 meses, podendo evoluir para as formas indeterminada (70% dos casos), cardíaca e/ou digestiva (30%). Em todas as formas, o acometimento do

sistema nervoso autônomo (SNA) está entre os principais mecanismos fisiopatológicos envolvidos em pacientes chagásicos. (FERREIRA, 2013).

Descrita originalmente por Carlos Chagas, a doença de Chagas aguda, constituía uma infecção predominantemente em crianças nos primeiros anos de vida. Chagas expôs minuciosamente 29 casos agudos, todos sintomáticos, com manifestações constantes de febre e edema, exames parasitológicos diretos positivos e óbitos por miocardite ou meningoencefalite aguda em 37,9% deles (CHAGAS, 1916). A fase aguda exhibe período de incubação de cerca de uma a quatro semanas após a picada, podendo desenvolver uma lesão volumosa denominada chagoma de inoculação. Quando a picada ocorrer próximo as palpebras poderá ocorrer uma conjuntivite com edema, sinal denominado de sinal de Romaña.

As manifestações cardíacas da forma aguda são de miocardite difusa, de maior intensidade quando comparada às miocardites de outras etiologias, geralmente acompanhada de pericardite serosa. (SOUZA *et al.*, 1990). Além disso, há o relato de pacientes com manifestações de cardite aguda, com referência à dispnéia aos pequenos e médios esforços, palpitações, taquicardia, edema de membros inferiores e hepatomegalia. Estes quadros variam desde acometimentos leves até formas graves, com relato de três óbitos por insuficiência cardíaca refratária (CHAGAS, 1924; DEANE, 1964; JÖRG *et al.*, 1961; LARANJA *et al.*, 1951).

A forma crônica da doença de Chagas pode ser dividida em forma indeterminada, cardíaca e digestiva. A forma indeterminada da DC foi relatada, por Carlos Chagas (1916), a partir da descoberta de pacientes que apresentavam a sorologia positiva para a enfermidade, mas que não apresentavam os sintomas cardíacos e/ou digestivos. Villela (1923) acreditava que essa fase seria uma etapa passageira, período de latência, e que logo os pacientes começariam a apresentar as características clínicas da forma crônica da DC.

O critério para o diagnóstico da forma indeterminada, adotado pela Sociedade Brasileira de Medicina Tropical (1985), prevê indivíduos assintomáticos, com evidências sorológicas e/ou parasitológicas de infecção pelo *T. cruzi*, com eletrocardiograma e estudo radiológico contrastado do esôfago e cólon dentro dos limites normais.

Existem duas perguntas cruciais sobre a forma indeterminada. A primeira diz respeito sobre a repercussão funcional dessa miocardite focal, discreta e

disseminada. As controvérsias sobre esse assunto surgem quando indivíduos com a forma indeterminada são submetidos a teste mais sensíveis que o eletrocardiograma clássico onde se têm descrito alterações funcionais cardíacas. O segundo ponto importante refere-se ao sistema imunológico em relação às lesões inflamatórias, discretas e focais, se são acumulativas ou não (SCALABRINI, 1996).

Os pacientes com a forma digestiva da doença de Chagas podem representar de 8 a 10% dos casos crônicos em áreas endêmicas. As alterações que ocorrem no trato digestivo na DC derivam principalmente do comprometimento do sistema nervoso entérico, em especial do plexo mientérico de Auerbach. As células nervosas desse complexo nervoso sofrem eventos degenerativos em meio ao processo inflamatório deparado em suas vizinhanças, e seu número se reduz acentuadamente (KOEBERLE, 1961; ANDRADE; ANDRADE, 1966; TAFURI; BRENER, 1967).

Dos indivíduos com a forma crônica, 20 a 30% desenvolverão miocardiopatia chagásica crônica, a forma mais grave da doença, caracterizada por disfunção biventricular severa, insuficiência cardíaca progressiva, distúrbios graves da condução atrioventricular e intraventricular, arritmias ventriculares complexas e fenômenos tromboembólicos, com elevados índices de morbidade e mortalidade, seja por falência miocárdica ou por morte súbita. Está bem destacado na literatura que os pacientes com insuficiência cardíaca de etiologia chagásica têm pior prognóstico em relação aos não chagásicos. Na evolução, os pacientes sintomáticos e com baixa fração de ejeção apresentam taxas de mortalidade de 50-60% em dois anos, sendo atualmente uma das causas mais frequentes de insuficiência cardíaca refratária. (ALMEIDA, 2004).

Na fase aguda da DC o diagnóstico é realizado através da contagem de tripomastigotas no sangue periférico, pois nessa fase a concentração do parasita é bem elevada. Na fase crônica da enfermidade, aproximadamente 6 a 8 semanas após a infecção, a carga parasitária do *T. cruzi* é reduzida e são encontradas altas concentrações de anticorpos específicos para respostas do invasor no soro dos pacientes, por isso nessa fase o diagnóstico preciso pode ser confirmado por sorologia (DIAS *et al.*, 1997).

Recentemente, o Brasil, foi certificado pela Organização Panamericana de Saúde como livre da transmissão vetorial da DC, predominando ainda os casos crônicos da enfermidade adquiridos no passado. No entanto, apesar de ser negligenciada, nos últimos anos a ocorrência de doença de Chagas aguda (DCA)

tem sido notada nos estados da Amazônia Legal, com ocorrência de casos isolados em outras regiões (MONTEIRO, 2012).

2.2 Doença de Chagas na Amazônia

Na Amazônia, considera-se a doença de Chagas uma enzootia de animais selvagens ou uma antropozoonose, doença adquirida acidentalmente pelos seres humanos ao penetrarem o ecótopo selvagem (COURA; JUNQUEIRA, 2012; COURA, 2013).

Os primeiros casos agudos da Doença de Chagas, na Amazônia, foram descritos em 1969 por Shaw et al., com a descrição de quatro casos da doença em Belém do Pará. Os autores sugeriram a possibilidade de transmissão da doença por via oral, a partir ingestão de fezes de barbeiro infectado. Esta hipótese foi testada experimentalmente, onde foi confirmada a infecção por via oral dos animais experimentais (LAINSON *et al.*, 1979).

No Amazonas, os triatomíneos não são domiciliados, o que confere menor risco para a endemia da tripanossomíase americana. No entanto, eventualmente, podem visitar os domicílios humanos, muitas vezes, trazidos pelo transporte de madeira, lenha, frutas, atraído pela luz ou à procura de sangue de animais silvestres que podem habitar na área peridomiciliar ou de seres humanos. Nessa busca por alimentos, pode ocorrer a transmissão acidental para o homem através da hematofagia e/ou a contaminação de alimentos, devido a forma metacíclica do tripomastigota nas fezes e urinas do inseto (FÉ *et al.*, 2009; MAGALHÃES *et al.*, 2011; PINTO *et al.*, 2008; MONTEIRO *et al.*, 2010).

Mesmo não sendo domiciliados segundo os estudos de Pinto *et al* (2008) e FÉ *et al.* (2009), os triatomíneos invadem predominantemente casas feitas de madeira e telha na região. Existe uma maior facilidade de isso acontecer quando há a presença de palmeiras no peridomicílio, uma vez que nelas se abrigam fontes alimentares para os triatomíneos que formam suas colônias neste ecótopo (MAGALHÃES *et al.*, 2011; MONTEIRO *et al.*, 2010).

O risco de endemia da tripanossomíase americana na Amazônia Brasileira pode estar fortemente associado aos seguintes aspectos: **a)** o extenso desmatamento associado ao deslocamento de mamíferos selvagens que podem ser reservatórios de *T. cruzi* que e são as fontes de nutrição para os triatomíneos; **b)** a

existência de 27 espécies de barbeiros dos quais 10, já foram encontrados infectados com *T. cruzi* na Amazônia Legal Brasileira; **c)** ingestão de alimentos, em especial bebidas de açaí, bacaba, patauá e buriti contaminados com o parasita através de fezes e urina de triatomíneos bem como as secreções odoríferas de marsupiais e carnes mal cozidas de animais silvestres infectados; **d)** a migração crescente de pessoas e animais domésticos que já estão infectados com o *T. cruzi* das áreas endêmicas para a região Amazônica; **e)** e por fim a falta de conhecimento e o negligenciamento da DC pelos agentes de vigilância sanitária, além das dificuldades de acesso ao sistema de saúde e a predominância de atividades extrativistas de coleta de plantas nativas tais como a maniva, a seringueira e os frutos de castanheiras (COURA, 2013; COURA *et al.*, 2013; MAGALHÃES *et al.*, 2011; COURA; JUNQUEIRA, 2012; BRUM-SOARES *et al.*, 2010).

Das 67 espécies de triatomíneos registrados no Brasil, 27 podem ser encontrados na Amazônia (JURBERG *et al.*, 2014). Meza *et al.* (2014) evidenciaram em seu estudo com animais experimentais que linhagens de *T. cruzi* IV do norte do Brasil manifestam tropismo diferente à linhagem de *T. cruzi* II, encontrada no sul do país. Foi evidenciada também uma parasitemia significativamente menor em relação ao *T. cruzi* II. Talvez por esta razão sejam encontrados poucos casos de doença cardíaca na região amazônica. Além de que o estudo mostrou que o *T. cruzi* IV não apresentou tropismo para o sistema digestivo dos animais experimentais.

No estudo de Monteiro *et al.* (2012), que analisou diferentes haplótipos de *T. cruzi* de amostras de 4 cidades do estado do Amazonas dos triatomíneos *R. robustus* e *R. pictipes*, concluíram que as unidades de discriminação discretas (DTU) de *T. cruzi* IV (DTU-TCIV) é a principal linhagem responsável pelas infecções humanas na Amazônia Ocidental Brasileira, que ocorre em surtos ou com infecções isoladas.

Por ser uma área de infecção emergente, no estado do Amazonas, ocorrem eventualmente surtos da doença de Chagas, episódios que preocupam muito a população em geral, já que um caso dessa enfermidade pode indicar que há grande chance de haver mais pessoas infectadas, sendo de suma importância o registro dos casos agudos da doença para que seja feita maior investigação da enfermidade no estado, uma vez que se a fase é aguda há algum sítio ativo de infecção. O Inquérito sorológico para doença de Chagas em áreas rurais de Manaus, Coari e Tefé na Amazônia Ocidental revelou que a prevalência da enfermidade para estas

localidades foi de 1,2%, 0,5%, e 1,9%, respectivamente, registrando uma prevalência geral dos casos no estado do Amazonas de 0,9% (MAGALHÃES *et al.*, 2011)

Souza-Lima *et al.* (2013), relataram um surto de DCa na cidade de Santa Isabel do Rio Negro (estado do Amazonas), associada a transmissão por via oral pelo consumo de açaí. Foram 17 casos positivos para a DCa e os pacientes apresentavam manifestações febris, astenia, dor abdominal, e palpitações. Nos exames de eletrocardiogramas, as alterações mais frequentes foram QRS de baixa voltagem, bloqueio divisional anterossuperior e bloqueio de ramo direito associado ao bloqueio divisional anterossuperior.

Na série de casos agudos, de 1980 a 2006, da DC atendidos no sistema terciário de saúde no município de Manaus (Amazonas/Brasil), os autores registraram 29 casos de todo o estado atendidos pela Fundação de Medicina Tropical, sendo 19 do sexo masculino e 10 casos do sexo feminino. Destes, quinze eram casos isolados e 14 provenientes de surtos sendo três casos do município de São Paulo de Olivença em 1985, nove de Tefé em 2004 e dois de Iranduba em 1992. Entre os sintomas mais relatados estavam à síndrome febril súbita, fadiga, cefaleia, mialgia, calafrios, palidez, dispneia e edema de face e membros inferiores, não havendo nesse estudo registro de mortes para o período (MONTEIRO, 2010).

Ferreira *et. al.* (2010), descreveram cinco casos de acometimento cardíaco de pacientes com a doença de Chagas aguda (DCa) na Amazônia ocorridos entre 2006 a 2007. O primeiro dos casos relatados, iniciou o tratamento em maio de 2006, foi detectado o surto de infecção por DCa em sua comunidade, provavelmente, por ingestão do açaí. Ao exame de ECG (eletrocardiograma) o paciente apresentava bloqueio divisional anterossuperior e no ecocardiograma, derrame pericárdico moderado. O segundo paciente apresentou EGC normal e ecocardiograma com derrame pericárdico moderado e ao final do tratamento com benzonidazol houve resolução completa do derrame pericárdico. O terceiro caso, por provável ingestão do suco de açaí, O eletrocardiograma exibia bloqueio de ramo direito e o ecocardiograma demonstrava normalidade. Após o tratamento etiológico, houve supressão do bloqueio de ramo direito. Com suposta contaminação por suco de açaí, o quarto caso, também apresentou alteração do ECG do tipo extrassistolia ventricular frequente e o ecocardiograma, disfunção sistólica ventricular esquerda com fração de ejeção de 50% e após o tratamento com benzonidazol,

betabloqueador e diurético houve melhora dos exames. O ECG do quinto caso relatado, apresentou ritmo de fibrilação atrial (FA) com frequência ventricular média de 110 bpm. O ecocardiograma transtorácico era normal. Aproximadamente duas semanas após o início do tratamento etiológico houve melhora nos resultados dos exames cardíacos.

Em janeiro de 2015, foram notificados 12 de casos no município de Carauari (AM), sendo de extrema importância à conscientização da população aos riscos da doença e às suas complicações clínicas, não devendo confundi-las com as formas clínicas de doenças endêmicas da região, uma vez que dentre todos os sintomas predomina a síndrome febril inespecífica, em geral prolongada (SUSAM, 2015).

2.3 Resposta Imune à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*

2.3.1 Resposta Imune Inata

A ativação da resposta imune inata e adaptativa é crucial para o controle da infecção pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. O sistema imunológico do hospedeiro infectado pelo *T. cruzi* é induzido a produzir diversos eventos complexos de modo a controlar o parasitismo enquanto preservam o potencial de montar e manter uma longa resposta celular e humoral contra o patógeno durante a infecção (PAVANELLI, 2008).

O sistema imune inato tem papel importante no reconhecimento de células não hematopoiéticas infectadas que representam risco ao hospedeiro e a subsequente reação para o desenvolvimento da resposta adaptativa (KAYAMA; TAKEDA, 2010). As feridas causadas pela picada do triatomíneo permitem a entrada e a difusão do parasita para a corrente sanguínea. Ao mesmo tempo, outras barreiras físicas podem ser potencial local para ingresso do parasito no organismo humano. Após a entrada na corrente sanguínea, o *T. cruzi* atua de forma direta na imunorregulação do hospedeiro, seguida por intensa resposta inflamatória, observada principalmente no recrutamento de macrófagos e células dendríticas para atuarem diretamente na resposta inata contra o agente infectante.

A resposta ao parasita se inicia com a entrada do *T. cruzi* no hospedeiro, e com o reconhecimento do tripomastigota pelo sistema imune, podendo gerar três eventos básicos: 1) a detecção e destruição direta do parasita por células do sistema

inato e proteínas do complemento; 2) a ativação de células apresentadoras de antígeno como as dendríticas e macrófagos, estimulando a resposta por células T e desencadeando a resposta adaptativa; 3) a sensibilização de células não hematopoiéticas que seriam alvos primários na invasão do parasita (TARLETON, 2007).

Os receptores do tipo Toll (TLR- toll-like receptors, tipo TLR-2 e TLR-9) reconhecem âncoras GPI e DNA do *T. cruzi* e facilitam o reconhecimento pelas células da resposta inata (TARLETON, 2007). Num segundo momento, macrófagos, iniciam uma ação microbicida produzindo IFN- γ e TNF- α bem como ativação de células Natural Killer (NK) através da ação de IL-12 sobre células T CD4, estimulando a produção de óxido nítrico e IFN- γ por células NK, que contribuem para o controle inicial da infecção (Lima-Martins et al., 1985; Gazzinelli et al., 1993); macrófagos e células NK evoluem para fenótipos bem distintos durante o curso da fase aguda, antes do início da resposta mediada por células T (Vitelli-Alvelar et al., 2006), e este evento teria relação direta com as respostas futuras, já que sua expansão exacerbada na doença pode contribuir para eventos pró-inflamatórios. Sendo assim, a modulação de mecanismos imunoreguladores se torna determinante para prevenir os efeitos deletérios com a excessiva resposta inflamatória que estão associadas às morbidades características da doença (Gomes et al., 2014).

2.3.2 Resposta Imune Adaptativa

Durante o desenvolvimento de uma resposta imune eficaz contra microrganismos, o sistema imunológico realiza dois objetivos importantes para proteger o hospedeiro, o qual envolve a geração de linfócitos T efetores e linfócitos B capazes de eliminar o agente patogênico, e a capacidade de gerar memória. Esta função é alcançada por células de memória, que são responsáveis pela rápida proliferação e diferenciação em célula B efetora e os linfócitos T após exposição para o mesmo agente patogênico (FEARON et al., 2001). Assim, os linfócitos de memória permitem uma resposta secundária mais rápida e mais eficaz, que é essencial para a proteção a longo prazo do hospedeiro (AHMED & GRAY, 1996).

A fase aguda da infecção por *T. cruzi* é caracterizada por uma extensa ativação policlonal das células B que expressam níveis elevados de moléculas MHC classe II, proliferam de forma espontânea e liberam títulos mais elevados de

anticorpos. Concomitante com a ativação de células B, coexiste uma ativação de outros clones de células B que geram um estado imunossupressor transitório, o qual leva um aumento da apoptose da célula B (MINOPRIO et al., 1989; ZUNIGA et al., 2001). Num trabalho envolvendo modelo experimental infectados por *T. cruzi* os autores relatam que a IL-4 não só é capaz de evitar que células B entrem em apoptose, mas também que permitam o bloqueio da diferenciação destas células no plasma (ACOSTA RODRIGUEZ et al., 2003).

Outro estudo envolvendo ratos infectados por *T. cruzi* utilizando Galectina-3 (Gal-3) mostrou que esta lectina desempenha um papel importante na sobrevivência e diferenciação de células B induzida por IL-4 a partir de ratinhos infectados com o protozoário *T. cruzi*. Além disso, a inibição da Gal-3 durante a fase aguda da infecção por *T. cruzi* permitiu um desenvolvimento de células de plasma melhorada, que resultou em maiores níveis de Igs e mais eficaz de contagem do parasita (ACOSTA RODRIGUEZ et al., 2004).

Ainda no que diz respeito às células B, além de seu papel na produção de anticorpos específicos durante a infecção chagásica, foi descrita uma alteração na sua distribuição sistêmica durante a fase crônica da infecção humana, relacionado diretamente às alterações funcionais em células T (Fernandez et al., 2014).

Conforme a progressão da Doença de Chagas, as células do sistema imune inata (principalmente células dendríticas) fazem a ligação da resposta imune inata com a resposta adaptativa através da apresentação de antígenos e da secreção de IL-12, importante na diferenciação e expansão clonal de linfócitos T CD4⁺ no subtipo Th1 assim como linfócitos T CD8⁺. A resposta Th1 que se segue caracteriza-se pela produção de IFN- γ por linfócitos T, com conseqüente aumento na ativação das células fagocíticas para destruir parasitas internalizados, aumentando H₂O₂, o óxido nítrico e a produção de TNF- α (NOGUEIRA et al., 1981; SILVA et al., 1995).

O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória com papel destacado na modulação da resposta imune protetora na infecção pelo *T. cruzi* (ABRAHAMSOHN et al., 1995; ALIBERTI et al., 2001). Essa substância controla o crescimento dos parasitas pela ativação das células fagocitárias. Assim como a IL-12 participa da diferenciação em resposta Th1, a IL-4 promove a resposta Th2, indutora de imunidade humoral, na ausência de IL-12 e IFN- γ . Além disso, o aumento de secreção de IL-10, durante a

fase crônica, pode estar associado à proteção do hospedeiro contra resposta inflamatória intensa, induzida pelo perfil Th1. Essa citocina, também do perfil Th2, é produzida pelos macrófagos e regula a expressão ou função de IL-12 e INF- γ (BRENER & GAZZINELLI, 1997; GAZZINELLI et al., 1992). Dutra et al. (1997), detectaram níveis mais altos de IL-5, IL-10, IL-13, e INF- γ em pacientes chagásicos crônicos em relação a indivíduos não infectados, sugerindo que o equilíbrio entre essas citocinas pode ser o ponto principal do controle da morbidade, durante a fase crônica da infecção.

Didaticamente as citocinas são classificadas como pró e anti-inflamatórias, mas sabidamente encontramos citocinas agindo em funções paradoxais, respondendo de diferentes maneiras na dependência de sua concentração, do microambiente e estágio da resposta imune nas quais essas proteínas são produzidas. Citocinas do padrão Th1 (INF- γ e TNF- α) atuam em conjunto para induzir a ativação de macrófago e a produção de óxido nítrico (NO), atuando na eliminação do parasito. Citocinas do padrão Th2 (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) bloqueiam as citocinas do padrão Th1, permitindo a persistência do *T. cruzi* no tecido (PAVANELLI, 2008).

Células T CD8⁺ têm fundamental importância na geração da cardiopatia, sendo efectoras na indução de morte de células infectadas e levando a danos teciduais no tecido cardíaco, mas seu papel pode ser antagônico, dependendo do equilíbrio populacional entre os subtipos destas células, tendo um grupo produtor de INF- γ (IFNHIGH) e outro produtor de perforina que por sua vez modulam a citotoxicidade específica nos modelos murinos (SILVERIO et al., 2012).Tamanho é a importância das células T CD8 na evolução da patogênese chagásica, que essa subpopulação pôde ser utilizada experimentalmente como modelo de vacinação para redução de sintomas da doença, já que pode ser induzida a uma resposta específica a transialidases do parasita, minimizando danos teciduais aleatórios e não específicos (DOS SANTOS et al., 2014). Neste contexto de frequência de subpopulações leucocitárias, já foi relatada também a presença de células T duplo positivas para CD4 e CD8 ativadas e com potencial efeito autoreativo, em pacientes crônicos (GIRALDO et al., 2011).

Um ponto amplamente discutido na patogênese da doença, principalmente em relação à miocardite crônica, é a geração de autoimunidade que pode ser resultante da persistência de antígenos parasitários circulantes oriundos de danos ocorridos nos tecidos (Kalil & Cunha-Neto, 1996), bem como à presença de peptídeos de *T. cruzi* com sequências homólogas à sequências protéicas do hospedeiro, como por exemplo a miosina cardíaca (CUNHA-NETO et al., 1995). Porém, essa hipótese tem sido amplamente discutida e questionada por alguns autores, uma vez que os danos ao tecido cardíaco podem ser resultantes da presença do parasita no local, que levam a uma reação inflamatória mediada por células T CD8 parasito-específicas (MARIN-NETO et al., 2007).

O *T. cruzi* mostrou-se um forte indutor de IL-12, na mediação e liberação de citocinas inflamatórias na patogênese da Cardiomiopatia Chagásica Crônica (ABEL, et al., 2001). Nos estudos de Cunha-Neto et. al. (1998) observaram o perfil de citocinas infiltradas no tecido cardíaco de pacientes CCC, e concluíram que a maior parte das evidências apontam para produção significativa da IFN- γ e TNF- α , que pode estar ligada a indução do *T. cruzi* sobre a IL-12. Os trabalhos de Abel et al. (2001), também evidenciaram que pacientes CCC infectados por *T. cruzi* exibem uma resposta de IFN- γ aumentada concluindo que esse fator tem um papel importante na susceptibilidade ao desenvolvimento de CCC.

2.40 Benzonidazol na Doença de Chagas

No Brasil, desde o início da década de 1970, a droga benzonidazol tem sido a mais indicada para o tratamento de pacientes com a doença de Chagas. Estudos apontam que, na fase aguda da doença - que dura em média dois meses - o índice de cura dos pacientes que fazem uso desse medicamento tem sido de 70%. No entanto, não há evidências científicas de que o mesmo traz benefícios na fase crônica, que pode durar o resto da vida da pessoa infectada pelo protozoário causador da doença, o *Trypanosoma cruzi* (IANNI & MADY, 1998).

Os principais estudos, dos últimos 35 anos, foram comparativos entre nifurtimox e benzonidazol. Boainaim, (1979) mostrou que o benzonidazol apresentava mais diagnósticos negativos ao xeno que o nifurtimox (93% x 44%, respectivamente), porém deixava mais dúvidas nos efeitos colaterais importantes,

como a neurite, dependente da dose, e a dermatite, mais relacionada à sensibilidade à droga.

O benzonidazol é um antiparasitário com atividade específica *in vitro* e *in vivo* contra o *Trypanosoma cruzi*, parasita responsável pela doença de Chagas. A absorção por via digestiva é rápida e praticamente total. As concentrações plasmáticas máximas são alcançadas em 2 a 4 horas. O tempo de meia-vida de eliminação plasmática ($t_{1/2} \beta$) é de 12 horas aproximadamente. O medicamento encontra-se no organismo principalmente sob forma inalterada, sendo os metabólitos rapidamente eliminados pela urina e pelas fezes (OLIVEIRA et al., 2008).

O uso de benzonidazol apresenta taxas de resposta variáveis em diferentes países, o que reflete as diferenças na morfologia do parasita. O benzonidazol apresenta eficácia quando utilizado, principalmente, para tratar a fase aguda da doença de Chagas (DIAS, 1999).

O tratamento é administrado por via oral, duas vezes ao dia, durante 60 dias. Devido à sua baixa solubilidade em água (Leonardi et al., 2009) e conseqüentemente limitada absorção gastrointestinal, há a necessidade de se administrar elevadas doses desse fármaco (Lamas et al., 2006). Dessa forma, o tratamento induz muitas reações adversas, e em muitos casos, os pacientes interrompem a administração do fármaco antes de completado o esquema terapêutico (Cançado, 2002; Coura & Castro, 2002). A descontinuação do tratamento pode contribuir para o fracasso terapêutico e para o aumento da chance de desenvolvimento de resistência do parasito ao fármaco.

O tratamento com benzonidazol quando utilizado na fase crônica, período no qual a maioria dos indivíduos é diagnosticada, apresenta reduzida eficácia, com taxas de cura variáveis, desde ausência até 19,1% de cura (Ferreira, 1990; Viotti et al., 1994, 2006; Suasnabar et al., 2000; Braga et al., 2000; Lauria-Pires et al., 2000; Cançado, 2002; Lana, et al., 2009).

2.5 Sistema Nervoso Autônomo (SNA)

Em meados de 1920, foi definido por Walter Cânon que o sistema nervoso autônomo, por meio de dois sistemas opostos, determinados como o simpático e o parassimpático, eram elementares para manutenção do equilíbrio do organismo, definindo esta condição antagônica com o termo “homeostasia” (GUYTON; HALL, 2006).

Este grande segmento do sistema nervoso, chamado de sistema autônomo equivale ao componente eferente do sistema nervoso visceral. Entretanto, os impulsos nervosos que seguem pelo sistema nervoso autônomo terminam em músculo estriado cardíaco, músculo liso ou glândula e, operam involuntariamente (MACHADO, 2006).

Ele age em um nível subconsciente e domina muitas funções dos órgãos internos, envolvendo o nível de atividade de bombeamento pelo coração, movimentos do trato gastrointestinal e secreção de muitas das glândulas do corpo (GUYTON; HALL, 2006).

Anatomicamente, ambos os sistemas têm como sua unidade funcional primária, uma via motora com dois neurônios para unir o sistema nervoso central ao órgão efetor, o corpo de um deles é encontrado dentro do sistema nervoso central (medula ou tronco encefálico) e é denominado de neurônio pré-ganglionar e o outro tem seu corpo localizado no sistema nervoso periférico, onde se localiza em gânglios e é intitulado de neurônio pós-ganglionar (MACHADO, 2006; BERNE, 2004).

Os neurônios pré-ganglionares simpáticos estão situados nos segmentos torácicos e lombares altos da medula espinhal e os neurônios pré-ganglionares parassimpáticos são localizados no tronco encefálico e na medula espinhal sacral (MACHADO, 2006). A distribuição dos neurônios pós-ganglionares simpáticos é disposta nos gânglios paravertebrais ou nos pré-vertebrais e se localizam a certa distância dos órgãos-alvo, contrastando com o anterior, a localização dos neurônios pós-ganglionares parassimpáticos são encontrados nos gânglios parassimpáticos, próximos, ou às vezes nas próprias paredes do órgãos-alvo (BERNE, 2004).

Os axônios dos neurônios pré-ganglionares são cobertos por bainha de mielina e são também conhecidos como fibras B e pela bainha de neurilema, estes se instituem como fibras pré-ganglionares. Além destes, existem os axônios dos

neurônios pós-ganglionares, que são envolvidos apenas pela bainha de neurilema e se assumem como fibras pós-ganglionares ou fibras C (MACHADO, 2006; BERNE, 2004).

O sistema nervoso autônomo se comunica com o cérebro primitivo, desde o sistema límbico, onde serve influentes funções de memória, do tronco cerebral e do hipotálamo, a saída neural do hipotálamo é retransmitida para a via simpática e núcleos da via parassimpática no tronco cerebral e medula espinhal (KEVIN, 2002).

Em suma, o sistema nervoso autônomo é composto por sistemas sensoriais, que detectam o estado do corpo e dos órgãos e, motor que consiste em sistemas que transmitem sinais para o corpo e órgãos, dita-se que o sistema motor somático controla voluntariamente os movimentos, o sistema motor autônomo controla visceralmente as funções do corpo e inerva glândulas, acontecendo de forma involuntária (KEVIN, 2002).

Uma das peculiaridades mais significantes do sistema nervoso autônomo é a prontidão e a intensidade com que ele pode mudar as funções viscerais (GUYTON; HALL, 2006).

Os dois sistemas opostos que integram o sistema nervoso autônomo, instituídos de simpático e parassimpático, atuam tanto na sinergia ou em oposição na mediação básica, com respostas fisiológicas em tempo real (KEVIN, 2002).

Exclusivamente uma baixa frequência de estimulação é necessária para a ativação completa dos efetores autonômicos, em síntese, um único impulso no nervo a cada poucos segundos é previamente suficiente para manter os efeitos simpáticos ou parassimpáticos normais e, a ativação plena ocorre quando as fibras nervosas descarregam 10 a 20 vezes por segundo (GUYTON; HALL, 2006).

Continuamente, o sistema autonômico conduz a pressão arterial e a frequência cardíaca, taxa respiratória, motilidade gastrointestinal, temperatura corporal e outras funções essenciais para a vida. Para tanto, as taxas de atividades basais tidas, como tônus simpático e tônus parassimpático são as responsáveis por manter, diminuir ou intensificar a atividade de um órgão estimulado (BELLINGER, 2001; GUYTON; HALL, 2006).

A disautonomia reporta-se à condição na qual a deturpação da função autonômica afeta adversamente a saúde. Condição esta, que varia desde um episódio transitório em indivíduos saudáveis até as doenças neurodegenerativas progressivas (ANGELIS, 2004).

Por volta de 1925, pesquisas de Bradbury e Eggleston, sugeriram a fisiopatologia da disfunção autonômica, demonstrando as causas neurogênicas da hipotensão postural. Outro estudo, apontou a relação estreita entre o sistema nervoso simpático com o metabolismo do osso, resultados demonstraram a atividade nervosa simpática excessiva durante a perda óssea, indicando aumento da reabsorção óssea e diminuição da formação óssea (ASHRAF, 2015).

Além das interações anatômicas e fisiológicas complexas entre diferentes estruturas nervosas, tem-se a inervação autonôma cardíaca que é constantemente remodelada, especialmente durante estados de doença, afirmado a partir da análise dos exames patológicos de corações doentes, que indicaram resultados consistentes para a remodelação neural cardíaca (VRACKO et al., 1990).

O coração é um órgão que apresenta células especiais que apresentam ritmicidade própria, capaz de gerar potenciais que alteram sua frequência de batimentos constantemente, a esse fenômeno dá-se o nome de Variabilidade da Frequência Cardíaca (VFC). Os estímulos desencadeados são normais e esperados e revelam a habilidade do coração em responder aos mais variados estímulos fisiológicos e ambientais (VANDERLEI *et al.*, 2009; LOPES *et al.*, 2013).

A avaliação da VFC consiste em um exame não invasivo do equilíbrio relativo dos sistemas nervoso simpático e parassimpático. Deste modo é possível verificar variações no controle do sistema nervoso autônomo sobre os vários sistemas orgânicos (LEOPOLDINO, 2011). A frequência cardíaca (FC) é modulada por ação conjunta dos ramos simpático e parassimpático do Sistema Nervoso Autônomo (SNA), que ao inibir parcial ou completamente a atividade vagal cardíaca, promove a aceleração da FC (CONSTANZO, 2006).

A VFC pode ser mensurada nas mais diversas condições fisiológicas (sono, monitoramento 24 horas, repouso, exercício físico ou com a participação de bloqueio de fármacos) e em condições patológicas podendo o controle neural cardíaco ser avaliado em períodos de tempo curto ou prolongado (CAMBRI, 2008).

O SNA modula a ação da variabilidade da frequência cardíaca despertando grande interesse do ponto de vista clínico, por ser um fator determinante na identificação de doenças que podem interferir no controle do SNA sobre os batimentos cardíacos, sendo a doença de Chagas uma delas.

2.6 Acometimento do SNA na doença de Chagas

Com relação a DC, Resende *et al.* (2003), analisaram a VFC no estado basal em idosos chagásicos na forma indeterminada e concluíram que no estado basal, os grupos idosos chagásicos e não-chagásicos não diferiram quanto à modulação autonômica cardíaca no domínio do tempo. Por outro lado, Cunha *et al.* (2003), que avaliaram a norepinefrina e a VFC como marcadores da disautonomia na cardiopatia chagásica crônica (CCC), evidenciaram, através da VFC, disfunção autonômica nos pacientes chagásicos, porém sem relação com a classe funcional, e que, em um dos grupos, a disautonomia parassimpática na fase precoce da DC precedia a disfunção cardíaca.

Em outro estudo, Vasconcelos e Junqueira Júnior (2012), analisaram a função autonômica cardíaca em pacientes assintomáticos. Os autores encontraram depressão pronunciada da modulação autonômica da variabilidade da frequência cardíaca, mas com balanço vagossimpático preservado nos pacientes chagásicos com cardiopatia, nas posições supina e ortostática. Ribeiro *et al.* (2001), utilizaram três diferentes métodos de verificação da função autonômica em pacientes chagásicos, inclusive VFC, e demonstraram que a disautonomia cardíaca é um evento precoce na DC.

Estudo avaliando o desempenho da estimulação cardíaca artificial através do sistema nervoso autônomo de pacientes chagásicos crônicos concluiu que o marca-passo do tipo VVIR cujo sensor é regulado pelas variações do SNA propicia o restabelecimento dos mecanismos fisiológicos em chagásicos, sendo que 74% deles tiveram melhora de uma ou duas classes funcionais da NYHA (GRECO *et al.*, 1998).

A destruição do sistema nervoso autonômico cardíaco tem sido trabalhado em modelos experimentais da doença de Chagas no cão, coelho, rato, camundongo e hamster. Entretanto, tem sido pouco investigado se a desnervação cardíaca descrita nestes modelos traz repercussões sobre a função autonômica cardíaca. Junqueira Jr. *et al.* (1992), observaram em ratos cronicamente infectados uma atenuação da resposta vagal cardíaca à estimulação barorreflexa, a qual se correlacionou com a presença de neuroganglionite em gânglios intra-cardíacos.

Machado *et al.* (2012), realizaram um experimento em camundongos infectados com tripanossomos para avaliar se a modulação do SNA afeta o sistema imunológico e revelaram que os animais com DC sem tratamento com brometo

apresentaram redução significativa na VFC em relação aos animais do grupo controle e do grupo em tratamento com brometo de piridostigmina. Os resultados, desse estudo pioneiro, foram suficientes para que o grupo de pesquisadores afirmassem que alterações eletrocardiografias estão associadas a infiltrados inflamatórios e que ocorre miocardite aguda 18-21 dias após a infecção com *T. cruzi*.

É importante salientar que a desnervação autonômica cardíaca de pacientes chagásicos pode ser detectada antes do desenvolvimento de disfunção ventricular e insuficiência cardíaca congestiva tanto em indivíduos com a forma crônica sintomática como em indivíduos com a forma indeterminada (PRATA de 2001; MARIN-NETO *et al.* 2007). Um fator que tem preocupado muitos pesquisadores, é que mortes súbitas por eventos cardiovasculares têm sido relatadas nas literaturas, uma vez que podem ter como mecanismos determinantes um evento arritmico, freqüentemente a fibrilação ventricular e, menos comumente, a assistolia ventricular; um evento não-arritmico, como a falência de bomba (insuficiência cardíaca congestiva), ou fenômenos embólicos (cerebrais, pulmonares, mesentéricos, etc) (RASSI-JR; RASSI, 2001; LOPES *et al.*, 1982).

Ao fazer uma correlação entre as alterações mínimas da função cardíacas motilidade esofágica e variabilidade da freqüência cardíaca em pacientes com a forma indeterminada da DC, Leopoldino (2011) notou diferenças estatísticas na análise da VFC no domínio do tempo e da freqüência entre seus grupos experimentais.

Em resumo, os elementos disponíveis na literatura sobre o envolvimento do sistema neurovegetativo cardiovascular na fase aguda da doença de Chagas continuam escassos, limitando-se a estudos com animais experimentais, podendo ser notado que as informações são mais observadas nos casos crônicos da enfermidade.

3 JUSTIFICATIVA

O presente estudo integra o macroprojeto "Avaliação cardíaca, da função do sistema nervoso autônomo, do metabolismo e da atividade inflamatória nas diversas formas evolutivas da doença de Chagas em pacientes autóctones da Amazônia", aprovado no edital 030/13 da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), do Professor Dr. João Marcos Bemfica Barbosa Ferreira.

Segundo dados do Ministério da Saúde, a Amazônia Legal destaca-se no aparecimento da doença na fase aguda e em surtos por contaminação alimentar (açai, caldo de cana, bacaba, dentre outros). Os desmatamentos crescentes favorecem o crescimento da população vetorial, e o êxodo rural acentuado e as precariedades do saneamento básico configuram-se como favorecedores da urbanização da doença.

No estado do Amazonas foram registrados, de 1980 a 2013, 111 casos da doença de Chagas. A maioria apresentava a forma aguda da DC que são isolados ou ligados a surtos por transmissão oral; este aumento também reflete melhorias no diagnóstico de casos e uma maior vigilância por serviços direcionados, principalmente à malária (BARBOSA et al., 2015).

A forma cardíaca da Doença de Chagas tem uma grande importância pelo índice de morbimortalidade causados por diversos danos ocorridos no sistema de condução e pela falência cardíaca nos casos graves (LUNARDELLI *et al.*, 2007), além de ser a principal forma de limitação do paciente.

Resende (2003), cita que não encontrou alterações sobre a análise da função autonômica cardíaca em pacientes idosos chagásicos com a forma indeterminada em áreas endêmicas. Ferreira (2013), também afirma que a progressão para a disfunção miocárdica representa a principal causa de morbidade e mortalidade. Além disso, alguns trabalhos sugerem que a insuficiência cardíaca de etiologia chagásica apresenta prognóstico ruim, quando comparada a de outras etiologias, tais como: a doença isquêmica e a cardiomiopatia dilatada idiopática, nos reforçando ainda mais sobre a importância desse comprometimento numa região com muitos casos da doença. Embora a região seja uma área endêmica para a doença, poucos estudos foram feitos a fim de analisar as consequências na atividade cardíaca devido à degeneração do SNA nessas áreas.

Levantamentos bibliográficos realizados na biblioteca virtual PubMed, revelaram a precariedade de estudos avaliando o comportamento do sistema nervoso autonômico de pacientes com a doença de Chagas na forma aguda, principalmente numa das áreas mais endêmicas do Brasil, o Amazonas.

Neste estudo propomos que pacientes infectados com a doença de Chagas na fase aguda apresentam disautonomia o que leva a enfermidade a progressão mais agressiva nos indivíduos acometidos com tal patologia.

Diante do exposto, considera-se este trabalho de caráter inovador que pode contribuir para o crescimento e desenvolvimento de pesquisas sobre o sistema nervoso autonômico dos pacientes chagásicos que apresentam a forma aguda da doença.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral:

- Avaliar o sistema nervoso autonômico cardíaco dos pacientes chagásicos na forma aguda pré e pós tratamento com benzonidazol.

5 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Casuística

A Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado (FMT-HVD) é o centro de referência para doenças tropicais no estado do Amazonas, recebendo grande parte dos casos de doença de Chagas notificados do Estado.

Foram avaliados trinta indivíduos divididos em dois grupos. Todos os grupos foram pareados entre si, de acordo com o gênero e a idade (intervalo máximo de + ou - 2anos).

- Grupo Controle (GC): 15 indivíduos saudáveis, com sorologia negativa para doença de Chagas.
- Grupo Chagas (GCa): composto por 15 pacientes com diagnóstico com Doença de Chagas aguda.

Critérios de inclusão

- Diagnóstico de DC aguda através da detecção parasitos circulantes no exame de sangue direto (gota espessa ou xenodiagnóstico) ou presença de anticorpos anti-*T.cruzi* do tipo IgM com título acima de 1:40 no método de ELISA ou Imunofluorescência Indireta.
- Foram considerados aptos a participar do estudo indivíduos com idade entre 18 e 65 anos.

Critérios de exclusão

As seguintes condições clínicas constituirão critérios de exclusão do estudo:

- Tabagismo
- Doença valvar cardíaca moderada ou grave

- Hipertensão arterial (pressão arterial sistólica > 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica > 90 mmHg)
- Diabetes mellitus (glicemia de jejum \geq 126 mg/dl ou glicemia pós-prandial de duas horas > 200 mg/dl após teste de tolerância oral à glicose)
- Uso de estatinas
- Fibrilação atrial
- Bloqueio atrioventricular avançado
- Uso de marca-passo
- Tireoidopatias
- Doença pulmonar obstrutiva crônica
- Doença Coronariana
- Insuficiência cardíaca classe funcional III ou IV pela *New York Heart Association* (NYHA)

A figura 2 resume a casuística deste trabalho.

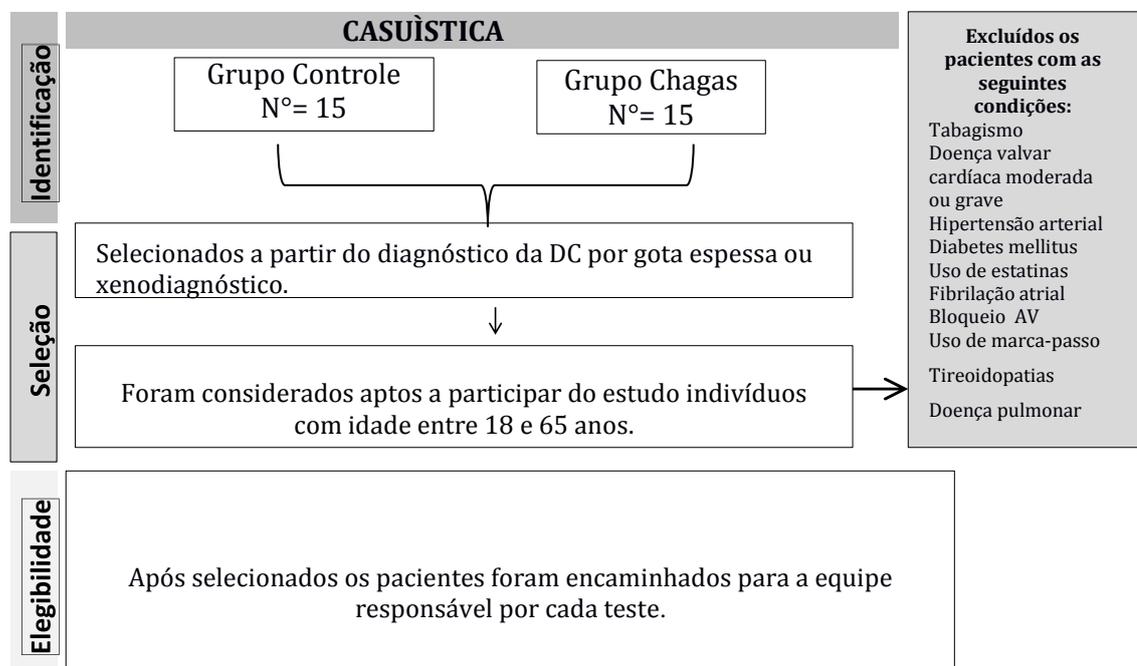


Figura 2. Fluxograma da casuística

Coleta de dados

Especialistas do serviço foram treinados para a coleta dos dados clínicos. O treinamento teve como foco orientação a respeito da pesquisa, apresentação dos instrumentos de coleta de dados e estabelecimento do fluxo de informação no protocolo da pesquisa.

Após detecção de caso de Doença de Chagas o médico infectologista encaminhou o paciente elegível para a pesquisa ao Hospital Universitário Francisca Mendes, a fim de realizar as avaliações cardíacas e laboratoriais. Os controles foram submetidos às mesmas avaliações.

Todos os sujeitos da pesquisa foram avaliados por anamnese e exame físico, eletrocardiograma em repouso, ecocardiograma transtorácico, holter 24 horas e frequencímetro de pulso com protocolo específico.

As avaliações clínicas dos casos foram realizadas em duas fases distintas: pré-tratamento (tratamento realizado com benzonidazol de 0,5 a 0,7ml/kg por dose 2x ao dia durante 60 dias) e na primeira semana após término do tratamento. Os exames iniciais foram realizados em, no máximo, até 48h após o diagnóstico e repetidos dentro da primeira semana após o término do tratamento.

Os controles foram avaliados somente na primeira visita ao serviço. A avaliação clínica e cardiológica foi realizada pelo pesquisador/orientador, especialista em Cardiologia, e incluiu anamnese e exame físico completo. Após avaliação clínica, foi realizado eletrocardiograma em repouso com 12 derivações padrão, acrescentado da derivação DII longo. O eletrocardiograma foi realizado no Hospital Universitário “Dona Francisca Mendes” por técnico devidamente treinado. A interpretação dos traçados foi realizada por médico especialista em cardiologia pela Sociedade Brasileira de Cardiologia e Associação Médica Brasileira (SBC-AMB).

Todos os exames de ecocardiograma transtorácico foram realizados pelo mesmo médico, especialista em ecocardiografia pela SBC-AMB, no setor de cardiologia do mesmo Hospital.

Avaliação ecocardiográfica transtorácico

Foi realizado ecocardiograma transtorácico bidimensional complementado com modo-M, Doppler pulsátil, tecidual e colorido, de acordo com as recomendações da

Sociedade Americana de Ecocardiografia (2005). Foram feitas medidas das cavidades cardíacas e avaliação das funções sistólica e diastólica ventriculares.

As cavidades medidas foram: diâmetro diastólico ventricular esquerdo (DDVE), diâmetro diastólico ventricular direito (DDVD) e volume atrial esquerdo indexado pela superfície corpórea (VAEi). A função sistólica ventricular foi avaliada pela fração de ejeção ventricular esquerda pelo método de Simpson (FEVE), pela velocidade sistólica do anel mitral lateral (S' lateral) e pela velocidade sistólica do anel tricúspide (S' tricúspide). A função diastólica ventricular esquerda foi avaliada pela relação entre a onda E do fluxo mitral com a onda E do anel mitral ao Doppler tecidual (Relação E/E') e pela velocidade diastólica do anel mitral lateral (E' lateral).

Avaliação do Sistema Nervoso Autônomo

A avaliação da função do Sistema Nervoso Autônomo foi realizada pelo Holter 24 horas e pela VFC em períodos curtos. Os pacientes foram orientados a não fazer uso de substâncias estimulantes, como café, chás, refrigerantes e bebidas alcoólicas no dia anterior e no dia dos exames.

A) Holter 24 horas

O Holter 24 horas foi realizado com gravador e software da marca Cardios. Foi realizada medida da variabilidade da frequência cardíaca no domínio do tempo. A análise da variabilidade da frequência cardíaca foi feita apenas quando, pelo menos, 18 horas de traçado de boa qualidade e, pelo menos, 85% dos batimentos sinusais estavam presentes.

Os parâmetros avaliados foram:

Domínio do Tempo:

- I) Desvio padrão médio de todos os intervalos RR normais (SDNN)
- II) Desvio padrão das médias dos intervalos RR em intervalos de 5 minutos (SDANN)

- III) Raiz quadrada da média do quadrado das diferenças dos intervalos RR adjacentes (RMSSD)
- IV) Porcentagem dos ciclos adjacentes com diferenças de duração acima de 50 ms (pNN50)

B) Variabilidade da Frequência Cardíaca em períodos curtos.

Os iR-R foram coletadas através do monitor cardíaco portátil (RS800cx, Polar[®], Kempele, Finlândia) e a cinta elástica (Polar transmissor WearLink[®]) foi colocada no tórax dos sujeitos a altura da terceira costela e do processo xifoide. A cinta elástica contém eletrodos que conseguem captar a FC através de uma unidade de processamento eletrônico e um transmissor de campo eletromagnético. Os sinais da FC são continuamente transmitidos pela unidade receptora Polar Advantage[®] via campo eletromagnético. A codificação digital do comprimento do iR-R pelo software Performance Precision Polar[®] através de um processo tacográfico via monitor cardíaco. A seleção das seções para a análises da VFC foi realizada através dos momentos mais estáveis, contendo 256 iR-R. A análise da VFC foi realizada através do software de análises Kubios 2.0 para Windows (Grupo de análises de sinais biomédicos e imagens médicas, Departamento de física aplicada, Universidade de Kuopio, Finlândia). O Software foi usado para analisar a VFC em relação ao domínio do tempo, domínio da frequência e no domínio não linear do tempo, em relação ao domínio do tempo os valores analisados foram: a raiz quadrada da somatória do quadrado da diferença dos iR-R divididos pelo número de intervalo R-R (rMSSD), desvio padrão da média aritmética de todos os iR-R normais (SDNN). Os parâmetros do domínio da frequência foram: Baixa frequência normalizado (BF un), Alta frequência normalizado (AF un) e a relação entre a baixa frequência e alta frequência (BF/AF) a qual avalia o comportamento simpato-vagal. Os parâmetros do domínio não linear do tempo foram: Desvio padrão dos intervalos instantâneo do intervalo R-R do tipo I (SD1) e II (SD2) (Task Force of European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology 1996).

O protocolo experimental deste procedimento foi executado com o paciente adotando a posição de decúbito dorsal (supino) por um período de cinco minutos. Ainda em decúbito o paciente foi orientado pelo profissional responsável, e previamente treinado, a realizar exercícios respiratórios, denominados inspiratórios

em tempos, em 1 série com 5 tempos respiratórios. Em seguida, o paciente ficou em repouso de cinco minutos. Após o descanso o paciente ficou em sedestação à beira da maca com os ângulos de 90° graus de calcanhar, joelho e quadril sendo aferida sua VFC por cinco minutos. Em seguida, executou mais uma série de exercícios inspiratórios em tempos. Posteriormente, houve mais um repouso de 5 minutos. Para finalizar o paciente foi orientado a realizar exercício respiratório diafragmáticos durante 4 minutos na mesma posição sentada.

Não houve grupo controle na análise da VFC em períodos curtos sendo esses dados obtidos apenas do grupo chagas para comparação antes e após o tratamento com o benzonidazol.

Análise estatística

As variáveis categóricas foram expressas em frequência e as variáveis contínuas em média e desvio padrão.

As comparações entre os pacientes no D0 e D60 e entre pacientes e controles foram realizadas por meio do teste t-Student bicaudal, precedido de teste de normalidade (Shapiro-Wilk) e de igualdade de variâncias (teste de Levene). As variáveis categóricas foram comparadas pelo teste exato de Fisher. O nível de significância adotado foi de $P < 0,05$.

Os dados foram digitados e analisados no aplicativo IBM® SPSS® Statistics Version 21.

Considerações éticas

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética Médica em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Universidade do Estado do Amazonas (CAAE: 31812914.9.0000.5016). Todos os pacientes foram devidamente informados sobre os objetivos da pesquisa e somente incluídos no estudo após assinarem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, obedecendo à Resolução 496/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

6 RESULTADOS

6.1 Características Clínicas e Sociodemográficas da População Estudada

O grupo controle (GC) foi constituído por 15 indivíduos sendo 8 (53%) do sexo feminino e 7 (47%) do sexo masculino.

O Grupo Chagas (GCa) foi constituído de 15 indivíduos sendo equânime em relação ao gênero.

A média de idade dos grupos estudados foi: GC 37 ± 13 anos e GCa 37 ± 27 anos. Não houve diferença entre os grupos conforme indica a tabela 1, com relação à idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC), pressão arterial sistólica (PAS) ou pressão arterial diastólica (PAD) e frequência cardíaca (FC).

A maior parte da população em estudo é advinda do interior do Estado do Amazonas, sendo 4 casos isolados (diretamente do triatomíneo) e 11 provenientes de surtos ocasionado por contaminação por via oral.

Tabela 1 - Características clínicas da população estudada

	Controle	Chagas	Valor p
Idade	37 ± 13	37 ± 27	0.97
Peso	68 ± 11	64 ± 11	0.35
Altura	162 ± 08	168 ± 08	0.05
IMC	24 ± 03	24 ± 02	0.94
PAS	114 ± 10	111 ± 09	0.38
PAD	71 ± 08	70 ± 07	0.81
FC	73 ± 08	80 ± 10	0.51

Valores expressos em média (\pm DP) * $p < 0,001$ em relação ao Grupo controle
 IMC: Índice de Massa Corporal; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; FC: frequência cardíaca.

Ao exame de eletrocardiograma (ECG) encontramos, no grupo chagas, 11 (73%) pacientes com ECG normal, 3 (20%) com alteração de repolarização ventricular (ARV), sendo esta a alteração eletrocardiográfica predominante na população em questão. Outras alterações eletrocardiográficas encontradas, porém sem predomínio nítido com 1 (7%) de distúrbio de condução pelo ramo direito (DCRD). A figura 3 mostra as características encontradas neste estudo.

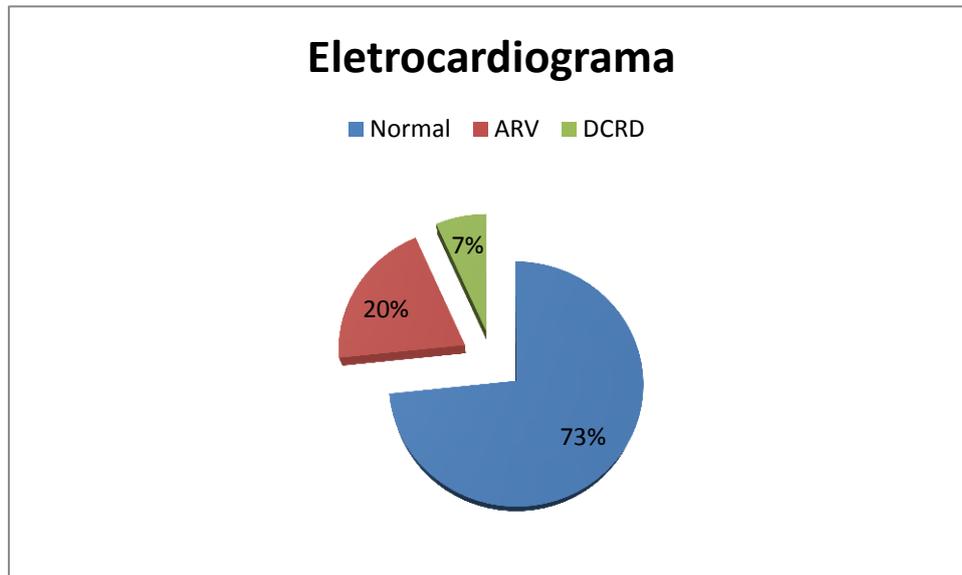


Figura 3. Eletrocardiograma dos pacientes do grupo chagas agudo.

6.2 Ecocardiograma Transtorácico

No que tange a comparação dos grupos, em relação ao diâmetro diastólico ventricular esquerdo (DDVE) e à fração de ejeção ventricular esquerda (FEVE), não houve diferença em ambos os grupos estudados, conforme valores expressos em média \pm desvio na tabela 2.

Dos indivíduos do Grupo Chagas Agudo, 12 apresentaram parâmetros normais ao ecocardiograma e 2 manifestaram discreto derrame pericárdico, apesar de não apresentarem diferença estatística.

Tabela 2 - Medidas obtidas no ecocardiograma transtorácico

	Controle	Chagas	Valor <i>p</i>
DDVE	45 \pm 04	46 \pm 05	0.46
FEVE	76 \pm 04	74 \pm 04	0.35

Valores expressos em média (\pm DP) * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle
 FEVE: fração de ejeção ventricular esquerda, DDVE: diâmetro diastólico ventricular esquerdo.

6.3 Avaliação do Sistema Nervoso Autônomo

6.3.1 Análise do Holter 24 horas

As medidas de variabilidade da frequência cardíaca (VFC) foram avaliadas no domínio tempo. Em relação aos parâmetros de avaliação global, os índices SDNN e SDANN apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os grupos tanto em relação ao grupo controle quanto ao pré e pós tratamento.

Os índices de avaliação da atividade parassimpática, tais como: r MSSD, pNN50 apresentaram diferenças significativas –entre o grupo controle e o grupo chagas agudo antes do tratamento. Os valores também foram significativos quando os dados comparam o GCa antes e após o tratamento. A tabela 3 mostra esses resultados.

Tabela 3 - Índices de análise do SNA no Holter 24 horas

	Controle	Antes do Tratamento	Após Tratamento	Valor p Controle x Antes	Valor p Antes x Após
SDNN	156 ± 15	97 ± 39	133 ± 37	> 0.0002	0.01
SDANN	139 ± 30	83 ± 36	117 ± 39	0.0004	0.01
ASDNN	67 ± 13	45 ± 21	58 ± 22	0.01	< 0.05
rMSSD	41 ± 18	17 ± 08	34 ± 19	< 0.05	< 0.05
pNN50	13 ± 10	5.7 ± 8.2	11 ± 11	< 0.05	< 0.05

Valores expressos em mediana (intervalo interquartil) * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle
 SDNN: Desvio padrão médio de todos os intervalos RR; SDANN: Desvio padrão das médias dos intervalos RR em intervalos de 5 minutos; ASDNN: Média dos desvios-padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos; RMSSD: Raiz quadrada das diferenças sucessivas da duração dos ciclos normais medidos; pNN50: porcentagem dos ciclos sucessivos com diferenças de duração acima de 50 ms.

6.3.2 Variabilidade da Frequência Cardíaca em períodos curtos

As medidas de variabilidade da frequência cardíaca em períodos curtos foram avaliadas em pacientes na posição supina, sendo avaliados no domínio da frequência e do tempo. Com relação aos parâmetros de avaliação global, os índices iRR e SDNN não apresentaram diferenças significativas entre os grupos.

Os índices de avaliação da atividade parassimpática, tais como: *r*MSSD, pNN50 e componente de alta frequência (AF) em valores absolutos foram maiores no grupo GCa após o tratamento.

O componente HFun em valores absolutos também foi maior no grupo chagas, quando comparado ao grupo controle, demonstrando nível de significância estatística com $p < 0,05$. Os componentes LFun e LF/HF também apresentaram valores significativos ($p < 0,05$) do GCa em relação ao controle.

Os dados referentes à variabilidade da frequência cardíaca em períodos curtos estão descritos nos dados da Tabela 4.

Tabela 4 - Índices de análise do SNA através da Variabilidade da Frequência Cardíaca em períodos curtos (posição supina).

	Antes do tratamento	Após o tratamento
iRR	724 ± 218	875 ± 289
SDNN	32 ± 16	46 ± 26
<i>r</i>MSSD	29 ± 19	55 ± 21 *
pNN50	6.9 ± 9	20 ± 17 *
AF ab	289 ± 397	975 ± 859 *
BF ab	979 ± 1324	947 ± 1109
AF un	32 ± 18	55 ± 18 *
BF un	67 ± 18	44 ± 18 *
BF/AF	2.7 ± 42.30	1.0 ± 42.30 *

Valores expressos em mediana (intervalo interquartil) * $p < 0,05$ em relação ao grupo controle iRR; SDNN: Desvio padrão médio de todos os intervalos RR; SDANN: Desvio padrão das médias dos intervalos RR em intervalos de 5 minutos; ASDNN: Média dos desvios-padrão dos intervalos RR normais a cada 5 minutos; RMSSD: Raiz quadrada das diferenças sucessivas da duração dos ciclos normais medidos; pNN50: porcentagem dos ciclos sucessivos com diferenças de duração acima de 50 ms; AF ab: alta frequência absoluta; BF ab: baixa frequência absoluta; AF un: unidade de alta frequência; BF un: unidade de baixa frequência; BF/A: relação baixa frequência alta frequência.

7 DISCUSSÃO

O padrão de evolução da DC ainda não está totalmente definido, devido à morbidade variar muito de uma região para outra pela variabilidade de linhagens do *T. cruzi*.

Neste estudo o objetivo foi avaliar o comportamento do sistema nervoso autonômico de indivíduos com a forma aguda da Doença de Chagas numa região endêmica no Norte do Brasil. Até o momento, ao nosso conhecimento, não há trabalhos análogos.

Pode-se observar que os parâmetros clínicos iniciais foram semelhantes nos dois grupos estudados. Embora se tenha evidenciado que cerca de 27% dos indivíduos do Grupo Chagas Agudo tenha manifestado alteração ao exame eletrocardiográfico. No trabalho de Petrili (2003), que analisou a VFC em estado basal em idosos com a forma indeterminada da DC verificou padrões semelhantes de ECG.

Observa-se que os parâmetros ecocardiográficos, também foram semelhantes nos dois grupos estudados. Para Costa (2016), é esperado que pacientes com a forma indeterminada da Doença de Chagas apresentem índice de desempenho sistólico global do VE dentro da normalidade em condições basais.

Os primeiros estudos que avaliaram a atividade do sistema nervoso autonômico em indivíduos com DC foram realizados nos estudos de necropsia realizados por Köberle (1959) e Mott (1965) que demonstraram lesões do sistema nervoso intracardiaco de pacientes chagásicos e observaram que as estruturas nervosas do coração podem ser acometidas de forma difusa, algumas vezes instalando-se de maneira focal, nem sempre regular.

Tafuri e Raso (1962), em estudo experimental, demonstraram os danos provocados pela doença de Chagas ao sistema nervoso simpático e parassimpático elucidando que as lesões ganglionares encontradas envolvem o gânglio como um todo ou apenas parte dele, afetando as fibras nervosas intra e extraganglionares. A variabilidade da frequência cardíaca mostrou-se significativamente menor no grupo de pacientes, denotando disautonomia por diminuição da VFC relativamente aos controles. Foi verificada que após o tratamento houve evolução positiva nos mesmos índices no grupo em questão quando comparados aos ao início do tratamento.

No estudo de Leopoldino (2011), ao avaliar a VFC de pacientes com a forma indeterminada da DC, verificaram os mesmos valores do grupo de pacientes em relação do controle. Para a avaliação da função autonômica, utilizou-se a VFC no domínio do tempo através do Holter 24 horas. Notou-se que nas 4 variáveis estudadas houve diferença estatística em relação ao grupo de comparação, sendo os valores menores no grupo de pacientes quando avaliada a atividade parassimpática e os valores globais antes do tratamento.

Os valores pNN50 e rMSSD são parâmetros que indicam atividade parassimpática estimando variações em curtos prazos no intervalo RR. Os estudos de Guzzetti (1991), analisando a variabilidade RR em pacientes chagásicos sem insuficiência cardíaca através da análise espectral, mostraram uma reduzida capacidade de ativar respostas simpáticas (perda ou diminuição dos componentes de baixa frequência), além de sinais de comprometimento vagal (alterações diminuídas no componente HF durante a posição de pé e a respiração profunda). Ribeiro et al. (2002), estudaram o poder da VFC em pacientes com DC e obtiveram como resultado que o intervalo RR é um forte preditor de mortalidade em outras cardiomiopatias e que pode cogitar disautonomia cardíaca que podem não ter sido detectado na análise no domínio do tempo a longo prazo. Esta alteração pode explicar o aumento do risco de morte súbita por arritmia encontrada na doença de Chagas, mesmo na ausência de sinais de disfunção ventricular esquerda. Ressalta-se que estes trabalhos observaram tais parâmetros em pacientes com a forma crônica da DC.

Apesar de nosso estudo tratar pacientes com a forma aguda da DC buscamos afirmações nos trabalhos de Rezende et al. (2003), com pacientes com a forma crônica da DC que evidenciaram, também, que o índice pNN50, que avalia mudanças rápidas da variabilidade da frequência cardíaca, foi significativamente inferior nos grupos idosos, em relação ao grupo jovem, sugerindo comprometimento da modulação parassimpática com o envelhecimento.

O índice SDNN estima as variações em longo prazo não demonstrando aptidão exclusiva com a atividade vagal, porém está relacionada a esta. No estudo realizado por Ribeiro et al. (2001), verificaram redução nos valores de SDNN, pNN50 e rMSSD no grupo de chagas crônico em relação ao grupo controle tendo como conclusão que a disautonomia parassimpática precede a disfunção ventricular.

Num estudo de VFC com análise dos índices no domínio do tempo em portadores de cardiopatia chagásica crônica, antes e após um programa de exercícios, foi observada uma redução na capacidade da resposta simpática, bem como uma diminuição global da função autonômica observada pela redução do SDANN em ambos os grupos de pacientes chagásicos (SOUZA, 2013).

O questionamento seguinte foi comparar a avaliação da variabilidade da frequência cardíaca em períodos curtos do grupo chagas agudo pré e pós tratamento. As medidas foram avaliadas no domínio de tempo e frequência.

Percebe-se melhora significativa em 5 das 9 variáveis avaliadas. A avaliação da atividade parassimpática nos índices pNN50 e rMSSD produziram melhora após o tratamento. No domínio da frequência os valores significativos foram evidenciados nos índices AF ab, BF un, AF un e BF/AF que correspondem à atividade simpática após o tratamento.

Nos estudos de Rassi et al. (2006), após análise espectral pós infarto do miocárdio, revelaram diminuição da potencia total e de todos os componentes individuais da VFC, porém em relação aos índices AF e BF foi observado aumento de AF e diminuição de HF, denotando predomínio simpático e diminuição do tônus vagal. Ressalta-se que essas condições predispõem a instabilidade elétrica e morte súbita. Resultados semelhantes foram encontrados neste estudo.

Barbosa-Ferreira (2013), evidenciou dados semelhantes aos de nosso estudo ao avaliar a relação BF/AF sugestiva de predomínio de atividade simpática em pacientes com a forma indeterminada da DC.

Alguns autores descrevem que o acometimento do SNA ocorre apenas nas fases mais tardias de cardiopatia, e é secundário à disfunção ventricular (DÁVILA, 1998). Várias publicações demonstraram resultados semelhantes a nosso estudo, porém com pacientes chagásicos crônicos, com acometimento sobretudo do ramo parassimpático em pacientes com a forma indeterminada da doença de Chagas (RIBEIRO et al., 2001; MOLINA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2002). A disfunção autonômica cardíaca manifesta-se em graus variáveis, geralmente por baixa absoluta ou predominante da função parassimpática com elevação drástica da atividade simpática relativa, sendo um sinal clínico comum na DC (AMORIN et al., 1982).

Com relação ao acometimento do ramo simpático, em geral, nas formas mais avançadas da cardiopatia chagásica, os dados são mais controversos. Em pacientes com insuficiência cardíaca de qualquer etiologia, é bem estabelecido o aumento da atividade simpática periférica, medida pelo aumento da concentração plasmática ou urinária de noradrenalina e pelo aumento da atividade no nervo simpático muscular periférico (PEPPER & LEE, 1999). Leopoldino (2011) enfatiza a importância de estudos sobre a disfunção autonômica a fim de evidenciar resultados que expliquem melhor as alterações patológicas no processo de adoecimento na DC tais como, arritmias que podem levar a morte súbita, por exemplo.

Anteriormente ao nosso estudo somente fora possível verificar alterações no sistema nervoso autonômico em casos agudos da DC através de estudos com modelos experimentais. Um estudo pioneiro demonstrou a disfunção autonômica induzida pela doença de Chagas aguda em camundongos. Esta disfunção foi caracterizada por uma redução acentuada na variabilidade da frequência cardíaca, afetando principalmente os componentes de AF, bem como uma redução simultânea no tônus vagal cardíaco (e para um tom simpático, em menor medida), medido pelo bloqueio farmacológico em animais chagásicos (MACHADO et al., 2012). Ribeiro et al. (2002) descreveu em seus relatórios morfológicos as lesões dos gânglios e nervos em ratos chagásicos.

Nota-se na literatura escassez no desenvolvimento de pesquisa que relatem a avaliação da VFC de pacientes com a forma aguda da DC, bem como avaliando os parâmetros de variabilidade da frequência cardíaca em períodos curtos.

Portanto, acreditamos que as alterações no SNA encontradas em nosso estudo embasam nossa hipótese de que as manifestações de alterações da VFC ocorrem já na fase aguda da DC, sugerindo maiores cuidados no desenvolvimento da enfermidade nesses grupo de pacientes.

8 CONCLUSÕES

- Ocorre acometimento do SNA, principalmente em seu ramo parassimpático, na forma aguda da doença de Chagas.

- A maioria das alterações apresenta melhora com o tratamento específico para DC.

REFERÊNCIAS

- ABEL, L. C. J. et al. Chronic Chagas' disease cardiomyopathy patients display an increased IFN-gamma response to *Trypanosoma cruzi* infection. **Journal of autoimmunity**, v. 17, n. 1, p. 99–108, ago. 2001.)
- ABRAHAMSOHN IA, Coffman R. Cytokine and Nitric Oxide regulation of the immunosuppression in *Trypanosoma cruzi* infection. **Journal Immunol.** 1995; 155: 3955-63.
- ACOSTA RODRIGUEZ, E. V., E. Zuniga, C. L. Montes, A. Gruppi. 2003. Interleukin-4 biases differentiation of B cells from *Trypanosoma cruzi*-infected mice and restrains their fratricide: role of Fas ligand down-regulation and MHC class II-transactivator up-regulation. **Journal Leukocyte Biol.** 73:127.
- AHMED, R., D. Gray. 1996. Immunological memory and protective immunity: understanding their relation. **Science** 272:54.
- ALIBERTI JC, Souto JT, Marino AP, Lannes-Vieira J, Teixeira MM, Farber J, et al. Modulation of chemokine production and inflammatory responses in interferon-gamma and tumor necrosis factorR1-deficient mice during *Trypanosoma cruzi* infection. **Am Journal Pathology** 2001; 158: 1433-40.
- American Society of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: A report from the American Society of Echocardiography's guidelines and standards Committee and the Chamber quantification writing group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. **J Am Soc Echocardiogr.** 2005;18:1440-63.
- ANDRADE, S. G.; ANDRADE, Z. A. Doença de Chagas e alterações neuronais no plexo de Auerbach (estudo experimental em camundongos). **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 8, p. 219-224. 1966.
- ASHRAF, A. et al. Resposta da pele simpático e sintomas vasomotores na pós-menopausa Osteoporotic Mulheres. **International Journal of Nursing Base Comunitária e Obstetrícia.** v. 3, n. 3, p. 227-233, 2015.
- BARBOSA, Maria das Graças Vale et al . Chagas disease in the State of Amazonas: history, epidemiological evolution, risks of endemicity and future perspectives. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 48, supl. 1, p. 27-33, June 2015 .
- BARBOSA, Maria das Graças Vale et al . Chagas disease in the State of Amazonas: history, epidemiological evolution, risks of endemicity and future perspectives. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 48, supl. 1, p. 27-33, June 2015 .
- BARBOSA-FERREIRA JM, MADY C, IANNI BM, LOPES HF, RAMIRES FJA, SALEMI VMC, et al. (2015) Dysregulation of Autonomic Nervous System in Chagas' Heart Disease Is Associated with Altered Adipocytokines Levels. **PLoS ONE** 10(7): e0131447. doi:10.1371/journal.pone.0131447.

BARBOSA-FERREIRA, João Marcos et al . Acometimento cardíaco em Casos de Doença de Chagas Aguda da Amazônia. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 94, n. 6, p. 147-149, June 2010.

BELLINGER, D. L. et al. **Psychoneuroimmunology** . San Diego: Academic, 2001.

BERNE, R. B.; LEVY, M. N. **Tratado de fisiologia humana**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

Boainain E - Tratamento etiológico da doença de Chagas na fase crônica. **Rev Goiana Med** 1979; 25: 1-60.

BOROVIKOVA, L. V. et al. Vagus nerve stimulation attenuates the systemic inflammatory response to endotoxin. **Nature**, v. 405, p. 458–462, 2000.

BRADBURY, S.; EGGLESTON, C. Postural hypotension. A report of three cases. **Am Heart J.** v. 1, p. 73-86, 1925.

BRASIL, Ministério de Saúde. **Doenças Infecciosas e Parasitárias**: guia de bolso. 8 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/doencas_infecciosas_parasitaria_guia_bolso.pdf> Acesso em: 15 mar. 2015.

BRENER Z, Gazzinelli RT. Immunological control of Trypanosoma cruzi infection and pathogenesis of Chagas' disease. **Int Arch Allergy Immunol** 1997; 114:103-10.

BRUM-SOARES, Lucia Maria et al. Morbidade da doença de Chagas em pacientes autóctones da microrregião do Rio Negro, estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, p. 170-177, 2010.

CANNON, W. B. **The Wisdom of the Body**. New York: W.W. Norton, 1939.

CHAGAS C. Sobre a verificação do Trypanosoma cruzi em macacos do Pará (Chrysothrix sciureus). **Nota prévia. Scientia Medica**, v. 2, p. 75-77, 1924.

CHAGAS, C. Processos patogênicos da tripanozomíase americana. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 8, p. 5-36, 1916.

CHAGAS, C. Tripanosomíase americana: forma aguda da molestia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.8, p. 37-60, 1916.

CHROUSOS, G. P. The stress response and immune function: clinical implications. The 1999 Novera H. Spector Lecture. **Ann. NY Acad. Sci.** v. 917, p. 38–67, 2000.
COURA JÚNIOR. Transmissão da infecção chagásica por via oral na história natural da doença de Chagas. **Ver. Soc. Bras. Medicina Tropical**. v. 39, (Supl 4) p.113-7, 2006.

COURA, José Rodrigues et al. Morbidity of Chagas heart disease in the microregion of Rio Negro, Amazonian Brazil: a case-control study. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 8, p. 1009-1013, 2013.

COURA, José Rodrigues. Chagas disease: control, elimination and eradication. Is it possible? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 108, n. 8, p. 962-967, 2013.

COURA, José Rodrigues; JUNQUEIRA, Angela C. V. Risks of endemicity, morbidity and perspectives regarding the control of Chagas disease in the Amazon Region. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 107, n. 2, p. 145-154, 2012.

CUNHA-NETO E, Duranti M, Gruber A, Zingales B, De Messias I, Stolf N. Autoimmunity in Chagas Disease cardiopathy: biological relevance of a cardiac myosin-especific epitope crossreactive to an immunodominant *Trypanosoma cruzi* antigen. **Proc Natl Acad Sci USA**. 1995; 92(8): 3541-5.

DEANE, L. M. Animal reservoirs of *Trypanosoma cruzi* in Brazil. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais**, v. 16, p. 27-48, 1964.

DIAS, J. C. P.; COURA JÚNIOR (Org.). **Clínica e terapêutica da doença de Chagas: uma abordagem prática para o clínico geral** [online]. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 1997. 486 p.

DIAS, JCP e Schofield, CJ. The Evolution of Chagas Disease (American Trypanosomiasis) Control after 90 Years since Carlos Chagas. **Discovery. Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Vol. 94, Suppl. I: 103-121, 1999.

DOS SANTOS VIRGILIO F, Pontes C, Dominguez MR, Ersching J, Rodrigues MM, Vasconcelos JR. CD8(+) T cell-mediated immunity during *Trypanosoma cruzi* infection: a path for vaccine development? **Mediators Inflamm**. 2014:243786.

DUTRA WO, Gollob KJ, Pinto-Dias JC, Gazzinelli G, Correa-Oliveira R, Coffman RL, et al. Cytokine mRNA profile of peripheral blood mononuclear cells isolated from individuals with *Trypanosoma cruzi* chronic infection. **Scand J Immunol** 1997; 44: 74-80.

ELENKOV I. J.; CHROUSOS G. P. Stress hormones, Th1/Th2 patterns, pro/anti-inflammatory cytokines and susceptibility to disease. **Trends Endocrinol Metab**, v. 10, p. 359–368, 1999.

FÉ, Nelson Ferreira et al. Ocorrência de triatomíneos em ambientes silvestres e domiciliares do município de Manaus, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, p. 642-646, 2009.

Fearon, D. T., P. Manders, S. D. Wagner. 2001. Arrested differentiation, the self-renewing memory lymphocyte, and vaccination. **Science** 293:248.

FELTEN, D. L. et al. Noradrenergic and peptidergic innervation of lymphoid tissue. **J Immunol**. v. 135, p. 755s–765s, 1985.

FERNÁNDEZ ER, Olivera GC, Quebrada Palacio LP, González MN, Hernandez-Vasquez Y, Sirena NM, Morán ML, Ledesma Patiño OS, Postan M. Altered distribution of peripheral blood memory B cells in humans chronically infected with *Trypanosoma cruzi*. **PLoS One**. 2014;9(8):e104951.

FERREIRA, I. L. M.; SILVA, T. P. T. Eliminação da transmissão da doença de Chagas pelo *Triatoma infestans* no Brasil: um fato histórico. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 39, n. 5, p. 507-509, 2006.

GAZZINELLI RT, Oswald IP, Hieny S, James S, Sher A. The microbicidal activity of interferon- γ treated macrophages against *Trypanosoma cruzi* involves an L-arginine-dependent, nitrogen oxidemediated mechanism inhibitable by interleukin-10 and transforming growth factor- β . **Eur J Immunol** 1992; 22: 2501-06.

GIRALDO NA, Bolaños NI, Cuellar A, Guzman F, Uribe AM, Bedoya A, Olaya N, Cucunubá ZM, Roa N, Rosas F, Velasco V, Puerta CJ, González JM. Increased CD4/CD8 double-positive T cells in chronic Chagasic patients. **PLoS Negl Trop Dis**. 2011;5(8):e1294.

GIRALDO NA, Bolaños NI, Cuellar A, Roa N, Cucunubá Z, Rosas F, Velasco V, Puerta CJ, González JM. T lymphocytes from chagasic patients are activated but lack proliferative capacity and down-regulate CD28 and CD3 ζ . **PLoS Negl Trop Dis**. 2013;7(1):e2038.

GRECO, Oswaldo Tadeu et al . Marcapasso com sensor de contratilidade regulado pelas variações do sistema nervoso autônomo na miocardiopatia chagásica crônica. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 71, n. 6, p. 751-761, dez. 1998.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HUIKURI, H. V. Fractal correlation properties of R-R interval dynamics and mortality in patients with depressed left ventricular function after an acute myocardial infarction. **Circulation**, v. 101, n. 1, p. 47-53, 2000.

IANNI, Barbara Maria; MADY, Charles. Terapêutica da forma crônica da doença de chagas. É eficaz o tratamento etiológico?. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 70, n. 1, p. 59-61, Jan. 1998 .

IV Diretriz da Sociedade Brasileira de Cardiologia sobre Tratamento do Infarto Agudo do Miocárdio com Supradesnível do Segmento ST. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo , v. 93, n. 6, supl. 2, p. e179-e264, 2009 .

JÖRG M. E, FREIRE R. S. Lipochagomata genii or Lipochagomata of the cheeks, characteristic lesions of acute Trypanosomiasis cruzi in children under there years of age. **Acta Tropica**, v. 4, p. 318-350, 1961.

JURBERG J, Rodrigues JMS, Moreira FFF, Dale C, Cordeiro IRS, Lamas JRVD, et al. Atlas Iconográfico dos triatomíneos do Brasil - vetores da doença de Chagas. **Fiocruz**, Rio de Janeiro, 2014.

JUNQUEIRA J. R. et al. Cardiac autonomic dysfunction and neuroganglionitis in a rat model of chronic Chagas disease. **Cardiovascular Research**, v. 26, p. 324-329, 1992.

JUNQUEIRA, C. et al. The endless race between *Trypanosoma cruzi* and host immunity: lessons for and beyond Chagas disease. **Expert reviews in molecular medicine**, v. 12, n. September, p. e29, jan. 2010.

KALIL J, Cunha-Neto E. Autoimmunity in Chagas Disease cardiomyopathy: fulfilling the criteria at last? *Parasitol Today*. 1996; 12(10): 396-9.

KAYAMA, H.; TAKEDA, K. The innate immune response to *Trypanosoma cruzi* infection. *Microbes and infection*, v. 12, n. 7, p. 511–517, 2010.

KEVIN J. TRACEY. The inflammatory reflex. **Nature**, v. 420, p. 19-26, Dec., 2002.

KÖBERLE, F. Patogenia da moléstia de Chagas. *Rev. Goiana Med.*, v. 3, p. 155, 1957.

KOBERLE, F. Moléstia de Chagas: enfermidade do sistema nervoso. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE DOENÇA DE CHAGAS (1959), 2., **Anais...**1961.

LAINSON R, Shaw J. J.; FRAIHA H, Miles M. A.; DRAPER, C. C. Chagas' Disease in the Amazon Basin: 1 – *Trypanosoma cruzi* infections in silvatic mammals, triatomine bugs and man in the State of Pará, north Brazil. **Transactions Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, p.193-204, 1979.

LARANJA F. S., DIAS E.; NOBREGA G. Clínica y terapéutica de la enfermedad de Chagas. **Prensa Medica Argentina**, v. 38, p. 465-484, 1951.

LOPES, Edison Reis et al. Morte súbita e doença de Chagas: análise dos fatores predisponentes do óbito súbito do chagásico crônico. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, v. 77, n. 3, p. 255-262, Set.1982.

LUNARDELLI, A. et al. Soroprevalência da doença de Chagas em candidatos a doadores de sangue. **Rev Bras Anal Clin**. v. 39, p.139-41, 2007.

MACHADO, A. B. M. **Neuroanatomia funcional**. 2. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2005.

MACHADO AV, Cardoso JE, Claser C, Rodrigues MM, Gazzinelli RT, Bruna-Romero O. Long-term protective immunity induced against *Trypanosoma cruzi* infection after vaccination with recombinant adenoviruses encoding amastigote surface protein-2 and trans-sialidase. **Hum Gene Ther**. 17: 898–908, 2006.

MACHADO FS, Dutra WO, Esper L, Gollob KJ, Teixeira MM, Factor SM, Weiss LM, Nagajyothi F, Tanowitz HB, Garg NJ. Current understanding of immunity to *Trypanosoma cruzi* infection and pathogenesis of Chagas disease. **Semin Immunopathol**. 34: 753–770, 2012.

MAGALHÃES, Belisa Maria Lopes et al. Serological survey for Chagas disease in the rural areas of Manaus, Coari, and Tefe in the Western Brazilian Amazon. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 6, p. 697-702, 2011.

MARIN-NETO, J. A. et al. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. **Circulation**, v. 115, p. 1109-1123, 2007.

MEIRA, Nicolay Dias et al. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas (DCH) em relação aos pacientes atendidos de 1986 a 2010 no Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas- IPEC- Fiocruz/RJ/Brasil, **Revista de Ciência & Tecnologia**, v. 12, n. 1, p. 25, 2012. Disponível em: <http://blog.ipec.fiocruz.br/lapclin-chagas/wp-content/uploads/sites/2/2013/05/Coorte_Chagas.pdf>. Acesso em: 15 mar. 2015.

MINOPRIO, P., S. Itohara, C. Heusser, S. Tonegawa, A. Coutinho. 1989. Immunobiology of murine *T. cruzi* infection: the predominance of parasite-nonspecific responses and the activation of TCRI T cells. *Immunol. Rev.* 112:183.

MONTEIRO, W. et al. Trypanosoma cruzi I and IV stocks from Brazilian Amazon are divergent in terms of biological and medical properties in mice. **PLoS Negl Trop Dis**, v. 7, 2013.

MONTEIRO, W. et al. Trypanosoma cruzi IV causing outbreaks of acute Chagas disease and infections by different haplotypes in the Western Brazilian Amazonia. **PLoS ONE**, v. 7, 2012.

MONTEIRO, Wuelton Marcelo et al. Série de casos agudos de doença de Chagas atendidos num serviço terciário de Manaus, Estado do Amazonas, de 1980 a 2006. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 207-210, 2010.

NOGUEIRA N, Ellis J, Chaplan S, Cohn Z. Trypanosoma cruzi: in vivo and in vitro correlation between T-cell activation and susceptibility in inbred strains of mice. *Exp Parasitol.* 1981; 51(3) 325– 34.

OLIVEIRA, Carlos Alberto de et al . Depressão da modulação autonômica cardíaca em pacientes com doença renal crônica diagnosticada pela análise espectral da variabilidade da frequência. **J. Bras. Nefrol.**, São Paulo , v. 36, n. 2, p. 155-162, June 2014 .

PAVLOV, V. A.; TRACEY K. J. The cholinergic anti-inflammatory pathway. **Brain Behav Immun**, v. 19, p. 493–499, 2005.

PINTO, das Neves et al. "Fase aguda da doença de Chagas na Amazônia brasileira. Estudo de 233 casos do Pará, Amapá e Maranhão observados entre 1988 e 2005." **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 6, p. 602-614. 2008.

RASSI JÚNIOR, A; RASSI, S. G; RASSI, A. **Morte súbita na Doença de Chagas Arq Bras Cardiol**, v. 76, p. 75-85, 2001.

RESENDE, Luiz Antonio Pertili R. de et al . Análise temporal da variabilidade da frequência cardíaca no estado basal em idosos chagásicos na forma indeterminada em área endêmica. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba, v. 36, n. 6, dez. 2003.

RIBEIRO A. L. et al. Parasympathetic dysautonomia precedes left ventricular systolic dysfunction in Chagas disease. **Am Heart J**, v. 141, p. 260-265, 2001.

SCALABRINI A.; CARDOSO A.; ANDRADE, S. G. Correlação clínico-patológica na forma indeterminada da doença de Chagas experimental do cão. **Arq. Bras. Cardiol.** v. 67, p. 385-388, 1996.

SHAW ,J. J.; LAINSON, R.; FRAIHA, H. Considerações sobre a epidemiologia dos primeiros casos autóctones de Doença de Chagas registrados em Belém, Pará, Brasil. **Revista de Saúde Pública**, v. 3, p.153-157, 1969.

SILVA JS, Vespa GNR, Cardoso MAG, Aliberti JCS, Cunha FQ. Tumor necrosis factor alpha mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* infection in mice by inducing nitric oxide production in infected gamma interferon-activated macrophages. *Infect Immun.* 1995; 63 (12) 4862–67.

SILVERIO JC, Pereira IR, Cipitelli Mda C, Vinagre NF, Rodrigues MM, Gazzinelli RT, Lannes-Vieira J. CD8 T-cells expressing interferon gamma or perforin play antagonistic roles in heart injury in experimental *Trypanosoma cruzi*-elicited cardiomyopathy. *PLoS Pathog.* 2012;8(4):e1002645.

SOUZA A. A. A. Doença de Chagas na Amazônia, ocorrência de um novo caso autóctone no Estado do Pará. **Acta Amazônica**, v. 20, p.137-174, 1990.

SOUZA-LIMA, Rita de Cassia de et al . Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Uberaba , v. 46, n. 4, p. 510-514, Aug. 2013.

STROM, T. B. et al. Alteration of the cytotoxic action of sensitized lymphocytes by cholinergic agents and activators of adenylate cyclase. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 69, p. 2995–2999, 1972.

SUSAM investiga surto de Doença de Chagas no município de Carauari, 2015. Disponível em: < <http://www.amazonas.am.gov.br/2015/01/susam-investiga-surto-de-doenca-de-chagas-no-municipio-de-carauari>>. Acesso em: 10 ago. 2015.

TAFURI, W.L.; BRENER, Z. Lesões dos plexos de Meissner e de Auerbach do intestino do camundongo albino na fase crônica da Tripanossomiase cruzi experimental. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**,v. 8, p. 149-154. 1967.

Tarleton RL. Immune system recognition of *Trypanosoma cruzi*.*Curr Opin in Immunol.*2007; 19:430-34.

TRACEY, K. J. Reflex control of immunity. **Nat Rev Immunol.** v. 9, p. 418–428, 2009.

VASCONCELOS, D. F.; JUNQUEIRA, J. R. L. F. Cardiac autonomic and ventricular mechanical functions in asymptomatic chronic chagasic cardiomyopathy. **Arq Bras Cardiol.** v. 98, p. 111-119, 2012.

VILLELA, E. Moléstia de Chagas. **Folha Médica**, v. 4, p. 33-35, 1923.

VRACKO, R. THORNING, D. FREDERICKSON, R. G. O destino das fibras nervosas em necrótica, cura e curado miocárdio de ratos. **Lab Invest.** v. 63, p. 490-501, 1990.

VRACKO, R.; THORNING, D.; FREDERICKSON, R. G. As fibras nervosas em cicatrizes miocárdicas humanas. **Hum Pathol.** v. 22, p. 138-146, 1991.

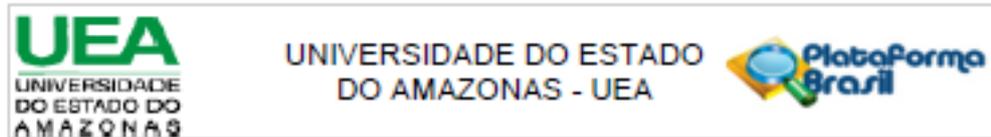
WATKINS, L. R; MAIER, S. F.; GOEHLER, L. E. Cytokine-to-brain communication: a review & analysis of alternative mechanisms. **Life Sci.** v. 57, p. 1011–1026, 1995.

WHO - World Health Organization. Control of Chagas disease: second report of the WHO expert committee. **WHO technical report series**; 905, 2002.

WILSON, L; Strosberg AM; e Barrio, Kimberly. Cost-effectiveness of Chagas disease interventions in Latin America and the Caribbean: Markov Models. *Am. L. Trop. Med, Hyg.* 73(5) 2005 p: 901-910.

ZUNIGA, E., C. Motran, C. L. Montes, F. L. Diaz, J. L. Bocco, A. Gruppi. 2000. Trypanosoma cruzi-induced immunosuppression: B cells undergo spontaneous apoptosis and lipopolysaccharide (LPS) arrests their proliferation during acute infection. **Clin. Exp. Immunol.** 119:507.

ANEXOS
ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade do Estado do Amazonas



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação cardíaca, da função do sistema nervoso autônomo, do metabolismo e da atividade inflamatória nas diversas formas evolutivas da doença de Chagas em pacientes autóctones da Amazônia

Pesquisador: João Marcos Bemfica Barbosa Ferreira

Área Temática:

Versão:

CAAE: 31812914.9.0000.5016

Instituição Proponente: Escola Superior de Ciências da Saúde da Universidade do Estado do

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 923.701

Data da Relatoria: 12/08/2014

Apresentação do Projeto:

Trata-se de pesquisa a ser realizada com pacientes do Hospital de Medicina Tropical de Manaus cujo principal objetivo é a avaliação da função cardíaca, autonômica, metabólica e inflamatória nas diversas formas evolutivas da doença de Chagas em pacientes autóctones da Amazônia. Acredita-se que com o presente estudo pode-se obter um melhor entendimento destes fatores proporcionando um maior conhecimento das características desta doença na região Amazônica.

Objetivo da Pesquisa:

GERAL

Avaliar a função cardíaca, do sistema nervoso autônomo e da atividade metabólica e inflamatória nas diversas formas evolutivas da doença de Chagas em pacientes autóctones da Amazônia.

Objetivo Secundário:

Descrever as alterações cardíacas da doença de Chagas em pacientes autóctones da Amazônia.

Descrever as variáveis de função do sistema nervoso autônomo em pacientes chagásicos. Descrever o comportamento de mediadores metabólicos como glicose, colesterol total e frações, triglicerídeos, adiponectina, leptina e insulina em pacientes chagásicos.

Descrever o comportamento de citocinas inflamatórias tais como Interleucina 6 e fator de necrose

Endereço: Av. Djalma Batista, nº 3578, Chapéda
 Bairro: chapéda CEP: 69.050-030
 UF: AM Município: MANAUS
 Telefone: (92)3878-4388 Fax: (92)3878-4388 E-mail: cep.uea@gmail.com



UNIVERSIDADE DO ESTADO
DO AMAZONAS - UEA



Continuação do Parecer: 923.701

tumoral alta em pacientes chagásicos.

Correlacionar a função cardíaca, autonômica, metabólica e Inflamatória, estabelecendo associações entre as variáveis estudadas.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Não foram identificados riscos.

Como benefício maior entende-se que será a possibilidade de identificar formas mais apropriadas de tratamento de pacientes nesta situação a partir de um maior conhecimento do comportamento de pacientes chagásicos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Os pacientes serão selecionados na Fundação de Medicina Tropical Heitor Vieira Dourado (FMTHVD) e encaminhados para avaliação cardiológica no Hospital Francisca Mendes. Procedimentos:- Para o estudo retrospectivo serão coletados os dados de atendimento de casos de pacientes com diagnóstico de doença de chagas atendidos na FMTHVD a partir de janeiro de 2010, que tenham realizado avaliação cardíaca e que tenham assinado termo de consentimento livre esclarecido de outro projeto de pesquisa desenvolvido na Instituição, concordando que o sangue coletado e estocado possa ser utilizado em outras pesquisas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos obrigatórios foram inseridos.

Recomendações:

Sem recomendações.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Av. Djalma Batista, nº 3578, Chapada

Bairro: chapada

CEP: 69.050-030

UF: AM

Município: MANAUS

Telefone: (92)3878-4388

Fax: (92)3878-4388

E-mail: cep.uea@gmail.com

**APÊNDICE A – Produção Bibliográfica Referente à Dissertação
(em processo de Submissão à Revista PLOS NEGLECTED TROPICAL
DISEASES)**

*Acometimento do Sistema Nervoso Autônomo de pacientes com a forma aguda da
Doença de Chagas.*

Pereira, Elder Nascimento^{1¶}, Barbosa – Ferreira, João Marcos Bemfica^{2¶}

¹ Mestrando do Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas – Brasil

² Docente do Programa de Pós Graduação em Imunologia Básica e Aplicada, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas – Brasil

Correspondência do autor

E-mail: eldernasc@hotmail.com

¶ Estes autores contribuíram igualmente para este trabalho.