



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES
CEREBRAIS NA CARDIOMIOPATIA
CHAGÁSICA CRÔNICA**

**– Um Estudo de Espectroscopia por Ressonância
Nuclear Magnética Cerebral -**

Luciana Santos Pimentel

Dissertação de Mestrado

Salvador (Bahia), 2015



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

**AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES
CEREBRAIS NA CARDIOMIOPATIA
CHAGÁSICA CRÔNICA**

**– Um Estudo de Espectroscopia por Ressonância
Nuclear Magnética Cerebral -**

Luciana Santos Pimentel

Dissertação de Mestrado

Salvador (Bahia), 2015

Ficha Catalográfica elaborada pela Biblioteca Universitária de Saúde, SIBI - UFBA

Pimentel, Luciana Santos

Avaliação de Biomarcadores Cerebrais na Cardiomiopatia Chagásica Crônica – Um Estudo de Espectroscopia por Ressonância Nuclear Magnética Cerebral/ Luciana Santos Pimentel. – Salvador, 2015.

Orientador: Prof. Dr. Jamary Oliveira-Filho

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia, Faculdade de Medicina, 2015.

1. Cardiomiopatia chagásica crônica, 2. Disfunção cognitiva. 3. Espectroscopia por Ressonância. 4. Medicina. I. Oliveira-Filho, Jamary. II. Universidade Federal da Bahia.



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

AVALIAÇÃO DE BIOMARCADORES CEREBRAIS
NA CARDIOMIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA
– Um Estudo de Espectroscopia por Ressonância
Nuclear Magnética Cerebral -

Luciana Santos Pimentel

Professor-Orientador: Jamarly Oliveira-Filho

Dissertação apresentada ao Colegiado do PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, da Faculdade Medicina da Universidade Federal da Bahia, como pré-requisito obrigatório para obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde, da área de concentração em Ciências da Saúde.

Salvador (Bahia), 2015

COMISSÃO JULGADORA

Membros Titulares

- **Prof. Dr. Paulo Novis Rocha**, Professor Adjunto do Departamento de Medicina e Apoio diagnóstico da Universidade Federal da Bahia
- **Prof. Dr. Aristides Cheto de Queiroz**, Chefe do Serviço de Patologia da Santa Casa de Misericórdia de Itabuna, Professor Adjunto Aposentado da Universidade Federal da Bahia
- **Prof^a. Dra Walderez Ornelas Dutra**, Professora Titular da Universidade Federal de Minas Gerais.

Membro Suplemente

- **Prof. Dr. Jmary Oliveira-Filho**, Professor Associado de Neuroanatomia da Universidade Federal da Bahia.

Epígrafe

“A poesia é um espírito que mora em todas as coisas”

Zack Magiezi

Dedicatória

A meus pais, Rita e Carlos, vocês me permitiram ser tudo que queria ser, pois me deram a capacidade de sonhar, errar e tentar quantas vezes precisasse.

Às minhas irmãs, Silvia, Luisa e Rosana – “sou mais eu porque sou vocês”.
Obrigado por me deixarem ser a tia de seres humanos tão incríveis – Gil, Mel,
Marcelo, João, Mariana e Tom.

Aos irmãos que ganhei na vida Paula e Murilo.

À meus avós, tios e primos, cunhados – pela minha família que me é
fundamental.

À Sinval. Fomos alegres, fomos tristes, mas sempre queremos ser felizes.

Instituições Participantes

- Ambulatório Cardiomiopatia – Ambulatório Prof. Magalhães Neto – Hospital Universitário Professor Edgar Santos/UFBA
- Ambulatório Insuficiência Cardíaca – INCOBA/Hospital Ana Neri
- Ambulatório Insuficiência Cardíaca – Ambulatório Silva Lima/Hospital Santa Izabel

Fontes de Financiamentos

Conselho Nacional De Pesquisa – CNPq

National Institutes of Health – NIH

Agradecimentos

À Professor Jamary, meu orientador nesta caminhada, mas acima de tudo inspiração de profissional e pessoa, ser humano especial que compartilha seus conhecimentos e amizade, com toda a simplicidade e gentileza que lhe é peculiar.

Ao grupo de Neurocardiologia da UFBA, tudo só foi possível pelas pessoas que o fazem viver – ontem, hoje e amanhã.

À Gloria Orge, por sua paciência e disponibilidade.

Aos colegas do mestrado e Professores da Pós-graduação em Ciências da Saúde, por dividiram e multiplicarem os conhecimentos.

Às Instituições participantes e financiadores, permitiram a realização deste estudo.

Sumário

Lista de quadros e tabelas.....	13
Lista de gráficos e figuras.....	14
Abreviaturas.....	16
Resumo.....	17
1. Objetivos.....	18
1.1 Geral.....	18
1.2 Específicos.....	18
2. Introdução.....	19
3. Revisão de Literatura.....	20
3.1 <i>Nova Tripanozomiose Humana</i>	20
3.2 A Doença de Chagas.....	21
3.2.1 Fases da Doença.....	21
3.2.2 Apresentações Clínicas Crônicas.....	22
3.3 Apresentação neurológica da Doença de Chagas.....	23
3.4 Neuroimagem – Espectroscopia por Ressonância Nuclear Magnética.....	27
3.4.1 A Técnica.....	27

3.4.2 Metabólitos relacionados à lesão cerebral à Espectroscopia por Ressonância Magnética.....	32
3.4.2.1 Composto N-acetilaspártato.....	32
3.4.2.2 Colina.....	33
3.4.2.3 Creatina.....	33
3.4.2.4 Aminoácidos.....	34
3.4.2.5 Mioinositol.....	34
3.4.3 Usos da Espectroscopia por Ressonância Magnética na Prática Clínica.....	34
4. Hipóteses.....	36
5. Metodologia.....	37
5.1 Desenho do Estudo.....	37
5.2 Casuística.....	38
5.3 Locais do Estudo.....	39
5.4 Coleta de Dados.....	39
5.4.1 Dados Sociodemográficos e Antropométricos.....	39
5.4.2 Dados do exame físico.....	39
5.4.3 Dados dos exames complementares.....	40
5.4.4 Dados cognitivos.....	40
5.4.5 Dados de Ressonância Nuclear Magnética.....	41
5.5 Considerações Éticas.....	43
5.6 Análise Estatística.....	43
6. Resultados.....	45

7. Discussão.....	67
8. Perspectivas Futuras.....	70
9. Conclusões.....	71
10. Referência Bibliográfica.....	72
11. Abstract.....	80
12. Anexos.....	81

Lista de Quadros e Tabelas

• Quadro 1. Critérios de Exclusão.....	38
• Tabela 1. Análise Univariada: Dados demográficos, ecocardiográficos, volumétricos à ressonância magnética e de metabólitos espectroscópicos.....	57
• Tabela 2. Regressão Linear Múltipla – Efeito gênero, idade, escolaridade e DC sobre o Escore Cognitivo visuo-espacial.....	61
• Tabela 3. Regressão Linear Múltipla – Efeito idade, gênero, escolaridade e DC sobre o escore Cognitivo memória.....	61
• Tabela 4. Regressão Linear Múltipla – Efeito idade, gênero, escolaridade e DC sobre o escore cognitivo função executiva.....	62
• Tabela 5. Regressão Linear – Efeito FE, DC, idade e gênero sobre a relação NAA/Cr.....	63
• Tabela 6. Regressão Linear – Efeito FE, DC, idade e gênero sobre a relação Cho/Cr.....	63
• Tabela 7. Regressão Linear – Efeito FE, DC, idade e gênero sobre a relação mI/Cr.....	64
• Tabela 8. Regressão Linear – Efeito idade, gênero, escolaridade, DC e relação NAA/Cr sobre o escore visuo-espacial.....	65
• Tabela 9. Regressão Linear – Efeito idade, gênero, escolaridade, DC e relação Cho/Cr sobre o escore visuo-espacial.....	65

Lista de Gráficos e Figuras

• Figura 1. Prótons submetidos a um campo magnético externo.....	28
• Figura 2. Comportamento como Imãs dos prótons.....	28
• Figura 3. Pulso de Espectroscopia.....	29
• Figura 4.: Espectro do metabólito N-Acetilaspártato (NAA).....	30
• Figura 5. Modelo teórico de disfunção cognitiva na doença de Chagas. RNM: Ressonância nuclear magnética.....	37
• Figura 6. Exemplo de determinação das volumetrias à RNM em paciente da coorte.....	42
• Figura 7. Exemplo de picos espectroscópicos dos metabólitos cerebrais em paciente da coorte.....	43
• Gráfico 1. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Idade.....	45
• Gráfico 2. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Fração de Ejeção.....	46
• Gráfico 3. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Relação NAA/Cr.....	47
• Gráfico 4. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Relação Cho/Cr.....	48
• Gráfico 5. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Relação mI/Cr.....	49
• Gráfico 6. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Escore Víscuo-espacial.....	50
• Gráfico 7. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Escore Memória.....	51
• Gráfico 8. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Escore Funções Executivas.....	52
• Gráfico 9. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Volume Cerebral.....	53
• Gráfico 10. Histograma com avaliação de normalidade da	

variável: Volume Cerebelar.....	54
• Gráfico 11. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Volume de Lesão de Substância Branca Cerebral.....	55
• Gráfico 12. Classificação da cardiomiopatia quanto etiologia.....	60

Abreviaturas

AVC – Acidente Vascular Cerebral

Cho – Colina

DA – Doença de Alzheimer

Doença de Chagas – DC

FE – Fração de Ejeção

FLAIR - Fluid Acquisition Inversion Recovery

GABA – ácido gaba-aminobutírico

Gln – Glutamato

Glu – Glutamina

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

MCC – Cardiomiopatia Chagásica

MEEM – Mini-Exame do Estado Mental

mI – Mioinositol

NAA – N-Acetilaspártato

NAAG – N-acetilaspártatilglutamato

NIH - National Institutes of Health

OR – Odds Ratio

PCR – Reação em cadeia de polimerase

ppm – partes por milhão

PRESS - *point resolved spectroscopy*

RF – Radiofrequência

SNC – Sistema Nervoso Central

SRNM – Espectroscopia por Ressonância Nuclear Magnética

STEAM – *Stimulated echo acquisition mode*

TE – Tempo de Eco

TR – Tempo de Relaxamento

Resumo

Objetivos: Investigar o mecanismo de disfunção cognitiva na doença de Chagas através de espectroscopia por ressonância nuclear magnética (SRNM) cerebral.

Metodologia: Através de estudo de corte transversal, comparamos desempenho cognitivo e os sinais espectroscópicos à ressonância nuclear magnética (N-acetilaspártato/Creatina; Colina/Creatina e mioInositol/Creatina).

Foram considerados significantes os valores de $P < 0,05$. Analisamos dados socio-demográficos (idade, sexo, tabagismo, presença de hipertensão, coronariopatia, diabetes), uso de medicamentos (anti-agregante plaquetário e estatinas), função cardíaca (fração de ejeção ao ecocardiograma), funções cognitivas (domínios visuo-espacial, memória e função executiva) e dados de RNM (relações NAA/Cr; Cho/Cr, mI/Cr, além dos volumes cerebrais, volume cerebelar, volume de lesões de substância branca).

Resultados: Nossos dados mostraram que doença de Chagas está associada com menores valores das relações NAA/Cr e Cho/Cr, bem como menores escores cognitivos, principalmente no domínio visuo-espacial. **Conclusão:** A realização de exame que demonstrou despovoamento neuronal por encefalopatia chagásica crônica através da SRNM é pioneira. Esta técnica poderá auxiliar em pesquisas futuras quanto à fisiopatologia desta encefalopatia, bem como auxiliar no prognóstico identificando os pacientes sob risco de desenvolver déficits cognitivos por perda neuronal.

1. Objetivos

1.1 Geral

Avaliar os picos de metabólitos à espectroscopia por ressonância nuclear magnética (NAA/Cr, Cho/Cr e mI/Cr) em pacientes com insuficiência cardíaca.

1.2 Específicos

Avaliar se há associação entre a doença de Chagas e disfunção cognitiva;

Avaliar se há associação entre os metabólitos cerebrais NAA/Cr, Cho/Cr e mI/Cr e cardiomiopatia chagásica crônica;

Avaliar se as alterações dos metabólitos cerebrais NAA/Cr, Cho/Cr e mI/Cr justificam o déficit cognitivo dos indivíduos chagásicos.

2. Introdução

A Tripanossomíase Americana, descrita em 1909, é uma doença infecto-parasitária provocada pelo *Trypanosoma cruzi*, que resulta em lesões cardíacas, gastrointestinais e cerebrais com alta morbi-mortalidade e impacto social.^{8, 12, 14, 45}

O acometimento cerebral crônico decorrente da tripanossomíase americana, sempre foi controverso, no entanto dados da literatura demonstram que esta entidade existe e está associado a mecanismos além dos eventos embólicos decorrentes da cardiomiopatia.^{10, 28, 30, 35}

Compreender quais são estes mecanismos é fundamental, pois somente a partir destas informações será possível propor ferramentas diagnósticas, profiláticas e terapêuticas para redução da morbi-mortalidade.

A disponibilidade de novas tecnologias em neuroimagem permite a investigação destes mecanismos de maneira não invasiva e inócua, sendo possível aprofundar a compreensão nos mecanismos fisiopatológicos da encefalopatia chagásica crônica.

3. Revisão de Literatura

3.1 *Nova Tripanozomíase Humana*

Passados dois anos de seus estudos iniciais, Dr. Carlos Chagas descrevia em 1909 a “*A Nova Tripanozomíase Humana*”. Em seu memorável artigo, Dr. Chagas revelava à comunidade científica a nova afecção, descrevendo o seu agente causador – o *Trypanosoma cruzi*, com detalhes sobre seu ciclo de vida, seu vetor de transmissão (*Triatominae sp*), formas de transmissão e seus reservatórios naturais, além de apresentar as formas clínicas desta nova patologia. E para homenagear seu descobridor científico a *Tripanossomíase Americana* passou a ser denominada doença de Chagas (DC).¹²

Segundo Schmunis¹⁴,

“A doença de Chagas incluiu as Américas no mapa dos Continentes que tinham o lamentável privilégio de possuir enfermidades autóctones favorecidas pela miséria e pelo subdesenvolvimento. A infecção humana se estende desde o centro-oeste do México até o sul da Argentina e Chile, em qualquer lugar que as míseras condições da habitação favoreçam o contato entre o triatomíneo vetor e o homem.”
(Dias & Coura, 1997, p 11)

Estima-se em cerca de 11 milhões o número de pessoas infectadas pelo *T. cruzi* no mundo, com 2 a 3 milhões de indivíduos no Brasil. É a terceira infecção parasitária mais comum, antecedida pela malária e pela esquistossomose.⁸ No entanto, quanto à carga social produzida por esta doença, ela ultrapassa a malária, esquistossomose, leishmaniose, hanseníase, filariose e

oncocercose em “anos de vida ajustados em função de incapacidade” por óbito,^{8, 14} com alto custo social e psicológico.⁴⁵

A DC tem duas formas de transmissão principal, a horizontal – através do contato com as fezes contaminadas do *Triatominae* após picadura deste vetor, transfusão sanguínea, transplante de órgãos infectados e através da via oral por ingestão de alimentos contaminados por fezes ou urina do *Triatominae* infectados ou reservatórios silvestres infectados; e a vertical – transplacentária. O contato com o vetor é a principal forma de transmissão nas Américas, seguido pela transfusão sanguínea.^{8, 13, 14} No entanto, a transmissão vetorial tem diminuído a partir dos anos de 1980, nos países da América do Sul e, no Brasil, mais especificamente, após intensas campanhas sanitaristas para o controle do principal agente de transmissão, o *Triatoma infestans*.³

Há duas décadas, com o fenômeno da globalização e migrações, a DC deixou de restringir-se às Américas do Sul e Central, levando os países desenvolvidos a implantar políticas de rastreio em bancos de sangue e programas de transplante de órgãos, tendo em vista o aumento de transmissão da DC associado a estes procedimentos nestas regiões, além de incentivo à pesquisa desta patologia negligenciada.^{2, 8}

3.2 A Doença de Chagas

3.2.1 Fases da Doença

A DC apresenta-se com duas fases distintas: uma fase aguda e uma fase crônica. A primeira ocorre em 6 a 12 semanas após a infecção e caracteriza-se por uma síndrome febril associada à cefaleia, mialgia, edema no local de inoculação, dor abdominal, exantema, linfadenomegalia e hepatoesplenomegalia, podendo ocorrer miocardite grave e meningoencefalite aguda,^{3, 8, 14, 16, 17} no entanto a apresentação oligossintomática ou assintomática pode ocorrer. Nesta fase observa-se um alto número de parasitas no sangue, no entanto a análise do esfregaço sanguíneo necessita de expertise e elevada suspeição. Logo, diante de sintomatologia inespecífica e necessidade de

experiência na análise do sangue periférico, o diagnóstico precoce muitas vezes não é realizado.¹⁷ Isto se torna ainda mais relevante com a reativação da infecção vista em pacientes imunossupressos, sejam aqueles portadores de HIV sejam aqueles transplantados, em que a suspeita é fundamental para o diagnóstico.¹⁷

A transição da fase aguda para crônica ocorrerá nos indivíduos que não são tratados e/ou curados. Nesta transição ocorrerá redução acentuada da parasitemia devido à resposta imune¹⁷ e haverá duas apresentações clínicas: os indivíduos com sorologia positiva (anticorpos anti-*T.cruzi* positivos) que não desenvolvem sintomas clínicos, chamados de pacientes indeterminados e, aqueles que desenvolverão sintomas clínicos, sendo chamados de pacientes chagásicos crônicos patológicos, em que os principais sistemas acometidos são o cardíaco e o digestório.¹⁷

3.2.2 Apresentações Clínicas Crônicas

Classicamente foram descritas três formas clínicas crônicas da DC ^{8, 14, 16}:

- Forma Cardíaca: Esta apresentação acomete cerca de 30% dos indivíduos infectados pelo *T. cruzi*, sendo descrito como principal causa de morbi-mortalidade desta patologia. Ela decorre do acometimento do miocárdio e suas fibras de condução nervosa levando a cardiomiopatia chagásica, com insuficiência cardíaca secundária e, a doença arritmica cardíaca, com risco de morte súbita por arritmias ventriculares.
- Forma Digestória: Desenvolve-se em cerca de 15% dos pacientes com tripanossomíase americana. Nesta apresentação há lesão dos plexos nervosos do trato gastrointestinal, levando ao desenvolvimento de megacólon e megaesôfago e suas complicações.

- Forma Neurológica: Descrita na fase aguda, como meningoencefalite aguda e na fase crônica como acidentes embólicos decorrente da cardiopatia crônica. No entanto estudos clínicos demonstraram que outros mecanismos estão implicados nesta apresentação, como descreveremos adiante.

Os pacientes chagásicos crônicos patológicos apresentarão sintomas em tempos variáveis, no entanto, usualmente observa-se que essas manifestações surgem após 20 a 30 anos da inoculação do parasita, em geral, em adultos jovens, pois a infecção ocorre na infância, o que potencializa os custos sociais desta enfermidade.

3.3 Apresentação Neurológica da Doença de Chagas

Em 1967, Forjaz descrevia em seu relatório apresentado no I Congresso Brasileiro de Neurologia, os conhecimentos acerca do comprometimento neurológico na DC, que era subdividido na *forma nervosa* e na forma de doença cerebrovascular cardioembólica.¹⁸

À época era conhecida a *forma nervosa*, descrita por Carlos Chagas, que era classificada como:

- Infestação aguda: que se caracterizava pela presença de tripanosomas no sangue periférico e no líquido cefalorraquiano, sendo mais comum em lactantes e de alta mortalidade. Com quadro de meningoencefalite com curso rápido e progressivo de paraplegia, ataxia, convulsões e na maioria das vezes óbito.

- Infestação crônica: Esta se caracterizava por diplegia espástica, principalmente de membros inferiores, associada ou não a movimentos involuntários, surdo-mudez e retardo mental, decorrentes, segundo Dr. Chagas da atividade crônica do parasita no sistema nervoso central (SNC). Comumente pacientes nesta apresentação tinham uma história pregressa compatível com o quadro clínico da Infestação aguda.

Na ocasião havia dúvida sobre o subtipo “Infestação Crônica” referido por Dr. Chagas, pois esse era visto pela maioria dos estudiosos da época como seqüela da “Infestação Aguda” e não uma atividade crônica da tripanossomíase no SNC.¹⁸

Os pesquisadores acreditavam que o acometimento do sistema nervoso central decorria de doença cerebrovascular, que era justificada pela cardiomiopatia, através de eventos embólicos sistêmicos.^{4, 18}

Durante muitos anos o envolvimento do SNC era tido como secundário a cardiomiopatia chagásica (MCC), não havendo consenso sobre outras formas de encefalopatia crônica da DC.

No entanto, a observação clínica de alterações neuropsiquiátricas nestes pacientes reacendeu a curiosidade sobre uma possível ação da infecção diretamente sobre o SNC.

Jardim & Armbrust-Figueiredo, em estudo descritivo, analisaram achados neurológicos e a bioquímica líquórica, encontrando maior ocorrência de sintomas neurológicos, pleiocitose líquórica, hiperproteínorraquia e hiperglicorraquia em pacientes chagásicos crônicos quando comparados a pacientes não chagásicos, no entanto não houve reação imunológica positiva no líquido para DC em nenhum dos casos, não sendo possível determinar que os achados fossem decorrentes da presença do parasita.¹⁹ Enquanto Jorg & Rovira encontraram as mesmas alterações líquóricas, bem como sinais de meningoencefalite multifocal à anatomia-patológica, defendendo a tese de uma encefalopatia chagásica crônica.²²

Queiroz (1975), em trabalho experimental com cães, procurou identificar os achados histopatológicos encefálicos e medulares decorrentes da infecção chagásica. A sintomatologia apresentada pelos animais era semelhante àquela descrita por Dr. Chagas na Infestação Aguda, enquanto os achados anatomopatológicos eram característicos de uma meningoencefalite multifocal, com acometimento glial, mas sem lesão neuronal.³⁸

Em estudo com portadores de cardiomiopatia chagásica crônica, Queiroz (1978) estudou o encéfalo desses pacientes e observou em 70,1% dos

casos, um encéfalo com aspecto macroscópico normal, enquanto 8,7% dos casos apresentavam atrofia. Quando comparado a pacientes não chagásicos, observou-se uma maior frequência de lesões capilares, com hiperplasticidade capilar cortical, apesar do grupo não chagásico apresentar mais alterações isquêmicas e perda neuronal cortical. Os achados pareciam ser decorrentes da congestão venosa e anóxia crônica gerada pela insuficiência cardíaca na MCC.³⁹ No entanto, ao comparar estes achados com os observados em pacientes com cardiomiopatia idiopática, Queiroz *et al* (1979) verificaram que a despeito do mesmo grau de congestão e anóxia, os pacientes com cardiomiopatia chagásica apresentavam mais atrofia cerebral, o que sugeria a ocorrência de outros mecanismos responsáveis por estas observações, que não apenas a insuficiência cardíaca.³⁷

A despeito desses achados, os conhecimentos sobre a fisiopatologia cerebral da DC ainda é desconhecida, havendo uma retomada dos estudos para aprofundá-los nas últimas décadas.

Da Mata & col estudaram os achados anatomopatológicos em ratos infectados com *Trypanosoma cruzi*, e demonstraram reação glial (astrócitos e microglia) com formação de ninhos e nódulos nos picos de parasitemia (13º dia), com redução progressiva após o 20º de inoculação, parecendo haver resolução do acometimento neurológico com o controle imunológico da parasitemia.¹³

Estudos clínicos observaram que a DC era fator de risco independente para a ocorrência de AVC, a despeito do comprometimento cardíaco, corroborando a possibilidade de outros mecanismos, que não somente a embolia cardíaca, como fator desencadeante das manifestações.^{10, 28, 30}

Oliveira-Filho & col (2005) demonstraram em estudo com 305 pacientes de ambulatório de referência de cardiologia, que a Doença de Chagas é fator de risco independente para acidente vascular cerebral (AVC), em pacientes portadores de miocardiopatia (OR: 1,09; 95%CI: 1,02 a 1,17).³⁰ Resultados semelhantes vêm sendo demonstrados por outros autores.^{28, 30} Há relatos na literatura de risco de óbito por AVC ser duas vezes maior em pacientes chagásicos²⁶. Carod-Artal *et al*, observaram que o AVC pode ser a primeira

manifestação em pacientes chagásicos assintomáticos, com disfunção ventricular leve.¹⁰

Prost et al estudaram pacientes chagásicos crônicos quanto à atividade eletroencefalográfica e encontraram sinais de comprometimento cortical nesta população (redução da velocidade de processamento cortical) quando comparada a indivíduos saudáveis, de mesmo gênero, nível socioeconômico e faixa etária, sem relação com o comprometimento cardíaco.³⁵

Dados da literatura revelaram que o paciente com MCC tem maior comprometimento cognitivo (especialmente de funções executivas e praxia) que aqueles portadores de cardiomiopatia de outras etiologias, mesmo após ajuste para a gravidade da doença cardíaca e para a presença de infartos cerebrais.³¹ Resultados semelhantes foram encontrados por Lima-Costa & col, em estudo populacional de coorte realizado em Bambuí.²⁶

Estes resultados clínicos sugerem que a DC afeta o sistema nervoso, não somente no seu componente periférico (lesão dos sistemas de condução cardíaca e plexo nervoso entérico), mas também do sistema nervoso central, por mecanismos não totalmente esclarecidos. Esse mecanismo, provavelmente envolve a compreensão de como se dão as diversas apresentações clínicas da patologia, que englobam desde indivíduos assintomáticos com sorologia positiva (forma indeterminada) até pacientes cardiopatas, gastropatas e encefalopatas.

O mecanismo fisiopatológico é desconhecido, mas sugere-se que o status inflamatório decorrente da ativação do sistema imunológico pela tripanossomíase resultaria em lesões endoteliais responsáveis pela lesão cerebral ou ainda um status pró-coagulante que poderia levar a micro-infartos por microembolismo cortical.

Existem duas hipóteses imunológicas principais que tentam explicar o mecanismo fisiopatológico da DC. A primeira postula que é a persistência do parasita no tecido que gera a lesão, como observado no miocárdio através das técnicas imunohistoquímicas ou ainda através da técnica por reação em cadeia de polimerase (PCR) em estudos de órgãos transplantados. No entanto, observa-se uma dissociação entre a lesão orgânica e a parasitemia, pois são vistas lesões graves associadas a uma baixa carga parasitária, o que fomentou a segunda

hipótese: que postula que a resposta imune do hospedeiro seria a maior responsável pela patologia e esta seria composta por elementos próprios do hospedeiro (background genético-imunológico) e por elementos do parasita (tropismo tissular).^{16, 17}

Ao que parece, o sistema imunológico dos pacientes crônicos da DC, tem a capacidade de manter a carga parasitária contida, mas devido a uma resposta exacerbada é gerado dano tissular, como demonstrado nos casos de cardiopatia.¹⁶

As alterações endoteliais e o status pró-coagulante têm sido descritos no sistema nervoso. Assim como na cardiomiopatia, parece haver um desequilíbrio citocina-mediado que leva a espasmo microvascular, agregação plaquetária e disfunção endotelial.⁴³

Nisimura et al, em estudo experimental com camundongos, demonstraram colapso da microcirculação cerebral, com alteração da perfusão, levando ao aumento do estresse oxidativo no cérebro, nas fases agudas da infecção, que poderia justificar a sintomatologia observada na meningoencefalite aguda.²⁹ Em estudo clínico, Jesus et al demonstraram que a DC foi fator de risco independente para microembolismo cerebral silencioso em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva.²¹

Diante dos dados da literatura, a existência de uma forma neurológica crônica da DC não é mais questionada. A busca científica atual tem se voltado para entender por quais mecanismos fisiopatológicos estas apresentações (microembolismo, alteração endotelial e atrofia cerebral) se dão. Assim, os estudos têm utilizado métodos clínicos, laboratoriais e de neuroimagem na tentativa de encontrar estas respostas.

3.4 Neuroimagem – Espectroscopia por Ressonância Nuclear Magnética

3.4.1 A Técnica

A espectroscopia por ressonância nuclear magnética é uma técnica desenvolvida no final dos anos de 1940, que procurava estudar os núcleos

atômicos do ponto de vista físico, a partir da observação de que átomos com número ímpar de prótons ou nêutrons quando submetido a um campo magnético alinham-se de maneira paralela ou antiparalela a este campo, comportando-se como pequenos ímãs. A este comportamento deu-se o nome de “momento magnético”. Os principais prótons dos compostos orgânicos com esta propriedade são o hidrogênio (H^+) e o carbono (^{31}P). O H^+ é o mais utilizado na espectroscopia, por ser o próton mais abundante nos organismos e por ser altamente sensível ao campo magnético e ao pulso de radiofrequência.¹¹

No momento magnético existem os estados: spin alfa (mínima energia), positivo – paralelo ao campo; e spin beta (maior energia), negativo – antiparalelo ao campo. A maioria dos núcleos do organismo tem spin alfa.¹¹

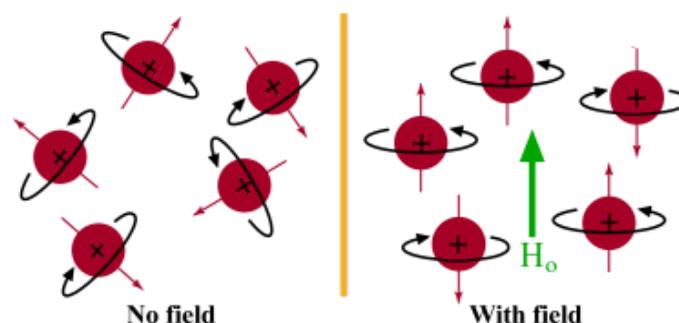


Figura 1. Prótons submetidos a um campo magnético externo: em estado natural os átomos apresentam um giromagnético aleatório. Quando submetidos a um campo magnético externo ocorre o alinhamento dos prótons a este campo. Fonte: <http://www.mhhe.com/physsci/chemistry/carey/student/olc/ch13nmr.html>

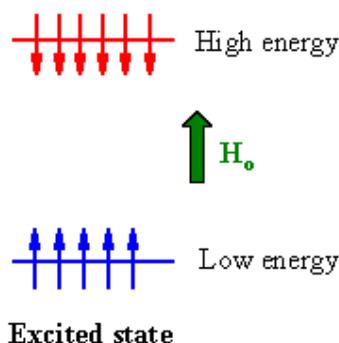


Figura 2. Comportamento como Ímãs dos prótons: Parte dos prótons assumem uma posição de alta energia (spin beta) e a maioria assumem uma posição de

baixa energia (spin beta). Fonte: <http://www.mhhe.com/physsci/chemistry/carey/student/olc/ch13nmr.html>

Assim ao aplicar-se um campo magnético a uma substância, seus prótons passam a assumir o spin alfa ou spin beta. Enquanto os prótons estão submetidos ao campo magnético (em momento magnético), é empregado um pulso de radiofrequência (RF) intenso e intermitente. Os prótons em spin alfa, ao serem submetidos a este pulso são promovidos ao spin beta. Como o pulso é intermitente os prótons logo retornam ao spin alfa e quando o fazem emitem um sinal, cuja frequência depende da diferença de energia entre os estados: spin alfa e beta inicial. A diferença de energia entre os estados de spin alfa e beta é diretamente proporcional a força do campo magnético aplicada. Este sinal é captado pelo espectrômetro da ressonância e através de análise de software é gerado um gráfico de frequências com as diferentes intensidades sinalizadas.¹¹

A suscetibilidade do átomo de Hidrogênio ao campo magnético e ao pulso de rádio frequência é influenciada pelos átomos que estão na vizinhança deste próton.

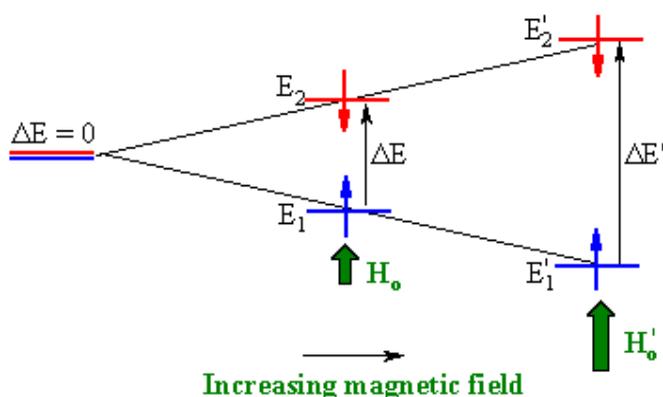


Figura 3. Pulso de Espectroscopia: A diferença de energia (ΔE) entre os spins alfa e beta gera um pulso de espectroscopia. Este será interpretado pelo software e representado por um gráfico de frequências. Fonte: <http://www.mhhe.com/physsci/chemistry/carey/student/olc/ch13nmr.html>

Em 1951, os químicos descobriram que a espectroscopia por ressonância magnética poderia ser utilizada para determinar as estruturas dos compostos orgânicos, através da determinação da espectroscopia dos diferentes prótons

que compõe a substância era possível desenvolver um software que interpretasse esses sinais e determinasse o composto.¹¹ Desde então diversas técnicas foram desenvolvidas para prover informações metabólicas sobre a atividade celular e tissular através da SRNM. Os compostos determinados por este método são chamados de metabólitos.⁴²

Os gráficos espectroscópicos representam a relação amplitude *versus* frequência (partes por milhão – ppm). A SRNM detecta e separa os metabólitos cerebrais que estão a uma concentração maior ou igual a 0,5 mmol e ressonam em diferentes frequências ao longo do eixo horizontal de frequência.¹

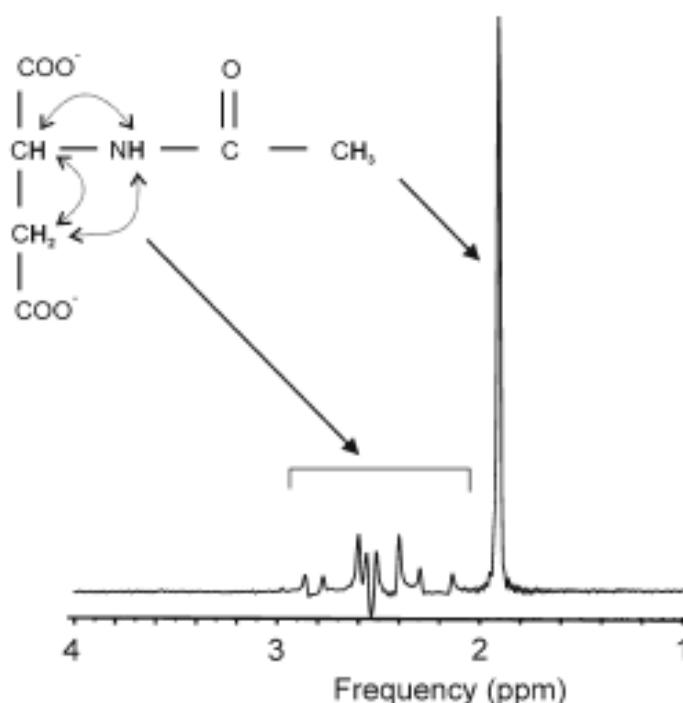


Figura 4. Espectro do metabólito N-Acetilaspártato (NAA): Os três diferentes prótons que compõe a molécula CH₃, emitem um sinal na frequência de 2ppm (partes por milhão) e os prótons ligados as moléculas NH e CH fornecem um sinal na frequência ente 2-3 ppm. Fonte: Blüml, S. Magnetic Resonance Spectroscopy: Basics. In: S.Blüml & A.Panigrahy (eds), MR Spectroscopy of Pediatric Brain Disorders.

A modernização dos aparelhos de ressonância nuclear magnética, com capacidade em gerar campos magnéticos mais potentes (1,5 a 3,0 Teslas),

magnificou o sinal da espectroscopia, já que este é diretamente proporcional a força do campo magnético, apurando a técnica e proporcionando a identificação de metabólitos relacionados a atividade e a lesões do sistema nervoso central.⁴²

Os pulsos de radiofrequência podem ser emitidos sob duas formas, a saber:

- *STEAM – Stimulated echo acquisition mode* – onde são lançados 3 pulsos de 90°, com tempo de eco (TE) alto ou baixo. Nesta opção não há recuperação completa do sinal, sendo que é mais contaminada pelos artefatos gerados pela gordura do organismo.
- *PRESS - point resolved spectroscopy* – 1 pulso de 90° e dois pulsos de 180° são emitidos. Isso produz um spin-echo, com TE alto ou baixo. Nesta opção há recuperação completa do sinal, com menos contaminação comparado com o STEAM.

Em suma, os prótons submetidos a um campo magnético externo assumem o spin alfa (estado de menor energia), alinhando-se com o campo. A este átomo é aplicado um pulso de radiofrequência (tempo eco –TE), quer sob a técnica STEAM quer sob a técnica PRESS, esse pulso eleva o átomo a um estado de maior energia (spin beta), como o pulso é intermitente, a sua cessação faz com que o próton retorne ao spin alfa, gerando um tempo de relaxamento (TR), que é o tempo decorrido para retornar ao estado de menor energia. A informação espectroscópica dependerá diretamente do TR e do TE.¹

Existem metabólitos que necessitam de um TE longo (em torno de 135 ms) para que assumam um estado de maior energia, como por exemplo o N-acetilaspártato, Creatina e Colina e outros metabólitos que necessitam de um TE mais curto (em torno de 30ms), como por exemplo o Mioinositol e Glutamina.

Quanto à geração do gráfico espectroscópico os aparelhos de ressonância podem fazê-lo a partir de um único voxel (*single voxel*) ou por múltiplos voxel (*multivoxel* ou “*chemical shift imaging*”). Voxel é a menor unidade tridimensional de uma imagem digital. Assim, no *single voxel* teremos uma unidade com 8cm³ (2x2x2cm) sendo estudada exclusivamente, enquanto no

multivoxel vários componentes da estrutura são estudados simultaneamente. A primeira aquisição de imagem permite excluir ruídos (artefatos) decorrentes da gordura e da água de maneira mais eficaz, por outro lado a segunda maneira de aquisição permite mostrar a extensão da anomalia metabólica.

Por fim, a produção dos gráficos (realizado a partir de softwares especializados) utiliza como referência os seguintes dados: a curva no parênquima de aparência normal contralateral (especialmente nos casos de lesões focais – como as tumorais ou desmielinizantes), os valores consensuais da literatura de normalidade.

3.4.2 Metabólitos relacionados à lesão cerebral à espectroscopia por ressonância magnética

3.4.2.1 Composto N-Acetilaspártato

A identificação inicial do N-acetilaspártato como metabólito foi feita em 1956, através da análise do cérebro de gatos.⁴² O composto é formado pelo componente *N-acetilaspártato* (NAA) e pelo *N-acetilaspártilglutamato* (NAAG). Sua dispersão química à espectroscopia é de 2,02 e 2,6 ppm.⁴⁶

Os níveis de NAA diminuem com a idade, de maneira lenta, em uma taxa de 0,5 a 3%/década. Esta molécula é sintetizada a partir da *acetil coenzima-A* e aspartato pela *N-acetiltransferase-8* (NAT8L), estando localizada na mitocôndria e citoplasma dos neurônios (corpo celular, dendritos e axônios). Apesar de estar presente em todos os neurônios, o NAA não participa de qualquer via metabólica dos neurônios e o NAAG é restrito às vias glutamatérgicas. As células da glia são responsáveis pela degradação do composto N-acetilaspártato.^{40, 42}

O NAA tem sido considerado um marcador neuronal, e o metabólito mais abundante na SRNM no cérebro humano saudável. Seus níveis estão reduzidos em pacientes com esclerose múltipla e naqueles com retardo mental

congenito ou em outras afecções da substância branca, como nas leucodistrofias e encefalopatias hipóxicas. ^{40, 42}

3.4.2.2 Colina

A Colina (Cho) não pode ser sintetizada pelas células do sistema nervoso, logo a captação de colina é feita dos líquidos extracelulares, principalmente por difusão de colina através da barreira hemato-encefálica. No sistema nervoso há dois sistemas de transporte ativo de colina, um de alta afinidade presente nas terminações nervosas colinérgicas e, um de baixa afinidade difusamente distribuído pelos neurônios. A colina é fundamental para o desenvolvimento cerebral normal e para o desenvolvimento das memórias. ^{40, 42} Este metabólito concentra-se na substância branca, pois ele se relaciona com a renovação das membranas, refletindo a densidade ou proliferação celular.

O pico de espectroscopia da colina corresponde aos níveis totais de colina livre, acetilcolina, glicerofosforilcolina e a fosfocolina, com dispersão à espectroscopia de 3,2 ppm. ^{40, 42, 46}

A espectroscopia da colina, segundo dados da literatura, reflete a densidade celular, sendo observado aumento nas neoplasias malignas. ^{40, 42}

3.4.2.3 Creatina

Creatina (Cr) é derivada da dieta (ingestão de carne) e da síntese endógena, por neurônios e pelas células da glia. A concentração deste metabólito varia nas regiões cerebrais, apresentando maiores níveis na substância cinzenta que na substância branca. ^{40, 42}

A espectroscopia deste metabólito espelha o sinal da Creatina e da fosfocreatina e tem dispersão à espectroscopia de 3,03 e 3,09 ppm. ^{40, 42, 46}

A creatina tem importante função na homeostasia da energia cerebral, pois atua no sistema de produção de adenosina trifosfato (ATP), principal fonte de energia celular. Devido à sua importância, a concentração de creatina tende a permanecer constante no tecido cerebral, a despeito da ocorrência de lesões e,

por isso o pico espectroscópico de creatina tem sido utilizado como um padrão interno para comparação dos outros metabólitos. ^{40, 42}

3.4.2.4 Aminoácidos

A glutamina (Glu), glutamato (Gln) e ácido gama-aminobutírico (GABA) compõem este grupo de metabólitos. O sistema GABAérgico está envolvido em processos fisiológicos fundamentais, como o sono, dor, controle motor e mecanismos da ansiedade. O Glu e Gln são neurotransmissores excitatórios do sistema nervoso, sendo difusamente distribuídos. ^{40, 42}

Estudos têm mostrado elevação do pico espectroscópico da Glu em pacientes com esclerose múltipla, elevação do pico do Gln na encefalopatia hepática e na síndrome de Reye, enquanto a avaliação do GABA tem sido utilizado na avaliação dos efeitos de drogas (ex. anticonvulsivantes) sobre o SNC. ^{40, 42}

3.4.2.5 Mioinositol

O mioinositol (mI) cerebral é gerado por nova síntese a partir de glicose pelas células da glia. Este compõe as biomembranas, age como segundo mensageiro intracelular e tem função de osmólito orgânico, mantendo o volume celular. ^{40, 42} Seu sinal espectroscópico é formado pelo mI livre e pelo mI fosfatado, tem com dispersão à espectroscopia de 3, 56 ppm.⁴⁶

Ele tem sido usado como um marcador da glia, pois sua concentração ocorre principalmente em astrócitos, com elevação do pico durante a proliferação glial, bem como em situações que aumentem o tamanho celular. ^{40, 42}

3.4.3 Usos da espectroscopia por ressonância nuclear magnética na prática clínica

A SRNM tem sido amplamente utilizada em doenças neurodegenerativas, doença cerebrovascular e doenças neoplásicas do SNC e

tem contribuído para o diagnóstico e para compreensão dos mecanismos fisiopatológicas destas patologias.

O estudo de Woo et al investigou as alterações espectroscópicas do córtex insular em pacientes com insuficiência cardíaca, na busca das vias fisiopatológicas relacionadas a disautonomia presentes nestes pacientes. Os autores demonstraram que uma redução da relação NAA/Cr nos insuficientes cardíacos, o que sugere disfunção/lesão neuronal nestes indivíduos, um substrato para a disfunção autonômica.⁴⁹

Estudos com SRNM em diferentes demências trouxeram dados relevantes. Em portadores de doença de Alzheimer (DA), observou-se uma redução gradual do NAA e das relações NAA/Cr e NAA/mI quando comparados com controles; com NAA e NAA/Cr correlacionando-se com declínio cognitivo. Na demência vascular existem estudos mostrando redução de NAA associado a déficit cognitivo quando comparado com controles não-demenciados.²³

Dados da literatura mostraram o uso da SRNM como auxiliar no diagnóstico entre transtorno cognitivo e DA.⁴⁶

A doença neurodegenerativa mais bem estudada pelo método da SRNM é a esclerose múltipla, com diversos estudos demonstrando alterações nos tanto nos metabólitos marcadores de dano neuronal, quanto na utilização destes metabólitos como preditor de disfunção e progressão da doença.⁴⁷

A utilização da técnica de SRNM para avaliação fisiopatológica das manifestações neurológicas da DC restringe-se a relato de caso do uso da técnica em caso de neuropatia chagásica aguda, como mostrado por Bernabeu & col (2013)⁵ e análise da função cardíaca nestes pacientes através desta técnica²⁵, como realizado por Leme e col. (2010). Para o acometimento neurológico crônico não há dados descritos na literatura.

4. Hipóteses

Hipótese 1:

H0: Não haverá associação entre a doença de Chagas e o grau de disfunção cognitiva nos domínios visuo-espacial, memória e função executiva.

H1: A doença de Chagas estará associada a uma alteração no desempenho nos domínios cognitivos visuo-espacial, memória e função executiva.

Hipótese 2:

H0: Não haverá associação entre os metabólitos cerebrais NAA/Cr, Cho/Cr e mI/Cr e a doença de Chagas.

H1: A doença de Chagas estará associada a uma alteração nas concentrações dos metabólitos cerebrais NAA/Cr, Cho/Cr e mI/Cr.

Hipótese 3:

H0: O efeito da doença de Chagas sobre a função cognitiva não é justificado pelos metabólitos cerebrais NAA/Cr, Cho/Cr ou mI/Cr.

H1: O efeito da doença de Chagas sobre a função cognitiva é justificado pela alteração nas concentrações dos metabólitos cerebrais NAA/Cr, Cho/Cr ou mI/Cr.

5. Metodologia

5.1 Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo do tipo corte transversal de uma coorte de pacientes com insuficiência cardíaca. A variável principal de exposição é a sorologia para doença de Chagas, definindo dois grupos de comparação: portadores de cardiomiopatia chagásica e portadores de cardiomiopatia de outras etiologias. As variáveis de desfecho são representadas pelo desempenho cognitivo em cada um dos três domínios (víscuo-espacial, memória e função executiva). Os mediadores de disfunção cognitiva a serem testados são representados pelas variáveis de RNM e SRNM. O modelo teórico proposto é representado abaixo:

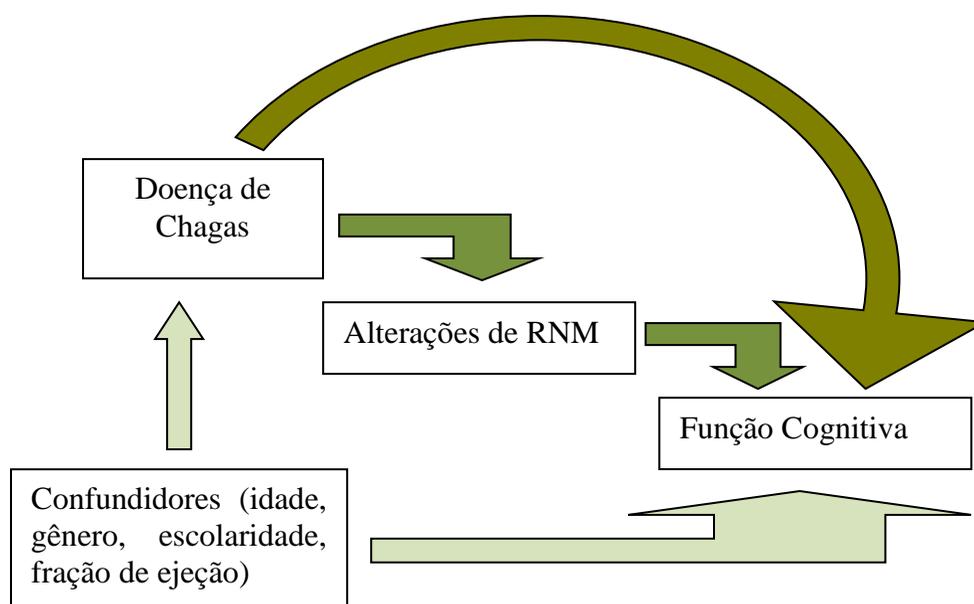


Figura 5. Modelo teórico de disfunção cognitiva na doença de Chagas. RNM: Ressonância nuclear magnética

5.2 Casuística

A amostra consta de portadores de insuficiência cardíaca, com idade acima de 18 anos, sem antecedente de doença cerebrovascular, que frequentam ambulatório de referência em cardiologia em Salvador-Bahia/Brasil.

Insuficiência cardíaca foi definida baseada nos critérios de Framingham¹⁹ e todos os pacientes foram submetidos a teste sorológico pela técnica de ELISA para tripanossomíase americana, conforme descrito abaixo. Foi definido como portador de DC aqueles indivíduos com sorologia positiva para anticorpos contra *T. cruzi*, ao teste ELISA.

Os critérios de exclusão foram definidos com o objetivo de afastar possíveis vieses de confusão para avaliação de metabólitos à espectroscopia, bem como na avaliação de biomarcadores séricos e na avaliação do Duplex Transcraniano.

Critérios de Exclusão
1. História de neoplasia maligna não tratada (exceto neoplasia localizada da pele).
2. Doença cerebrovascular prévia (determinada usando o Questionnaire for Verifying Stroke-Free Status - QVSFS).
3. Insuficiência renal crônica dialítica ou insuficiência hepática terminal.
4. História de Trombose venosa, Trombose pulmonar ou infarto do miocárdio nos últimos 6 meses.
5. Infecção/inflamação aguda (temp > 37,8°C e/ou leucograma > 15000)
6. Uso de próteses metálicas, marcapasso cardíaco ou cardiodesfibrilador implantável
7. Uso de anticoagulantes (varfarina, heparina ou novos anticoagulantes – Dabigatran, Rivaroxaban e Apixaban)
8. Pacientes fóbicos incapazes em permanecer 60 minutos na câmara da ressonância nuclear magnética
9. Incapacidade de obter consentimento informado do paciente ou representante legal.

Quadro 1. Critérios de Exclusão

5.3 Locais do Estudo

Selecionamos pacientes ambulatoriais, recrutados consecutivamente nos seguintes serviços: Ambulatório de Cardiomiopatia do Ambulatório Magalhães Neto/HUPES; Ambulatório de Insuficiência Cardíaca do Hospital Ana Neri/INCOR e Ambulatório de Insuficiência Cardíaca – Ambulatório Silva Lima do Hospital Santa Izabel.

5.4 Coleta de Dados

5.4.1 Dados Socio-demográficos e Antropométricos

Os pacientes selecionados, após aplicação dos critérios de inclusão e exclusão e assinatura do termo de consentimento, foram submetidos a questionário estruturado para obtenção dos seguintes dados: idade, gênero, raça, nível de instrução (um marcador socioeconômico), comorbidades, fatores de risco cerebrovasculares e hábitos de vida (tabagismo, etilismo), medicamentos em uso, etiologia da cardiomiopatia, uso recente (nos últimos 30 dias) de antitrombóticos ou estatinas, índice de massa corpórea (calculada por peso em kg/(altura em metros)²), condições de moradia e questionário de qualidade de vida.

5.4.2 Dados do exame físico incluíram:

- Avaliação segmentar de sinais de insuficiência cardíaca descompensada, tais como: crepitações à ausculta pulmonar, hepatomegalia, sopros cardíacos ou bulhas adicionais, edema periférico.
- Avaliação Neurológica de acordo com a escala para acidente vascular cerebral do NIH.

5.4.3 Dados dos exames complementares coletados em formulário padronizado incluíram:

- Dados ecocardiográficos: fração de ejeção (FE), diâmetro de átrio esquerdo, alterações segmentares do ventrículo esquerdo, disfunção diastólica ventricular, presença de trombo intracavitário, patologia valvar e contraste espontâneo atrial.
- Dados de eletrocardiograma: ritmo cardíaco, presença de arritmias ventriculares ou supraventriculares, presença de bloqueios de condução e sinais de sobrecarga de câmaras cardíacas.
- A definição da presença da doença de Chagas foi realizada através da técnica sorológica de ELISA, por kit padronizado (ELISA de 3^o geração para detecção de anticorpos contra o *T. cruzi* – Chagatest Elisa Recombinante Wiener) no Serviço de Imunologia do HUPES.

5.4.4. Dados Cognitivos:

Os pacientes foram submetidos a uma seqüência de exames cognitivos, descritos abaixo:

Mini-Exame do Estado Mental (MEEM): O MEEM é um teste amplamente utilizado para avaliar o estado cognitivo global. É um teste rápido e padronizado para detectar disfunção cognitiva. Dados normativos baseados em idade e nível de instrução existem para a população brasileira.

Uma série de testes cognitivos foi utilizada baseada em dados preliminares mostrando disfunção cognitiva em certos domínios da cognição na doença de Chagas.¹⁵ A Bateria Breve de Rastreamento Cognitivo foi desenvolvida e validada em uma população brasileira, inclui uma série de testes de memória imediata e tardia, atenção, praxia, gnosia e linguagem. O Teste do Relógio avalia praxia e função visuo-espacial. O teste da figura complexa de Rey avalia a função visuo-espacial e memória visual. O teste da seqüência direta e inversa de dígitos

avalia a função executiva, memória operacional e atenção. O teste de fluência verbal (sequência de animais em 1 min) avalia a função executiva, linguagem e memória semântica, teste de Luria avalia praxia e função executiva.

Os testes acima foram transformados em escores-Z (padronizados em relação à média e desvio padrão do grupo total) e combinados para gerar escores por domínio cognitivo (víscuo-espacial, memória e função executiva). O domínio víscuo-espacial foi calculado pela média dos escores-Z do teste do relógio e da fase de cópia da figura complexa de Rey. O domínio de memória foi calculado pela média dos escores-Z dos testes de memória da Bateria Breve de Rastreio Cognitivo e da fase de evocação da figura complexa de Rey. O domínio de função executiva foi calculado pela média dos escores-Z do teste de fluência verbal, teste de Luria e seqüência de dígitos (SPAN de dígitos).

5.4.5. Dados de Ressonância Nuclear Magnética

Os pacientes foram submetidos a exame de ressonância nuclear magnética com espectroscopia, em aparelho GE Healthcare de 1,5 Tesla. Foram realizados cortes axiais de 5mm, nas seqüências ponderadas em T1, T2 e FLAIR. Através do software MRIcro realizado análise volumétrica intracraniana, cerebral e cerebelar através da seqüência T1 e análise de infartos subcorticais, bem como lesões de substância branca através de seqüência FLAIR. Os volumes cerebral, cerebelar e de substância branca foram calculados proporcionalmente ao volume intracraniano.

Volumetrias

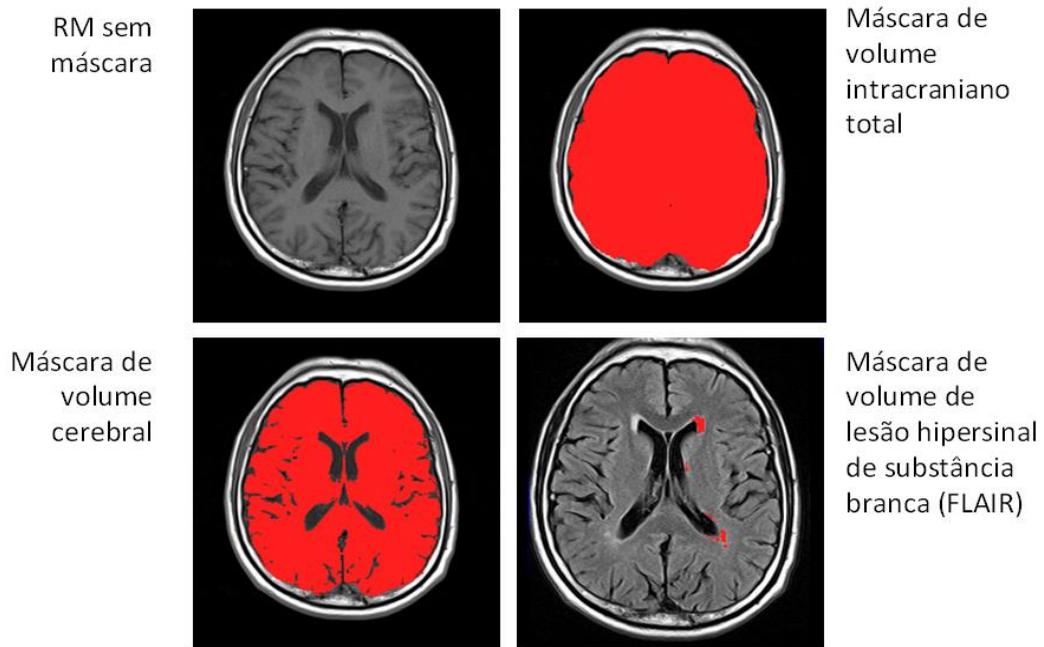


Figura 6. Exemplo de determinação das volumetrias à RNM em paciente da coorte.

A partir da imagem gerada na seqüência T2, obtivemos os dados brutos e a partir destes, pela técnica PRESS single voxel para o córtex, foram gerados os sinais espectroscópicos que foram captados. Através de software GE^R os dados brutos foram interpretados para determinação dos níveis dos metabólitos selecionados. Analisamos os sinais de espectroscopia para N-acetilaspártato (NAA), Colina (Cho), Creatina (Cr) e Mioinositol (mI), bem como as relações NNA/Cr; Cho/Cr e mI/Cr.

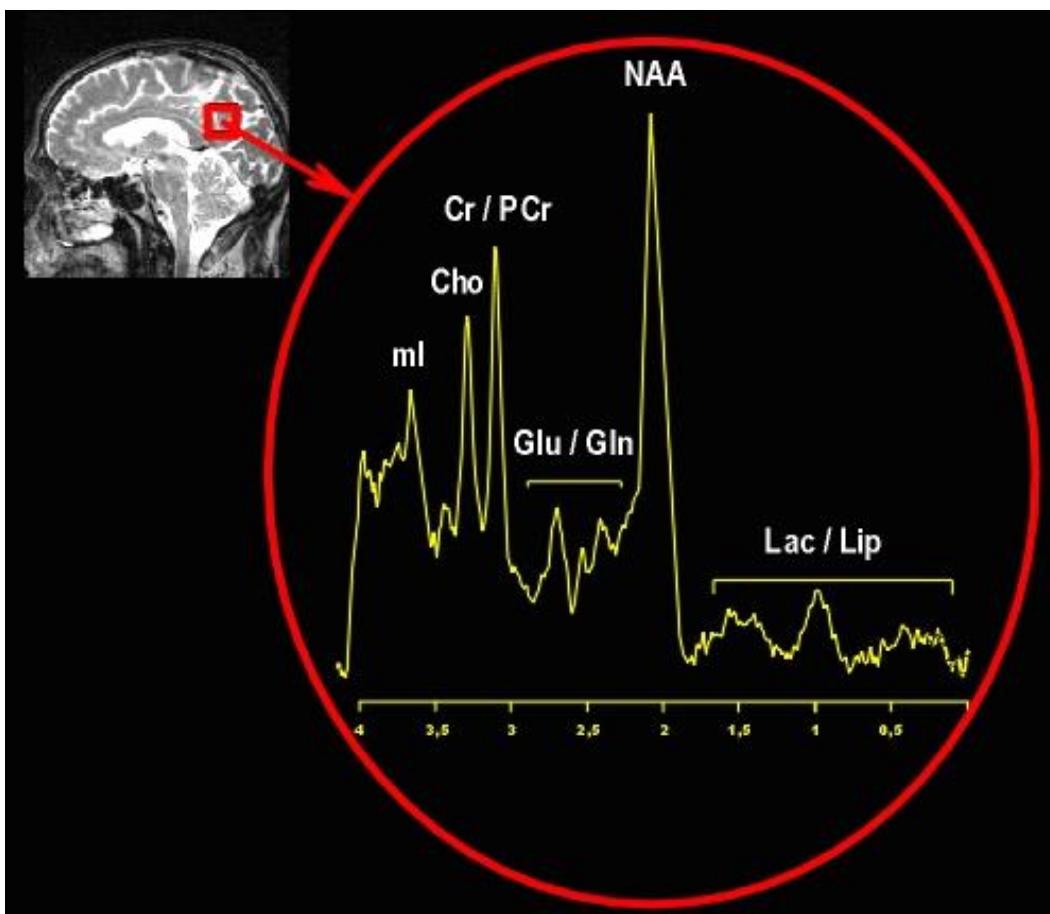


Figura 7. Exemplo de picos espectroscópicos dos metabólitos cerebrais em paciente da coorte.

5.5 Considerações éticas

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Professor Edgar Santos (HUPES), parecer 240/2011, registro CONEP 16030. Os pacientes selecionados assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido, apresentado em anexo.

5.6 Análise Estatística

Os dados coletados foram inseridos em banco de dados criado no programa *Statistical Package for The Social Sciences* (SPSS), versão 21 e foram analisados através deste software. Para todos os testes assumimos como valor significativo de P os resultados abaixo de 0,05.

As variáveis foram analisadas quanto à distribuição na curva de Gauss. Aquelas que não apresentavam distribuição normal foram transformadas em logaritmo passando então a ser analisadas por testes paramétricos juntamente com as variáveis normais, caso assumissem essa distribuição.

Assim, utilizamos para as variáveis contínuas o teste t de Student de amostras independentes para aquelas com distribuição normal e o teste de Mann-Whitney para aquelas com distribuição não normal; enquanto, para as variáveis categóricas foram utilizados o teste qui-quadrado e o teste exato de Fisher, à análise univariada.

Realizamos a análise de regressão linear múltipla para avaliação multivariada. Para a hipótese 1, cada escore de domínio cognitivo (víscuo-espacial, memória e função executiva) foi usado como variável dependente em três modelos separados, em que a doença de Chagas, idade, gênero e escolaridade foram variáveis independentes. As variáveis de ajuste foram selecionadas baseadas naquelas conhecidas associadas, na literatura, a desempenho cognitivo.

Para a hipótese 2, os metabólitos NAA/Cr, Cho/Cr e mI/Cr foram variáveis dependentes em três modelos separados, em que doença de Chagas, idade, gênero e fração de ejeção foram as variáveis independentes.

Para a hipótese 3, planejamos usar os modelos nos quais a doença de Chagas esteve associada à disfunção de algum dos três domínios cognitivos para investigar qual metabólito justificaria esta disfunção. Esse modelo incluiria o domínio cognitivo como variável dependente; e doença de Chagas, idade, gênero, escolaridade e cada relação de metabólito da espectroscopia por RM como variáveis independentes.

6. Resultados

1. Avaliação das Variáveis

Analisamos as variáveis quanto sua distribuição para escolha do teste estatístico mais adequado (paramétrico x não-paramétrico), conforme o abaixo:

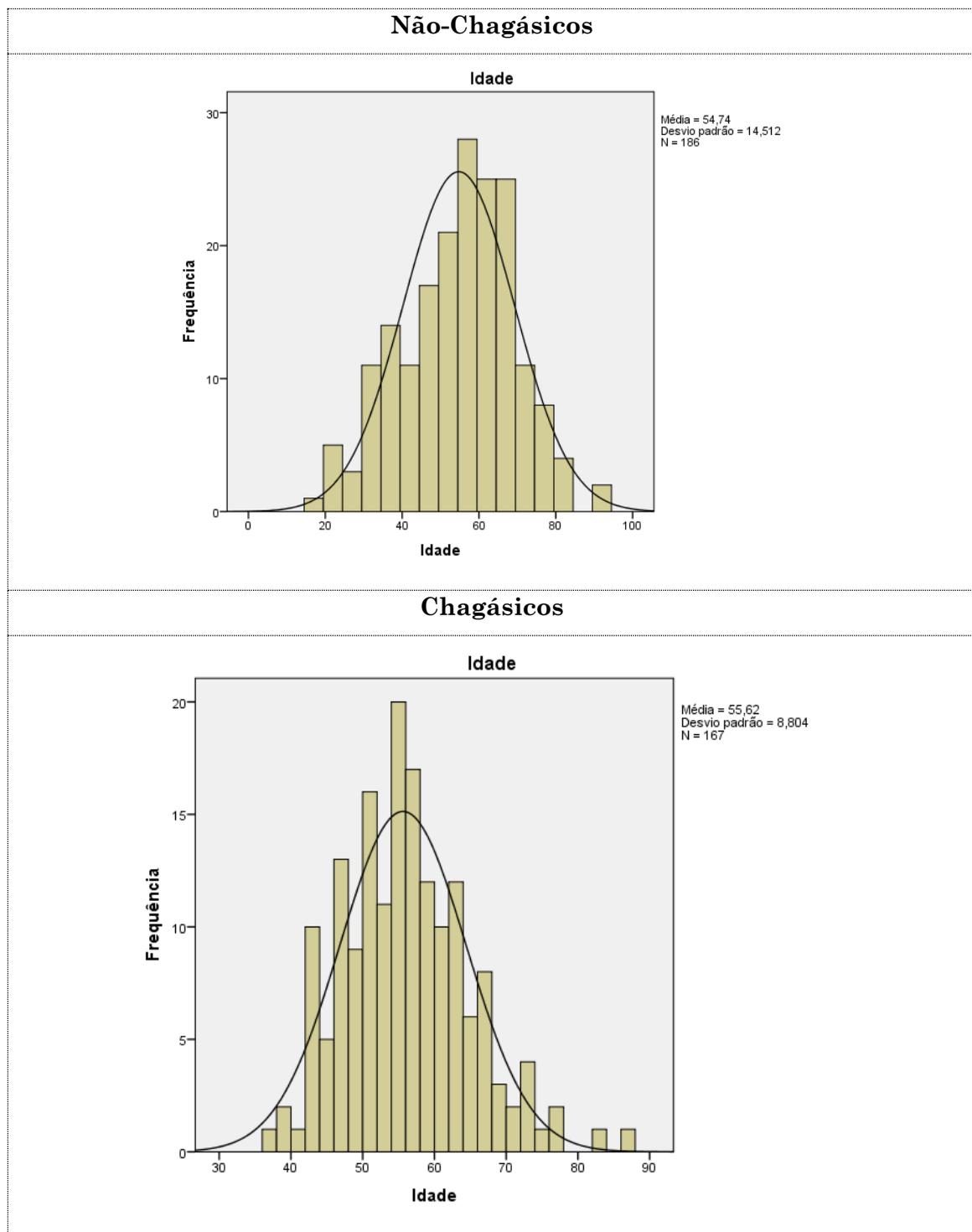


Gráfico 1. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Idade

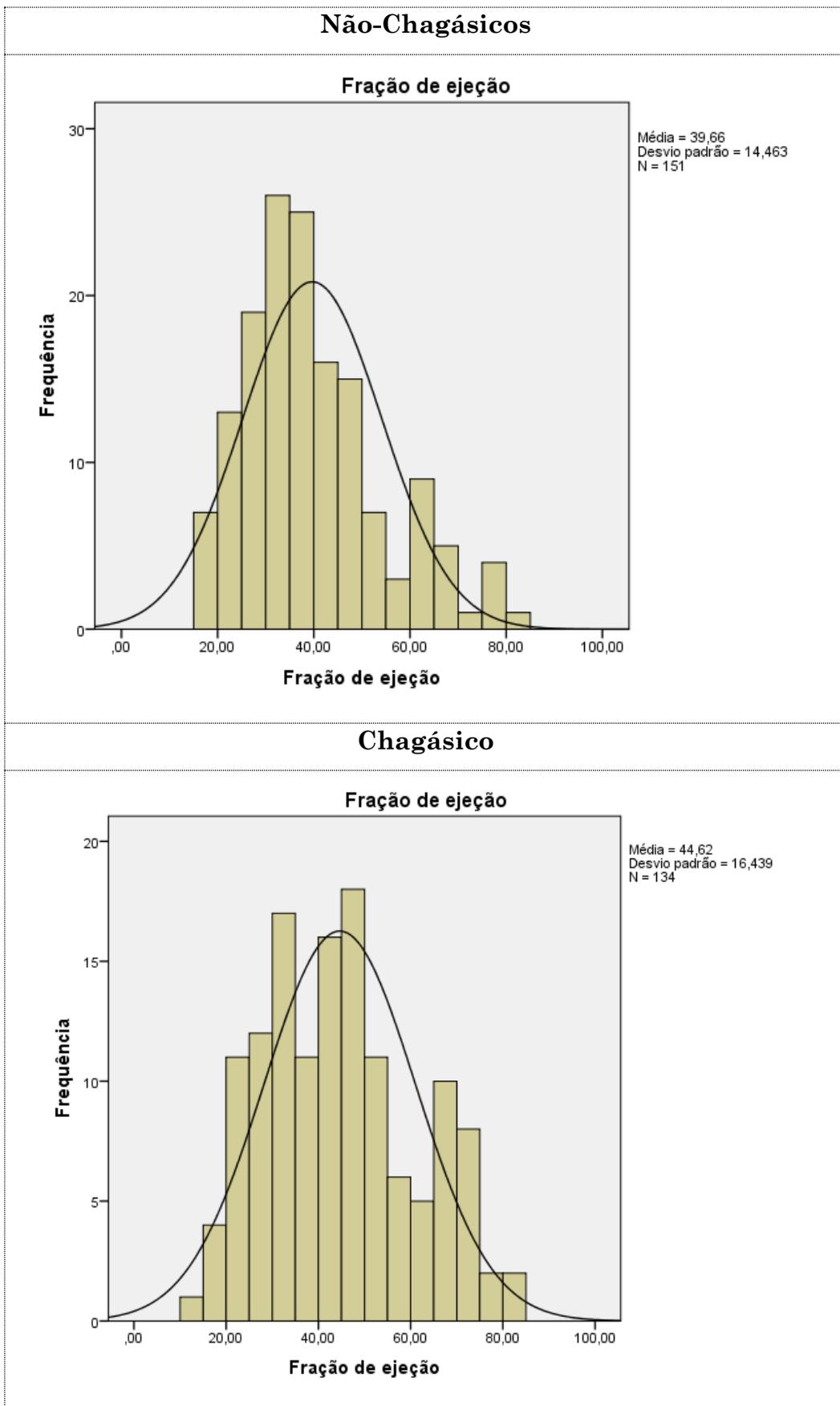


Gráfico 2. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Fração de Ejeção

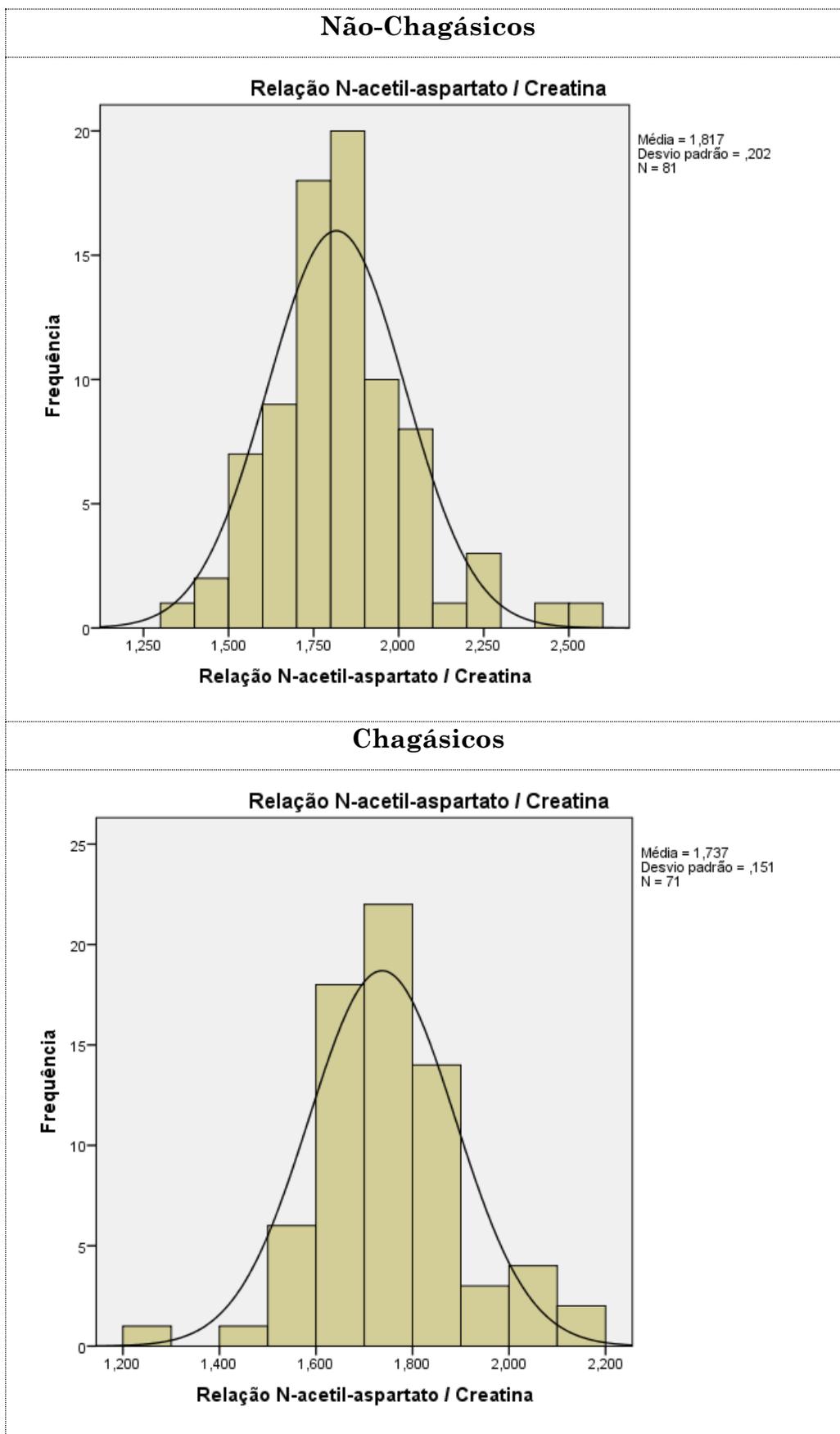


Gráfico 3. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Relação NAA/Cr

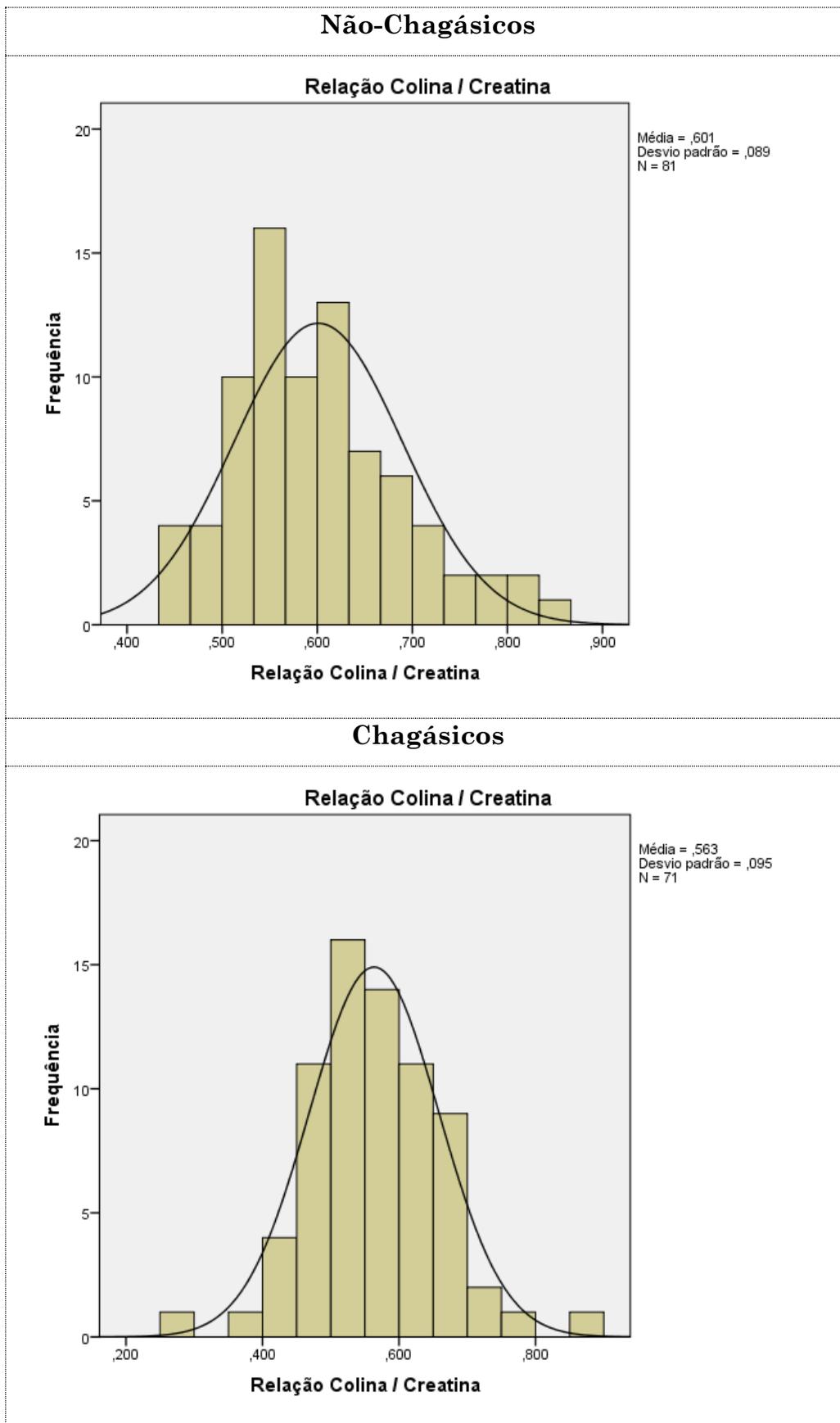


Gráfico 4. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Relação Cho/Cr

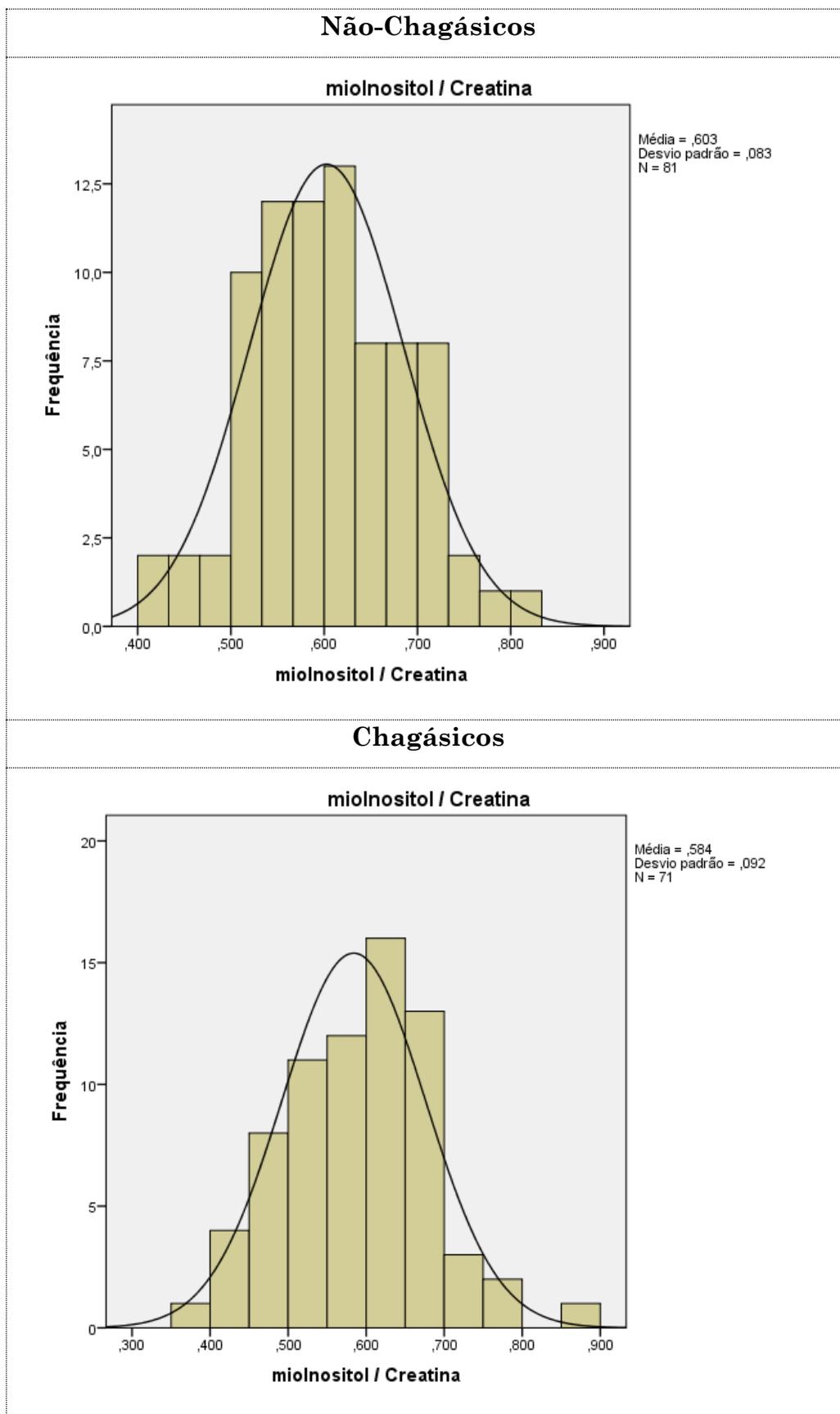


Gráfico 5. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Relação mI/Cr

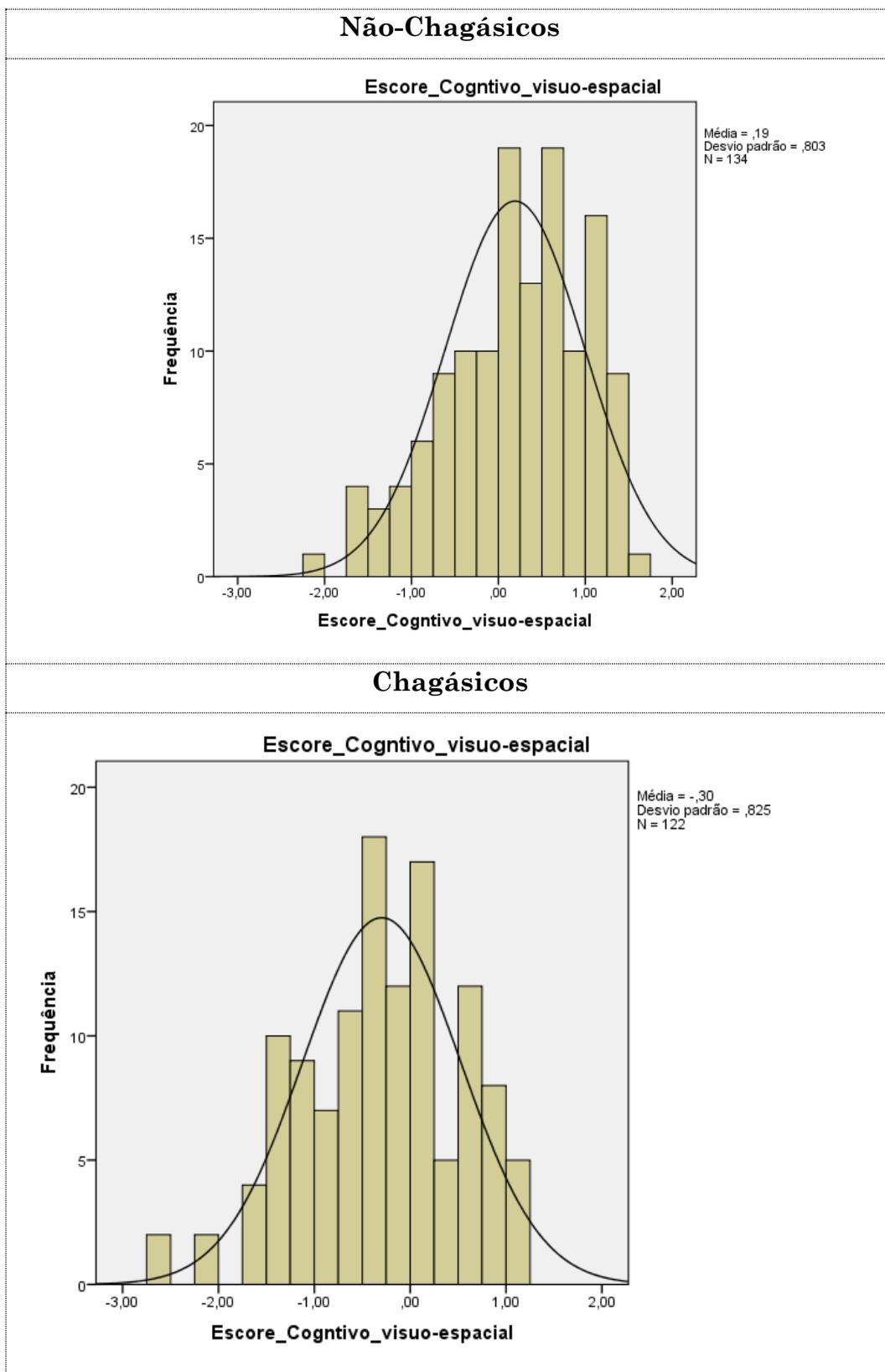


Gráfico 6. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Escore Víuo-espacial

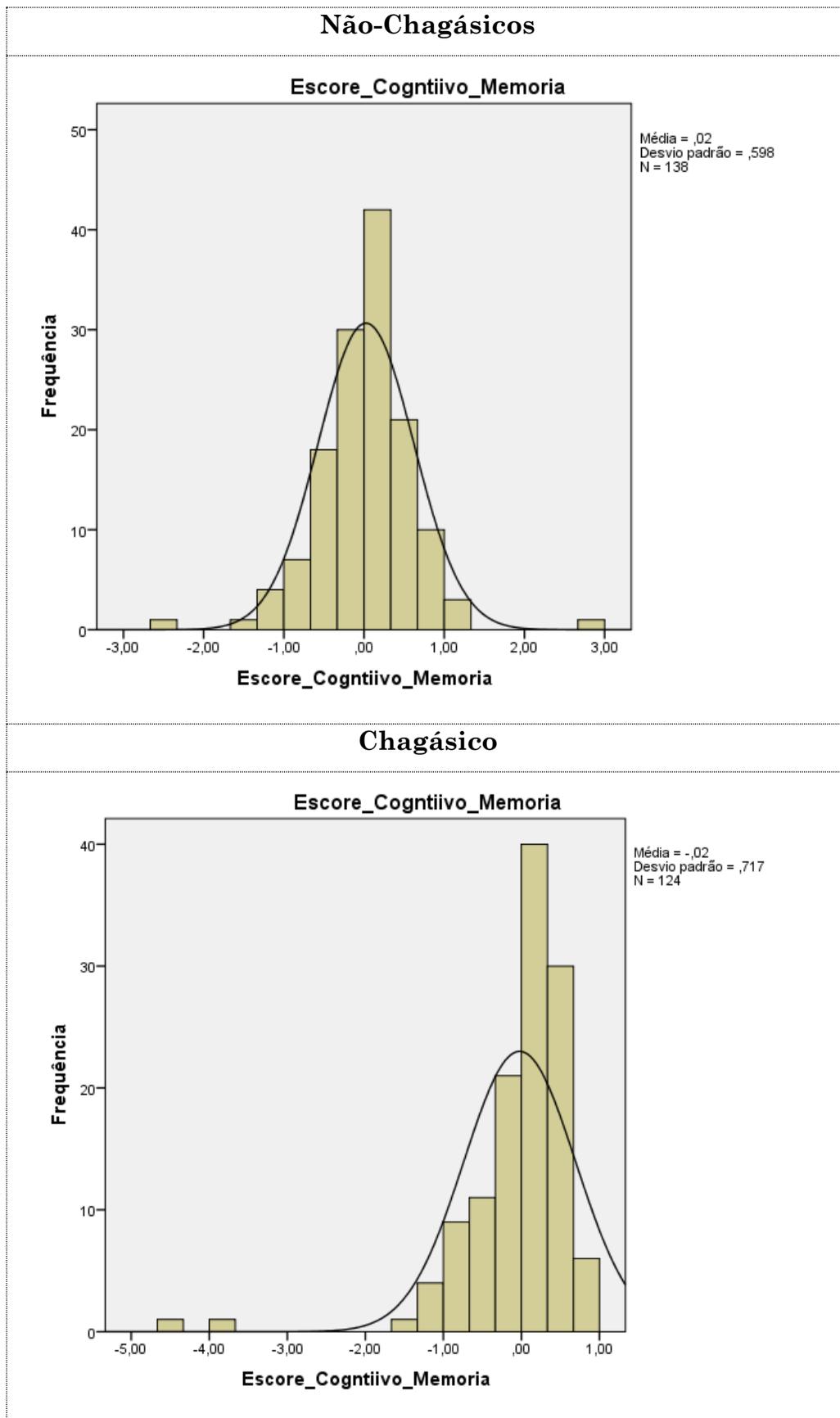


Gráfico 7. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Escore Memória

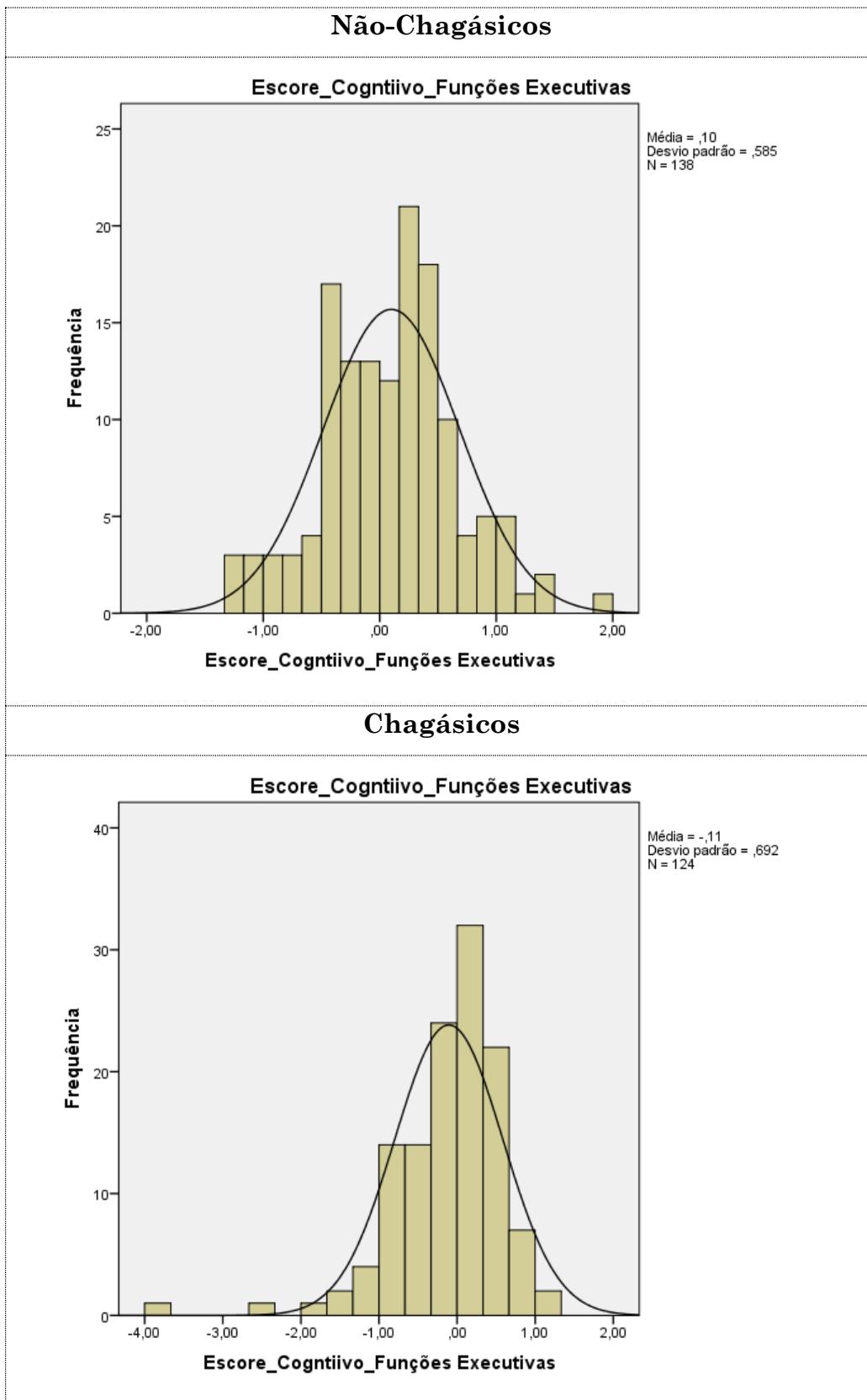


Gráfico 8. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Escore Funções Executivas

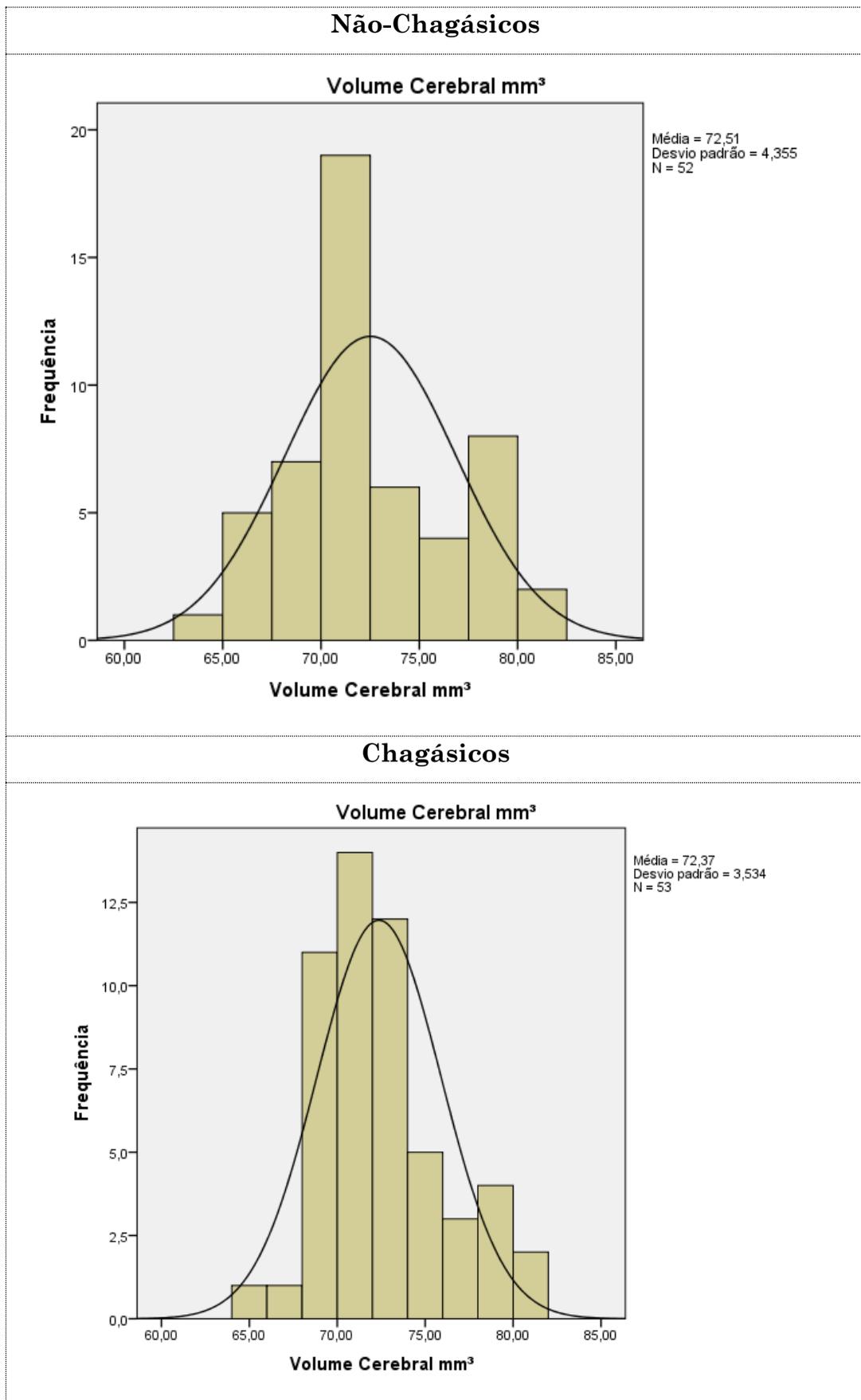


Gráfico 9. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Volume Cerebral

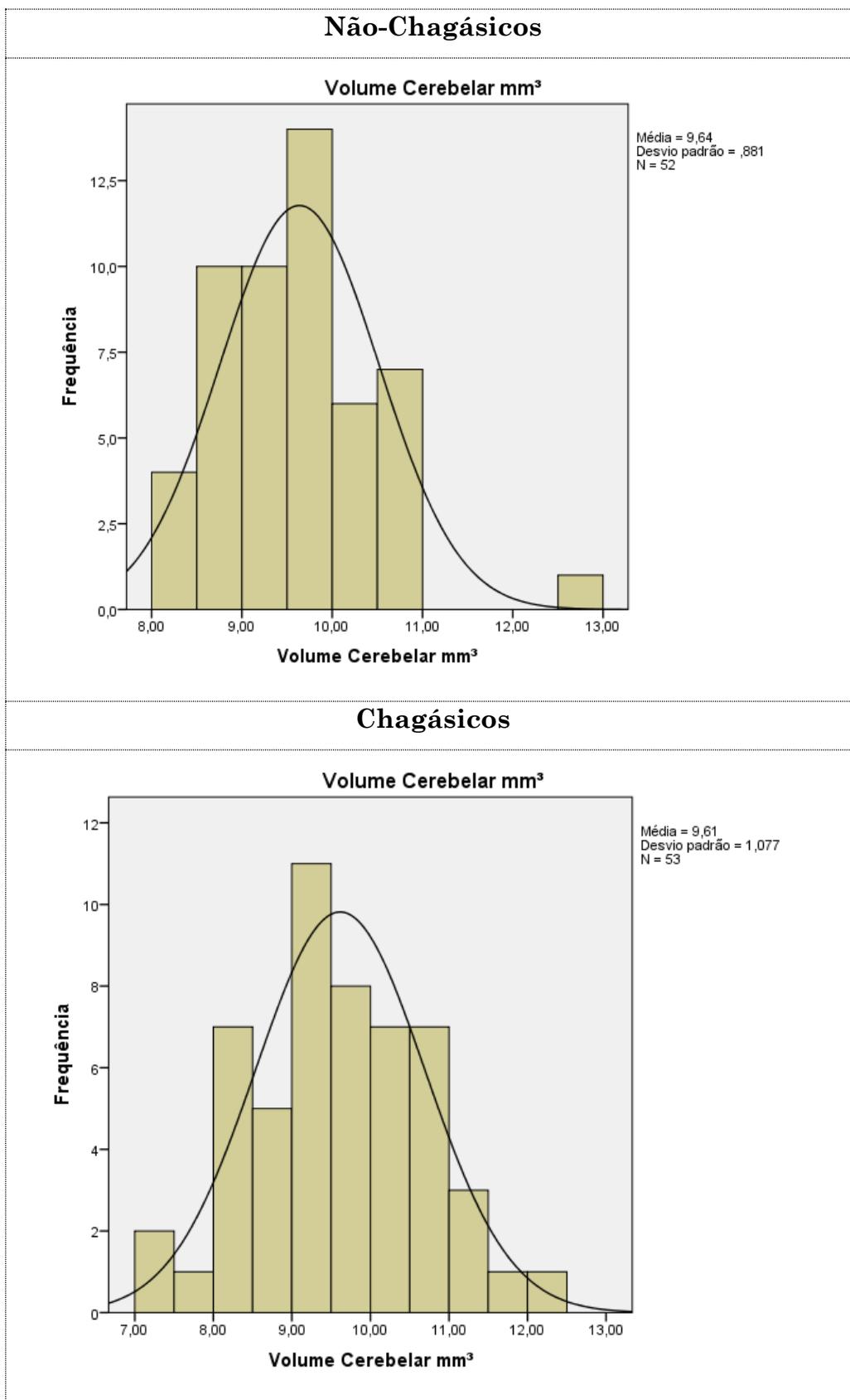


Gráfico 10. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Volume Cerebelar

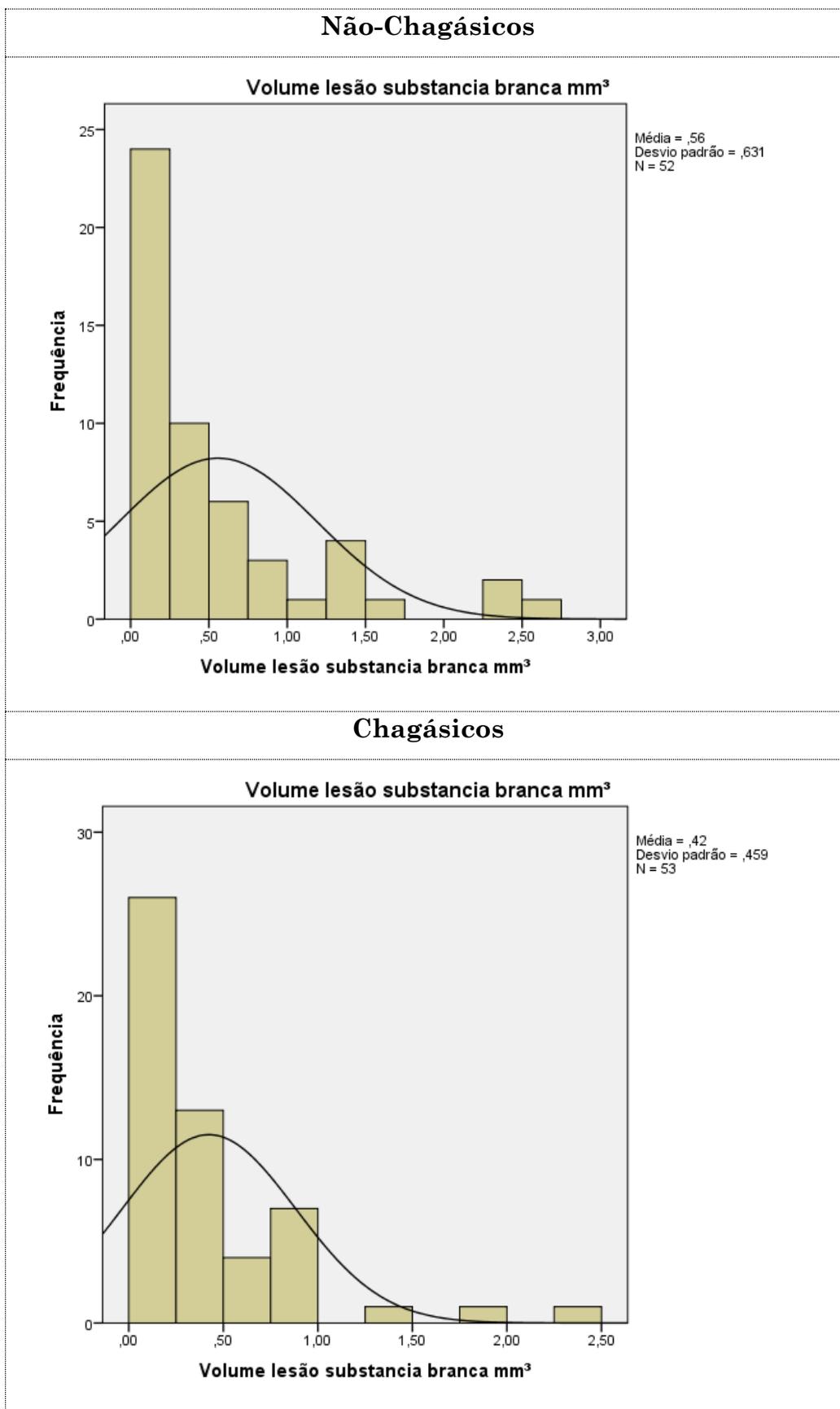


Gráfico 12. Histograma com avaliação de normalidade da variável: Volume de Lesão de Substância Branca Cerebral

Resumo de Teste de Hipótese

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
1	A distribuição de Idade é normal com média 55,156 e desvio padrão 12,14.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,383	Reter a hipótese nula.
2	A distribuição de Fração de ejeção é normal com média 41,993 e desvio padrão 15,59.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,052	Reter a hipótese nula.
3	A distribuição de Relação N-acetil-aspartato / Creatina é normal com média 1,779 e desvio padrão 0,18.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,123	Reter a hipótese nula.
4	A distribuição de Relação Colina / Creatina é normal com média 0,583 e desvio padrão 0,09.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,386	Reter a hipótese nula.
5	A distribuição de miolnositol / Creatina é normal com média 0,598 e desvio padrão 0,09.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,986	Reter a hipótese nula.
6	A distribuição de Escore_Cógnitivo_visuo-espacial é normal com média -0,041 e desvio padrão 0,85.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,325	Reter a hipótese nula.
7	A distribuição de Escore_Cógnitivo_Memoria é normal com média 0,002 e desvio padrão 0,66.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,002	Rejeitar a hipótese nula.
8	A distribuição de Escore_Cógnitivo_Funções Executivas é normal com média 0,002 e desvio padrão 0,64.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,226	Reter a hipótese nula.
9	A distribuição de Escore_Cógnitivo_Global é normal com média -0,014 e desvio padrão 0,59.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,287	Reter a hipótese nula.
10	A distribuição de Volume Cerebral mm ³ é normal com média 72,441 e desvio padrão 3,94.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,026	Rejeitar a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

Resumo de Teste de Hipótese

	Hipótese nula	Teste	Sig.	Decisão
11	A distribuição de Volume Cerebelar mm ³ é normal com média 9,626 e desvio padrão 0,98.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,938	Reter a hipótese nula.
12	A distribuição de Volume lesão substancia branca mm ³ é normal com média 0,490 e desvio padrão 0,55.	Um teste Kolmogorov-Smirnov de uma amostra	,000	Rejeitar a hipótese nula.

São exibidas significâncias assintóticas. O nível de significância é ,05.

2. Análises Estatísticas

A amostra é composta por 353 indivíduos com cardiomiopatia, dos quais 167 (47%) tinham DC. Destes 152 pacientes realizaram estudo de RNM e espectroscopia por ressonância. Os dados foram analisados para os grupos Sorologia Chagásicos Positiva (Chagásicos) e Sorologia Chagásica Negativa (Não-chagásicos), conforme demonstrado na tabela 1.

Tabela 1. Análise Univariada: Dados demográficos, ecocardiográficos, volumétricos à ressonância magnética e de metabólitos espectroscópicos.

Variáveis	Doença de Chagas		P
	Negativa	Positiva	
Idade em anos (média \pm DP)	54,74 (\pm 14,50) [n = 186/353]	55,62 (\pm 8,80) [n=167/353]	0,489
FE % (média \pm DP)	39,66 (\pm 14,46) [n=151/285]	44,61 (\pm 16,43) [n=134/285]	0,008
Relação NAA/Cr (média \pm DP)	1,81 (\pm 0,20) [n=81/152]	1,73 (\pm 0,15) [n=71/152]	0,007
Relação Cho/Cr (média \pm DP)	0,60 (\pm 0,08) [n=81/152]	0,56 (\pm 0,09) [n=71/152]	0,013
Relação mI/Cr (média \pm DP)	0,60 (\pm 0,08) [n=81/152]	0,58 (\pm 0,09) [n=71/152]	0,193

Escore Cognitivo Vísuo-espacial (média \pm DP)	0,19 (\pm 0,80) [n=134/256]	- 0,29 (\pm 0,82) [n=132/256]	<0,000	
Escore Cognitivo Memória (IIQ)	0,05 (-0,26-0,33) [n=138/262]	-0,14 (-0,25 - 0,37) [n=124/262]	0,504	
Escore Cognitivo Função Executiva (média \pm DP)	0,09 (\pm 0,58) [n=138/262]	-0,10 (\pm 0,69) [n=124/262]	0,009	
Volume Cerebral (IIQ)	71,83 (69,84-75,30) [n=52/105]	71,68 (70,01-74,05) [n=53/105]	0,803	
Volume Cerebelar (média \pm DP)	9,63 (\pm 0,88) [n=52/105]	9,61 (\pm 1,07) [n=53/105]	0,907	
Volume de lesão de substância branca (IIQ)	0,31 (0,13 - 0,72) [n=52/105]	0,25 (0,14 - 0,55) [n=53/105]	0,522	
Gênero Feminino (%)	50,1 [n=177/353]	49,9 [n=176/353]	0,056	
Uso de anti-agregante (%)	33,5 [n=62/185]	17,8 [n=30/168]	0,001	
Uso de estatina (%)	21,7 [n=40/184]	17,2 [n=29/169]	0,286	
Tabagista na admissão (%)	7,1 [n=13/183]	4,2 [n=7/167]	0,260	
Diagnóstico de DM (%)	15,6 [n=29/186]	13,6 [n=23/167]	0,653	
Diagnóstico de DAC (%)	26,1 [n=47/180]	10,4 [n=17/164]	<0,001	
Diagnóstico de Hipertensão (%)	68,1 [n=126/185]	56,0 [n=94/168]	0,021	
Infarto do Miocárdio Prévio (%)	19,5 [n=36/185]	5,4 [n=9/168]	<0,001	
CF \leq II NYHA (%)	76,1 [n=134/176]	81,8 [n=126/154]	0,226	
Escolaridade (%)	Analfabeto	10,4 [n=18/173]	28,8 [n=47/163]	<0,001
	Fundamental Incompleto	48,6 [n=84/173]	53,4 [n=87/163]	
	Fundamental Completo	10,4 [n=18/173]	6,1 [n=10/163]	
	Médio Incompleto	8,7 [n=15/173]	4,3 [n=7/163]	

Médio Completo	19,7 [n=34/173]	6,7 [n=11/163]	
Superior	1,2 [n=2/173]	0,0	
Mestrado	0,6 [n=1/173]	0,0	
Nunca estudou mas sabe ler/escrever	0,6 [n=1/173]	0,0	
Presença de FA (%)	4,8 [n=5/105]	8,1 [n=9/111]	0,411

Continuação Tabela 1. DM: Diabetes Mellitus; DAC: Doença Arterial Coronariana; CF: Classe Funcional; FE: fração de ejeção; NYHA: New York Heart Association; FA: fibrilação/flutter atrial; DP: desvio Padrão; IIQ: intervalo interquartil.

A nossa amostra compreende uma população de indivíduos jovens e com disfunção cardíaca significativa, com comprometimento cardíaco grave a moderado, com o grupo chagásico apresentando melhor fração de ejeção, logo com melhor função miocárdica quando comparado com o grupo não-chagásico, com significância estatística. No entanto, a despeito deste grau de disfunção, quanto à apresentação clínica, os grupos não diferiram, com a maioria dos pacientes com classe funcional menor que II segundo a NYHA.

Nota-se também que os grupos diferiram quanto ao uso de anti-agregante plaquetário, à presença de coronariopatia, à história de hipertensão arterial sistêmica e à história de infarto do miocárdio, que foram significativamente maiores no grupo não chagásico. Isso pode ser explicado pela maior prevalência de cardiomiopatia hipertensiva e isquêmica neste grupo, conforme demonstrado no gráfico abaixo, constituindo estas etiologias quando agrupadas a segunda causa de cardiomiopatia em nossa população.

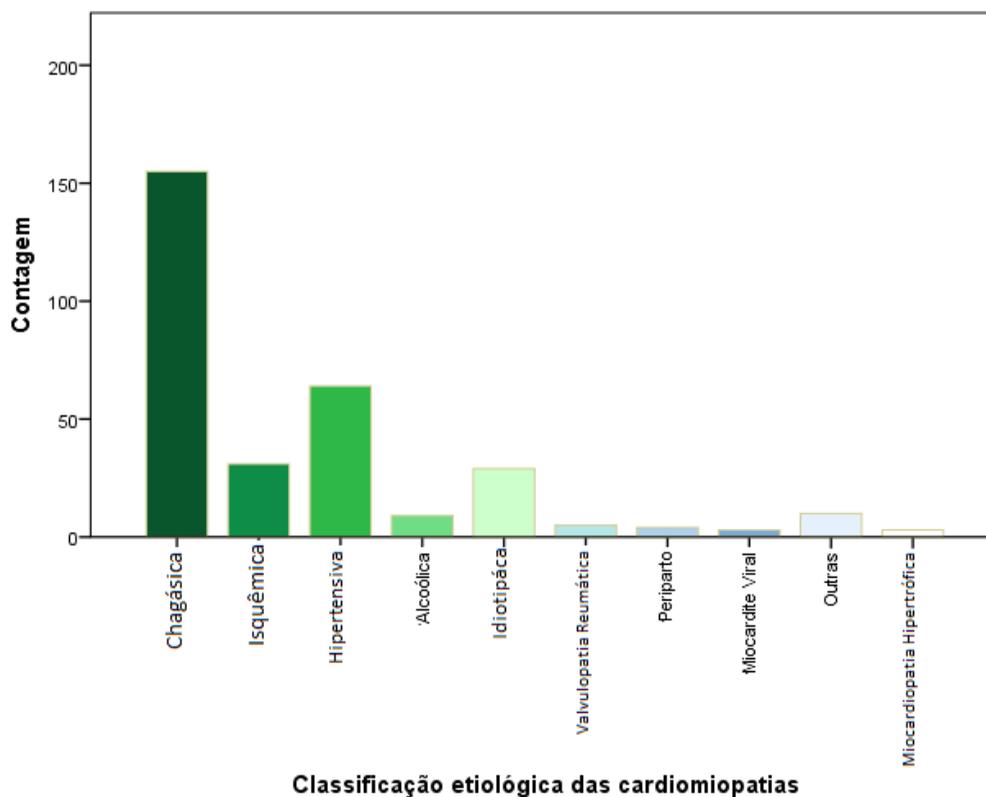


Gráfico 12. Classificação da cardiomiopatia quanto etiologia

Na avaliação dos metabólitos à espectroscopia, a relação NAA/Cr e relação Cho/Cr foram significativamente menores nos pacientes chagásicos, mas a relação mI/Cr não diferiu entre os grupos. Este dado pode sugerir que o acometimento do SNC na DC envolva a população neuronal e não as células da glia, pois as alterações das relações NAA/Cr e Cho/Cr são associadas a despovoamento neuronal, enquanto a relação mI/Cr relaciona-se a alterações gliais.

Os grupos não diferiram quanto aos volumes cerebrais, de lesões de substância branca e cerebelar.

A avaliação cognitiva revelou menores escores na função visuo-espacial e na função executiva no grupo chagásico, mas para o domínio cognitivo memória não foi encontrada diferença entre grupos, sugerindo associação entre a DC e disfunção cognitiva. Contudo foi notado também que o grupo não-chagásico tem melhor nível de escolaridade que aquele chagásico, o que poderia justificar as observações acima descritas.

A realização da análise multivariada, através do ajuste das variáveis confundidoras, auxiliou em uma ponderação mais acurada desta associação.

Realizamos a regressão linear múltipla para as diferentes hipóteses conforme os seguintes modelos:

Hipótese 1: Foram inseridos no modelo – idade, gênero, escolaridade e DC como variáveis independentes e os diferentes escores cognitivos como variáveis dependentes.

Tabela 2. Regressão Linear Múltipla – Efeito gênero, idade, escolaridade e DC sobre o Escore Cognitivo visuo-espacial

Modelo	Coeficientes não padronizados		t	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	0,024	0,275	0,087	0,930	-0,517	0,565
Gênero Feminino	0,251	0,093	2,699	0,007	0,068	0,434
Idade	-0,012	0,004	-3,008	0,003	-0,019	-0,004
Escolaridade	0,226	0,036	6,242	0,000	0,155	0,297
DC	-0,235	0,096	-2,435	0,016	-0,425	-0,045

Variável dependente: Escore_Cognitivo_visuo-espacial; DC: doença de Chagas

Tabela 3. Regressão Linear Múltipla – Efeito idade, gênero, escolaridade e DC sobre o escore Cognitivo memória

Modelo	Coeficientes não padronizados		T	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	0,955	0,225	4,249	0,000	0,512	1,398
Gênero feminino	-0,036	0,076	-0,473	0,636	-0,185	0,113
Idade	-0,021	0,003	-6,531	0,000	-0,027	-0,015
Escolaridade	0,073	0,030	2,452	0,015	0,014	0,131
DC	0,052	0,078	0,660	0,510	-0,103	0,206

Variável dependente: Escore_Cognitivo_Memória ; DC: doença de Chagas

Tabela 4. Regressão Linear Múltipla – Efeito idade, gênero, escolaridade e DC sobre o escore cognitivo função executiva

Modelo	Coeficientes não padronizados		T	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	0,029	0,220	0,134	0,894	-0,403	0,462
Gênero feminino	0,169	0,074	2,295	0,023	0,024	0,314
Idade	-0,009	0,003	-2,796	0,006	-0,015	-0,003
Escolaridade	0,156	0,029	5,420	0,000	0,100	0,213
DC	-0,049	0,076	-0,636	0,525	-0,199	0,102

Variável dependente: Escore_Cognitivo_Funções Executivas; DC: doença de Chagas

A análise multivariada demonstra que a DC manteve seu efeito sobre o domínio cognitivo visuo-espacial, de maneira significativa após ajuste das variáveis confundidoras. Observa-se que a presença da doença de Chagas leva a uma redução aproximada de $\frac{1}{4}$ de desvio padrão no desempenho deste domínio, como revelado pelo valor B (- 0,235), com magnitude de efeito semelhante à escolaridade, mas em sentido contrário.

As variáveis idade e escolaridade foram significantes para todos os domínios, a primeira associando-se a piores desempenhos enquanto a segunda a melhores escores cognitivos. O gênero feminino teve efeito sobre o escore visuo-espacial e escore função executiva, o que pode ser explicado pelo dimorfismo cerebral já descrito na literatura, atribuído a diferenças nas conexões inter e intra-hemisféricas entre homens e mulheres, que favorece melhores desempenhos nas funções executivas no gênero feminino.

Hipótese 2: Foram inseridos no modelo – idade, gênero, fração de ejeção e DC como variáveis independentes e as diferentes relações dos metabólitos espectroscópicos como variáveis dependentes.

Tabela 5. Regressão Linear – Efeito FE, DC, idade e gênero sobre a relação NAA/Cr

Modelo	Coeficientes não padronizados		t	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	1,703	0,093	18,287	0,000	1,519	1,888
Gênero feminino	0,029	0,034	0,876	0,383	-0,037	0,096
Idade	0,002	0,001	1,243	0,217	-0,001	0,004
DC	-0,108	0,033	-3,294	0,001	-0,174	-0,043
Fração de ejeção	0,001	0,001	0,555	0,580	-0,002	0,003

Variável dependente: Relação N-acetilaspártato / Creatina; FE: fração de ejeção; DC: doença de Chagas

Tabela 6. Regressão Linear – Efeito FE, DC, idade e gênero sobre a relação Cho/Cr

Modelo	Coeficientes não padronizados		t	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	0,544	0,052	10,440	0,000	0,441	0,648
Gênero feminino	0,021	0,019	1,140	0,257	-0,016	0,059
Idade	0,001	0,001	1,319	0,190	0,000	0,002
DC	-0,037	0,018	-2,013	0,046	-0,074	-0,001
Fração de ejeção	0,000	0,001	-0,232	0,817	-0,001	0,001

Variável dependente: Relação Colina / Creatina; FE: fração de ejeção; DC: doença de Chagas

Tabela 7. Regressão Linear – Efeito FE, DC, idade e gênero sobre a relação mI/Cr

Modelo	Coeficientes não padronizados		t	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	0,544	0,052	12,134	0,000	0,455	0,623
Gênero feminino	2,725E-0,005	0,016	0,002	0,999	-0,032	0,032
Idade	0,001	0,001	1,490	0,139	0,000	0,002
DC	-0,021	0,016	-1,358	0,177	-0,053	0,010
Fração de ejeção	0,000	0,001	0,202	0,840	-0,001	0,001

Variável dependente: Relação mI/Cr

FE: fração de ejeção;DC: doença de Chagas

Nesta análise observamos que a DC manteve seu efeito sobre a relação NAA/Cr e Cho/Cr, como demonstrado pela análise univariada, quando inserido no modelo as demais variáveis independentes, sendo associado a uma redução de 0,108 e 0,037, respectivamente, na relação destes metabólitos, levando a rejeição da hipótese nula, com sugestão de despovoamento neuronal em pacientes chagásicos, em nossa amostra.

Na hipótese 3 verificamos se os metabólitos espectroscópicos são variáveis intermediárias (mediadores) no efeito da DC sobre os desfechos cognitivos, para isso desenvolvemos o seguinte modelo:

Hipótese 3: Foram inseridos no modelo – idade, gênero, escolaridade, metabólitos espectroscópicos (cujo efeito da DC foi demonstrado na hipótese 2) e DC como variáveis independentes e o escores cognitivo visuo-espacial, cujo efeito da DC foi demonstrado na hipótese 1, como variável dependente.

Tabela 8. Regressão Linear – Efeito idade, gênero, escolaridade, DC e relação NAA/Cr sobre o escore vísuo-espacial.

Modelo	Coeficientes não padronizados		t	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	-1,181	0,714	-1,655	0,100	-2,592	0,230
Gênero feminino	0,354	0,128	2,759	0,007	-0,100	0,607
Idade	-0,012	0,006	-2,202	0,029	-0,023	-0,001
DC	-0,050	0,134	-0,375	0,708	-0,315	0,215
Relação NAA/Cr	0,626	0,347	4,938	<0,001	0,145	0,339
Escolaridade	0,242	0,049	1,805	0,073	-0,060	1,313

Variável dependente: Escore Cognitivo_vísuo-espacial; DC: doença de Chagas; NAA: N-acetilaspártato; Cr: creatina

Tabela 9. Regressão Linear – Efeito idade, gênero, escolaridade, DC e relação Cho/Cr sobre o escore vísuo-espacial.

Modelo	Coeficientes não padronizados		t	P	Intervalo de confiança 95,0% para B	
	B	Modelo padrão			Limite inferior	Limite superior
(Constante)	-0,863	0,524	-1,647	0,102	-1,898	0,173
Gênero feminino	0,346	0,128	2,709	0,008	0,094	0,599
Idade	-0,013	0,006	-2,311	0,022	-0,024	-0,002
DC	-0,060	0,132	-0,455	0,650	-0,320	0,200
Relação Cho/Cr	1,508	0,707	4,678	<0,001	0,131	0,323
Escolaridade	0,227	0,049	2,133	0,035	0,110	2,905

Variável dependente: Escore Cognitivo_vísuo-espacial; DC: doença de Chagas; Cho: colina; Cr: creatina

À execução deste modelo, observa-se que há alterações no valor B da DC, a saber: aproximação deste valor da nulidade (-0,235 para -0,050 para inserção de NAA/Cr no modelo e -0,235 para -0,060 para inserção de Cho/Cr no modelo), além de perda da significância estatística vista no modelo 1, estes dados apontam que esses metabólitos comportam-se como variáveis intermediárias, com cerca de 21% do valor de beta do efeito de DC justificado pelo metabólito NAA/Cr e 25% do valor de beta do efeito DC se deve ao

metabólito Cho/Cr. Não existe na literatura um valor fixado para determinar se uma variável se comporta como intermediária, no entanto alterações no valor de beta associado a redução do valor P ou perda da significância apontam nesta direção, levando a aceitação da hipótese alternativa.

7. Discussão

A existência de encefalopatia relacionada a Doença de Chagas é bem aceita, mas sua fisiopatologia não está esclarecida.^{8, 28, 30} A contribuição da cardiomiopatia para esta entidade não pode ser excluída, no entanto a literatura aponta para outras variáveis implicadas nesta patogênese.

Estudos revelam piores desempenhos cognitivos dos pacientes chagásicos crônicos, a despeito de funções cardíacas semelhantes aos controles²⁹. Nosso trabalho demonstrou piores performances nos pacientes chagásicos, a despeito destes apresentarem melhor função cardíaca que o grupo controle, além de ter sido discriminado nesse estudo qual o principal domínio cognitivo alterado nestes pacientes, reiterando a presença de uma encefalopatia chagásica crônica, que não apenas aquela relacionada à insuficiência cardíaca (embolização cerebral e hipóxia crônica).

O entendimento dos mecanismos fisiopatológicos desta entidade demanda a realização de outros estudos. Pesquisas têm procurado analisar o perfil de biomarcadores séricos em estudos clínicos e por análise anatomopatológica em estudos experimentais, sem haver um consenso a cerca do tema, mas apontando para atividade imunológica através de citocinas que alteram o endotélio como possível mecanismo de ação.^{13, 14, 28}

A evolução das técnicas de neuroimagem pode fornecer outros substratos a essa busca. O uso da espectroscopia por ressonância no rol de doenças neurodegenerativas tem sido amplamente utilizado. São diversos os estudos com pacientes com esclerose múltipla (EM), enfermidade que acomete principalmente a substância branca, e a investigação dos metabólitos NAA, Cho, Cr e mI com concordância da literatura da associação entre baixos níveis da Relação NAA/Cr e Cho/Cr com atividade da EM. Os mesmos achados são encontrados na DA por Souza et al., em que foi observada uma redução da Relação NAA/Cr quando estes pacientes foram comparados àqueles com transtorno cognitivo, bem como associação com piores escores nos testes neuropsicológicos, após análise multivariada. Os autores sugerem que estes

resultados revelam o dano neuronal inerente à patologia e justificam o declínio cognitivo destes indivíduos.⁴⁶

O nosso trabalho foi pioneiro na análise espectroscópica cerebral em pacientes portadores de cardiomiopatia chagásica crônica. Demonstramos que a despeito do grupo controle apresentar pior função cardíaca, pacientes portadores de cardiomiopatia chagásica crônica apresentam alteração dos metabólitos sugerindo despovoamento neuronal, bem como piores escores cognitivos.

A demonstração de dano neuronal por técnica não invasiva e de baixo risco para os pacientes, trouxe evidências da ocorrência de dano neuronal nos pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica de maneira significativamente maior que naqueles com insuficiência cardíaca de outras etiologias. Isto permite por um lado corroborar através de exame complementar os achados de estudos clínicos, antes demonstrada de maneira indireta pela repercussão cognitiva.¹⁵ Corroborar também achados anatomopatológicos anteriores, que demonstram um maior grau de despovoamento celular entre indivíduos chagásicos, principalmente nas células de Purkinje cerebelares.³⁷

Nossa pesquisa revelou que a morbidade decorrente da doença de Chagas não se restringe aos aparelhos cardíaco e gastrointestinal, mas envolve o sistema nervoso alijando estes indivíduos e limitando suas funcionalidades. A presença do despovoamento neuronal nesta população, a despeito da gravidade da função cardíaca, aponta para dano neuronal crônico.

Avanços nesta técnica podem permitir a identificação de moléculas próprias e específicas do parasita e, com isso, a pesquisa da presença deste agente no SNC, que poderia estar relacionada a ocorrência da encefalopatia crônica através da desregulação do sistema imunológico levando a lesão neuronal ou pela ativação das células da glia gerando agressão neuronal, sendo possível identificar aqueles indivíduos sob risco de desenvolver esta patologia.

Além disso, a técnica pode fornecer avaliação prognóstica, ao passo que pode identificar os pacientes chagásicos indeterminados, que apresentem lesão neuronal “assintomática”, mas que podem apresentar prejuízos cognitivos que interfiram de alguma maneira em sua funcionalidade, sendo possível propor

terapêuticas precoces, mesmo que não farmacológicas. A repercussão desses achados de ressonância magnética e da doença de Chagas no grau de declínio cognitivo com o tempo deve ser mais bem estudada de forma prospectiva.

A espectroscopia por ressonância magnética é um campo aberto em investigação. A possibilidade de avaliar a funcionalidade das células do sistema nervoso através de seus metabólitos poderá trazer incrementos substanciais à pesquisa clínica, potencializando as associações dos achados clínicos com alterações do substrato neuro-bioquímico mostrado por esta tecnologia.

8. Perspectivas Futuras

No futuro a avaliação da correlação entre metabólitos espectroscópicos de lesão neural e citocinas inflamatórias poderá contribuir para fornecer informação se o status inflamatório estaria relacionado à encefalopatia chagásica crônica.

A realização de estudo de coorte avaliando se há queda progressiva nos níveis dos metabólitos avaliados no presente estudo e, se houver se esta se relaciona com piores prognósticos cognitivos ou comprometimento funcional poderá contribuir para redução de morbidade da DC.

Muito há para se percorrer na compreensão do acometimento do Sistema Nervoso Central para além dos fenômenos cardioembólicos secundários a cardite chagásica. Evidências clínicas dessa entidade – encefalopatia crônica chagásica – forma descritas nos últimos 10 anos, mas foram poucos os avanços no entendimento desta fisiopatologia.

A crença de um status inflamatório-tromboembólico crônico mediada pela interação agente-hospedeiro tornou-se a explicação mais consensual para justificar esta entidade, mas as pesquisas não progrediram suficientemente para validar estas hipóteses, suscitando especulações diversas.

O uso da espectroscopia por ressonância magnética na doença de Chagas ainda é débil, principalmente na análise dos achados do sistema nervoso central, o que confere originalidade a este trabalho. A demonstração de sinais sugestivos de lesão neuronal, em concordância com os dados da literatura para outras doenças neurodegenerativas, traz uma evidência neurobiológica, antes demonstrada de maneira indireta pelos estudos clínicos.

O entendimento dos mecanismos fisiopatológicos da encefalopatia chagásica crônica está em evolução. Muito ainda há para se desvendar, no que se refere à definição de um substrato neuro-bioquímico da morbidade e quanto à proposta terapêutica para profilaxia primária e secundária desses quadros. A espectroscopia poderá contribuir para identificar os indivíduos que apresentam alterações de metabólitos sugestivas de lesão neuronal, permitindo uma intervenção precoce, assim como poderá ser avaliada identificação de metabólito específico do parasita, permitindo a análise da presença deste no SNC.

9. Conclusões

1. A doença de Chagas está associada à disfunção cognitiva no domínio visuo-espacial.
2. A doença de Chagas está associada a uma redução na relação NAA/Cr e na relação Cho/Cr cerebral, sugerindo despovoamento neuronal.
3. O efeito da doença de Chagas sobre a disfunção cognitiva visuo-espacial pode ser justificado, em parte, pelo grau de despovoamento neuronal.

10. Referências Bibliográficas

1. Ambros AS. Alterações da Espectroscopia por Ressonância Magnética Protônica (1H-MRE) em Núcleos Talâmicos de Pacientes Esquizofrênicos Associados a Sintomas de Psicose – Estudo Controlado com Sujeitos Normais. Dissertação de Mestrado apresentada a UFRGS-UPF, Porto Alegre, p74, 2008. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/17451/000717784.pdf?sequence=1>
2. Andrade JA, Martin-Neto JÁ, Paola AAV, Vilas-Boas F, Oliveira GMM, Bacal F, Bocchi EA, Almeida DR, Fragada Filho AA, Moreira MCV, Xavier SS, Oliveira Junior WA, Dias JCP et al. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Latino Americana para o Diagnóstico e Tratamento da Cardiopatia Chagásica. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, Rio de Janeiro, 1 – 48, 2011.
3. Andrade Z. A Forma Indeterminada da Doença de Chagas em Tempos de Controle do *Triatoma infestans*. *Revista de Patologia Tropical*, Goiás, 105 – 111, 2005.
4. Aras R, Matta JAM, Mota G, Gomes I, Melo A. Cerebral Infarction In Autopsies Of Chagasic Patients With Heart Failure. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, Rio de Janeiro, 414 – 6, 2003.
5. Bernabeu A, Alcaraz-Mateos E, Lopez-Celada S. Usefulness Of Magnetic Resonance Spectroscopy In The Assessment Of Brain Chagas Disease: A Case Report. *Journal of Neurology Research*, 150 – 154, 2013.
6. Bivard A, Krishnamurthy V, Stanwell P, Yassi N, Spratt NJ, Nilsson M, Levi CR, Davis S, Parsons MW. Spectroscopy Of Reperfused Tissue After

- Stroke Reveals Heightened Metabolism In Patients With Good Clinical Outcomes. *Journal of cerebral blood flow & metabolism*, 1 – 7, 2014.
7. Blüml, S. Magnetic Resonance Spectroscopy: Basics. In: S.Blüml & A.Panigrahy (Eds), MR Spectroscopy Of Pediatric Brain Disorders. Disponível em: http://www.springer.com/cda/content/document/cda_downloaddocument/9781441958631-c1.pdf?SGWID=0-0-45-1366602-p174966309.
 8. Carod – Artal FJ, Gascon J. Chagas Disease And Stroke. *Lancet Neurology*, 533 – 42, 2010.
 9. Carod – Artal FJ, Vargas AP, Melo M, Horan TA. American Trypanosomiasis (Chagas' Disease): An Unrecognized Cause Of Stroke. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 516 – 518, 2003.
 10. Carod-Artal FJ, Vargas AP, Falcão T. Stroke In Asymptomatic *Trypanosoma Cruzi* – Infected Patients. *Cerebrovascular Disease*, 24-8, 2011.
 11. Castell JV. Tema 10. Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear. In: Fundamentos de Química Orgânica. Disponível em: www.uv.es/jcastell/espectroscopia.pdf
 12. Chagas Carlos. Nova tripanozomiose humana: Estudos sobre a morfologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum cruzi* n. gen., n. sp., agente etiologico de nova entidade mórbida do homem. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 159-218, 1909.
 13. Da Mata JR, Camargos MR, Chiari E, Machado CR. Trypanosoma Cruzi Infection And The Rat Central Nervous System: Proliferation Of

- Parasites In Astrocytes And The Brain Reaction To Parasitism. *Brain Research Bulletin*, 153 – 62, 2000.
14. Dias JCP & Coura JR Orgs. Clínica e terapêutica da Doença de Chagas: Uma Abordagem Prática Para O Clínico Geral [on line]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1997. 486p. Disponível em: **HTTP://books.scielo.org**
 15. Dias JS, Lacerda AM, Vieira-de-Melo RM, Viana LC, Jesus PAP, Reis FJFB, Nitrini R, Charchat-Fichman H, Lopes AA, Oliveira-Filho J. Cognitive dysfunction in chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Dementia & Neuropsychologia*, 27 – 33, 2009.
 16. Dutra WO & Gollob KJ. Current Concepts In Immunoregulation And Pathology Of Human Chagas Disease. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 287 – 292, 2008.
 17. Dutra WO, Menezes CAS, Villani FNA, Costa GC, Silveira ABM, Reis DA, Gollob KJ. Cellular And Genetic Mechanisms Involved In The Generation Of Protective And Pathogenic Immune Responses In Human Chagas Disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 208 – 218, 2009.
 18. Forjaz SV. Aspectos Neurológicos Da Doença De Chagas: Sistema Nervoso Central. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, São Paulo, 175 – 190, 1967.
 19. Ho KKL, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The Epidemiology of Heart Failure: The Framingham Study. *Journal of American College of Cardiology*, 6A – 13A, 1993.

20. Jardim E & Armbrust-Figueiredo J. Estudo Neurológico E Do Liquido Cefalorraqueano Em Paciente Com Forma Crônica Da Moléstia De Chagas. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, São Paulo, 322 – 326, 1972.
21. Jesus PA, Neville I, Cincurá C, Menezes DF, Vieira-de-Melo RM, Lacerda AM, Viana LC, Pereira DF, Ribeiro-dos-Santos V Jr, Reis FJ, Macedo C, Oliveira-Filho J. Stroke History And Chagas Disease Are Independent Predictors Of Silent Cerebral Microembolism In Patients With Congestive Heart Failure. *Cerebrovascular Disease*, 19 – 23, 2011.
22. Jorg ME & Rovira IZ. Formas Encefalopaticas De Enfermedad De Chagas Crônica Observadas Em Argentina. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, 353 – 360, 1981.
23. Kantarci K. Magnetic Resonance Spectroscopy In Common Dementias. *Neuroimaging Clinic North America*, 393 – 40, 2013.
24. Lee GM, Balouch E, Goetz DH, Lazic A, McKerrow JH, Craik CS. Mapping Inhibitor Binding Modes On An Active Cysteine Protease Via NMR Spectroscopy. *Biochemistry*, 10087 – 10098, 2012.
25. Leme AMBP, Salemi VMC, Parga JR, Ianni BM, Mady C, Weiss RG, Kalil-Filho R. Avaliação Do Metabolismo Dos Fosfatos De Alta Energia Em Pacientes Com Doença De Chagas. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, Rio de Janeiro, 264 – 271, 2010.
26. Lima-Costa MF, Castro-Costa E, Uchoa E, Firmo J, Ribeiro AL, Ferri CP, Prince M. A Population-Based Study Of The Association Between *Trypanosoma Cruzi* Infection And Cognitive Impairment In Old Age (The Bambuí Study). *Neuroepidemiology*, 122 – 128, 2009.

27. Lima-Costa MF, Matos DL, Ribeiro ALP. Chagas Disease Predicts 10-Year Stroke Mortality In Community-Dwelling Elderly – The Bambuí Cohort Study Of Aging. *Stroke*, 2477 – 2482, 2010.
28. Matta JAM, Roque A Jr, Macedo CRB, Cruz CG, Netto EM. Stroke Correlates In Chagasic And Non-Chagasic Cardiomyopathies. *PLoS One*, e35116, 2012.
29. Nisimura SM, Estado V, Souza EM, Reis PA, Lessa MA, Castro-Faria-Neto HC, Pereira MCS, Tibiriçá E, Garzoni LR. Acute Chagas Disease Induces Cerebral Microvasculopathy In Mice. *PLoS Neglected Tropical Disease*, e2998, 2014.
30. Oliveira-Filho J, Viana LC, Vieira-de-Melo R, Faíçal F, Torreão JÁ, Villar FAGA, Reis FJFB. Chagas Disease Is An Independent Risk Factor For Stroke: Baseline Characteristics Of A Chagas Disease Cohort. *Stroke*. 2015 – 2017, 2005.
31. Oliveira-Filho J, Vieira-de-Melo RM, Reis OS, Lacerda AM, Neville IS, Cincurá C, Menezes DF, Viana LC, Jesus PA, Lopes AA, Reis FJ, Furie KL. Chagas Disease Is Independently Associated With Brain Atrophy. *Journal of Neurology*, 1363 – 5, 2009.
32. Paixão LC, Ribeiro AL, Valacio RA, Teixeira AL. Chagas Disease: Independent Risk Factor For Stroke. *Stroke*. 3691 – 3694, 2009.
33. Parikh J, Thrippleton MJ, Murray C, Armitage PA, Harris BA, Andrews PJD, Wardlaw JM, Starr JM, Deary IJ, Marshall I. Proton Spectroscopic Imaging Of Brain Metabolites In Basal Ganglia Of Healthy Older Adults. *Journal Magnetic Resonance Materials in Physics, Biology and Medicine*. 2014. Disponível em: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs10334-014-0465-0>.

34. Pittella JEH, Meneguette C, Barbosa AJA. Histopathological And Immunohistochemical Study Of The Brain And Heart In The Chronic Cardiac Form Of Chagas' Disease. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, São Paulo, 8 – 15, 1993.
35. Prost JO, Villanueva HR, Morikone AM, Polo G, Bosch AM. Evidencias De Compromiso Cerebral En El Estadio Crônico De La Enfermedad De Chagas Obtenidas Por Medio Del Potencial P 300 Y De Electroencefalografía Cuantificada. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, São Paulo, 261 – 271, 2000.
36. Queiroz AC & Castro Filho BG. Estudo Do Plexo Coróide Na Infecção Chagásica Experimental Em Camundongos. *Acta Médica Portuguesa*, 1985; 6: 181 – 182.
37. Queiroz AC & Ramos EAG. Estudo Anatomo-Patológico Do Encéfalo Na Cardiomegalia Idiopática. *Arquivos de Neuro-psiquiatria*, São Paulo, 405 - 411, 1979.
38. Queiroz AC. Encefalomielite Chagásica Experimental em Cães. *Revista de Patologia Tropical*, Goiás, 95 – 101, 1975.
39. Queiroz AC. Estudo Anatomo Patológico Do Encéfalo Na Forma Crônica Da Doença De Chagas. *Revista de Patologia Tropical*, Goiás, 135 – 145, 1978.
40. Rae CD. A Guide To The Metabolic Pathways And Function Of Metabolites Observed In Human Brain ¹H Magnetic Resonance Spectra. *Neurochemical Research*, 1 – 36, 2014.

41. Rankin NJ, Preiss D, Welsh P, Burgess KEV, Nelson SM, Lwalor DA, Sattar N. The Emergence Of Proton Nuclear Magnetic Resonance Metabolomics In The Cardiovascular Arena As Viewed From A Clinical Perspective. *Atherosclerosis*, 287 – 300, 2014.
42. Rosen Y & Lenkinski RE. Recent Advances In Magnetic Resonance Neurospectroscopy. *Neurotherapeutics: The Journal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics*, 330 – 345, 2007.
43. Rossi MA, Tanowitz HB, Malvestio LM, Celes MR, Campos EC, Blefari V, et al. Coronary Microvascular Disease In Chronic Chagas Cardiomyopathy Including An Overview On History, Pathology, And Other Proposed Pathogenic Mechanisms. *PLoS Neglected Tropical Disease*, e674, 2010.
44. Silva AA, Pereira GV, Souza AS, Silva RR, Rocha MS, Lannes-Vieira J. *Trypanosoma Cruzi* – Induced Central Nervous System Alterations: From The Entry Of Inflammatory Cells To Potential Cognitive And Psychiatric Abnormalities. *Journal of Neuroparasitology*, 1 – 13, 2010.
45. Souza AC, Rocha MO, Teixeira AL, Dias Junior JO, Sousa LAP, Nunes MCR. Depressive Symptoms And Disability In Chagasic Stroke Patients: Impact On Functionality And Quality Of Life. *Journal Of The Neurological Sciences*, 34 – 37, 2013.
46. Souza AS. Espectroscopia De Prótons Na Demência De Alzheimer E No Comprometimento Cognitivo. Tese de Doutorado apresentada ao Departamento de Psiquiatria da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/5/5142/tde-12042006-090739/pt-br.php>

47. Trentini A, Comabella M, Tintoré M, Hoel-Simmelink MJA, Killestein J, Roos B, Rovira A, Korth C, Ottis P, Blankenstein MA, Montalban X, Bellini T, Teunissen CE. N-Acetylaspartate And Neurofilaments As Biomarkers Of Axonal Damage In Patients With Progressive Forms Of Multiple Sclerosis. *Journal of Neurology*, 2338 – 43, 2014.
48. Tumati S, Martens S, Aleman A. Magnetic Resonance Spectroscopy In Mild Cognitive Impairment: Systematic Review And Meta-Analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2571 – 2586, 2013.
49. Woo MA, Yadav SK, Macey PM, Fonarow GC, Harper RM, Kumar R. Brain Metabolites In Autonomic Regulatory Insular Sites In Heart Failure. *Journal of the Neurological Sciences*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jns2014.09.006>
50. Zhang N, Song X, Bartha R, Beyea S, D'Arcy R, Zhang Y, Rockwood K. Advances In High-Field Magnetic Resonance Spectroscopy In Alzheimer's Disease. *Current Alzheimer Research*, 367-388, 2014.

11. Abstract

Background: Chagas disease (CD) is an important cause of stroke and cardiac disease, but cognitive dysfunction occurs independently. We evaluated the effect of CD on cognition and the brain mechanisms underlying CD-associated cognitive dysfunction.

Methods: Cross-sectional study of patients from a Heart Failure (HF) clinic. Stroke-free patients underwent cognitive tests, used to generate Z-scores on each cognitive domain (visuospatial, executive function and long-term memory). Brain magnetic resonance imaging (MRI) was performed to quantify volumes of brain, cerebellum and white matter hyperintensity; and MR spectroscopy measured N-acetyl-aspartate-to-creatine ratio (NAA/Cr), choline-to-Cr ratio (Cho/Cr) and myoinositol-to-Cr ratio (mI/Cr). Linear regression adjusted for age, sex, left ventricle ejection fraction and educational level tested the association between CD and cognitive dysfunction; and examined potential mediation by each imaging marker.

Results: We studied 353 patients, mean age 55 (+/- 8,8) years, 176 (50%) female, 167 (47%) with CD. MR spectroscopy was available in 152 patients. Patients with CD performed worse compared with non-CD patients on visuospatial domains ($p < 0.001$). In the multivariable model, CD was associated with visuospatial function (effect/standard error = $-0.235/0.096$, $p = 0.016$), but not executive function or memory ($p > 0.5$). CD was associated with lower NAA/Cr ($p = 0.001$) and Cho/Cr ($p = 0.046$), explaining 21% and 25% of the effect of CD on visuospatial function, respectively.

Conclusions: CD is associated with cognitive deficits mostly in the visuospatial domain. The effect of CD on cognition seems to be mediated by neuronal depopulation without significant white matter disease or total brain/cerebellar volume loss.

12. Anexos

Anexo 1

FICHA DE COGNIÇÃO – NEUROIMAGEM CHAGAS

DADOS DO PACIENTE:

NOME: _____

SEXO: masc. fem.

PROCEDÊNCIA: capital interior

DATA: ____/____/____ ESCOLARIDADE: _____

DEXTRO: sim não

SABE USAR RELÓGIO DE PONTEIRO: sim

não

CONTROLE

FICHA COMPLETA

DADOS TRANSCRITOS

Check-list

- ✓ Figura de Rey
- ✓ Figuras do MEEM: pentágonos e frase
- ✓ Folha com 10 objetos
- ✓ Folha com 20 objetos
- ✓ Figura do relógio
- ✓ Cronômetro
- ✓ Lápis/caneta para o paciente

Ordem de realização dos testes

1° MEEM

2° Figura de Rey

3° Span de dígitos

4° Span de dígitos inverso

5° Teste de Figuras (Bateria teste)

6° Desenho do relógio

6.1 Desenho Livre

6.2 Cópia

7° Fluência Verbal

8° Recordação do teste de figuras (5 mins após item 5)

9° Reconhecimento das 10 figuras dentre as 20 (último item da Bateria Teste)

10° Seqüência de gestos

11° Recordação da Figura de Rey (20 mins após item 2)

RESULTADOS AVALIAÇÃO COGNITIVA

Seqüência de dígitos (ordem direta e inversa):

No. de dígitos em ordem direta: _____

No. de dígitos em ordem inversa: _____

Teste de memória das figuras:

Memória incidental (0-10): _____

Memória imediata1 (0-10): _____

Memória imediata2 (0-10): _____

Memória de longo prazo (5min, pontuação 0-10): _____

Reconhecimento (0-10): _____

Figura complexa de Rey (cópia):

Pontuação: _____

Estratégia (1 a 7): _____

Tempo de execução: _____ min.

Figura complexa de Rey (recordação):

Pontuação: _____

Estratégia (1 a 7): _____

Tempo de execução: _____ min.

Desenho do relógio:

Pontuação (Sunderland et al., 1989) (1 a 10): _____

Erros qualitativos (Rouleau et al, 1992) **desenho livre:**

Tamanho ; Dificuldade gráfica ; Fixação ao estímulo ; Déficit conceitual ;
Déficit espacial/planejamento ; Perseveração

Erros qualitativos (Rouleau et al, 1992) **cópia:**

Tamanho ; Dificuldade gráfica ; Fixação ao estímulo ; Déficit conceitual ;
Déficit espacial/planejamento ; Perseveração

Fluência verbal semântica:

No. de animais em 1 min: _____

Sequência de Luria (fist-edge-palm test, máximo de 5 tentativas):

Com sucesso Sem sucesso Número de tentativas (incluindo a
correta): _____

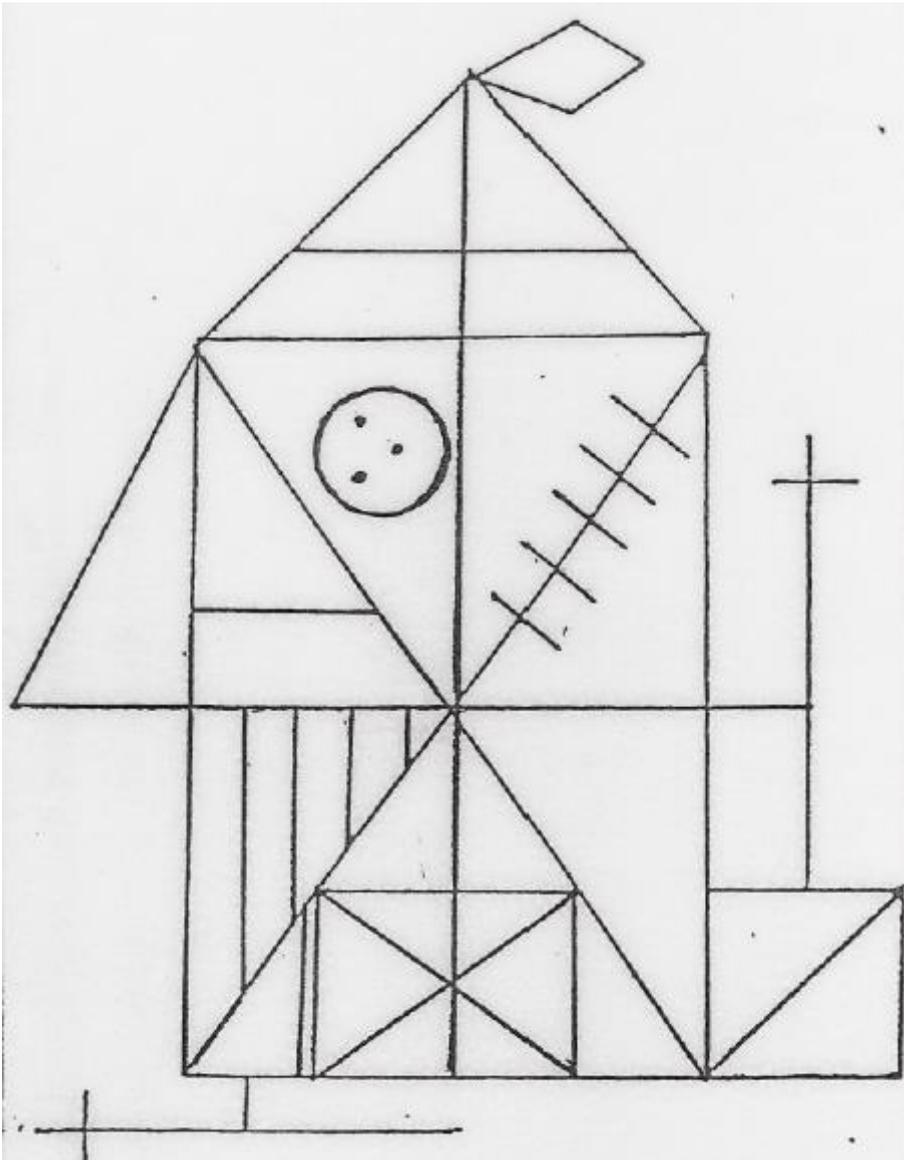
Cópia da Figura de Rey

Enunciado: Desenhe a figura que vou lhe mostra o mais parecido que puder.

Preste atenção aos detalhes e as proporções

Duração: _____

Estratégia utilizada: _____



SPAN DE DÍGITOS

SPAN DE DÍGITOS ORDEM DIRETA – vou ler uns números, preste atenção. Quando terminar repita os números que eu disser na mesma ordem.

SPAN DE DÍGITOS ORDEM INVERSA - vou ler uns números, preste atenção. Quando terminar repita os números que eu disser de trás para frente.

Span de Dígitos	Interrompa após erro do mesmo item nos dois conjuntos. Aplique o mesmo item nos dois conjuntos, mesmo que tenha acertado o item do primeiro conjunto.				
Ordem Direta					
Pontos					
Item	Conjunto1	Acerto-Erro	Conjunto 2	Acerto-Erro	2,1 ou 0
1	6-2-9		2-7-5		
2	5-4-1-7		8-3-9-6		
3	3-6-9-2-5		6-9-4-7-1		
4	9-1-8-4-2-7		6-3-5-4-8-2		
5	1-2-8-3-5-4--6		2-8-1-4-9-7-5		
6	3-8-2-9-5-1-7-4		5-9-1-8-2-6-4-7		
Máxima = 12					
Total Direta					
Ordem Inversa	Aplique Números Ordem Inversa, mesmo que o examinando obtenha 0 (zero) em Números Ordem Direta				Pontos
Item	Conjunto 1	Acerto-Erro	Conjunto2	Acerto-Erro	2, 1, ou 0
1	5-1		3-8		
2	4-9-3		5-2-6		
3	3-8-1-4		1-7-9-5		
4	6-2-9-7-2		4-8-5-2-7		
5	7-1-5-2-8-6		8-3-1-9-6-4		
6	4-7-3-9-1-2-8		8-1-2-9-3-6-5		
Máximo=12					
Total Inversa					
Max. Tot.=24					

Nomeação das Figuras: _____

Mostre a folha contendo as 10 figuras e pergunte: “que figuras são essas?”

- *Memória Incidental*

Esconda as figuras e pergunte: “que figuras eu acabei de lhe mostrar?” (**Tempo máximo de evocação: 60 segundos**)

Memória Imediata 1 (Tempo máximo de evocação: 60 segundos)

Mostre a figuras novamente durante 30 segundos dizendo:

“Olhe bem e procure memorizar esta figuras”. Esconda as figuras e pergunte: “que figuras eu acabei de lhe mostrar?”

- *Memória Imediata 2* (**Tempo máximo de evocação: 60 segundos**)

Repita o enunciado anterior

Memória de 5 minutos: “me diga agora o nome daquelas figuras que eu te mostrei”

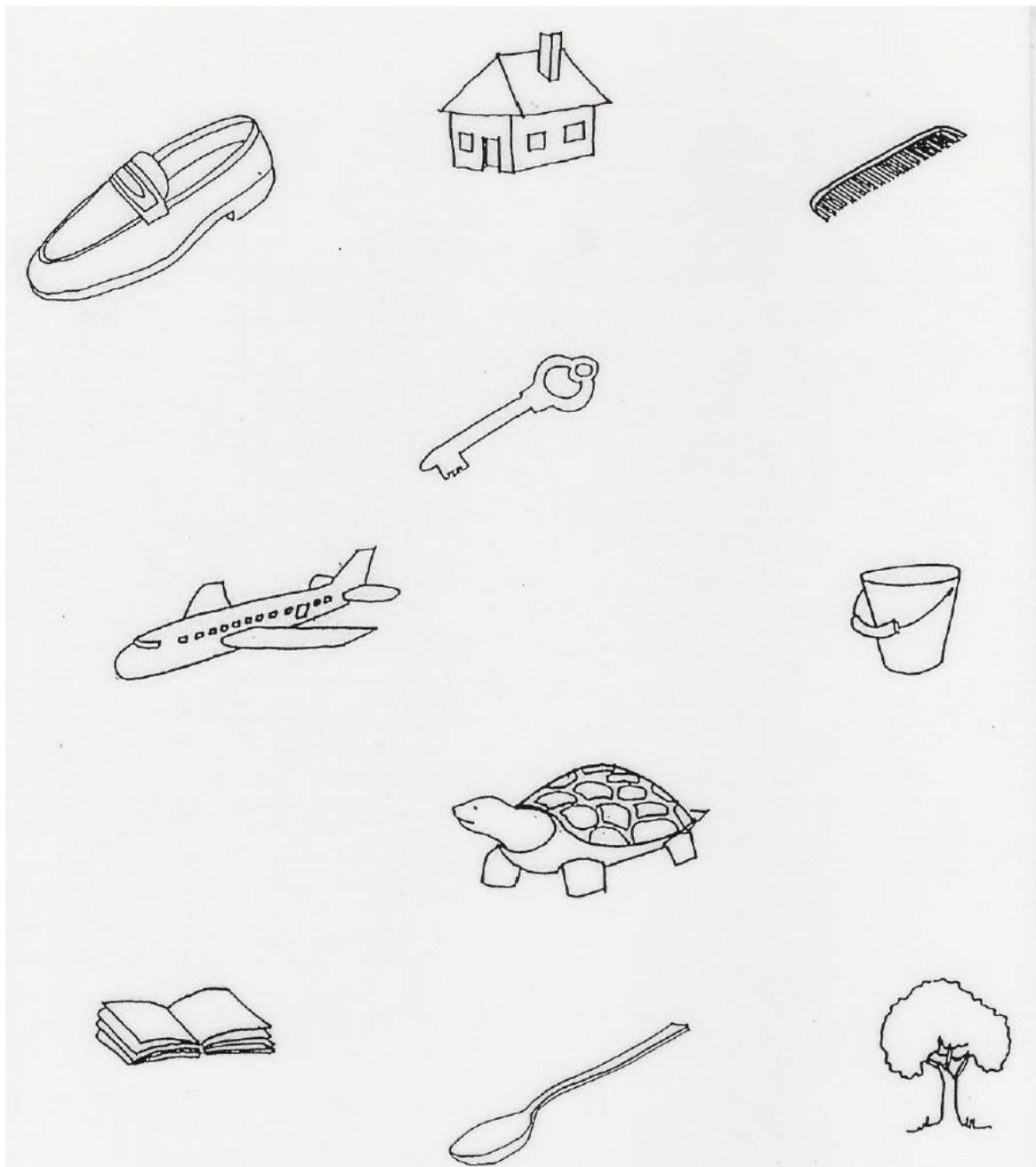
Folha de respostas Memória

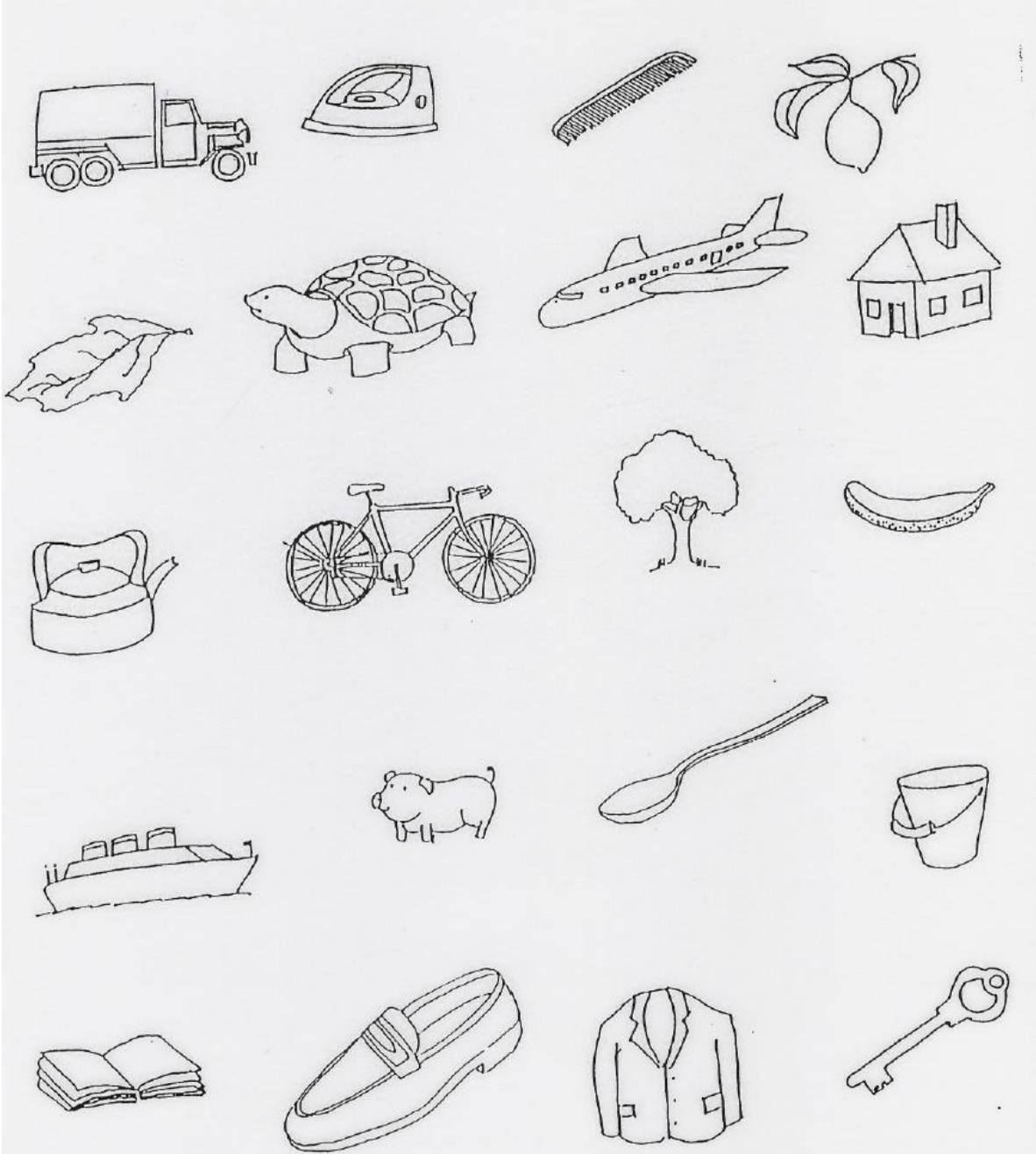
	Mlncidental	Mlmediata	Aprendizado	Memoria5'	Reconhecimento
Sapato	<input type="checkbox"/>				
Casa	<input type="checkbox"/>				
Pente	<input type="checkbox"/>				
Chave	<input type="checkbox"/>				
Avião	<input type="checkbox"/>				
Balde	<input type="checkbox"/>				
Tartaruga	<input type="checkbox"/>				
Livro	<input type="checkbox"/>				
Colher	<input type="checkbox"/>				
Árvore	<input type="checkbox"/>				
Corretas	<input type="checkbox"/>				
Intrusões	<input type="checkbox"/>				

Atenção:

O escore de memória incidental (MIncidental), imediata (MImediata), aprendido e de memória de 5 minutos (recordação tardia) é igual ao número de resposta corretas.

Para o Reconhecimento, o escore final é obtido pela subtração: corretas - intrusões.

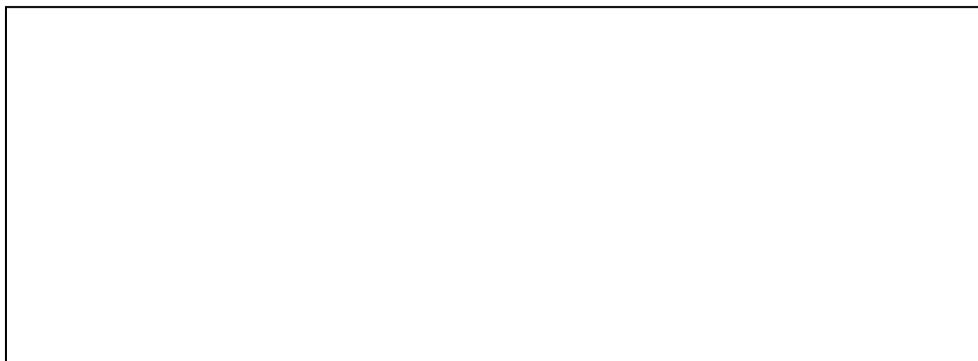




DESENHO DO RELÓGIO

Desenhe a face de um relógio, coloque todos os números dentro e depois coloque os ponteiros marcando 2h e 45min..

DESENHO LIVRE



CÓPIA



Fluência Verbal

“Agora você deve falar todos os nomes de animais (qualquer bicho) que se lembrar, no menor tempo possível. Vale bicho de pata, de asa, do mar, da terra... qualquer bicho! Pode começar”

<hr/>	<hr/>

SEQÜÊNCIA DE GESTOS (TESTE DE LURIA)

ACERTO: sim não

TENTATIVA: 1^a 2^a 3^a 4^a 5^a

Recordação da Figura de Rey

Enunciado: Desenhe no papel o que consegue lembrar da figura que eu mostrei no cartão.

Duração: _____

Estratégia utilizada: _____

Iniciais do investigador: _____ No. Prontuário: _____

VISITA BASAL

DATA: ____ / ____ / ____

D D M M A A A A

	SIM	NÃO
Não apresenta história de câncer (exceto pele)		
Não realiza diálise ou apresenta doença crônica parenquimatosa do fígado		
Sem evento trombótico sintomático (IAM, TVP/TEP, AVC) nos últimos 6 meses		
Capaz de obter consentimento informado do paciente ou responsável		

Lembrar de questionar o paciente sobre:

- Disponibilidade para realizar os exames de imagem
- Claustrofobia
- Uso de próteses metálicas, marcapasso, cardioversor

Questionário para verificar ausência de acidente vascular cerebral (QVSFS) – todas as respostas devem ser NÃO para incluir o paciente.

História da moléstia atual

Seu médico informou que você teve um derrame ou AVC? SIM NÃO

Seu médico informou que você teve um AIT ou “princípio de derrame”? SIM NÃO

Revisão dos sintomas

Você já apresentou subitamente fraqueza indolor em um lado do corpo? SIM NÃO

Você já apresentou subitamente dormência ou formigamento em um lado do corpo? SIM NÃO

Você já apresentou início súbito e indolor de perda de visão em um ou ambos os olhos? SIM NÃO

Você já perdeu subitamente metade de sua visão? SIM NÃO

Você já perdeu subitamente a capacidade para entender o que outras pessoas falavam?

SIM NÃO

Você já perdeu subitamente a capacidade para falar ou escrever? SIM NÃO

IDENTIFICAÇÃO:

Paciente: _____

Sexo: M F DN: ____/____/19____ Idade: _____ Raça: Branco(1) Negro(2)

Mulato(3) Amarelo(4)

Naturalidade: _____ Procedência _____ Profissão : _____

Endereço Residencial Completo: _____

Cidade: _____ CEP _____ - _____ Estado _____

Telefone: (____) _____ Tel 02: (____) _____

DIAGNÓSTICO DA MIOCARDIOPATIA:

MCC (1) Isquêmica (2) Hipertensiva (3) Álcool (4) Idiopático (5)

Valvulopatia Reumática (6) Periparto (7) Miocardite Viral (8) Outras (9)

Miocardite Hipertrófica (10)

Classe Funcional: I II III IV Data do Diagnóstico(ano): _____

IAM PRÉVIO: S (1) N (2) Data: __/__/__ **Usa Antiagregante** S N

Usa Estatina S N **Tabagismo atual** S N

DM S N

DAC S N

HAS S N

ESCOLARIDADE: Analfabeto Fundamental Incompleto Fundamental Completo Ensino Médio incompleto Ensino Médio Completo Superior Incompleto Superior Completo Pós-graduação/mestrado/doutorado

National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS)

Parâmetro	Pontuação
1a. Nível de consciência	0=alerta; 1=desperta com estímulo verbal; 2=desperta somente com estímulo doloroso; 3=resposta reflexa a estímulo álgico.
1b. Orientação: idade e mês	0=ambos corretos; 1=um correto; 2=ambos incorretos.
1c. Comandos: abrir/fechar olhos, apertar e soltar mão	0=ambos corretos; 1=um correto; 2=ambos incorretos.
2. Motricidade ocular (voluntária ou olhos de boneca)	0=normal; 1=paresia do olhar conjugado; 2=desvio conjugado do olhar.
3. Campos visuais	0=normal; 1=hemianopsia parcial, quadrantonopsia, extinção; 2=hemianopsia completa; 3=cegueira cortical.
4. Paresia facial	0=normal; 1=paresia mínima (aspecto normal em repouso, sorriso assimétrico); 2=paresia/segmento inferior da face; 3=paresia/segmentos superior e inferior da face.
5. Motor membro superior: braços entendidos 90° (sentado) ou 45° (deitado) por 10 s. 6. Motor membro inferior: elevar perna a 30° deitado por 5 s.	0=sem queda; 1=queda, mas não atinge o leito; 2=força contra gravidade mas não sustenta; 3=sem força contra gravidade, mas qualquer movimento mínimo conta; 4=sem movimento. MSD _____ MSE _____ MID _____ MIE _____
7. Ataxia apendicular	0=sem ataxia (ou afásico, hemiplégico); 1=ataxia em membro superior ou inferior; 2=ataxia em membro superior e inferior.
8. Sensibilidade dolorosa	0=normal; 1=déficit unilateral mas reconhece o estímulo (ou afásico, confuso); 2=paciente não reconhece o estímulo ou coma ou déficit bilateral.
9. Linguagem	0=normal; 1=afasia leve-moderada (compreensível); 2=afasia severa (quase sem troca de informações); 3=mudo, afasia global, coma.
10. Disartria	0=normal; 1=leve a moderada; 2=severa, ininteligível ou mudo; X=intubado.
11. Extinção/negligência	0=normal; 1=negligência ou extinção em uma modalidade sensorial; 2=negligência em mais de uma modalidade sensorial.

TOTAL NIHSS: _____

Mini-Exame do Estado Mental-MEEM
(FOLSTEIN: FOLSTEIN & Mc HUGH, 1975)

Orientação
Dia da semana (01 ponto)
Dia do mês (01 ponto)
Mês (01 ponto)
Ano (01 ponto)
Hora aproximada (01 ponto)
Local-Instituição (01 ponto)
Andar (01 ponto)
Bairro (01 ponto)
Cidade (01 ponto)
Estado (01 ponto)
Memória imediata
Vaso, carro, tijolo (01 ponto para cada resposta certa)
Atenção e cálculo
(100-7) sucessivos, 5 vezes sucessivamente (01 ponto para cada resposta certa)
Evocação
Relembrar os três objetos (01 ponto para cada resposta certa)
Linguagem
Nomear um relógio e uma caneta (01 para cada resposta certa)
Repetir: “nem aqui, nem ali, nem lá” (01 ponto)
Comando: “Pegue este papel com a sua mão direita, dobre ao meio e coloque no chão.” (01 ponto para cada ato correto)
Ler e obedecer: “Feche os olhos” (01 ponto)
Escrever uma frase. (01 ponto)
Copiar um desenho. (01 ponto)

Score: ____/30

Solettrar a palavra M-U-N-D-O de trás para frente(05 pontos)
--

Score: ____/35

EXAME FÍSICO: Peso _____ Alt.: _____ PA: _____ / _____ mmHg

FC _____ bpm FR _____ irpm

Estase jugulares a 45°: Não (1) Sim (2)

Estertores

Não (1) Sim, em bases (2) Sim, em terço médio (3) Sim, EAP (4)

Sopro sistólico: Não (1) Sim (Ao _____/VI; mitral _____/IV; tricúspide _____/VI; pulmonar _____/VI)

Sopro diastólico: Não (1) (Ao _____/VI; mitral _____/IV; tricúspide _____/VI; pulmonar _____/VI)

Frêmito Não (1) Sim (2) **Atrito pericárdico** Não (1) Sim (2)

Ictus: Não (1) Sim: _____ EIC

Ascite Não (1) Sim (2) **Hepatomegalia** Não (1) Sim (2) **Edema em extremidades:** Não (1) Sim (_____ /4+)

Hb: _____ **Ht:** _____

ELETROCARDIOGRAMA em _____/_____/_____:

Ritmo: Sinusal (1) Juncional (2) FA (3) Flutter (4) Marcapasso (5)
Idioventricular (6)

BloqueioAV: N(0) BAV 1º grau (1) BAV 2º grau tipo I □ (2) BAV 2º grau tipo II (3) BAV total (4)

BRE Sim (1) Não (2) **BRD** Sim (1) Não (2) **BDAS** Sim (1) Não (2)

BDPI Sim (1) Não (2) **BDAM** Sim (1) Não (2) **Bloq. Sinusal** Sim (1)
Não (2)

Arritmias Supraventriculares:

Extrassístoles supraventriculares (1) Salvas de ESSV (2) Ausência de arritmia SV (3)

Arritmias Ventriculares:

Extrass ventriculares (1) Salvas de ESV (2) Ausência de arritmia Vent. (3)

Sobrecarga: AE Sim (1) Não (2) **VE** Sim (1) Não (2) **AD** Sim (1) Não (2) **VD** Sim (1) Não (2)

Zona eletricamente inativa Sim (1) Não (2)

ECOCARDIOGRAMA TRANSTORÁCICO em ____/____/____

AE:_____

Dados do VE:

DD_____ DS_____ FE_____ Delta _____ Par.Post.____
Septo_____

Alteração Segmentar:

Septal Sim (1) Não (2) **Lateral** Sim (1) Não (2) **Posterior** Sim (1)
Não (2)

Inferior Sim (1) Não (2) **Anterior** Sim (1) Não (2) **Apical** Sim (1) Não
(2)

Comprometimento do VE: Sim (1) Não (2)

Comprometimento de VD: Sim (1) Não (2)

Prolapso Mitral Não (1) Sim (2)

Estenose mitral Sim (1) Não (2)

Calcificação mitral Não (1) Sim (2)

Válvula metálica Não (1) Sim (2)

Bioprótese valvar Não (1) Sim (2)

Aneurisma em ápice de VE Sim (1) Não (2)

Aneurisma atrial septal Não (1) Sim (2)

Forame oval patente Não (1) Sim (2)

Turbulência atrial(“smoke”) Não (1) Sim (2)

Mixoma atrial Não (1) Sim (2)

Endocardite bacteriana Não (1) Sim (2)

Endocardite não-bacteriana Não (1) Sim (2)

Trombo

Trombo em VE (1) Trombo em AE (2) Trombo em AD (3)

Trombo em VD (4) AUSÊNCIA (9)

Função diastólica

Normal (1) Alt. Relaxamento (2) Pseudonormal (3) Restritivo (4)

Observações

Sorologia para Chagas:

Dado perdido (0)

POSITIVA (1)

NEGATIVA (2)

Qualidade de vida:

Mobilidade

- (1) Eu não tenho problemas para andar
- (2) Eu tenho alguma dificuldade para andar
- (3) Eu estou confinado à cama

Dor/desconforto

- (1) Eu não tenho dor ou desconforto
- (2) Eu tenho dor ou desconforto moderados
- (3) Eu tenho dor ou desconforto extremos

Auto-ajuda

- (1) Eu não tenho dificuldades para me cuidar
- (2) Eu tenho algumas dificuldades para me cuidar
- (3) Eu sou incapaz de me vestir ou tomar banho sozinho

Ansiedade/Depressão

- (1) Eu não estou ansioso ou deprimido
- (2) Eu estou moderadamente ansioso ou deprimido
- (3) Eu estou extremamente ansioso ou deprimido

Atividades habituais

- (1) Eu não tenho dificuldades para realizar atividades habituais
- (2) Eu tenho alguma dificuldade p/ realizar atividades habituais
- (3) Eu sou incapaz de realizar atividades habituais

Moradia

No. de pessoas que moram em sua casa(contando com o paciente): _____

Tipo de casa : (1) Taipa (2) Tijolo

Tipo de telhado: (1) Telha/laje (2) Palha (3) PVC/fibra de vidro

No. de quartos na casa: _____

FATORES DE RISCO

Tabagismo:

(1) Nunca fumou (2) Fumou no Passado (3) Fuma atualmente

Nº. Cigarros/dia ____ Nº. anos fumando ____ tem quantos anos que parou: ____

Etilismo:

- (1) Nunca
- (2) Bebeu muito no passado mas parou
- (3) Ocasional no passado
- (4) Ocasional no presente
- (5) 1-2vezes/dia no presente
- (6) 3 ou mais vezes /dia no presente

Anexo 2

Critérios de Framingham

Table 1. Criteria for Congestive Heart Failure*

Major Criteria
Paroxysmal nocturnal dyspnea
Neck vein distension
Rales
Radiographic cardiomegaly (increasing heart size on chest X-ray film)
Acute pulmonary edema
Third sound gallop
Increased central venous pressure (>16 cm water at the right atrium)
Circulation time ≥ 25 s
Hepatojugular reflux
Pulmonary edema, visceral congestion or cardiomegaly at autopsy
Weight loss ≥ 4.5 kg in 5 days in response to treatment of CHF

Minor Criteria
Bilateral ankle edema
Nocturnal cough
Dyspnea on ordinary exertion
Hepatomegaly
Pleural effusion
Decrease in vital capacity by 33% from maximal value recorded
Tachycardia (rate ≥ 120 beats/min)

*The diagnosis of congestive heart failure (CHF) required that two major or one major and two minor criteria be present concurrently. Minor criteria were acceptable only if they could not be attributed to another medical condition.

Anexo 3

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Projeto de Pesquisa: Neuroimagem na Doença de Chagas (CHADSS - Chagas disease scan study)

Pesquisadores Responsáveis: Jamary Oliveira Filho, Francisco Reis e Karen Furie

Justificativa e Objetivo

Estamos solicitando sua participação em um projeto de pesquisa sobre doença de Chagas. A doença de Chagas é uma doença freqüente em nossa região, causada por um agente transmitido pela picada do barbeiro. A maioria das pessoas manifesta a doença com problemas no coração, como arritmias, falta de ar, e inchaço nas pernas. Algumas pessoas, entretanto, podem desenvolver coágulos no coração que podem se desprender e causar entupimento de artérias no cérebro, o chamado “derrame cerebral”. Esta pesquisa visa descobrir quais são essas pessoas em risco para desenvolver esses derrames cerebrais.

Procedimentos

O estudo será desenvolvido no Ambulatório de Cardiomiopatias do Hospital Universitário Prof. Edgard Santos (HUPES), no Hospital Ana Neri e no Hospital Santa Izabel. Como parte do estudo, todos os participantes serão avaliados por um dos pesquisadores responsáveis e responderão a um questionário estruturado e terão sangue colhido para exame. Uma parte desse material será analisada imediatamente para pesquisa de fatores no sangue que aumentem o risco de derrame cerebral. Outra parte do material será guardada para estudar características do seu código genético (material presente em todas as células do seu corpo e que diferenciam você de outras pessoas). Este material

guardado só será utilizado em outras pesquisas com a sua autorização mediante assinatura de um novo termo de consentimento. Não serão realizadas intervenções cirúrgicas como parte desse estudo.

Como parte do estudo será realizado um exame de ultrassonografia cerebral (Doppler transcraniano) para avaliar a circulação do sangue no cérebro, que permitirá avaliar a presença de coágulos nos vasos do cérebro e desta maneira determinar o risco do desenvolvimento de derrame. A realização deste exame não provoca dor ou exposição a raios-X ou qualquer complicação. Será colocado um pequeno transdutor (pequeno objeto semelhante a um microfone) em contacto com a sua pele na região temporal (têmporas) sem provocar dor com leve pressão, sendo necessário que permaneça deitado e sem mexer muito a cabeça durante aproximadamente 1 hora, podendo interromper o exame por alguns minutos para descanso ou mesmo parar o exame se desejar.

Não sabemos o real significado desses pequenos coágulos localizados nos vasos do cérebro. Por esse motivo, metade dos pacientes receberá uma medicação anticoagulante, para “afinar” o sangue e evitar a formação de novos coágulos, chamada ácido acetilsalicílico (AAS), durante 1 (uma) semana. Ao final desta semana será repetido o estudo de Doppler transcraniano. Os dois grupos de pacientes (usando ou não AAS) serão aconselhados quanto à prevenção primária habitual de derrame cerebral.

Por fim, será realizado um exame de ressonância magnética cerebral que irá determinar se já houve algum derrame cerebral, mesmo que não tenha gerado sintomas. Para realizar esse exame, os participantes irão comparecer a uma clínica de radiologia (Image Memorial) em dia previamente agendado, deitarão em uma mesa de exame, e aguardarão cerca de 20 minutos enquanto o aparelho tira várias fotos do cérebro. Os pacientes que apresentarem sinais de derrame cerebral na ressonância magnética ou coágulos no Doppler transcraniano serão aconselhados quanto à prevenção habitual de derrame cerebral.

Esclarecimentos sobre a pesquisa

Sua assistência médica continuará sendo realizada no serviço que está vinculado. Qualquer dúvida sobre a pesquisa poderá ser esclarecida por um dos pesquisadores (Dr. Jamary Oliveira Filho – tel. 3353-5156 ou 9162-0954, e Francisco Reis – tel. 9982-2808). Ambos os pesquisadores e o Comitê de Ética em Pesquisa estão localizados no HUPES, Rua Augusto Viana, sem número: Bairro Canela, CEP 40110-060, tel. 3283-8000.

Riscos e Benefícios

Risco mínimo (<1%) é associado com a retirada de sangue para o estudo, como inflamação, infecção e formação de hematoma no local da retirada do sangue. Esses efeitos podem ser revertidos com uso de medicação local ou mesmo espontaneamente. Não há efeitos adversos conhecidos do Doppler transcraniano ou da ressonância magnética. O som do aparelho de ressonância magnética pode incomodar, mas protetores de ouvido serão fornecidos para minimizar esse incômodo. O medicamento AAS raramente (<1%) pode estar associado a reação alérgica, sangramento nas fezes, vômitos, náuseas, zumbido, broncoespasmo e síndrome de Reye (este último somente em crianças). No caso de apresentar qualquer uma destas reações você deverá fazer contato imediato com um dos pesquisadores do estudo, o qual garantirá o tratamento desses sintomas.

Não há benefício direto na participação desse estudo. Você estará ajudando a médicos e outros pacientes a compreenderem melhor essa doença e como potencialmente evitá-la e tratá-la melhor.

Liberdade de Recusa ou Desistência

A participação nesse estudo é voluntária. Caso não queira participar nesse estudo, seu cuidado médico continuará a ser o mesmo de qualquer outro

paciente. Em qualquer momento poderá desistir do estudo sem que isto afete os cuidados médicos a que tem direito.

Sigilo e Privacidade

Seu nome e registro médico serão mantidos em total sigilo pelos pesquisadores. As fichas serão guardadas em local lacrado inacessível a outros médicos ou curiosos.

Custos

Não haverá gastos por parte dos pacientes. Haverá ressarcimento do valor do transporte quando o motivo do transporte tiver sido exclusivamente para a pesquisa. Não haverá ressarcimento de transporte para as consultas médicas de rotina no ambulatório.

É garantido ao paciente uma indenização em casos de danos diretos decorrentes da participação deste estudo.

Tendo lido o conteúdo acima, concordo e subscrevo-me abaixo,

_____	_____
Paciente	Data
_____	_____
Pesquisador	Data
_____	_____
Testemunha1	Data
_____	_____
Testemunha2	Data

Anexo 4



CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA

PARECER Nº 240/2011

Registro CONEP 16030 (Este nº deve ser citado nas correspondências referentes a este projeto)

FR – 334551

Processo nº 25000.114755/2010-00

Projeto de Pesquisa: "Neuroimagem na doença de Chagas (Chagas Disease Scan Study – CHADSS)".

Pesquisador Responsável: Dr. Jamary Oliveira Filho

Instituição: Complexo Hospitalar Universitário Prof. Edgard Santos (CENTRO ÚNICO)

CEP de origem: Hospital Universitário Prof. Edgard Santos - BA

Área Temática Especial: Pesquisa com cooperação estrangeira

Patrocinador: NIH (National Institutes of Health)

Sumário geral do protocolo

As doenças cerebrovasculares (DCV) são um importante problema de saúde pública mundial, especialmente em países em desenvolvimento. Uma das principais causas de DCV no Brasil é a doença de Chagas, que afeta aproximadamente 4,2% da população e é uma causa importante de insuficiência cardíaca na América Latina. Um número estimado de 18 milhões de indivíduos na América Latina está infectado pelo *Trypanosoma cruzi*, o organismo causador da doença de Chagas. Na Bahia, até 25,1% da população em áreas endêmicas apresenta evidência sorológica de infecção. As vítimas são freqüentemente infectadas quando crianças e até um terço eventualmente desenvolvem a cardiomiopatia durante o restante de sua vida. Esses adultos jovens com cardiomiopatia apresentam risco de morte súbita por arritmias e um risco aumentado de infarto cerebral. Pacientes com DCV geralmente sobrevivem, mas permanecem com perda funcional significativa afetando sua saúde, produtividade e qualidade de vida. Esses fatores também afetam seus familiares ou cuidadores. Portanto, as consequências sociais e econômicas da DCV relacionada à doença de Chagas são devastadoras.

O *Trypanosoma cruzi* é um protozoário flagelado, causador da doença de Chagas. Há várias vias de infecção. A mais comum é através do vetor, o inseto triatomíneo. O inseto, que habita casas de taipa em áreas rurais, tipicamente pica crianças e adultos jovens. Após sua alimentação com sangue do hospedeiro, o inseto defeca e o parasito é introduzido na ferida. A infecção também pode ser congênita, por mães infectadas, ou por transfusões sanguíneas. A infecção aguda dura 2 a 4 meses; nesse período o parasito pode ser identificado no sangue e miocárdio. Embora haja o desenvolvimento de imunidade, pode haver parasitismo persistente e até 30% daqueles infectados desenvolvem aumento da carga parasitária e inflamação 10 a 20 anos após a infecção inicial.

Um estudo encontrou que pacientes com doença de Chagas com ou sem cardiomiopatia apresentam 3 vezes maior risco de DCV comparado a controles de mesmo sexo e idade sem doença de Chagas. Um estudo neuropatológico examinando o cérebro de 31 pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica mostrou infartos em 22%. Um estudo neuropatológico complementar comparando os cérebros de pacientes com ou sem Chagas encontrou mais infartos e um maior grau de atrofia cerebral em pacientes chagásicos. Uma série de casos de quatro pacientes com doença de Chagas com

síndrome do topo da basilar, geralmente devido a embolia, revelou proteína C, proteína S, anti-trombina III, fator V de Leiden e anticoagulante lúpico normais, todos associados com trombose venosa. Nenhum estudo até o momento examinou marcadores de hemostasia associados com trombose arterial ou embolia.

Além da associação previamente mencionada entre cardiomiopatia chagásica e níveis elevados de IL-6 e tromboxane A2, não há outros estudos sobre a interação entre inflamação e coagulação na doença de Chagas. Os níveis de fatores pró-coagulantes estão aumentados na fibrilação atrial, assim como fatores envolvidos na fibrólise. Há lesão endotelial na fibrilação atrial (FA), com níveis aumentados de FvW e risco associado de DCV. Ativação plaquetária também está envolvida na FA. Níveis elevados de fator plaquetário-4, beta-tromboglobulina e p-selectina foram demonstrados em pacientes com FA, embora não estejam claramente associados a risco de DCV em pacientes recebendo terapia anti-trombótica. Um aumento da atividade hemostática não é exclusiva da FA e foi identificada em outras condições associadas a alto risco embólico, i.e., aneurisma de ventrículo esquerdo, estenose mitral e insuficiência cardíaca congestiva.

Os objetivos do estudo são: "1- Determinar a prevalência de alterações na ressonância magnética cerebral de pacientes com ICC de etiologia chagásica quando comparada à ICC não-chagásica; 2- Determinar se os níveis de biomarcadores inflamatórios estão elevados em pacientes portadores de ICC de etiologia chagásica; 3- Avaliar a eficácia de AAS na redução da taxa de microembolia cerebral em pacientes com ICC de etiologia chagásica".

O estudo será do tipo caso-controle usando uma abordagem multi-modal para estratificação de risco para DCV em pacientes com ICC de etiologia chagásica, com duração de 5 anos. Serão selecionados 500 sujeitos de pesquisa do centro em tela, com idade superior a 18 anos de idade e que apresentem ICC sem antecedentes de DVC, dos quais serão coletados amostras de sangue de 40 mL. Serão excluídos os pacientes: "1- História de neoplasia maligna não-tratada (exceto neoplasia localizada da pele); 2- Doença cerebrovascular isquêmica; 3- Insuficiência renal crônica dialítica ou insuficiência hepática terminal; 4- Infecção/inflamação aguda (temp > 37,8oC e/ou leucograma > 15000); 5- Incapacidade de obter consentimento informado do paciente ou representante legal; 6- Uso de anticoagulantes (warfarina ou heparina)".

Primeiramente, serão avaliadas as ressonâncias magnéticas para estabelecer quais características estão associadas com risco de DCV que seriam específicas da doença de Chagas. Em seguida serão comparados para a detecção de SME ao Doppler transcraniano pacientes chagásicos e não-chagásicos, além de avaliar a presença de SME como desfecho alternativo para testar eficácia terapêutica de medicamentos. E por último serão medidos os níveis de biomarcadores identificados como elevados ou com aumento de expressão gênica na primeira etapa do atual estudo.

Serão coletados dados para análise multivariável como idade, gênero, raça, medicamentos, índice de massa corpórea, etc. Para todos os sujeitos serão colhidos dados ecocardiográficos de fração de ejeção, diâmetro de átrio esquerdo, presença de trombo intra-cavitário, patologia valvar e contraste espontâneo atrial. Será realizado um teste de estado mental (MEEM) e avaliação cognitiva.

Os biomarcadores serão analisados usando kits de ELISA. A ressonância magnética será realizada para avaliar os seguintes parâmetros: volume craniano total, volume cerebral total, volume dos lobos frontal, temporal e parietal, volume ventricular total, volume total das lesões hipersinal na substância branca, número e localização dos infartos corticais e número e localização dos infartos subcorticais. Será ainda realizado um exame de doppler transcraniano.

Os pacientes com SME detectados no DTC serão triados para critérios de exclusão para uso de AAS. Pacientes sem qualquer dos critérios de exclusão serão randomizados para receber 300 mg de AAS ou nenhum tratamento adicional de forma aberta.

Local de realização

Trata-se de um projeto nacional e unicêntrico. Segundo consta na página 31 (numeração do CEP) as amostras de sangue serão enviadas a Boston em gelo seco a cada 6 meses. O pesquisador justifica o envio das amostras para análise dos biomarcadores já que o laboratório tem extensa experiência com ELISA e apresenta critérios bem estabelecidos de controle de qualidade implementados (página 32, numeração do CEP). Na página 49 (numeração do CEP) o pesquisador declara que a Universidade do Arizona irá fazer a análise dos dados de todos os biomarcadores analisados usando kits de ELISA.

Apresentação do protocolo

Folha de rosto (páginas 10 a 12, numeração do CEP) foi devidamente preenchida e assinada pelos responsáveis.

Foi apresentada declaração de infra-estrutura da instituição (página 13, numeração do CEP) na qual o coordenador do ambulatório de miocardiopatias declara que este possui todas as condições de infra-estrutura necessárias para realização do estudo.

Orçamento financeiro foi estimado em R\$ 545.472,50 (página 42, numeração do CEP) e será financiado pelo NIH, CNPq e a FAPESB, segundo consta na página 37 (numeração do CEP).

O cronograma detalhado (páginas 37 a 40, numeração do CEP) informa que o recrutamento dos sujeitos começará em junho de 2010 e os exames em julho de 2010.

Foi apresentado TCLE (páginas 50 e 51, numeração do CEP) que foi redigido em forma de solicitação.

Foram anexados os currículos dos pesquisadores que irão participar do estudo (páginas 52 a 101, numeração do CEP). O CV do pesquisador responsável está adequado para realização do estudo em tela.

Considerações sobre a análise das respostas ao Parecer CONEP Nº. 683/2010, relativo ao projeto de pesquisa em questão:

1. Será enviado ao exterior o sangue para análise de biomarcadores utilizando o teste de ELISA. A justificativa para este teste ser feito fora do Brasil é em razão de critérios de controle de qualidade. Os demais testes serão feitos no Brasil. A presença de sorologia positiva para doença de Chagas será determinada no laboratório do Edgar Carvalho (HUPES) usando o ensaio de ELISA, que é altamente sensível. O envio de material biológico para o exterior não está devidamente justificado, uma vez que se trata de teste (ELISA) amplamente realizado no país. Conforme preconiza a Res. CNS 292/1999 item VII, pesquisas que envolvam remessa de material biológico para o exterior deverão anexar ao seu protocolo *"documento de aprovação emitido por CEP ou equivalente de instituição do país de origem, que promoverá ou também executará o projeto"*. Solicita-se adequação.

Resposta: Em relação aos testes de ELISA que seriam realizados em Boston, justificamos que o patrocinador exigia que uma parte das atividades fossem executadas nos Estados Unidos. No entanto os testes de ELISA podem perfeitamente ser realizados no Brasil, no laboratório do HUPES, com kits adquiridos para este fim. Portanto, negociamos com a pesquisadora americana que a etapa a ser desenvolvida nos Estados Unidos será a análise das ressonâncias magnéticas (Objetivo 1), destituídas de informações que identifiquem a identidade do paciente. Não haverá, portanto, remessa de material biológico para os Estados Unidos, o que facilitará muito a logística do estudo. Estas modificações encontram-se detalhadas na página 11 (item 5.1). 15

(item 5.5.3), 16 (item 5.5.4) e 17 (item 5.6). Com esta modificação, torna-se também desnecessário o "documento de aprovação do CEP do país de origem", pois nos Estados Unidos não haverá contato com nenhum dos pacientes ou material biológico específico.

Análise: Foi retirada a necessidade de envio de material biológico para o exterior para teste de ELISA fora do Brasil. Este teste será feito no próprio país. A participação do país estrangeiro (EUA) será na análise das ressonâncias magnéticas. **Pendência atendida.**

2. Segundo consta na página 31 (numeração do CEP) as amostras de sangue serão enviadas a Boston (Laboratório do MGH). Segundo o item VII.4 da Res. CNS 292/1999 deve ser anexado *"declaração do promotor ou patrocinador, quando houver, de compromisso em cumprir os termos das resoluções do CNS relativas à ética na pesquisa que envolve seres humanos"*. Além do envio de material biológico para Boston, será enviado "por correio do banco de dados eletrônico juntamente com as amostras de sangue." Portanto, haverá participação estrangeira não só na análise dos biomarcadores com ELISA. Solicita-se que este documento seja anexado ao protocolo.

Resposta: A "declaração de compromisso do promotor ou colaborador em cumprir os termos das resoluções do CNS" torna-se desnecessária, pois com a modificação acima não haverá mais remessa de material biológico para os Estados Unidos e todo o contato com pacientes será realizada no Brasil.

Análise: Não haverá mais o envio de material biológico para o exterior e nem necessidade de identificação dos pacientes para o pesquisador estrangeiro. **Pendência atendida.**

3. Na apresentação do projeto (páginas 25 e 26) fica claro que este estudo é parte de outro projeto já realizado. *"Como parte de um estudo colaborativo entre a Universidade de Harvard e o nosso grupo na Universidade Federal da Bahia, realizamos uma investigação da expressão de RNA mensageiro nas células mononucleares do sangue periférico em pacientes com doença de Chagas e DCV. Analisamos as respostas genômicas. Nesta próxima etapa do estudo iremos estudar os produtos desses genes nas populações com e sem doença de Chagas e seu potencial de prever risco para DCV (trabalho em fase de redação para publicação)"* grifo nosso. Não há descrição sobre essas etapas anteriores da pesquisa, sua aprovação no sistema CEP/CONEP. Solicitam-se esclarecimentos e que seja anexado o documento de aprovação de tal estudo mencionado.

Resposta: O projeto de colaboração internacional referido previamente foi aprovado na CONEP sob o número 9618, documento em anexo.

Análise: Foi anexado o parecer da CONEP 694/2004 (registro 9618), com a referida aprovação. **Pendência atendida.**

4. Na página 13 são apresentados os locais onde o estudo será realizado: HUPES (Hospital Escola) e Ambulatório de Insuficiência Cardíaca do Hospital Ana Neri, ambos em Salvador. E na página 27 (numeração do CEP) afirma-se que *"a maior parte da pesquisa clínica (>50%) será realizada no Brasil, especificamente o recrutamento do sujeito de pesquisa, coleta de dados e amostras biológicas, entrada e análise dos dados... Os testes laboratoriais (objetivos 2 e 3) serão realizados em Boston, Massachusetts"*. Não é apresentado nenhum local (laboratório no exterior). O material biológico será enviado para Boston, mas não foi localizada referência sobre qual a instituição. E, conforme já apontado no item 2 desses comentários, faltam documentos e adequação à Res. CNS 292/1999. Solicitam-se esclarecimentos e adequações.

Resposta: Conforme esclarecido na nossa resposta no. 1, não haverá mais envio de material biológico para o exterior.

Análise: Esta pendência deixa de ser necessária uma vez que não haverá envio de material biológico. **Pendência atendida.**

5. O recrutamento dos sujeitos está previsto para iniciar em junho de 2010, porém visto que o protocolo ainda encontra-se em tramitação no Sistema CEP/CONEP, solicita-se apresentação de novo cronograma para o estudo.

Resposta: No cronograma do estudo (página 21, ítem 7) não especificamos a data do início do estudo, por sabermos que o processo de aprovação poderia demorar. Há especificação da data de início apenas na folha de rosto da CONEP. Esclarecemos que pretendemos iniciar o estudo apenas após a aprovação final da CONEP e que o estudo irá durar 5 anos.

Análise: Foi esclarecida a questão das datas e início do estudo. **Pendência atendida.**

6. Não foi informado se as amostras coletadas serão armazenadas ou se serão descartadas logo após o uso. Solicita-se que seja esclarecida a destinação das amostras logo após as análises, uma vez que serão enviadas amostras biológicas ao exterior.

Resposta: Conforme esclarecido no item 1, não haverá envio de amostras para o exterior. As amostras serão guardadas em freezer a -70°C e só haverá novo processamento de amostras mediante assinatura de novo termo de consentimento pós-informação pelo paciente.

Análise: Em que pese não haver envio de amostras ao Exterior não fica claro se as amostras armazenadas no Brasil serão utilizadas apenas para fins deste protocolo em específico ou se formarão banco de material biológico para usos futuros em outros protocolos. Solicita-se esclarecer e, em caso de formação de banco de material biológico, a Resolução CNS 347/05 deve ser integralmente seguida. **Pendência não atendida.**

7. Na página 33 (numeração do CEP) é explicado o tratamento com ácido acetil salicílico (AAS), nos casos em que for detectado sinais de microembolia (SME) pelo Doppler Transcraniano, e que "*serão triados para critérios de exclusão para uso de AAS...*" Os pacientes deverão receber 300mg de AAS "ou nenhum tratamento adicional de forma aberta" durante 7 dias. No projeto não é explicitado que será repetido o Doppler transcraniano depois do uso do AAS, somente no TCLE. Não ficou claro qual o objetivo do uso do AAS, se é para tratamento dos casos de microembolia detectados ou se haverá algum objetivo do estudo em avaliar a ação do medicamento sobre os coágulos. Solicita-se que o texto no projeto deixe claro quais os procedimentos, riscos e benefícios para os participantes e que fique claro todos os procedimentos previstos no estudo, inclusive o uso do AAS como tratamento para sinais de microembolia. Solicitam-se esclarecimentos e adequação.

Resposta: Acrescentamos a informação sobre a repetição do Doppler transcraniano em 7 dias na página 17; e o seguinte texto na página 18: "O objetivo do uso de AAS por 7 dias será avaliar sua eficácia na redução do desfecho alternativo de microembolia cerebral ao Doppler transcraniano. Não é esperado detectar uma eficácia clínica em redução do risco de DCV, pois a amostra de pacientes é pequena para este fim e o tempo de tratamento muito curto. No entanto, os dados nos permitirão avaliar se o AAS é eficaz nesta amostra de pacientes com microembolia detectada no Doppler transcraniano, auxiliando no planejamento de um estudo maior de prevenção primária de AVC nesta população de alto risco de ocorrência de eventos isquêmicos. Não pretendemos manter o AAS além do 7º dia em nenhum dos pacientes avaliados, pois não conhecemos o perfil de risco/benefício da medicação a longo prazo na prevenção primária de AVC. Atualmente, não há indicação baseada em evidências de uso de AAS como prevenção primária de AVC em nenhum dos grupos selecionados para este estudo."

Análise: Foi devidamente esclarecido o uso do AAS e ficou claro que não há objetivos de avaliação de eficácia desse tratamento e os motivos. **Pendência atendida.**

8. Considerando que os pacientes identificados com microembolia podem ter necessidade real de tratamento continuado com anticoagulante, solicita-se esclarecer os critérios e as razões adotados para a limitação do uso de anticoagulantes para sete dias, deixando um grupo sem tratamento.

Resposta: A resposta acima atende a este questionamento.

Análise: O AAS não é indicado como prevenção primária de AVC e seu uso neste estudo é o início de uma avaliação quanto a sua eficácia nesta amostra de pacientes, para auxiliar em estudo maior de prevenção primária de AVC nesta população de risco. **Pendência atendida.**

9. Em relação do TCLE:

- a. O documento trás a seguinte informação: *"Não serão administrados medicamentos ou intervenções cirúrgicas como parte desse estudo"*, logo em seguida vem a seguinte informação: *"por esse motivo, metade dos pacientes receberá uma medicação anticoagulante, para "afinar" o sangue e evitar a formação de novos coágulos, chamada ácido acetil-salicílico (AAS), durante 1 (uma) semana. Ao final dessa semana será repetido o estudo de Doppler transcraniano. Os dois grupos de pacientes (usando ou não AAS) serão aconselhados quanto à prevenção primária habitual de derrame cerebral"*. Observe-se que se o AAS for uma medida terapêutica, não é aceitável que exista um grupo de pacientes que fique sem recebê-lo, e solicita-se justificativa para uso restrito a 7 dias. Visto que as informações são contraditórias, solicita-se adequação do texto.

Resposta: Modificamos a frase: *"Não serão administrados medicamentos ou intervenções cirúrgicas como parte desse estudo"* Em relação ao uso do AAS em apenas metade dos pacientes que apresentarem microembolia ao Doppler, esclarecemos que não há indicação baseada em evidência de uso de AAS como prevenção primária para AVC. O seu uso, mesmo em pacientes que apresentem sinais de microembolia ao Doppler transcraniano, é completamente experimental, pois não se conhece qual o risco/benefício do AAS o longo prazo. Nenhum paciente ficará sob uso exclusivo de placebo, pois estarão todos recebendo tratamentos convencionais para a insuficiência cardíaca (diurético, anti-hipertensivo, digitálico, etc. conforme a indicação clínica).

Análise: Esta pendência segue a mesma argumentação das anteriores, com referência ao uso do AAS neste estudo. **Pendência atendida.**

- b. Não está claro no TCLE sobre quais serão as condutas nos casos em que for detectado derrame cerebral, infarto silencioso, seja pelo Doppler ou pela RM. Solicita-se adequação.

Resposta: O Doppler transcraniano não é capaz de detectar infarto silencioso, apenas sinais de microembolia. A ressonância magnética pode detectar infartos silenciosos. Em ambos os casos, na literatura recomenda-se apenas uma maior atenção aos fatores de risco (hipertensão arterial, diabetes e no caso específico, a insuficiência cardíaca) para prevenção primária sem medicamentos adicionais. Portanto, acrescentamos a seguinte frase no TCLE: *"Os pacientes que apresentarem sinais de derrame cerebral na ressonância magnética ou coágulos no Doppler transcraniano serão aconselhados quanto à prevenção habitual de derrame cerebral."*

Análise: **Pendência atendida.**

- c. O modelo não possui numeração em suas páginas, o que pode comprometer a integridade das informações contidas no documento (retirada ou adição de páginas). Solicita-se adequação.

Resposta: Numeramos as páginas do TCLE para melhor visualização.

Análise: As páginas foram numeradas. No entanto, a página onde devem constar as assinaturas ficou sendo a última e isolada do texto, o que pode comprometer o documento. Solicita-se que, ao aplicar tal termo, seja dada nova formatação para que o corpo do texto acompanhe a página de assinaturas e os signatários rubriquem também todas as demais páginas. **Pendência atendida.**

- d. Não é informado formas de contato com o CEP. Solicita-se que, seja incluído telefone, o endereço onde o pesquisador responsável pode ser encontrado e o endereço do CEP.

Resposta: Foram incluídas as formas de contato com o CEP e pesquisadores no setor de "Esclarecimentos sobre a pesquisa" do TCLE.

Análise: Foram acrescentados os dados. **Pendência atendida.**

- e. Não consta garantia de indenização em caso de danos decorrentes da participação do sujeito no estudo, conforme exigido pelos itens V.5 e V.6 da Resolução CNS 196/96. Solicita-se adequação.

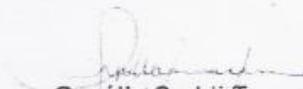
Resposta: Foi incluído no setor de "Custos" do TCLE a seguinte frase: "É garantido ao paciente uma indenização em casos de danos diretos decorrentes da participação deste estudo." No orçamento do estudo está previsto a contratação de um seguro contra danos.

Análise: **Pendência atendida.**

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 196/96, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto, devendo o CEP verificar o cumprimento da questão 06 acima e encaminhar à CONEP as recomendações cumpridas antes do início do estudo.

Situação: Protocolo aprovado com recomendação.

Brasília, 25 de março de 2011.


Gyselle Saddi Tannous
Coordenadora da CONEP/CNS/MS