

RAILTON BEZERRA DE MELO

**DETERMINAÇÃO DO PEPTÍDEO NATRIURÉTICO
CEREBRAL EM PORTADORES DA DOENÇA DE
CHAGAS**

**RECIFE
2003**

RAILTON BEZERRA DE MELO

**DETERMINAÇÃO DO PEPTÍDEO NATRIURÉTICO
CEREBRAL HUMANO EM PORTADORES DA
DOENÇA DE CHAGAS**

Dissertação apresentada ao
Departamento de Medicina Clínica do
Centro de Ciências da Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito final para obtenção do
grau de Mestre em Medicina Interna.

**ORIENTADOR:
Prof. Dr. EDGAR GUIMARÃES VICTOR.**

**RECIFE
2003**

***“As verdades científicas são transitórias,
certezas do momento emendadas por
certezas maiores no momento próximo.”***
POINCARÉ



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA INTERNA

RELATÓRIO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO DR. RAILTON BEZERRA DE MELO, ALUNO DO CURSO DE MESTRADO EM MEDICINA INTERNA, TURMA INICIADA EM 1999 (HUM ML. NOVECENTOS E NOVENTA E NOVE)

Às nove horas, do dia vinte e oito de fevereiro de dois mil e três, no Auditório Jorge Lobo do CCS, tiveram início, pelo Coordenador do Curso, Prof. Edgar Guimarães Victor, os trabalhos de Defesa de Dissertação, do mestrando Railton Bezerra de Melo, para obtenção do **Grau de Mestre em Medicina Interna** do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco. A Comissão Julgadora, eleita pelo Colegiado do Curso e homologada pelas Câmaras de Pesquisa e Pós-Graduação, foi formada pelos professores: **Dr^a Heloisa Ramos Lacerda de Melo**, na qualidade de Presidente, do Departamento de Medicina Clínica da UFPE, **Dr. José Luiz de Lima Filho**, do Departamento de Biofísica da UFPE e **Dr. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto**, do Departamento de Medicina Clínica da UFPE. A Dissertação apresentada versou sobre: "**Determinação do Peptídeo Natriurético Cerebral em Portadores da Doença de Chagas**", tendo como orientador o Prof. Dr. Edgar Guimarães Victor, do Departamento de Medicina Clínica da UFPE. Após a explanação de 30 minutos feita pelo candidato, justificando a escolha do assunto, objetivos da Dissertação, metodologia empregada e resultados obtidos, ilustrados com diapositivos, foram realizadas as arguições pela Banca Examinadora, todos no tempo regulamentar e respondidos pelo candidato. Ao término das arguições, a Banca avaliou em secreto e proferiu o seguinte resultado: "Aprovado". Nada mais havendo a registrar, foram encerrados os trabalhos, do que, para constar, elaborei o presente relatório que vai assinado por mim, Esmeralda Rêgo Dantas, depois do Senhor Presidente e demais membros da Comissão Julgadora. Recife, 28 de fevereiro de 2003.

Heloisa Ramos Lacerda de Melo
Prof^a Dr^a Heloisa Ramos Lacerda de Melo (Presidente)

José Luiz de Lima Filho
Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho

Edmundo Lopes
Prof. Dr. Edmundo Pessoa de Almeida Lopes Neto

Esmeralda Rêgo Dantas

AGRADECIMENTOS

À **minha família: Nadja, Rayssa, Pedro, Catarina, Nailza** pelo sacrifício e apoio decisivos.

Ao meu irmão **Rilberto Bezerra de Melo**, falecido na aurora da sua existência, por desde cedo ter despertado em mim o interesse pela Ciência.

Ao **Professor Edgar Guimarães Victor**, pela orientação preciosa, compreensão e amizade, indispensáveis na realização desta pesquisa.

Ao **Professor Luiz Oscar Cardoso Ferreira**, pela inestimável ajuda, sempre solícito, dando muito da sua experiência em todas as fases deste trabalho principalmente na análise estatística.

Ao **Professor Emanuel Dias**, digníssimo reitor da Universidade de Pernambuco em sua incansável luta pela capacitação dos docentes da UPE, pela sua ajuda na aquisição dos reagentes viabilizando a realização desta pesquisa.

Ao amigo, **Professor Reginaldo Inojosa**, Pro-reitor da UPE pelo constante apoio, nunca nos faltando, tornando possível este trabalho.

À minha querida sobrinha, a biomédica, **Dra. Tatiana Souza Porto**, pela inestimável colaboração na fase laboratorial dessa pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Wilson Oliveira júnior**, pela orientação técnica e por ter tão gentilmente nos acolhido no Ambulatório de Doença de Chagas do HUOC.

A amiga **Dra. Cassandra Barros** por ter nos ajudado no recrutamento dos seus pacientes do Ambulatório de Doença de Chagas do HUOC.

A **Sra. Izabel Freire**, assistente social do HEMOPE pela dedicação e orientação aos doadores soropositivos para doença de Chagas recrutados para este trabalho.

A **Sra. Esmeralda Dantas**, pela iniciativa ao auxiliar na resolução dos óbices que envolvem o preparo da dissertação.

Ao **Prof. Dr. Luiz Gonzaga Santos**, chefe do Laboratório Central de Patologia clínica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz que gentilmente cedeu o material para a coleta do sangue.

Aos **colegas professores** do Departamento de Medicina Social da Faculdade de Ciências Médicas e em especial a Marília Siqueira Campos, Gilberto Moura e Fernando Persivo pela compreensão e apoio.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

- AU – Arginina Uracila
- BAVT – Bloqueio Átrio Ventricular Total
- BNP – Brain Natrietic Peptide
- BRD – Bloqueio de Ramo Direito
- BRE – Bloqueio de Ramo Esquerdo
- CGMP – GMP cíclico
- DC – Doença de Chagas
- DP – Desvio Padrão
- ECG – Eletrocardiograma
- ECO - EcoDopplercardiograma
- EIA – Enzima imunoensaio
- ELISA – Enzyme linked immunossorbent assay
- EPI-INFO – Sistema de processamento de texto, banco de dados e estatística em epidemiologia para microcomputadores
- ESV – Estrassístole Ventricular
- G1 – Grupo 1 – Indivíduos soropositivos para Chagas
- G2 – Grupo 2 – Indivíduos com Cardiopatia Chagásica Crônica
- HAS – Hipertensão Arterial Sistêmica
- HBAE – Hemi-Bloqueio Anterior Esquerdo
- HEMOPE – Fundação de Hematologia e Hemoterapia de Pernambuco

- HS-¹⁴²I – Ácido Sulfídrico marcado com iodo
- HUOC – Hospital Universitário Oswaldo Cruz
- ICC – Insuficiência Cardíaca Congestiva
- IAM – Infarto Agudo do Miocárdio
- IECA – Inibidores da Enzima de Conversão da Angiotensina
- Kb – Kilo base
- NPR-A – Receptor do Peptídeo Natriurético Atrial
- NPR-B – Receptor do Peptídeo Natriurético tipo B
- NPR-C – Receptor do Peptídeo Natriurético tipo C
- NYHA – New York Heart Association
- PN tipo C – peptídeo natriurético tipo C
- PNA – Peptídeo Natriurético Atrial
- PNB – Peptídeo Natriurético Cerebral
- PNP-A – Pró-Peptídeo Natriuretico Atrial
- RNA – Ácido Ribonucleico
- SVE – Sobrecarga Ventricular Esquerda
- UPE – Universidade de Pernambuco
- WHO – World Health Organization

LISTA DE FIGURAS e QUADROS

- **Figura 1** – Sequência dos aminoácidos dos três peptídeos natriuréticos humanos
- **Figura 2** – Ação do peptídeo natriurético atrial nas células-alvo
- **Figura 3** – O ABC dos hormônio natriuréticos – esquema de resumo das ações fisiológicos
- **Figura 4** – Amostra sangüínea sendo colocada no dispositivo Triage® BNP Teste Device
- **Figura 5** – Triage® BNP Teste Device
- **Figura 6** – O Triage Meter® descartando o Triage® BNP Teste Device
- **Quadro 1** – Classificação Funcional da ICC segundo NYHA

LISTA DE TABELAS

- **Tabela 1** – Distribuição das características da população estudada.
- **Tabela 2** – Distribuição da Classe Funcional (NYHA) do G2.
- **Tabela 3** – Distribuição do uso de medicamentos em 12 patients com cardiopatia chagásica.
- **Tabela 4** – Distribuição das alterações eletrocardiográficas em 5 pacientes não portadores de marca passo cardíaco
- **Tabela 5** – Distribuição das alterações encontradas nos Ecocardiogramas prévios e atuais do G2.
- **Tabela 6** – Índices defunção ventricular ao ecocardiograma do G2.
- **Tabela 7** – Distribuição do Índice Cardiorácico no G2
- **Tabela 8** – Valores máximos, mínimos, média e desvio padrão dos níveis séricos de PNB em pg/ml, nos dois grupos.
- **Tabela 9** – Valores de PNB e classe funcional (NYHA)
- **Tabela 10** – Valores de PNB e uso de marcapasso
- **Tabela 11** – Valores de PNB e Função Ventricular do G2.
- **Tabela 12** – Valores de PNB e Índice cardiorácico

RESUMO

O presente estudo objetivou determinar quantitativamente os níveis séricos do peptídeo natriurético cerebral em pacientes com cardiopatia chagásica crônica e em indivíduos com sorologia positiva para Doença de Chagas sem comprometimento cardíaco. A doença de Chagas afeta cerca de 16 milhões de pessoas na América Latina, destes estima-se que 6 a 8 milhões são brasileiros. O PNB por sua potente ação vasodilatadora e natriurética, encontra-se elevado nos quadros congestivos, sugerindo ser uma resposta compensatória do organismo nos casos de falência da função da bomba cardíaca. Constatou-se ser esta elevação correspondente ao grau de insuficiência cardíaca, daí ser usado para quantificar o grau de disfunção ventricular esquerda, como marcador prognóstico e também para monitorar a eficácia terapêutica.

Concentrações séricas de peptídeo natriurético cerebral foram determinadas por imunofluorescência, através do Kit comercialmente disponível, "Triage[®] - BNP Test" produzido pela BIOSITE[®]. Foi avaliado o PNB sérico de 25 indivíduos oriundos do Ambulatório de Doença de Chagas do Hospital Universitário Oswaldo Cruz. Os participantes foram distribuídos em dois grupos sendo um composto por 13 indivíduos portadores de sorologia positiva para doença de chagas, assintomáticos e sem nenhuma cardiopatia detectável pelo eletrocardiograma, Telerradiografia do Tórax e ecocardiograma (G1). O segundo grupo (G2) integrado

por doze pacientes, portadores da Doença de Chagas com comprometimento cardíaco. O comprometimento cardíaco foi definido por alteração eletrocardiográfica ou à teleradiografia do tórax ou ainda ao ecoDopplercardiograma, em indivíduos que não fossem portadores de outra cardiopatia associada. Níveis significativamente mais elevados de PNB foram detectados nos pacientes chagásicos com comprometimento cardíaco [G1=4,4(DP=4,4) e G2=293,0(DP=460,2) $p<0,01$]. Em ambos os grupos não houve correlação dos níveis séricos de PNB com a idade ou com o sexo. Estes níveis foram diretamente proporcionais, a classe funcional, e a área cardíaca no estudo radiológico do tórax. Todavia apesar de demonstrar um tendência de elevação no comprometimento da função sistólica, não houve uma correlação linear com a fração de ejeção ao ecocardiograma. A existência de marca passo definitivo implantado e as alterações eletrocardiográficas encontradas também não modificaram os níveis séricos de PNB. Observou-se que os indivíduos com sorologia positiva para Doença de Chagas, assintomáticos e sem evidencia de disfunção ventricular, possuem níveis séricos de PNB semelhantes aos da população em geral .

ABSTRACT

The purpose of the present study was to measure the plasma concentrations of brain natriuretic peptide (BNP) in patients with seropositive for Chagas's disease (CD). CD affects 16 million people in Latin America, of whom 6 to 8 million are Brazilian people. BNP is increased in congestive disease, suggesting that the potent vasodilatory and natriuretic properties of BNP are a response to expanded fluid volume in congestive heart failure. It has been established that this increase is proportional to the degree of heart failure, hence its use to quantify the degree of left ventricular dysfunction as a prognostic marker and also to assess the effectiveness of therapy. Plasma concentrations of BNP were measured using a fluorescence immunoassay kit (Triage, Biosite). The BNP levels of 25 patients attending the CD clinic of Oswaldo Cruz University Hospital were evaluated. The patients were divided into 2 groups: the first group (G1) comprised 13 individuals seropositive for CD, who were asymptomatic and without cardiac diseases detected by electrocardiographic, chest radiograph and echocardiogram. The second group (G2) consisted of 12 CD patients with cardiac involvement evidenced by clinical findings and changes in the electrocardiogram, chest radiograph and echocardiogram. These patients had no other cardiac disease. Levels of BNP in CD patients with cardiac involvement were significantly greater (G1=4,4 and G2=293,09 $p < 0,01$). In neither groups was there any correlation between the BNP levels and sex or age. The levels were directly proportional to the functional NYHA class and cardiac area on the chest radiograph. However, despite their tendency to rise when there is involvement of the systolic function, there was no correlation with ejection fraction in echocardiogram. The presence of a pacemaker and the changes found in the ECG did not affect BNP levels, either. The individuals seropositive for DC, who are asymptomatic and with no ventricular dysfunction have circulating levels of BNP similar to those of healthy people.

SUMÁRIO

	Pág.
AGRADECIMENTOS	I
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	IV
LISTA DE FIGURAS	VI
LISTA DE TABELAS	VII
RESUMO	VIII
ABSTRACT	X
SUMÁRIO	XI
1 – INTRODUÇÃO	1
1.1 Os peptídeos natriuréticos	1
1.1.1. Histórico	1
1.1.2. Os receptores de Peptídeos Natriuréticos	4
1.1.3. Ações dos Peptídeos Natriuréticos	6
1.1.4. Aplicações Diagnósticas	10
1.1.5. Uso Terapêutico	13
1.1.6. Determinação laboratorial dos Peptídeos Natriurético	15
1.2 Doença de Chagas	17
1.2.1 Importância	17
1.2.2 Fases clínicas da Doença de Chagas	18
1.2.3 Exames complementares na doença de Chagas	22
2 – JUSTIFICATIVA	25
3 – OBJETIVOS	26

3.1 Objetivo Geral	26
3.2 Objetivos Específicos	26
4 – PACIENTES E MÉTODOS	27
4.1 Local do Estudo	27
4.2 População do estudo	27
4.3 Definição de Casos	28
4.4 Critérios de exclusão	28
4.5 Coleta das amostras sangüíneas	29
4.6 Mensuração dos níveis de PNB	30
4.7 Variáveis estudadas	30
4.8 Diagnóstico Sorológico	33
4.9 Análise Estatística	34
4.10 Referendação Bibliográfica	34
4.11 Considerações éticas	34
4.12 Financiamento	34
5 – RESULTADOS	36
6 - DISCUSSÃO	44
7 - CONCLUSÕES	49
8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
ANEXOS	55

1- INTRODUÇÃO

1.1. OS PEPTÍDEOS NATRIURÉTICOS

1.1.1. Histórico

Em 1956, dois diferentes experimentos comprovaram ser o coração um órgão endócrino. Kisch (1956) examinou corações de porcos da Índia à microscopia eletrônica e descobriu curiosos grânulos nos átrios, ausentes nos ventrículos. Henry e Pearce (1956) inflaram um balão no átrio esquerdo de um cão e notaram um aumento no fluxo urinário. Esses dois experimentos sugeriram que um composto granular desconhecido, situado nos átrios, tinha ação fisiológica à distância, requisito essencial para que se considerasse o coração como glândula endócrina.

Segundo Stein e Levin (1998), um quarto de século se passou antes que o experimento inédito iniciasse a era dos peptídeos natriuréticos.

Em 1981, de Bold et al. fizeram a primeira observação de que a infusão de extratos de tecido atrial provocava, em ratos, uma natriurese copiosa caracterizada pelo aumento de 30 vezes na excreção de sódio e de 10 vezes no volume urinário. A injeção intravenosa de extratos de tecido ventricular não alterou nem a natriurese, nem a diurese. Os pesquisadores identificaram que os grânulos atriais continham uma substância, posteriormente denominada peptídeo natriurético A (PNA), que produzia natriurese e diurese desencadeadas em local anatomicamente distante dos rins, ou seja, caracterizaram o coração como parte do sistema endócrino e o PNA como hormônio.

A constatação motivou a pesquisa de Kangawa e Matsuo que em 1984 isolaram e determinaram a estrutura do peptídeo natriurético atrial, o primeiro membro de uma família de peptídeos com potente atividade natriurética, diurética e vasorrelaxante. Tratava-se de um peptídeo de 28 aminoácidos, contendo um anel com 17 aminoácidos, fechado por ponte dissulfeto entre dois resíduos de cisteína

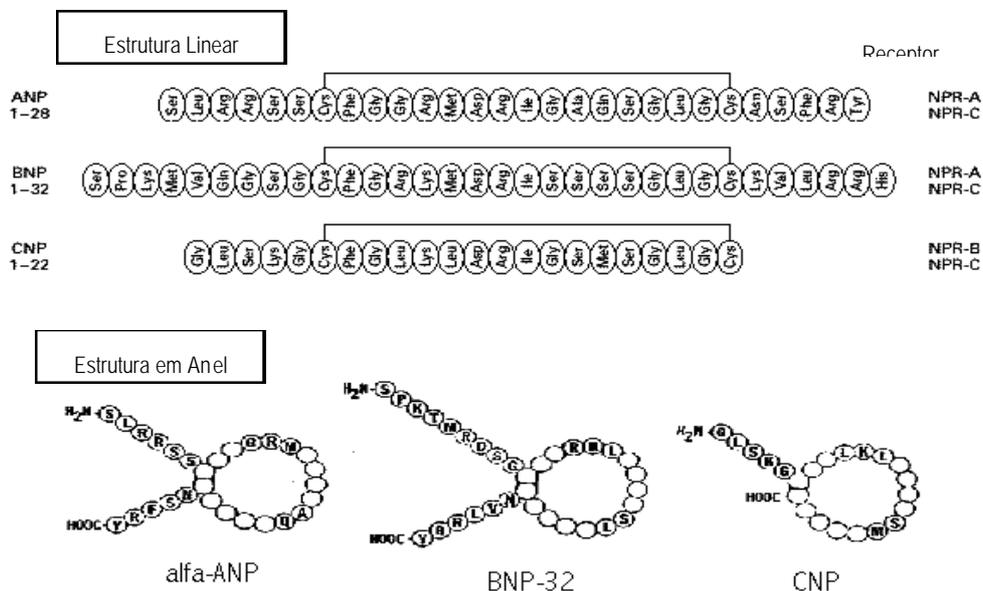


Figura 1 – Seqüência dos aminoácidos dos três peptídeos natriuréticos humanos.

O esquema LINEAR mostra a localização das pontes de cisteína presentes em cada peptídeo. Os receptores principais dos peptídeos natriuréticos (NPRs) aos quais os peptídeos se ligam estão listados à direita. PNA ⇒ peptídeo natriurético atrial(PNA) PNB ⇒ peptídeo natriurético cerebral (PNB), PN TIPO - C ⇒ peptídeo natriurético C(PNC). Adaptado de Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. N Engl J Med. 1998, 339 (5):321-8.

Em 1988, Sudoh et al. isolaram outro peptídeo natriurético, a partir de extratos de cérebro de porco, identificando ações natriuréticas e diuréticas, com 32 aminoácidos, que também continha um anel de 17 aminoácidos (Figura 1). Recebeu a denominação de peptídeo natriurético cerebral (PNB). que posteriormente se identificou ser errônea, ao descobrir-se que as maiores concentrações de PNB situavam-se no ventrículo cardíaco.

Esse achado, segundo Stein e Levin (1998), pode explicar porque De Bold et al. (1981) não encontraram efeito ao injetar extrato ventricular em ratos, já que as concentrações de PNB variam segundo a espécie animal e, em miocárdio de ratos, são reduzidas.

Em 1990, Sudoh et al. isolaram de cérebro de porco um novo peptídeo natriurético, denominado peptídeo natriurético tipo C (PN TIPO - C). Identificaram a estrutura molecular formada também por um anel de 17 aminoácidos, característica dessa classe de compostos, com cadeias laterais de dois tipos. Um tipo contém 53 aminoácidos (PN TIPO - C-53), 17 dos quais no anel, e outro 22 (PN TIPO - C-22).

Stein e Levin referiram, em 1998, o isolamento de um novo peptídeo natriurético, denominado peptídeo natriurético dendroaspis (DNP), isolado a partir de veneno de cobra da espécie *Dendroaspis angusticeps*, cujas propriedades estão em estudo.

As pesquisas em animais e em humanos permitiram identificar que os peptídeos natriuréticos exercem um papel importante na proteção contra a hipertensão arterial e a expansão do volume plasmático, esses princípios têm sido investigados continuamente para que se esclareçam a fisiologia, normal e patológica dos peptídeos natriuréticos, de tal forma que se possa utilizá-los no tratamento de doenças. Estudos utilizando drogas que inibem os receptores de alguns peptídeos natriuréticos, ou que previnem a degradação deles, confirmaram sua importância.

1.1.2. Os receptores de peptídeos natriuréticos

Os peptídeos natriuréticos exercem seus efeitos através da interação com receptores de alta afinidade na superfície das células alvo, como demonstrado na figura 2.

Em tecidos de mamíferos foram identificados três receptores de membrana dos peptídeos natriuréticos A, B e C. Os receptores A e B estão ligados à cascata de sinalização cGMP-dependente e mediam vários efeitos renais e cardíacos dos peptídeos natriuréticos (KOLLER E GOEDDEL, 1992).

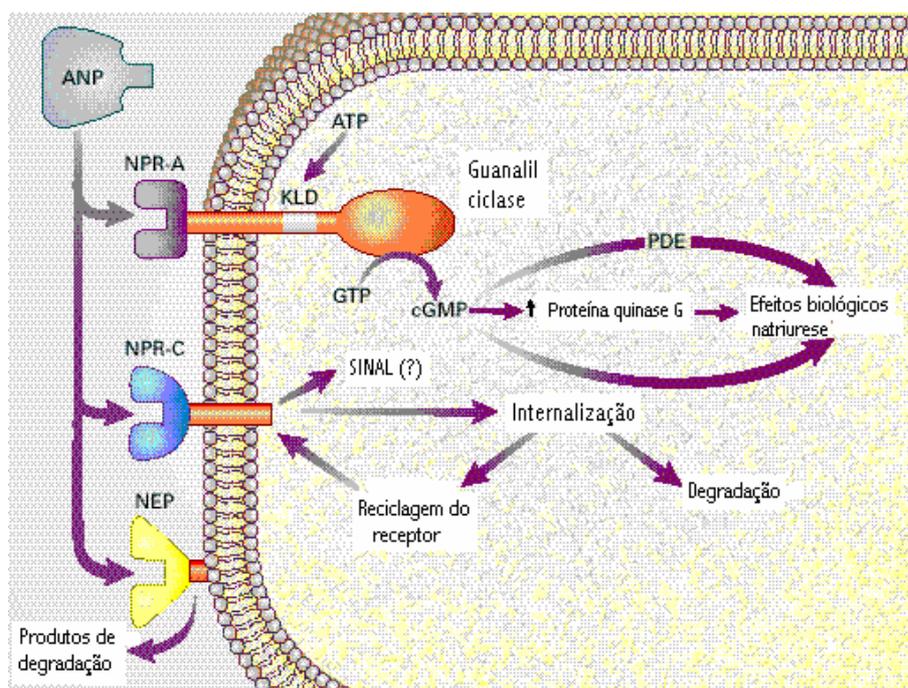


Figura 2 – Ação do peptídeo natriurético atrial nas células-alvo

O PNA se liga ao receptor de peptídeo natriurético A (NPR-A) e, através de mecanismo ATP-dependente, estimula a atividade intrínseca da guanilil-ciclase do receptor. A guanosina-monofosfato cíclica (cGMP) exerce seus efeitos biológicos indiretos, através da proteína quinase G, cGMP dependente ou através de uma ou mais de uma fosodiesterase (PDFs), ou ainda por ação direta em efetores como os canais de sódio amilorida-sensíveis nos rins. A dependência do ATP requer um domínio quinase-like (KLD) do receptor. O PNA também se liga ao receptor do peptídeo natriurético C (PN TIPO - C), após o que é carregado para o citoplasma celular e degradado. Todavia o receptor C pode também exercer funções sinalizadoras independentes. O PNA pode ser degradado por endopeptidases neutras extracelulares (NEPs) nos rins e nos vasos sanguíneos.

Adaptado de Levin ER, Gardner DG, Samson WK. Natriuretic peptides. N Engl J Med. 1998, 339 (5):321-8.

Os receptores A e B são estruturalmente semelhantes, de tal forma que apresentam aproximadamente 44% de homologia nos domínios extracelulares de ligação. O receptor A se liga tanto ao PNA quanto ao PNB, embora o faça preferencialmente ao PNA. O peptídeo PN TIPO - C é o ligante natural do receptor B (LEVIN et al., 1998).

Embora ambos os receptores estejam presentes nas glândulas adrenais e nos rins, nos grandes vasos sanguíneos predomina o receptor A associado a baixas concentrações de receptores B, que predominam no cérebro.

Os receptores A e B possuem uma porção extracelular ligada à porção intracelular por um segmento que atravessa a extensão da membrana celular. A porção intracelular contém o domínio quinase-like, ao qual se segue o domínio catalítico da guanilil-ciclase, assim sendo, a ligação dos peptídeos natriuréticos aos receptores de membrana, ativa a guanilil-ciclase que eleva a concentração intracelular de cGMP (LEVIN et al., 1998).

1.1.3. Ações dos peptídeos natriuréticos

Os peptídeos natriuréticos exercem suas ações no sistema cardiovascular, nos rins e no sistema nervoso central, conforme representado na Figura 3.

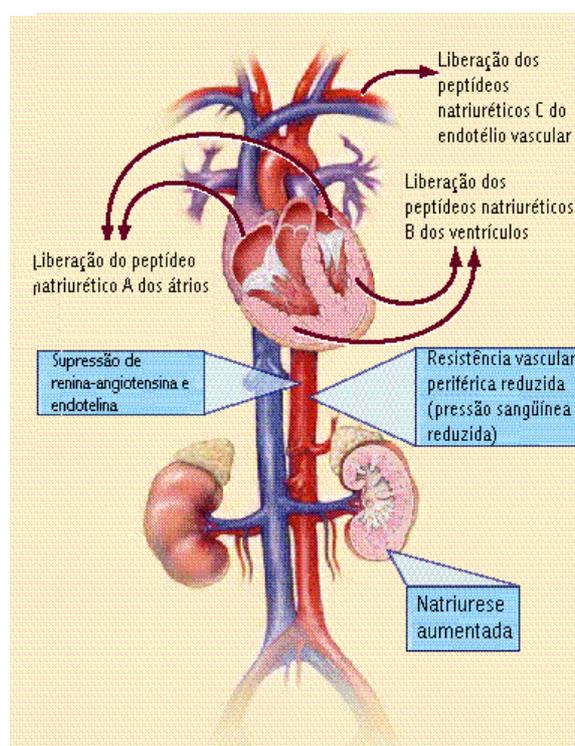


Figura 3 - O ABC dos hormônios natriuréticos – esquema de resumo das ações fisiológicas

Adaptado de Baughman KL B-type natriuretic peptide – a window to the heart. N Engl J Med. 2002, 347 (3):158-9.

1.1.3.1. Ações cardiovasculares

Em animais, a infusão de baixas doses de PNA reduz a resistência vascular periférica e a pressão sanguínea, contudo doses elevadas aumentam a

resistência vascular periférica apesar do decréscimo da pressão sanguínea, o que sugere um mecanismo de ativação contra-reguladora dos barorreceptores (LAPPE et al., 1985).

A redução da pressão sanguínea, dependente do PNA resulta, em parte, da redução na pré-carga cardíaca através da fuga do fluxo intravascular para os compartimentos extravasculares. Isso reflete o aumento da permeabilidade do endotélio vascular e, talvez, o aumento da pressão hidráulica no leito vascular (LAPPE et al., 1985).

No entanto, o extravasamento do fluido para o compartimento extravascular não é o único mecanismo para a redução da pré-carga. O peptídeo natriurético atrial aumenta a capacitância venosa e promove natriurese que reduz o volume de fluido extravascular. Os efeitos subseqüentes a esse mecanismo do PNA ocorrem diretamente nos rins e na supressão do eixo renina-angiotensina-aldosterona (HUNT et al., 1996).

O PNA reduz o tônus simpático dos vasos periféricos. Essa redução é provavelmente causada pelo bloqueio dos barorreceptores, pela supressão da liberação das catecolaminas das terminações nervosas autonômicas e, principalmente, pela supressão do fluxo simpático do sistema nervoso central. O PNA reduz o limiar de ativação dos aferentes vagais, portanto suprime o reflexo taquicárdico e a vasoconstricção que acompanha a redução da pré-carga, assegurando a manutenção da pressão arterial média baixa (YANG et al., 1992).

O PNB tem efeitos cardiovasculares semelhantes aos do PNA enquanto que o PN TIPO - C é um dilatador venoso mais potente que os outros dois.

Todos os peptídeos natriuréticos têm atividade anti-mitogênica, tanto no sistema cardiovascular, quanto em outros órgãos. O PNA e o PN TIPO - C inibem a mitogênese em culturas de células vasculares e em artérias carótidas de ratos (ITOH

et al., 1990; FURUYA et al., 1993), cujas paredes foram lesadas através de uso de balão, principalmente através do mecanismo cGMP dependente. Isto implica em dizer que os peptídeos natriuréticos podem modular a reprodução celular das paredes vasculares, nas doenças tais como aterosclerose, hipertensão e restenose pós-angioplastia.

1.1.3.2. Ações renais

As ações diuréticas e natriuréticas dos peptídeos natriuréticos são devidas, tanto à hemodinâmica renal quanto às ações tubulares diretas. O aumento no fluxo sanguíneo renal causado pelo PNA não tem a mesma duração que a ação natriurética. O PNA estimula a dilatação das arteríolas renais aferentes e a constrição das eferentes, provocando um aumento de pressão nos capilares glomerulares. Essa pressão mais elevada promove aumento da filtração glomerular. O peptídeo também aumenta o acúmulo de cGMP nas células mesangiais, promovendo relaxamento e, portanto, aumentando a área de superfície efetiva para filtração (STOCKAND e SAMSON, 1997).

Em humanos, infusões venosas de PNA ou de PNB, em doses capazes de aumentar discretamente suas concentrações plasmáticas, para valores pouco maiores que as normais, resultam em diurese e natriurese independentes de modificações da pressão sanguínea. Essas infusões reduzem a renina plasmática e as concentrações de aldosterona e inibem a secreção de aldosterona estimulada pela angiotensina II (WIJEYARATNE et al., 1993).

A urodilatina, o único peptídeo natriurético renal atualmente descrito, estimula a diurese e a natriurese em doses mais baixas que aquelas necessárias de PNA para produzir diurese e natriurese. Parece que a molécula é mais resistente à inativação pelas endopeptidases, o que talvez explique sua potência relativa e possa se constituir em uma vantagem sobre o PNA como agente terapêutico. (IGAKI et al., 1996).

1.1.3.3. Ações sobre o sistema nervoso central

Apesar dos peptídeos natriuréticos A e B não cruzarem a barreira hematoencefálica, eles alcançam regiões no sistema nervoso central sem cruzar barreira, tais como o órgão sub-fornical, a eminência média hipotalâmica e a área postrema (HUANG et al., 1992).

Os três peptídeos natriuréticos, em especial o PN TIPO - C são produzidos no cérebro. Os hormônios ou aminas pressóricas, como a endotelina, a vasopressina, a norepinefrina, mas não a angiotensina II, estimulam a liberação dos PNA em culturas de neurônios hipotalâmicos. Essas ações reforçam as exercidas pelos peptídeos natriuréticos ao nível periférico. Por exemplo, os efeitos natriuréticos periféricos são amplificados pela inibição central do desejo de ingerir sal ou de beber água, o que complementa os efeitos diuréticos renais do peptídeo (BLACKBURN et al., 1995; BURRELL et al., 1991).

Além disso, o PNA inibe a secreção de vasopressina e, em alguns estudos, de corticotrofina através da ação no cérebro e na pituitária (SAMSON, 1992). Cada um desses efeitos implica na coordenação das ações centrais e periféricas no controle da homeostase líquida e de eletrólitos.

1.1.4. Aplicações diagnósticas

1.1.4.1. O papel do PNB como marcador diagnóstico

A compreensão do papel do PNB como marcador diagnóstico só foi possível através do estudo das ações dos peptídeos natriuréticos em pacientes portadores de doenças cardiovasculares, tendo sido inicialmente estudada a insuficiência cardíaca congestiva.

Os peptídeos natriuréticos definitivamente defendem o organismo contra o excesso de sal e a retenção de água, afirmação comprovada por Greenwald et al., em 1988, ao constatarem que ratos imunizados contra seu próprio peptídeo natriurético atrial não podem excretar o volume normal de água.

Os padrões de ação desses peptídeos podem ser mais bem definidos em pacientes em insuficiência cardíaca congestiva. A hipertrofia cardíaca que acompanha a insuficiência miocárdica promove um aumento da produção ventricular de PNA e PNB. Essa liberação no plasma é ainda mais estimulada pela distensão do miocárdio atrial e ventricular em insuficiência e pelas concentrações plasmáticas elevadas de angiotensina I e endotelina I.

Em animais com insuficiência cardíaca congestiva, a secreção de PNA inibe a produção de catecolaminas, angiotensina II, aldosterona e de endotelina I e a infusão de antagonistas dos receptores de PNA e PNB, como o HS-¹⁴²I, resulta no aumento acentuado das concentrações plasmáticas desses hormônios (LEVIN et al., 1992).

Pacientes com insuficiência cardíaca congestiva têm altas concentrações de PNA e PNB. As concentrações se correlacionam com a extensão da disfunção ventricular, aumentando numa proporção de 30 vezes em pacientes com doença cardíaca avançada (New York Heart Association classe IV). O aumento das concentrações plasmáticas dos peptídeos natriuréticos se correlaciona também com o desenvolvimento de arritmias cardíacas e com o grau de comprometimento hemodinâmico, de tal forma que concentrações altas são preditoras de curta sobrevivência. As concentrações plasmáticas do PNB podem se correlacionar mais intimamente com o prognóstico (MAISEL et al., 2002; OGAWA et al., 2002; KOGLIN et al., 2001; TSUTAMOTO et al., 1997; CHOY et al., 1994).

O papel do PN TIPO - C na insuficiência cardíaca ainda não está esclarecido.

1.1.4.2.O PNB como fator de prognóstico

Em 1997 Tsutamoto et al. avaliaram as concentrações de PNA e PNB em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva e disfunção ventricular esquerda crônica sintomática, para quantificar o risco de morte por causa cardíaca. Estudaram 85 pacientes, acompanhados por dois anos e concluíram que as concentrações de PNB eram melhores marcadores de prognóstico que os níveis plasmáticos de PNA e que tais concentrações independiam de outros fatores. Sugeriram que a ação compensatória do sistema peptídico natriurético cardíaco se reduz com o agravamento da insuficiência cardíaca congestiva, traduzida por altas concentrações de PNB.

Ogawa et al. (2002) desenvolveram um estudo das características preditivas e da relação custo-benefício da aferição do PNB comparadas à

eletrocardiografia, à telerradiografia de tórax e à ecocardiografia, como testes diagnósticos de doenças cardíacas. Analisaram os dados de 130 pacientes, não tratados, com sintomas sugestivos de insuficiência cardíaca, dos quais 86 foram diagnosticados como portadores de doença cardíaca e 44 não portadores. Os autores identificaram que a dosagem de PNB e a ecocardiografia foram significativamente mais precisas que o ECG e a telerradiografia de tórax e, embora a ecocardiografia tivesse uma relação custo-benefício muito menor que a dosagem de PNB, a sensibilidade e a especificidade dessa determinação representavam uma relação custo-benefício bastante superior àquela da ecocardiografia.

Em 2002, Maisel et al. confirmaram o valor do PNB no diagnóstico da insuficiência cardíaca e demonstraram uma associação entre a concentração do PNB na circulação e a severidade da insuficiência cardíaca congestiva. O nível de PNB parece se correlacionar com outros marcadores de ativação neurohormonal, incluindo a estimulação simpática, os níveis de endotelina e de renina-angiotensina-aldosterona, entretanto o PNB tem a vantagem de poder ser aferido rápida e precisamente no local de atendimento ao paciente.

Maisel et al. (2002) provaram que os resultados de dosagem de PNB podem ser utilizados, com segurança, para confirmar o diagnóstico de insuficiência cardíaca congestiva; para medir a severidade do comprometimento ventricular esquerdo; para quantificar a classe cardíaca funcional; para estimar o prognóstico e para prever os eventos cardíacos futuros, incluindo morte súbita de causa cardíaca em pacientes com cardiomiopatia e, finalmente, para avaliar a eficácia da terapêutica instituída no tratamento da insuficiência cardíaca.

1.1.5. Uso terapêutico

Vários estudos em humanos têm investigado a eficácia dos peptídeos diuréticos no tratamento de desordens tão distintas quanto hipertensão, insuficiência renal e insuficiência cardíaca congestiva.

Em 1999, Cho et al. publicaram um artigo abordando o potencial terapêutico dos peptídeos natriuréticos, afirmando haver duas opções terapêuticas: a infusão intravenosa de PNB para o tratamento da insuficiência cardíaca congestiva e a inibição do metabolismo dos peptídeos natriuréticos através da administração de drogas inibidoras da endopeptidase neutra.

A administração de peptídeo natriurético atrial reduz a pressão sanguínea e promove excreção de sal em pacientes com hipertensão essencial. Também reduz a pressão sanguínea e melhora a hemodinâmica central, incluindo os índices cardíacos, em pacientes com insuficiência cardíaca crônica.

O PNA, na forma de anaritide (fragmentos aminoácidos 102 a 126) tem sido pesquisado como terapia em pacientes com insuficiência renal aguda. Num estudo multicêntrico, aleatorizado, placebo controlado, envolvendo 504 pacientes criticamente doentes com insuficiência renal aguda, os pacientes com insuficiência oligúrica melhoraram e não mais necessitaram de hemodiálise após 21 dias de tratamento. Entretanto, para o grupo como um todo, o PNA não melhorou a sobrevivência livre de diálise e nos pacientes com insuficiência renal não oligúrica para ter piorado o quadro.

Foram desenvolvidos vários inibidores de endopeptidases neutras capazes de inibir a degradação do PNA, incluindo diversos que eram ativos administrados por via oral. O tratamento de humanos com esses inibidores acarretou um aumento esperado do PNA plasmático e de excreção de sódio. Em pacientes

com insuficiência cardíaca congestiva crônica, a administração oral de inibidor de endopeptidase neutral (candoxatrilar) aumentou significativamente a excreção de sódio. A magnitude do efeito se correlacionou intimamente com o rendimento cardíaco basal, significando que a manutenção da perfusão renal é importante para a eficácia da droga.

Colucci et al. (2000), argumentando que o tratamento da insuficiência cardíaca congestiva deveria objetivar mais o equilíbrio hemodinâmico que o alívio dos sintomas, obtido através da administração de diuréticos intravenosos, vasodilatadores e agentes inotrópicos positivos, testaram os efeitos do niseritide, um peptídeo natriurético B sintético, recombinante.

Na fase de análise de eficácia do estudo clínico, duplo-cego, aleatório, tipo placebo, multicêntrico, 127 pacientes, com pressão capilar pulmonar igual ou superior a 18 mm Hg e índice cardíaco de 2,7 L/min/m² de superfície corpórea foram divididos em dois grupos. A um deles foi administrado niseritide intravenoso na dose de 0,015 e 0,030 g/kg peso/min por seis horas e ao outro, administrado placebo. Identificaram melhora clínica geral, redução da pressão capilar pulmonar, da dispnéia e da fadiga, significativamente maiores nos pacientes do grupo niseritide.

Na fase comparativa do estudo, 305 pacientes foram divididos em dois grupos: o primeiro recebeu niseritide por sete dias e o segundo, terapêutica convencional para insuficiência cardíaca congestiva compensada. acompanhados por sete dias. Os autores identificaram resultados similares àqueles da fase de teste de eficácia da droga, contudo relataram hipotensão e bradicardia como efeitos colaterais da droga, nas duas fases.

Atribuíram os efeitos do niseritide nas duas fases ao aumento do débito cardíaco devido à redução da sobrecarga do ventrículo esquerdo, já que a droga não exerce qualquer ação inotrópica positiva sobre o miocárdio.

Bettencourt, em 2002, ratificaram os achados de Colucci et al. (2000), com base na análise dos resultados de estudos multicêntricos com mais 2000 pacientes. Afirmaram que o niseritide, administrado em bolus simples, repetidos ou ainda em infusão contínua, tem efeito vasodilatador, natriurético e diurético dose dependente, reduzindo os níveis de PNB e PNA.

Em julho de 2002, a Food and Drug Administration (FDA), órgão federal dos Estados Unidos da América responsável pela autorização do uso terapêutico de novas drogas, liberou o niseritide, para infusão por períodos curtos, em pacientes com insuficiência cardíaca congestiva, para melhorar os sinais e sintomas de sobrecarga de volume e da descompensação cardíaca. Essa terapia representa, no entender de Baughman (2002), uma nova abordagem do manejo fisiológico da insuficiência cardíaca, que enseja condições naturais para restabelecimento do mecanismo protetor.

1.1.6. Determinação laboratorial dos peptídeos natriuréticos

O método de determinação do PNB mais largamente empregado tem sido o radioimunoensaio e mais recentemente, precisamente em 1999, surgiu o primeiro ensaio utilizando a quimiluminescência. A grande vantagem deste processo em relação ao radioimunoensaio é a facilidade de manuseio, sem os riscos e os custos da radioatividade, com a mesma sensibilidade e precisão desta, permitindo a determinação de substâncias na escala de fentomoles.

A quimiluminescência foi por Wiedmann definida, como a emissão de luz resultante de uma reação química exergônica, quando o produto excitado retorna ao seu estado basal (BRENNER et al., 1990).

As principais vantagens desta tecnologia são a alta sensibilidade do ensaio, igual ou superior à do convencional radioimunoensaio, estabilidade dos marcadores e ao fato de não apresentarem problemas referentes ao uso dos radioisótopos, como alto custo e segurança de acondicionamento e poderem ser realizadas em laboratórios que não necessitem alto nível de sofisticação (CURRIE et al., 1983).

Em 2002, Maisel et al., utilizando imunoensaio fluorescente (Triage, Biosite[®]) para determinação quantitativa de PNB em sangue total ou em plasma, dosaram esse peptídeo natriurético em 1586 pacientes, atendidos em centros de emergência cardiológica dos Estados Unidos da América, da França e da Noruega, no período de abril de 1999 a dezembro de 2000, com dispnéia persistente, como sintoma maior de insuficiência cardíaca congestiva.

Concluíram que o trabalho confirmou os achados das pesquisas anteriores, nos quais se afirmou que os níveis de PNB se elevam na insuficiência cardíaca congestiva, proporcionalmente à gravidade do caso e ao mau prognóstico. Consideraram que o limite máximo da concentração do PNB é 100 pg/mL para diagnóstico dessa insuficiência. Os parâmetros de acurácia foram: sensibilidade média 90% (88 – 92%), especificidade de 76% (73 – 79%), valor preditivo positivo de 79% (76 – 81%) e valor preditivo negativo de 89% (87 a 91%), correspondendo à acurácia de 83%.

1.2. DOENÇA DE CHAGAS

1.2.1. Importância

Carlos Justiniano Ribeiro das Chagas pela primeira vez descreveu em 1909 a doença que em sua homenagem viria a receber o seu nome. Deve-se a este cientista brasileiro um importante e singular trabalho sobre esta doença, em que descreveu com precisão o agente etiológico, o vetor, os reservatórios, as manifestações clínicas mais importantes e a provável extensão geográfica que poderia alcançar bem como suas repercussões sociais (DIAS, 1989) .

Estima-se que 16 a 18 milhões de pessoas estão infectados na América Latina (RASSI ET AL.,2000), sendo a Doença de Chagas (DC) a 4^a causa de maior dano entre as doenças transmissíveis na América, superada pelas infecções respiratórias, doenças diarreicas e AIDS. No Brasil estima-se que haja 6 a 8 milhões de Infectados (DIAS, 1999).

A maior importância social deve-se ao fato de que essa doença acomete principalmente populações de baixo nível socio-econômico, possui altas taxas de prevalência, morbimortalidade e incapacidade física, além de ter uma importante limitação na terapêutica específica bem como alto custo médico-hospitalar (GARZON et 1994). Atinge mais freqüentemente o homem rural, numa faixa etária produtiva (30 a 50 anos), geralmente do sexo masculino, que nestas regiões significa perda da principal fonte de renda da família, muitas vezes numerosas em média com 5 dependentes. Daí esta doença ter grande repercussão social (DIAS, 1989).

A DC é causada por um protozoário hematófago, o **Trypanosoma Cruzi**, Este parasita infecta insetos hemipteros da subfamília *triatomínae*. No nosso meio estes vetores são chamados de barbeiros, chupões ou chupanças. Ao infectar estes triatomíneos estes parasitas buscam habitar seu tubo digestivo e seu sistema urinário onde evoluem e liberam suas formas infectantes em seus dejetos.

As modificações do meio ambiente, como desmatamentos e queimadas, associadas as precárias condições sociais das populações rurais, propiciando habitações inapropriadas e deficiente estado de higiene, levaram a DC, antes uma doença exclusivamente silvestre, para o interior de habitações humanas.

A DC é transmitida a humanos através da deposição das fezes dos triatomíneos em locais de prévia sucção sangüínea. Esta forma de transmissão é a mais comum (80 a 90%), entretanto não é a única. Atualmente a hemotransfusão é a segunda maneira mais freqüente de transmissão, perfazendo 8 a 18% dos casos. Em algumas regiões do país esta é a principal forma de transmissão, como é o caso do estado de São Paulo. Outros mecanismos menos freqüentes como transplantes de órgãos de doadores infectados, acidentes em laboratório e a via congênita também podem ocasionar a transmissão. Até pela via oral a DC pode ser transmitida. No Brasil existe registro de três surtos, por esta via. (REZENDE & RASSI, 1994; WANDERLEY, 1994) .

1.2.2. Fases da Doença de Chagas

A DC tem em seu curso clínico-patológico três (3) fases, sendo uma aguda, uma intermediária ou indeterminada e outra crônica.

1.2.2.1. Fase Aguda

O envolvimento do coração na fase aguda da DC é manifesto em apenas 10 a 35% dos casos, geralmente é benigno em seu curso, com óbito em 5 a 10% dos casos, cujas principais causas são a meningoencefalite e a miocardite aguda, sendo as maiores vítimas os lactentes. O período de incubação é de quatro a quarenta dias, dependendo da forma de contaminação, com os períodos mais longos ocorrendo nos casos de hemotransfusão. Em geral tem duração de 60 a 90 dias (GOVERNO DO RGS...,1992).

Até o momento não se conhece com precisão o mecanismo de evolução de uma fase para outra, entretanto, sabe-se que a infecção generalizada que ocorre na fase aguda poderá lesar estruturas importantes que não tem a capacidade de regeneração, como a fibra nervosa, ou o sistema excitocondutor, originando posteriormente os bloqueios atrioventriculares e as alterações digestivas. No coração, em geral, as lesões são mais graves e difusas. Observa-se que o acometimento de células é superior ao número de células parasitadas, o que instiga a pensarmos, que haja um processo de hipersensibilidade imunológica.

1.2.2.2. Fase Indeterminada

Após a fase aguda geralmente ocorre uma fase intermediária, de aparente cura, entretanto persiste a infecção, Sendo esta fase assintomática e sem lesão detectável tanto no aparelho cardiovascular como no digestivo, persistindo contudo, a sororeatividade.

Esta nova fase em que a doença não é manifesta, é chamada de forma indeterminada da fase crônica da DC e caso o indivíduo não volte a infectar-se pode persistir neste quadro por toda vida em 30 a 50% dos casos. Poderá também evoluir para a fase crônica da doença, a Cardiopatia Chagásica Crônica, o que acontece na maioria das vezes, e é a sua principal causa de morte, uma vez que a forma digestiva é menos letal. (DIAS,1999)

A prevalência é variável de região endêmica para região endêmica e guarda relação com a patogenicidade da doença nas diversas áreas.

A importância social desta fase é maior por nela estar presente os que foram acometidos mais recentemente, daí ser constituída em sua maioria por jovens. Podendo pelo estigma da doença, ocasionar empecilhos a quem necessita alcançar o mercado de trabalho, principalmente em regiões endêmicas onde é rotina submeter-se a exame sorológico admissional. (OLIVEIRA, 1991) .

Estudos mais aprofundados desta fase, serão de grande valia, pois poderão estabelecer quais os indivíduos mais suscetíveis a evoluir para a forma crônica. Desta maneira, é que se conseguirá determinar medidas estratégicas que poderão prevenir a evolução nefasta para a fase crônica da doença.

1.2.2.3. Fase Crônica

É a forma mais encontrada da doença de Chagas, uma vez que por ser sintomática leva o paciente a procurar atendimento médico. A fase crônica pode seguir um destes caminhos: ter uma evolução benigna, não interferindo na sobrevivência do indivíduo; ter uma evolução progressiva resultando em grave cardiopatia congestiva; ou ainda, a evolução benigna ser cessada por fenômenos embólicos ou pela morte súbita. Daí distinguirmos as três principais síndromes que

ocorrem na Cardiopatia Chagásica Crônica: 1) Síndrome de Insuficiência Cardíaca Congestiva, 2) Síndrome Arritmica e 3) Síndrome Tromboembólica . (DIAS e col.,1978).

A Cardiopatia Chagásica Crônica incide principalmente entre os 20 e 50 anos de idade, sendo mais frequente nos homens. Em mais de 1/3 dos casos pode ter evolução benigna possibilitando uma sobrevida semelhante a da população em geral, tanto em qualidade como em quantidade. Pode ter um curso acelerado, surgindo sintomas congestivos antes dos 30 anos de vida como uma evolução lenta e progressiva manifestando-se exuberantemente apenas após a 4^a década de doença.

Estudos de anatomia patologica descreveram dois tipos de corações nos chagásicos falecidos, nesta fase. Nos que foram vítimas de insuficiência cardíaca congestiva o coração era volumoso globalmente, amolecido, com presença de grandes áreas de fibrose e de aneurismas no vórtice do ventrículo, muitas vezes com concomitante trombo parietal. Nos pacientes chagásicos porém não congestionados, que sofreram morte súbita, o coração apresentava-se de tamanho e volume normais, hipertrofia leve de suas paredes, sem grande dilatação e pobre atividade inflamatória.(ANDRADE, 1991).

A síndrome de Insuficiência Cardíaca Congestiva (ICC) divide com a morte súbita as principais causas de óbito na fase crônica. Segundo Dias(1982). a insuficiência cardíaca tem curso lento e suas principais exteriorizações surgem a partir dos 40 anos, sendo o ciclo caracterizado por descompensações iniciais geralmente reversíveis e posteriormente seu controle torna-se paulatinamente mais difícil até chegar a um período refratário ao controle medicamentoso. Embora haja um predomínio da insuficiência cardíaca direita ocorre um crescimento generalizado das câmaras cardíacas (GARZON,1994) .

1.2.3. Exames complementares na Doença de Chagas

Na fase aguda da DC ocorrem geralmente pequenas e fugazes alterações dos exames complementares, com relação a certeza diagnóstica embora a sorologia nesta fase não seja exuberante a parasitemia o é. São realizados métodos diretos para a pesquisa de tripanosomas no sangue. A sensibilidade dos métodos é variável e dependente da qualidade do microscópio e da capacidade do observador. As alterações eletrocardiográficas mais freqüentes são: taquicardia sinusal, prolongamento do intervalo PR, alterações da onda T e baixa voltagem do QRS. As alterações radiológicas só ocorrem em 30% dos casos e caracterizam-se por um padrão semelhante ao das miocardites agudas em geral, com um aumento da área cardíaca e sinais de congestão pulmonar.

Na fase intermediária da DC, por conceituação da própria fase, não existe alteração eletrocardiográfica e radiológica. Todavia, com o uso de técnicas mais sofisticadas pequenas alterações podem ser observadas, não significando comprometimento cardíaco nem implicando em pior prognóstico, geralmente importando apenas aos meios acadêmicos. A sorologia é o meio diagnóstico nesta fase.

A alteração eletrocardiográfica mais frequente na fase crônica da Doença de Chagas é o bloqueio do ramo direito (BRD) associado ao hemibloqueio anterior esquerdo (HBAE) também chamado de bloqueio divisional ântero-superior esquerdo (BDASE) e as Estrassístoles Ventriculares (ESV). O bloqueio de Ramo Esquerdo(BRE), ao contrário do encontrado em outras miocardiopatias é pouco frequente e quando presente pode indicar mau prognóstico. . O Bloqueio Átrio-

Ventricular Total (BAVT) também é bastante frequente nos chagásicos, sendo raro nos não chagásicos antes dos 70 anos. O BRD é tido também como de grande valor preditivo positivo, pois estar presente em 50% dos sororeagentes para DC o BRD é tão característico da Cardiopatia Chagásica Crônica, que somente 5,5% dos não-chagásicos apresentam este bloqueio antes dos 50 anos.(MAGUIRE, 1987). A presença de arritmias ventriculares mais complexas podem também ser detectada e quando estudadas conjuntamente com a função ventricular registrada ao ecocardiograma poderá ser de grande valia no estabelecimento do prognóstico.

O Estudo radiográfico do tórax na fase crônica apresenta-se sobre um amplo espectro, não existindo nenhuma alteração específica. Nos pacientes que não estejam em Insuficiência Cardíaca poderá observar-se uma área cardíaca normal, enquanto nos casos que esta síndrome está presente, é comum a cardiomegalia global .

O Ecodopplercardiograma é bastante útil na Cardiopatia Chagásica, vez que os recursos com este procedimento permitem avaliar detalhes das dimensões das cavidades cardíacas além de estudar a contratilidade segmentar e global e ainda investigar a presença de trombos intracavitários.

A Ergometria, a Eletrocardiografia Dinâmica (HOLTER), a Cintilografia Miocárdica, a Ressonância Magnética e o Cateterismo cardíaco trazem também contribuições importantes na Cardiopatia Chagásica, contudo por não terem feito parte da avaliação da nossa amostra populacional deixaremos de tratar no presente estudo.

O diagnóstico sorológico da doença de Chagas pode ser realizado através dos seguintes métodos: A reação de fixação do complemento (RFC) ou reação de Machado-Guerreiro; A hemaglutinação (HA); A imunofluorescência indireta (IFI) e o ensaio imuno-enzimático (ELISA) (WHO, 1991). O Ministério da Saúde determina que para estabelecimento do diagnóstico sejam realizadas duas reações

utilizando metodologias diferentes e uma delas seja o ELISA. (LUQUETTI et al., 1998).

Embora a determinação dos níveis séricos do PNB não faça parte da rotina diagnóstica da DC , em 2002 surgiu o primeiro estudo abordando a quantificação dos níveis deste peptídeo nesta enfermidade (SHERINGER-WALTER et al.) Este trabalho consistiu na quantificação dos níveis séricos de PNA e PNB em 2 grupos, sendo um composto por 21 pacientes chagásicos crônicos de classe funcional II-IV (NYHA) e o grupo controle por 19 indivíduos. A determinação dos peptídeos foi realizada através de radioensaio em kit comercialmente disponível (IRMA, Schering-Berlin). Determinaram também a atividade enzimática da neutral endopeptidase, Concluíram os autores que as concentrações sanguíneas de ambos peptídeos foram significativamente mais elevadas nos chagásicos e não houve diferença na atividade da enzima nos dois grupos.

2- JUSTIFICATIVA

Em decorrência da importância do PNB como marcador de gravidade e de mortalidade em várias doenças, principalmente em cardiopatias, justifica-se a determinação dos níveis séricos deste peptídeo na Doença de Chagas. Prováveis alterações do PNB podem estar envolvidas de acordo com as fases clínicas da doença. Esta técnica poderá fornecer subsídios para formular estratégias terapêuticas mais adequadas de acordo com o perfil bioquímico do paciente.

Justifica-se ainda o presente estudo pela escassez de trabalhos científicos na literatura internacional e no país, envolvendo o papel do PNB na Doença de Chagas. Os poucos trabalhos existentes não se utilizam da mesma metodologia de quantificação e abordam primordialmente a forma congestiva desta doença. Não há registros na literatura científica de publicações envolvendo sororeagentes para DC que não sejam portadores de comprometimento cardíaco.

Junta-se ao exposto, o fato de que a quantificação laboratorial do PNB é um exame não-invasivo, que pode ser feito à beira do leito, não envolvendo grande aparelhagem, podendo ser realizada à distância dos grandes centros.

3 – OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Determinar quantitativamente os níveis séricos de PNB em pacientes portadores de Doença de Chagas.

3.2. *Objetivos Específicos*

1) Determinar os níveis séricos de PNB em indivíduos com sorologia positiva para Doença de Chagas, que não apresentam comprometimento cardíaco.

2) Determinar os níveis séricos de PNB em pacientes com cardiopatia chagásica crônica.

3) Correlacionar os níveis séricos de PNB com o grau de comprometimento cardíaco, tamanho do coração, presença de marcapasso e a fração de ejeção.

4 - PACIENTES E MÉTODOS

4.1.Local do Estudo

O ambulatório de doença de Chagas do Hospital Universitário Oswaldo Cruz da Universidade de Pernambuco é um centro de referência para esta doença na nossa região contando em seu cadastro com mais de 1200 pacientes e funcionando nas suas dependência a Associação dos Portadores da Doença de Chagas.

Os participantes do estudo, foram oriundos deste centro, recrutados por carta a participarem do estudo e assinaram consentimento livre e esclarecido para o seu desenvolvimento.

4.2.População do Estudo

A população do estudo foi composta de 25 indivíduos divididos em 2 grupos, sendo o 1º grupo (G1) composto de 13 indivíduos provenientes do HEMOPE, onde estiveram para doar sangue. Em decorrência da constatação de serem soro-reagentes para Doença de Chagas foram encaminhados, por ordem de chegada ao

HEMOPE, ao ambulatório especializado do Hospital Oswaldo Cruz da Universidade de Pernambuco.

O 2º grupo (G2) foi composto de doze pacientes portadores da forma cardíaca crônica da Doença de Chagas, que eram acompanhados naquele ambulatório.

4.3. Definição de Casos

Grupo 1 – Indivíduos sororeagentes para doença de Chagas, que não apresentam comprometimento cardíaco, verificado através de ausência de sintomatologia clínica e nenhuma alteração sugestiva de cardiopatia ao eletrocardiograma (ECG), radiografia do tórax e ecoDopplercardiograma. Os indivíduos necessariamente apresentavam soropositividade em dois testes imunológicos para Doença de Chagas.

Grupo 2 – Indivíduos sororeagentes para doença de Chagas, que apresentam comprometimento cardíaco através da presença de sintomatologia e alteração compatível com cardiopatia chagásica ao eletrocardiograma (ECG), à radiografia do tórax e/ou ao ecoDopplercardiograma. Os participantes necessariamente apresentavam soropositividade em dois testes imunológicos para Doença de Chagas.

4.4.Critérios de Exclusão

Não foram aceitos pacientes que se encontravam nas seguintes situações:

- Portador de qualquer outra doença cardíaca.
- Portador de qualquer doença sistêmica.
- Em uso de medicação não cardiológica que pudesse alterar significativamente os níveis de PNB.
- Estados fisiológicos que pudesse modificar significativamente os níveis de PNB, tais como a gravidez.
- Ser menor de idade ou incapaz mentalmente.

4.5.Coleta das amostras sangüíneas

As amostras sangüíneas, contendo três 3 ml de sangue foram obtidas dos participantes através de venopunção braquial e coletadas pelo sistema a vácuo, Vacutainer[®] contendo EDTA e encaminhadas para determinação do PNB.

4.6. Mensuração dos níveis de PNB

Após a coleta da amostra sanguínea, foram utilizadas micro pipetas transferidoras disponíveis juntamente com o KIT do PNB, e o conteúdo destas adicionados ao Triage[®] BNP Teste Device, que é um dispositivo retangular medindo aproximadamente 1,5 cm X 8,0 cm. Em seguida, este dispositivo é introduzido no equipamento Triage[®] Meter, onde ocorrerá a reação e posteriormente a leitura. O período de processamento é de 15 minutos. Após este intervalo, o Triage[®] BNP Teste Device é expelido do equipamento e o resultado é fornecido no mostrador , havendo ainda a possibilidade da leitura ser impressa. Posteriormente, de acordo com as normas de acondicionamento de lixo hospitalar, o Triage[®] BNP Teste Device, é descartado, e o Triage[®] Meter estará pronto para processamento de uma nova amostra . Todo o processo foi realizado a temperatura ambiente.

4.7.Variáveis Estudadas

4.7.1. Idade

A idade foi medida em anos completos.

4.7.2 Sexo

4.7.3.Classe Funcional da Insuficiência Cardíaca

O estadiamento da classe funcional dos indivíduos do G2 seguiu a Classificação da NYHA, (BRAUNWALD, 1999) conforme descrita no quadro 1.

Quadro 1 – Critérios para a classificação da Insuficiência Cardíaca Congestiva segundo a NYHA

Classe funcional	Critérios Clínicos
I	Cardiopatia sem sintomas ou limitações com as atividades do cotidiano
II	Em repouso é assintomático . Atividades do cotidiano levam a fadiga, dispnéia ou palpitação
III	Em repouso é assintomático. Atividades menores que as usuais levam ao sintomas de I.C.
IV	Sintomas aos mínimos esforços ou em até em repouso

4.7.4. Uso de Medicamentos

O uso de medicamentos pelo G2 foi questionado em relação ao uso de drogas que pudessem influenciar os níveis séricos de PNB ou o diagnóstico e estadiamento do comprometimento cardíaco. Os grupos farmacológicos pesquisados foram: cardiotônicos, diuréticos em especial a espirolactona, inibidores da enzima de conversão da angiotensina, caverdilol e antiarrítmicos.

4.7.5. Presença de Marcapasso

A presença de marcapasso foi questionada na anamnese com o paciente e confirmada por busca ativa no seu prontuário. Não se coletou informações sobre o tempo decorrido do implante nem o tipo de marcapasso, em razão de não fazer parte do escopo do presente trabalho.

4.7.6. Alterações eletrocardiográficas

Os traçados eletrocardiográficos analisados foram obtidos durante a última consulta no Ambulatório de Doença de Chagas do Hospital Oswaldo Cruz. Selecionou-se de forma dirigida, as alterações mais freqüentes na Cardiopatia Chagásica Crônica com o propósito único de conhecer a sua prevalência na amostra. A interpretação eletrocardiografica foi a de uso convencional.

4.7.7. Alterações radiográficas

As alterações radiográficas pesquisadas diziam respeito as dimensões e morfologia do coração. Basearam-se na informação contida no laudo radiológico e foram classificadas quanto ao índice cardiorácico, extrapolados para uma variação de 1+ a 4+.

O índice cárdiorácico (ICT) (MAGALHÃES,1980) foi calculado de acordo com a fórmula abaixo:

$$\text{ICT} = \frac{\text{Diâmetro Cardíaco}}{\text{Diâmetro Torácico}} \times 100$$

4.7.8. Alterações ecocardiográficas

As alterações ecocardiográficas analisadas, foram aquelas descritas na literatura que pudessem estar relacionadas com a elevação dos níveis séricos de PNB ou que pudessem servir de avaliação do comprometimento cardíaco. Foram analisadas as dimensões em sístole e em diástole e calculada a fração de ejeção pela regra de Simpson (FEIGENBAUM,1988). Caso a fração estivesse diminuída, o comprometimento era classificado em leve, moderado e grave. A função diastólica foi analisada através do fluxo mitral (FEIGENBAUM,1988) e classificada em normal ou alterada. Foram pesquisadas também a contratilidade segmentar das paredes ventriculares e a presença de trombo intracavitário.

Os ecocardiogramas utilizados foram os mais recentes e quando realizados há mais de 30 dias eram repetidos.

4.8. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas

Seguindo normatização do Ministério da Saúde (LUQUETTI e col., 1998), que preconiza a confirmação do diagnóstico através de duas técnicas sorológicas de princípios metodológicos diferentes, foram utilizadas as técnicas de Hemaglutinação Indireta (HAI) e Imunofluorescência Indireta (IFI) realizadas pelo Laboratório Central de Patologia Clínica do HUOC e pelo Laboratório de Sorologia do HEMOPE.

4.9. Análise Estatística

Como as amostras estudadas apresentaram distribuição acentuadamente assimétrica os grupos foram comparados através do teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Foi usado o sistema de processamento de texto, banco de dados e estatística em epidemiologia para microcomputadores (Epi-Info) em sua versão 6.0.4

4.10. Referendação Bibliográfica

Foram adotadas as normas NBR 6023 (ABNT, 2000) para referendação bibliográfica, NBR 14724 (ABNT, 2001) para citações bibliográficas no texto e NBR 10520 (ABNT, 2001) para estruturação metodológica .

4.11. Considerações éticas

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética do HUOC-UPE, que segue as normas contidas na resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde. (BRASIL/MS,1996) . Após serem informados mais detalhadamente sobre a pesquisa, assinaram termo de consentimento livre e esclarecido.

4.12. Financiamento

A aquisição dos Kits de determinação do PNB foi financiada pela UPE.



Fig. 5 - Amostra sangüínea sendo colocada no dispositivo Triage® BNP Teste Device



Fig.6 - Triage® BNP Teste Device,



Fig. 7 - O Triage® Meter, equipamento onde ocorre a reação e a leitura, expelindo o dispositivo Triage® BNP Teste Device, que acomoda a amostra sangüínea

5 –RESULTADOS

5.1. Características da população estudada

A população foi constituída por 25 pacientes do Ambulatório de Doenças de Chagas do Hospital Universitário Oswaldo Cruz, divididos em dois grupos: o 1º (G1) constituído por 13 indivíduos com sorologia positiva para doença de Chagas e sem comprometimento cardíaco (assintomáticos e portadores de ECG,RX de tórax e Ecocardiograma normais). O 2º grupo constituído por 12 portadores de sorologia positiva para doença de Chagas e comprometimento cardíaco evidenciado por sintomatologia e alteração de ECG ou Rx de tórax ou Ecocardiograma. A tabela I mostra a distribuição com relação a idade e sexo dos dois grupos. O G2 apresentou uma média de idade maior que o G1. Obteve-se uma proporção maior de homens no G1.

TABELA I – Distribuição das características da população estudada. Recife. 2002

Característica	Grupo 1	Grupo 2	Total
IDADE			
Mínima	23	51	23
Máxima	59	78	78
Média e Desvio Padrão	42,2 (11,7)	62,7 (7,7)	52 (14,3)
SEXO			
Masculino	69,2 %	50 %	60 %
Feminino	30,8 %	50 %	40 %

2. Variáveis clínicas, eletrocardiográficas, radiográficas e ecocardiográficas

Por definição os participantes do Grupo 1 não eram portadores de cardiopatia, com sorologia positiva para Doença de Chagas, sem alteração à radiografia de tórax, ao eletrocardiograma e ao ecoDopplercardiograma. Este grupo teve ao Ecocardiograma uma média de 49,6(3,4) de Diâmetro Diastólico Final (VDF) e média de 30,8 (3,6) de Diâmetro Sistólico Final. Com relação a fração de ejeção foi observado uma média de 67,2 %(4,6) . Nenhum dos integrantes era portador de marcapasso, ou faziam uso de medicação.

No G2 foram estudadas a classe funcional segundo a classificação da NYHA, e o uso de medicamentos . Os resultados encontrados relativos a classe funcional estão descritos na tabela II.

TABELA II – Distribuição da Classe Funcional (NYHA) do G2.
Recife. 2002

Classe Funcional	Número de pacientes	%
I	1	8,3
II	6	50
III	1	8,3
IV	4	33,3

Ficou constatado que a maioria dos participantes (58,3%) pertencem a classe funcional I e II.

As medicações utilizadas foram elencadas na tabela abaixo juntamente com sua distribuição no G2.

TABELA III – Distribuição do uso de medicamentos em 12 pacientes portadores de cardiopatia chagásica crônica. Recife. 2002

Medicamentos	N*	%
Espironolactona	6	50,0
Diurético	8	66,7
Digoxina	4	33,3
IECA	11	91,7
Caverdilol	6	50,0
Amiodarona	4	33,3

* Os pacientes poderiam estar usando mais de uma medicação

Observa-se um nítido predomínio do uso de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (IECA) seguidos pelos diuréticos, principalmente a espironolactona. O caverdilol estava sendo utilizado pela metade dos pacientes, pois os demais não apresentaram boa tolerância a esta droga principalmente os de classe funcional mais avançada. A amiodarona foi o único antiarrítmico presente na amostra.

Sete pacientes, ou seja, 58,3% eram portadores de marcapasso definitivo .

As principais alterações eletrocardiográficas encontradas nos 5 pacientes que não tinham marcapasso foram o BRD, o HBAE, a ESV, e o BRE; estas alterações foram observadas isoladamente ou em associações, conforme descrito na tabela IV.

TABELA IV – Distribuição das alterações eletrocardiográficas em 5 pacientes não portadores de MP. Recife. 2002

Alterações Eletrocardiográficas	N	%
Bloqueio de Ramo Direito (BRD)	2	40
Hemi-Bloqueio Anterior Esquerdo (HBAE)	3	60
Extra-Sístole Ventricular (ESV)	2	40
Bloqueio de Ramo Esquerdo (BRE)	2	40

Os resultados da medida dos índices cardiotorácicos estão expostos na tabela VII. Foi observado que 50% dos pacientes tinham índice cardiotorácico anormais situados entre 1+ e 2++ .

TABELA V – Distribuição do Índice Cardiotorácico encontrados no G2. Recife. 2002

Índice Cardiotorácico	N	%
Normal	2	16,7
+ / 4+	3	25,0
++ / 4+	3	25,0
+++ / 4+	2	16,7
++++ / 4+	2	16,7

Dos 12 pacientes do G2, 10 tinham ecocardiograma prévio registrado em seus prontuários e destes, apenas 3 eram normais. Em contrapartida todos estes pacientes tiveram seus ecocardiograma atualizados, e destes apenas 2 eram normais. Na tabela V, são descritas as alterações encontradas .

TABELA VI – Distribuição das alterações ecocardiográficas encontradas nos ecos prévios e atuais do grupo2. Recife. 2002

Alteração Ecocardiográficas	Prévio n=10	Atual n=12
Aumento de câmaras cardíacas	7 (70 %)	10 (83,3 %)
Disfunção diastólica	4 (57,1 %)	8 (66,7 %)
Comprometimento da Função Sistólica		
Leve	-----	2 (16,7 %)
Moderado	2 (28,6 %)	1 (8,3 %)
Importante	3 (42,9 %)	4 (33,3 %)
Função sistólica normal	2 (28,6 %)	5 (41,7 %)

Na tabela VII estão representados os índices de função do ecocardiograma do grupo 2.

TABELA VII – Índices de função ventricular do grupo 2, ao ecocardiograma. Recife. 2002

Índices	Mínimo	Máximo	Média
Diâmetro Diastólico Final do VE (D.D.F.)	50mm	75mm	61,5 (8,8)
Diâmetro Sistólico Final do VE (D.S.F.)	31mm	62mm	45,2 (11,6)
Fração de Ejeção (F.E.)	24%	68%	50,9 (14,2)

Não foram encontradas na amostra alterações da contratilidade segmentar, nem tampouco presença de trombo intracavitário.

3. Associação dos níveis séricos de PNB com as diversas variáveis estudadas

A tabela VIII descreve os níveis de PNB encontrados nos dois grupos estudados. observando-se uma média de PNB mais elevada no G2. Esta diferença foi estatisticamente significativa

TABELA VIII – Valores máximos, mínimos, média e desvio padrão dos níveis séricos de PNB em pg/ml, nos dois grupos. Recife. 2002

Grupos	Mínimo	Máximo	Média e DP
G1	0,1	16,5	4,4(4,4)
G2	3,6	1.300,0	293,0(460,2)

Kruskall-Wallis $H_1=13.286$

$P < 0,001$

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis de PNB em relação ao sexo e a idade em ambos os grupos.

A tabela IX correlaciona os níveis séricos de PNB e a classe funcional segundo a classificação da NYHA.

TABELA IX – Valores de PNB e Classe Funcional. Recife. 2002

Classe Funcional	Número de pacientes	Valores de PNB		
		Mínimo	Máximo	Média
I	1	3,6	3,6	3,6
II	6	4,9	217,0	70,6
III	1	49,8	49,8	49,8
IV	4	132,0	1300,0	760,0

Kruskall-Wallis $H_3=7.763$ $P= 0,05$

Chama a tenção uma tendência crescente na média de PNB com a piora da função cardíaca.

Não se observou diferença estatisticamente significativa entre o subgrupo que portava marcapasso definitivo e os que não haviam necessitado deste dispositivo.

TABELA X – Valores de PNB e Uso do Marcapasso Recife. 2002

Marcapasso	Número de pacientes	Valores de PNB		
		Mínimo	Máximo	Média
Com Marcapasso	7	4,9	1300	217
Sem Marcapasso	5	3,6	132	49,8

Kruskall-Wallis $H_1=3.488$ $P= 0,062$

Não houve diferença estatística em relação ao uso ou não de marcapasso com os níveis do PNB.

Mesmo não sendo estatisticamente significativo se observou correlação entre os níveis de PNB e o tamanho do coração observado ao estudo radiográfico do tórax (tabela XI).

TABELA XI – Valores de PNB e Índice Cardiotorácico. Recife. 2002

Índice Cardiotorácico	Número de pacientes	Valores de PNB		
		Mínimo	Máximo	Média
Sem aumento	2	3,6	4,9	4,25
Aumento +/4+	3	10,1	217	63,2
Aumento ++/4+	3	49,8	70,5	58
Aumento +++/4+	2	132	418	275
Aumento ++++/4+	2	1190	1300	1245
Kruskall-Wallis H1=9.026		P= 0,062		

Não houve diferenças significativas entre os portadores das diversas alterações eletrocardiográficas (BRD, HBAE, ESV e BRE)e os níveis séricos de PNB.

Com relação a variável aumento de câmaras cardíacas, observou-se que 10 dos 12 integrantes do G2 apresentavam aumento de câmaras, e 2 tinham câmaras cardíacas de tamanho normal. Os pacientes com aumento de câmaras cardíacas tiveram como valores de PNB um mínimo de 3,6 pg/ml e um máximo de 1300,0 pg/ml, com uma média de 344,9 pg/ml. Enquanto que os 2 que tinham corações de tamanho normal variaram de 4,9 a 63,20 pg/ml, com uma média de 34,05, não sendo estatisticamente diferentes ($p=0,41$), em virtude do número de casos.

A função ventricular também esteve diretamente relacionada aos níveis de PNB. Observou-se uma tendência ao aumento dos níveis de PNB, com o maior comprometimento da função ventricular, todavia o achado não foi estatisticamente significativo ($p=0,06$).

Com relação a função diastólica não se observou na amostra estudada diferença nos níveis de PNB e o comprometimento desta função ($p=0,43$). A tabela XII descreve estes valores.

TABELA XII – Valores de PNB e Função ventricular do G2. Recife. 2002

Função Ventricular	Número de pacientes	Valores de PNB		
		Mínimo	Máximo	Média
Função sistólica normal	5	3,6	70,5	30,4
Comprometimento da Função sistólica	7	49,8	1300,0	480,7
Leve	2	49,8	58,0	53,9
Moderada	1	217,0	217,0	217,0
Grave	4	132,0	1300,0	760,0
Função distólica normal	4	10,1	418,0	137,1
Comprometimento da Função diastólica	8	3,6	1300,0	371,0

6 - DISCUSSÃO

Os peptídeos natriuréticos têm sido utilizados cada vez mais como marcadores de morbimortalidade nas cardiopatias. Na Doença de Chagas, prevalente em populações menos favorecidas economicamente, até hoje não há registro de observações com o Triage[®] BNP test, comercialmente disponível para determinação sangüínea do PNB. Os estudos existentes utilizaram outras técnicas de determinação, e contemplaram a forma congestiva, onde existe comprometimento cardíaco evidente. Na fase Intermediária ou Indeterminada, em que existe apenas sorologia positiva e nenhuma alteração clínica, eletrocardiográfica, radiológica, ou ecocardiográfica estão presentes, não há, ainda, investigação sobre a determinação do PNB por qualquer das técnicas.

O Triage[®] BNP Test, kit comercialmente disponível pela Biosite[®] é uma tecnologia já aprovada, pela sua eficácia e precisão em determinar os níveis séricos do PNB (MORRISON et al., 2002) (MAIR J. et al., 2001), e o seu uso foi licenciado pela FDA americana. apresenta como vantagens em relação aos demais testes existentes no mercado, o fato de ser um imunoensaio fluorescente, não tendo os inconvenientes do radioimunoensaio que necessita de pessoal especializado e de laboratório apropriado para o seu processamento. É portátil e pequeno o suficiente para ser usado a beira do leito, numa unidade de emergência ou em qualquer laboratório, A amostra sangüínea não precisa ser submetida a nenhuma técnica de processamento e basta ser colhida através de tubo contendo EDTA. Além da facilidade de manuseio, o equipamento é completamente automático. Os resultados são reproduzíveis após um período de 15 minutos.

No presente estudo os dois grupos investigados, apresentaram diferenças estatisticamente significativa nos níveis de PNB ($p < 0,01$). Os chagásicos sem comprometimento cardíaco apresentaram níveis preconizados como normais pelo método, entretanto os chagásicos com comprometimento cardíaco apresentaram níveis séricos diferentes que aumentavam de acordo com a classe funcional e com as dimensões do coração.

O grupo 2 foi constituído por 12 pacientes em graus diferentes de comprometimento cardíaco. Houveram mais pacientes portadores de classe funcional I e II, vez que 58,4% estavam situados na faixa dos pouco sintomáticos e portanto devem possuir menores índices de dilatação das câmaras cardíacas e provavelmente menores níveis de PNB. Note-se que este peptídeo tem como estímulo à sua liberação a distensão das cavidades cardíacas. Caso o estudo tivesse envolvido apenas indivíduos portadores de Cardiopatia Chagásica Crônica na forma congestiva, seriam observadas, muito provavelmente diferenças maiores entre os dois grupos. Por outro lado, o fato de serem estudados pacientes com comprometimentos cardíacos diversos e em variados estágios da doença, possibilitou inferir a importância do PNB não apenas nos quadros de Insuficiência Cardíaca, mas também no indivíduos sem sinais e/ou sintomas de disfunção ventricular.

A classe funcional, segundo a classificação da NYHA esteve diretamente relacionada com os níveis séricos do PNB, o que está de acordo, com a literatura, exceto a classe funcional III que não evidenciou valores maiores do que a II, convém entretanto ressaltar que na classe III havia apenas um indivíduo, o que representa um viés da amostra. Todavia se forem juntadas as classes III e IV constata-se que os níveis de PNB são estatisticamente diferentes dos da classe I e II.

Embora os dois grupos possuíssem médias de idade diversas, as diferenças encontradas não foram devidas a idade, vez que quando se controlou

esta através de estratificação, não foram observadas diferenças estatisticamente significativa entre estes valores (Kruskall-Wallis, $H_5=7,30$; $p=0,198$).

A análise das medicações utilizadas pelos pacientes do Grupo 2 revelou que eles estão sendo tratados segundo o esquema terapêutico mais atual para a Cardiopatia Chagásica, visto que foram mais encontrados os IECA (91,7%), os diuréticos (66,7%) em especial a espironolactona (50%) e o caverdilol (50%). A digoxina embora, não venha a ser tão indicada na cardiopatia chagásica, esteve ainda presente em 33,3 % da amostra.

O Implante de marcapasso mesmo traduzindo uma maior gravidade da doença independente da área cardíaca ou dos volumes ventriculares, não elevou significativamente os níveis de PNB. Talvez isto tenha ocorrido por conta da pequena amostra utilizada.

As alterações radiológicas presentes na Cardiopatia Chagásica Crônica descritas na literatura, predominantemente, são referentes às dimensões do coração e alterações da silhueta cardíaca, esta última associada a presença de aneurismas de parede anterior ou lateral. As dimensões do coração nesta forma da enfermidade variam desde a normalidade até a cardiomegalia global grave com ou sem hipertensão venosa pulmonar associada. (GARZON,1994) Na amostra utilizada observamos variados graus de dilatação cardíaca, entretanto alterações da silhueta cardíaca não foram detectadas.

Prata (1993), observando o eletrocardiograma de 2000 chagásicos crônicos concluiu que as alterações mais freqüentes eram: ESV, SVE, BRD, HBAE e alterações da repolarização ventricular. O BRD associado ao HBAE e a ESV são característicos desta forma da enfermidade. No presente estudo, mesmo trabalhando com uma pequena amostra (5 pacientes), foram estas as alterações mais encontradas, a exceção do HBAE isolado, mais prevalente do que o BRD na amostra.

As alterações ecocardiográficas observadas no presente estudo, tais como aumento dos diâmetros intracavitários, comprometimento da função sistólica e diastólica não diferem dos achados na literatura (MARANHÃO e col, 1999).

Alterações da contratilidade segmentar, presença de aneurisma apical ou trombo intracavitário, são elementos freqüentes nos ecocardiogramas dos chagásicos crônicos. Em estudo prospectivo realizado no ambulatório de Doença de Chagas do Hospital Oswaldo Cruz, no ano de 1996, em 58 pacientes portadores de Cardiopatia Chagásica Crônica observou-se em 22% dos casos "deficit" segmentar da contratilidade ventricular. Oliveira (1983) encontrou trombose intracavitária e/ou tromboembolismo em 44% das necrópsias realizadas em chagásicos. O fato de não se encontrar, no presente estudo, estas alterações, pode ser atribuído a pequena amostra estudada: apenas doze pacientes com comprometimento cardíaco e destes; 7 portadores de marcapasso cardíaco, condição que pode dificultar a observação destas alterações de contratilidade. Os índices de função do ecocardiograma do grupo 2, apresentando uma média de fração de ejeção de 50,9% (DP=14,2). Traduz que este grupo, em sua maioria, é formado por indivíduos com leve comprometimento da sua função sistólica do ventrículo esquerdo.

A Fração de ejeção não estava diretamente correlacionada com os níveis de PNB. Todavia embora não houvesse uma relação linear, os indivíduos com comprometimento desta função apresentou níveis aumentados de PNB. Na presente amostra também não foi possível estabelecer correlação dos níveis de PNB e a disfunção diastólica.

Considerando a relação custo/benefício não é possível preconizar o uso dessa tecnologia para os programas de saúde pública, uma vez que outras técnicas diagnósticas de menor custo permanecem úteis. Não deve ser esquecido que embora o ecoDopplercardiograma possa trazer importantes elementos na quantificação do comprometimento cardíaco, independente apenas da função sistólica, pois é capaz de avaliar a presença de deficit contractil segmentar, presença

de trombo intracavitário, existência de aneurisma apical, avaliação da função diastólica, esta técnica carece de equipamento sofisticado, dispendioso e de um operador qualificado.

É interessante observar que nos pacientes crônicos em que havia comprometimento cardíaco mesmo sem haver dilatação de câmaras cardíacas, houve diferença estatisticamente significativa dos níveis séricos de PNB, em relação aos pacientes que só possuíam sorologia positiva, fazendo crer que é possível que o PNB preste-se para avaliar a gravidade da doença de Chagas, não apenas nos indivíduos congestos mas também naqueles com forma Indeterminada da doença.

É necessário que novas pesquisas utilizando amostras populacionais maiores sejam realizadas para que seja possível avaliar com maior segurança a utilidade do PNB na estratificação dos riscos dos pacientes portadores de cardiopatia chagásica crônica, vez que esta doença apresenta variados graus de comprometimento. A determinação sérica de PNB pode auxiliar no estabelecimento da estratégia terapêutica mais adequada, como ocorre na insuficiência cardíaca em geral. A mensuração deste peptídeo nos chagásicos crônicos poderá também servir para o diagnóstico diferencial da descompensação cardíaca, vez que outras causas podem cursar com sintomatologia idêntica sem que alterem significativamente os níveis de PNB, como é o caso da Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. Intercorrências ou doenças associadas como anemias, infecções principalmente respiratórias que podem atingir o chagásico crônico poderão ter estratificadas a sua participação na descompensação cardíaca pela determinação dos níveis de PNB. É possível que a maior compreensão da fisiopatologia destes peptídeos na Doença de Chagas venha a propiciar a sua aplicação terapêutica.

7- CONCLUSÕES

Em face dos resultados obtidos e da análise estatística pertinente é possível concluir que:

- Os indivíduos sororeagentes para Doença de Chagas que não possuam comprometimento cardíaco apresentam níveis séricos de PNB dentro dos limites da normalidade.

- Os chagásicos crônicos com comprometimento cardíaco possuem níveis de PNB acima dos limites da normalidade.

- Os níveis de PNB nos chagásicos crônicos, com comprometimento cardíaco, são proporcionais ao grau deste comprometimento. O nível de PNB é proporcional portanto, a classe funcional (NYHA) do paciente, ao tamanho do coração, a presença de marcapasso e a fração de ejeção.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Andrade Z.A. Pathogenesis of Chagas disease. **Res Immunol** 142:126, 1991

Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Informação e documentação – apresentação de citações em documentos**: NBR – 10520. Rio de Janeiro, Jul. 2001.

Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Informação e documentação – Trabalhos acadêmicos - apresentação**: NBR – 14724. Rio de Janeiro, Jul. 2001.

Associação Brasileira de Normas Técnicas. **Referências bibliográficas**: NBR – 6023. Rio de Janeiro, Ago. 2000, 19p.

Baughman KL B-type natriuretic peptide – a window to the heart. **N Engl J Med**. 2002, 347 (3):158-9.

Bettencourt P. Brains natriuretic peptide (nesiritide) in the treatment of heart failure. **Cardiovasc Drug Rev**. 2002, 20 (1):27-36.

Blackburn RE, Samson WK, Fulton RJ, Stricker EM, Verbalis JG. Central oxytocin and ANP receptors mediate osmotic inhibition of salt appetite in rats. **Am J Physiol** 1995;269:R245-R251.

Braunwald, E. **Tratado de Medicina Cardiovascular**. 5ª edição. São Paulo,SP. Ed. Roca,1999.;pg 481.

Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Normas de pesquisa envolvendo seres humanos – Res. 196/96. **Bioética**, v.4, p.15-25, 1996. Suplemento.

Brenner, B.M. ; Ballermann, B.Y. ; Gunning, M.E. et al. - Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. **Physiol Rev** ,70:665,1990.

Burrell LM, Lambert HJ, Baylis PH. Effect of atrial natriuretic peptide on thirst and arginine vasopressin release in humans. **Am J Physiol** 1991;260:R475-R479.

Choy AM, Darbar D; Lang CC, Pringle TH, McNeill GP, Kennedy NS, Struthers, AD. Detection of left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: comparison of clinical, echocardiographic and neurohormonal methods. **Br Heart J**. 1994, 72 (1):16-22.

Cho Y, Somer BG, Amatya A. Natriuretic peptides and their therapeutic potential. **Heart Dis** 1999 Nov-Dec 1(5): 305-28

Colucci WS, Elkayam U, Horton DP, Abraham WT, Bourge RC et al. Intravenous nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. **N Engl J Med**. 2000. 343 (4):246-53.

Currie, M.G.;Geller, D.M., et al. - Bioactive cardiac substances: Potent vasorelaxant activity in mammalian atria. **Science**, 231:71-73, 1983.

de Bold AJ, Borenstein HB, Veress AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. **Life Sci** 1981;28:89-94.

Dias, J.C.P., *Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. Estudo Clínico Epidemiológico a partir da fase aguda entre 1940 - 1982.* (Tese). Belo Horizonte, Minas Gerais: Faculdade de Medicina da UFMG, 1982.]

Dias, J.C.P., *Doença de Chagas – Clínica e Terapêutica* **Publicação da F.N.S.** Fundação Nacional de Saúde.1989

Dias J.C. P. *Aspectos cardiológicos da doença de Chagas no Brasil.* Informativo do LIII congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia – set 14-20,1997 in **Cardiologia para o Clínico Geral** Celso Ferreira e Rui Póvoa – São Paulo: Editora Atheneu, 1999.

Dias,J.C.P., Cançado, J.R.& Chiari, C.A. – *Doença de Chagas*, in Neves, J. **Diagnóstico e Tratamento das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Ed. Guanabara Koogan(Rio de Janeiro), cap.54, 1978.

Feigenbaum, H. **Ecocardiografia**. 4ª ed. Ed. Roca, São Paulo, Cap.3,1988.

Furuya M, Aisaka K, Miyazaki T, et al. C-type natriuretic peptide inhibits intimal thickening after vascular injury. **Biochem Biophys Res Commun** 1993;193:248-253.

Garzon S, Lorga. A . *Doença de Chagas*. In: SOCESP – **Cardiologia Atualização e Reciclagem**. São Paulo, Atheneu 2:396-410, 1994.

Governo do RGS . Estatísticas de Saúde – **Mortalidade**. Secretaria da Saúde e Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul 18:1-160, 1992.

Greenwald JE, Sakata M, Michener ML, Sides SD, Needleman P. Is atriopeptin a physiological or pathophysiological substance? Studies in the autoimmune rat. **J Clin Invest** 1988;81:1036-1041.

Hama N, Itah H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. **Circulation**. 1995, 92:1558-64

Henry JP, Pearce JW. The possible role of cardiac stretch receptors in the induction of changes in urine flow. **J Physiol**. 1956, 131:572-94.

Heringer-Walter S, Silva J, Becker S, Moreira MC, Walther T. Natriuretic peptides and neutral endopeptidase in Chagas disease. *Eur J of Heart Failure, Supplements* 2002 vol.1(1) pag.23.

Higushi Y, Egashira K, Satoh S, Beneficial effects of a neutral endopeptidase inhibitor on exercise-induced myocardial ischemia in patients with stable effort angina pectoria. **Circulation**. 1996, 94:729.

Huang W, Lee D, Yang Z, Copolov DL, Lim AT. Norepinephrine stimulates immunoreactive (ir) atrial natriuretic peptide (ANP) secretion and pro-ANP mRNA expression from rat hypothalamic neurons in culture: effect of α 2-adrenoceptors. **Endocrinology** 1992;130:2426-8.

Hunt PJ, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM, Yandle TG. Differing biological effects of equimolar atrial and brain natriuretic peptide infusions in normal man. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:3871-3876.

Igaki T, Itoh H, Suga S, et al. C-type natriuretic peptide in chronic renal failure and its action in humans. **Kidney Int** 1996;49:S144-S147.

Itoh H, Pratt RE, Dzau VJ. Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. **J Clin Invest** 1990;86:1690-1697.

Kangawa K, Matsuo H. Purification and complete amino acid sequence of α -human atrial natriuretic polypeptide (α -hANP). **Biochem Biophys Res Commun** 1984;118:131-139.

Kish B. Electron microscopy of the atrium of the heart. **Exp Med Surg**. 1956, 14:99-112.

Koglin J, Pehlivanli S, Schwaiblmair M et al. Role of brain natriuretic peptide in risk stratification of patients with congestive heart failure. **J Am Coll Cardiol**. 2001, 38:1934-41.

Koller KJ, Goeddel DV. Molecular biology of the natriuretic peptides and their receptors. **Circulation** 1992;86:1081-1088

Lappe RW, Smits JF, Todt JA, Debets JJ, Wendt RL. Failure of atriopeptin II to cause arterial vasodilation in the conscious rat. **Circ Res** 1985;56:606-612.

Levin, ER, Gardner, DG, Samson, WK. Natriuretic peptides. **N. Engl J Med**. 1998, 339 (5):321-8.

Levin ER, Hu R-M, Rossi M, Pickart M. Arginine vasopressin stimulates atrial natriuretic peptide gene expression and secretion from rat diencephalic neurons. **Endocrinology** 1992;131:1417-1423

Luquetti, A; Moreira, E.F.; Gadelha, M.F.S.;Gomes, Y.M.;Ribinik, M.L.R.; Marteleto, M.A. Doença de Chagas-triagem e diagnóstico em unidades hemoterápicas e laboratórios de saúde pública. Brasília, **Ministério da Saúde, Coordenação Nacional de Doença Sexualmente Transmissíveis e AIDS**, 1998. 76p.

Mair, J. Hammerer-Lercher. A, Puschendorf B. The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure. **Clin. Chem Lab Med**. 2001;39:571-88

Maisel AS, Koon J, Krishnaswamy P, et al. Utility of B-natriuretic peptide as a rapid, point-of-care test for screening patients undergoing echocardiography to determine left ventricular dysfunction. **Am Heart J** 2001;141:367-374.

Maisel AS, Krishnaswamy P, Nowak, RM, et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. **N Engl J Med** 2002;347:161-167.

Magalhães, HP. **Princípios de radiologia do coração e dos vasos da base**. Ed.Sarvier, 1980, Cap.9

Maguire JH, Hoff R et al. Cardiac morbidity and mortality due to Chagas disease:prospective electrocardiographic study of brazilian community. **Circulation** 75:1.140-1.145, 1987.

Maranhão EA, Correia CB, Silva RCB Cardiopatia Chagásica, cap 56, 845-865 in **Cardiologia Princípios e Prática**. Castro, I. Ed. Artmed, Porto Alegre, 1999

Morrison L.K., Harrison A, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Maisel AS. Utility of a rapid B-natriuretic peptide assay in differentiating congestive heart failure from lung disease in patients presenting with dyspnea. **J. Am Coll Cardiol** 2002;39:202-9

Ogawa K, Oida A, Sugimara H, Kaneko N, Nogi N, Hasumi M, Numao T, Nagao I, Mori S. Clinical significance of blood brain natriuretic peptide level measurement in the detection of heart disease in untreated outpatients: comparison of electrocardiography, chest radiography and echocardiography. **Circ J**. 2002, 66 (2):122-6.

Oliveira Jr.,W. Forma Indeterminada da doença de Chagas. Implicações médico-trabalhistas. **Arq. Bras. Cardiol**. V.54, n.2, p.89-91,1991.

Prata SP et al. Prevalência de alterações eletrocardiográficas em 2000 pacientes chagásicos idosos e não idosos. **Arq. Bras Cardiol** 60:369-72, 1993.

Rassi A Jr, Rassi A, Little W.C. *Chagas' heart disease*. **Clin Cardiol** 2000 Dec;23(12):883-9,

Rezende,J.M.; Rassi,A. Doença de Chagas. In: CASTRO, L.P.;REZENDE,J.M. **Protozooses Humanas**, São Paulo, Fundo Editorial BIK, 1994.pg 38-72.

Samson WK. Recent advances in ANF research. **Trends Endocrinol Metab** 1992;3:86-90.

Stein BC, Levin RL. Natriuretic peptides: physiology, therapeutic potential and risk stratification in ischemic heart disease. **AHJ**. 1998, 135 (5, Part I):914-23.

Stevens TL, Burnett JC Jr, Kinoshita M, Matsuda Y, Redfield MM. A functional role for endogenous atrial natriuretic peptide in a canine model of early left ventricular dysfunction. **J Clin Invest** 1995;95:1101-8.

Stockand JD, Sansom SC. Regulation of filtration rate by glomerular mesangial cells in health and diabetic renal disease. **Am J Kidney Dis** 1997;29:971-981

Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. A new natriuretic peptide in human brain. **Nature**. 1988, 332:78-81.

Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide(CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. **Biochem Biophys Res Commun**. 1990, 1968 (2): 863-70

Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Hisanaga T, Maeda Y, Fukai D, Osnishi M, Sugimoto Y, Kinoshita M. Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure. **Circulation**. 1997, 96:509-16.

Wanderley, D.M.V. Epidemiologia da doença de Chagas. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, v.4,p.77-84,1994.

Wijeyaratne CN, Moulton PJA. The effect of α -human atrial natriuretic peptide on plasma volume and vascular permeability in normotensive subjects. **J Clin Endocrinol Metab** 1993;76:343-346

WHO. Control of Chaga`s disease: Report of a WHO expert committee. Geneva,1991. P.38-42

Yang RH, Jin HK, Wyss JM, Chen YF, Oparil S. Pressor effect of blocking atrial natriuretic peptide in nucleus tractus solitarii. **Hypertension** 1992;19:198-205.

ANEXOS

CONSENTIMENTO ESCLARECIDO

Eu, _____

abaixo assinado, estou de acordo em participar da pesquisa intitulada “DETERMINAÇÃO DO PEPTÍDEO NATRIURÉTICO CEREBRAL EM PORTADORES DA DOENÇA DE CHAGAS”. Declaro ainda que fui esclarecido sobre os seguintes aspectos:

1. Será necessário realizar coleta de vinte (20) mililitros de sangue através de venopunção radial (retirada de sangue da veia do braço). Procedimento de pequeno risco e que será realizado com material esterilizado e descartável (usado um para cada participante).
2. Deverei submeter-me a exame de Ecocardiograma.
3. Será assegurada a confidencialidade dos dados.
4. Caso seja detectada alguma alteração clinicamente relevante, os participantes serão comunicados e devidamente orientados.
5. Esta pesquisa, ao atingir seus objetivos, me beneficiará uma vez que, os médicos conhecerão mais sobre o meu estado de saúde, além de contribuir para o maior conhecimento científico a respeito da doença de Chagas a qual sou portador.
6. Caso não deseje participar dessa pesquisa, a minha decisão não implicará em nenhum prejuízo para mim, e continuarei a ser atendido da mesma forma como sempre fui no Ambulatório de Doença de Chagas do Hospital Universitário Oswaldo Cruz.

Pelo presente consinto em participar.

Recife, de de 2002

Assinatura do participante