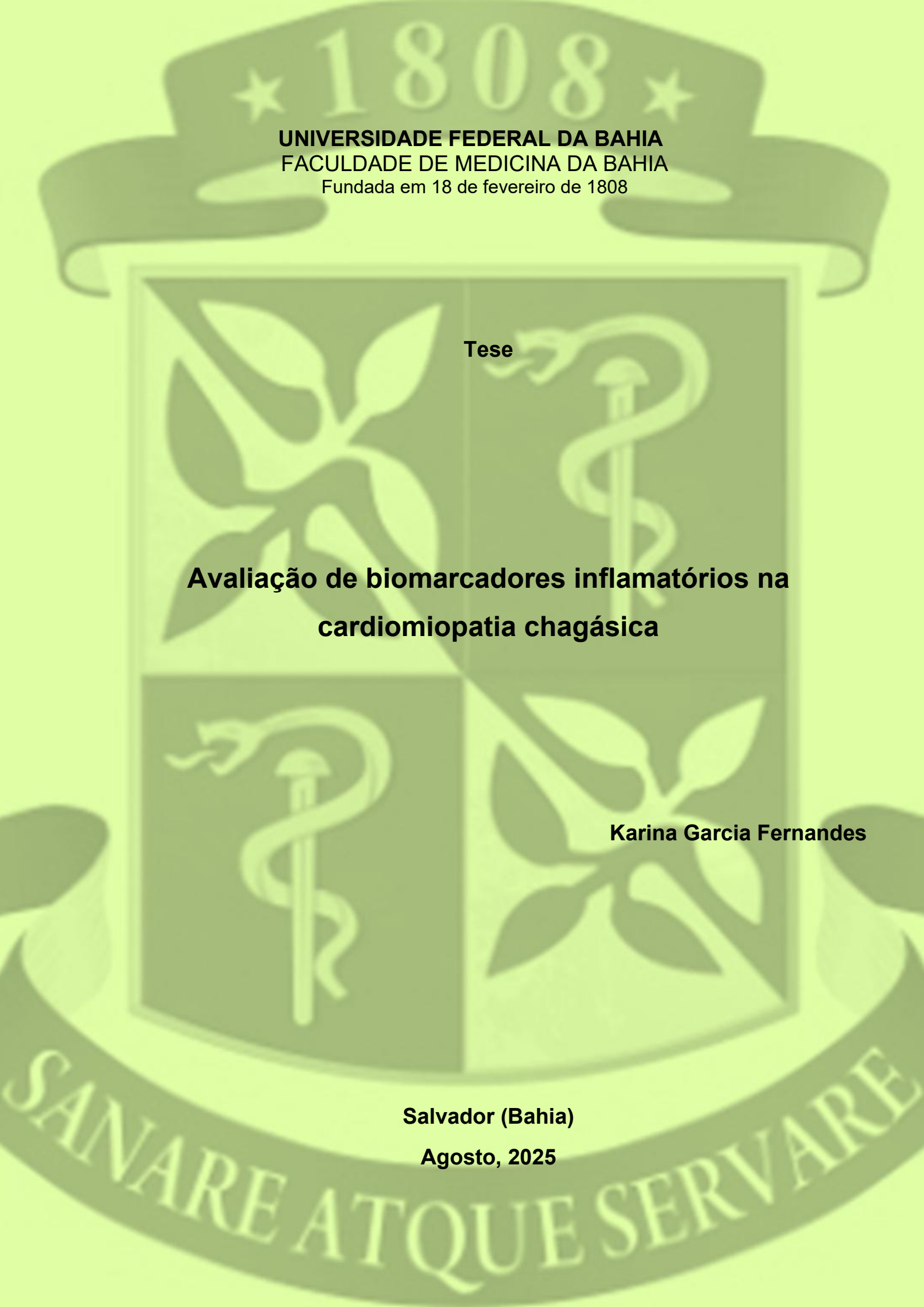




UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
FACULDADE DE MEDICINA DA BAHIA
Fundada em 18 de fevereiro de 1808

Tese

**Avaliação de biomarcadores inflamatórios na
cardiomiopatia chagásica**

Karina Garcia Fernandes

Salvador (Bahia)

Agosto, 2025

FICHA CATALOGRÁFICA

Elaborada pela bibliotecária **SÔNIA ABREU**, da Bibliotheca Gonçalo Moniz: Memória da Saúde Brasileira / SIBI-UFBA / FMB-UFBA.

K18 Fernandes, Karina Garcia

Avaliação de biomarcadores inflamatórios na cardiomiopatia chagásica / Karina Garcia Fernandes. Salvador: KG, Fernandes, 2025.

xxiii, 134p. il.

Tese, como exigência parcial e obrigatória para conclusão do Curso Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (UFBA).

Professor orientador: Prof. Dr. Jamary Oliveira Filho

1. Doença de Chagas; 2. Mediadores de inflamação; 3. Biomarcadores; 4. Isquemia cerebral; 5. Cardiomiopatia. I. Oliveira Filho, Jamary; II. Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Medicina da Bahia; III. Título.

CDU: 616.1/.8/.9

Karina Garcia Fernandes

Avaliação de biomarcadores inflamatórios na cardiomiopatia chagásica

Tese apresentada para conclusão do Curso de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (UFBA), para obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Avaliada em: __/__/____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Jamary Oliveira Filho (Orientador)

Departamento de Biomorfologia, Instituto de Ciências da Saúde / UFBA

Profa. Dra. Luciana Mattos Barros Oliveira, (Titular Interno)

Departamento de Bio-Regulação, Instituto de Ciências da Saúde / UFBA

Prof. Dr. Pedro Antônio Pereira de Jesus (Titular Interno)

Departamento de Biomorfologia, Instituto de Ciências da Saúde / UFBA

Prof. Dr. Bruno Solano de Freitas Souza (Titular Externo)

Departamento de Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa, Instituto Gonçalo Moniz

Prof. Dr. Vinicius Viana Abreu Montanaro (Titular Externo)

Rede SARAHE de Hospitais de Reabilitação Brasília

Prof. Dr. Paulo Novis Rocha, (Suplente Interno)

Departamento de Medicina Interna e Apoio Diagnóstico, FMB / UFBA

CÓPIA REPROGRÁFICA DO ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO EM REVISTA INDEXADA

Am. J. Trop. Med. Hyg., 105(3), 2021, pp. 638–642
doi:10.4269/ajtmh.20-0401
Copyright © 2021 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Is Increased in Chagasic Cardiomyopathy

Karina Oliveira Garcia,^{1,2} Thiago Cerqueira Silva,^{1,2} Maria C. Pereira Nunes,⁴ Iuri Ferreira Felix,² Murilo Araujo Oliveira,² Maria E. Lisboa Marques,² Leila S. Brito Santos,² Paulo R. S. Peixoto Sousa,² Pedro J. Ramiro Muíños,² Renata Martins Maia,² Marília Bazzo Catto,² Pedro A. Pereira Jesus,² Lucas C. Barbosa e Silva,⁴ Antonio L. Pinho Ribeiro,⁴ Roque Aras,³ Giovanna Ladeia Rocha,² Karen L. Furie,⁵ and Jamary Oliveira-Filho^{1,2*}

¹Postgraduate Program in Health Sciences, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ²Neurocardiology Research Group, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ³Cardiology Service, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil; ⁴Cardiology Service, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil; ⁵Neurology Service, Brown University, Providence, Rhode Island

Abstract. Chagas disease (CD) mainly conveys stroke risk through structural cardiac disease. However, stroke and cognitive impairment are seen in CD independently of cardiac disease severity. Chronic inflammation may be an explanation for this association, because inflammation plays an important role in the pathogenesis of acute ischemic stroke and dementia. In the present study, we selected five candidate biomarkers for Chagas disease: interleukin-6, membrane metalloproteinase-9, tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP1), orosomucoid, and neprilysin. We sought to determine if mean levels of proinflammatory biomarkers are higher in patients with heart failure (HF) associated with Chagas disease when compared with other etiologies of HF. Patients were consecutively enrolled from subspecialty HF outpatient clinics at two university-based hospitals. Serum biomarker levels from blood samples were analyzed by ELISA. Severity of HF on echocardiography was worse in non-CD when compared with CD patients. No significant difference was observed in the levels of candidate biomarkers between the CD and non-CD groups. We found a significantly 2.2 ng/mL higher level of TIMP1 in CD when compared with non-CD patients with HF after adjustment for age and gender (95% confidence interval = 0.1 to 4.5, $P = 0.037$). In patients with heart failure, serum TIMP1 is increased in Chagas patients despite a lower myocardial disease severity on echocardiography when compared with non-Chagas patients. TIMP1 is probably one of multiple mediators of inflammatory injury.

BACKGROUND

Chagas disease (CD) is one of the major causes of stroke in Latin America, with an estimated six million infected individuals, accounting for approximately 50,000 deaths/year.¹ *Trypanosoma cruzi* infection is related to poverty and lack of industrialization. Although there is treatment for acute chagasic infection, the malady commonly goes unnoticed, and most patients do not seek medical attention. After the acute phase, 10–30% of patients will progress to symptomatic chronic chagasic disease, of which 30–40% will have chagasic cardiomyopathy. Currently there is no effective antiparasitic therapy for chronic CD.¹

Chagas disease conveys stroke risk through structural cardiac disease, mostly characterized by cardiomyopathy with left ventricular aneurysm and thrombus; and electrical conduction defects. Chagasic cardiac disease often leads to heart failure (HF), bundle branch blocks, complex and fatal arrhythmias, and cardioembolism.² However, patients with CD and without cardiomyopathy are also at increased risk for stroke and cognitive impairment, but the exact mechanism underlying this scenario is still under investigation.³

Chronic inflammation could be one potential explanation for the increased risk of stroke and cognitive impairment. Inflammation plays an important role in the pathogenesis of acute ischemic stroke and dementia.⁴ Similarly, chronic inflammatory states can promote atherothrombosis through endothelial dysfunction leading to hemostatic activation.⁵ Chronic infections, such as *Chlamydia pneumoniae* infection, promote arterial thrombosis in situ and thromboembolism, both in the

coronary and carotid arteries.^{6,7} Furthermore, chronic inflammation has been associated with brain atrophy.⁸

In a pilot study of our group (Camargo ECS and others, unpublished data), we studied gene expression profiles using RNA microarray analysis in 42 patients with or without CD. Overall, 28 genes were overexpressed in CD patients. We selected four of the most highly expressed genes within the inflammatory pathway [interleukin-6 (IL6), matrix metalloproteinase-9 (MMP9), orosomucoid, and neprilysin] to design the present study, which is registered online under www.clinicaltrials.gov (NCT01650792). We additionally studied tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP1) because of its relevance in the MMP9 pathway.

We hypothesized that CD causes an exaggerated immune response as compared with traditional vascular risk factors, which would be evident in the levels of serum biomarkers. Thus, we sought to determine if mean levels of proinflammatory biomarkers are higher in patients with HF associated with Chagas disease compared with other etiologies of HF.

MATERIALS AND METHODS

Study population and data collection. Patients in the present study were consecutively enrolled from subspecialty cardiomyopathy outpatient clinics at two university-based hospitals (Federal University of Bahia and Federal University of Minas Gerais, both in Brazil). Heart failure (HF) patients without CD were also enrolled from the same sites as study controls. Main inclusion criterion was a diagnosis of heart failure, defined from Framingham clinical criteria composed of signs (progressive lower extremity edema and hepatomegaly not attributable to other systemic diseases) and symptoms (exercise-induced dyspnea and paroxysmal nocturnal dyspnea).⁸

To avoid other causes of increased inflammatory biomarkers in this population, patients were excluded if they presented a history of untreated malignancy, renal dialysis, or

*Address correspondence to Jamary Oliveira-Filho, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia, Largo do Terreiro de Jesus s/n, Centro Histórico, Salvador, Bahia, Brazil, 40026-010. E-mail: jamaryof@ufba.br

end-stage hepatic dysfunction; recent (within 6 months) history of myocardial infarction, deep venous thromboembolism, or pulmonary embolism. A history of stroke was excluded using the Questionnaire for Verifying Stroke-Free Status.⁹

At study enrollment, subjects underwent standardized evaluations, including collection of demographic data, past medical history and medication use, social history, and socio-economic status evaluation. Patients also underwent transthoracic echocardiogram to search for morphologic parameters of HF.

Serum analyses. Blood samples of candidate patients were collected in an ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tube and processed for separation of serum, which was immediately frozen at -20°C . Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) were performed for pro-inflammatory candidate biomarkers (MMP9, TIMP1, neprilysin, orosomucoid, and IL-6) according to datasheet protocols (Quantikine ELISA; R&D Systems, Minneapolis, MN). Chagas cardiopathy was considered present with a positive ELISA serologic test (Wiener Laboratory, Sao Paulo, Brazil). All tests were performed in a central laboratory.

Statistical analyses. The collected data were processed using the Statistical Program for Social Sciences (SPSS), version 21.0. For descriptive statistics we used absolute frequencies and proportions for categorical variables, and median and interquartile range or mean and standard deviation for continuous variables, depending on their distribution. Comparison between groups was performed using a Mann-Whitney *U* test or Student's *t* test for continuous variables and Fisher's Exact Test for categorical variables. Correlation between serum biomarkers and clinical severity variables was performed using Spearman's rank test. As an exploratory analysis, we also compared clinical severity variables between patients with high and low levels of each biomarker, stratified by Chagas disease status, defining high levels as above or equal to specific median values of each biomarker and low as below the median value. For multivariable analysis we

used linear regression with each biomarker as the dependent variable; and Chagas disease, age and gender as independent variables. An alpha level below 5% was considered significant, and no correction for multiple testing was performed.

Ethical considerations. All subjects underwent informed consent, and study procedures were approved by each center's research ethics committee and Brazil's National Research Committee.

RESULTS

Demographic and clinical characteristics. We recruited 173 patients, mean age $55 (\pm 12)$ years, 84 (49%) male (Table 1). Chagas disease was the etiology of HF in 94 (54%) patients. Most frequent non-Chagas etiologies for HF were hypertensive in 28 (7%), followed by idiopathic dilated or hypertrophic in 12 (7%), ischemic in 11 (6%), and other etiologies (e.g., peripartum, viral, rheumatic fever) in 28 (16%). When comparing Chagas and non-Chagas groups, Chagas patients were more frequently female but had similar age and distribution of cerebrovascular risk factors.

Echocardiographic characteristics showed more severe cardiomyopathy in non-Chagas patients. Mean left ventricle ejection fraction (LVEF) was lower, while the left atrium and ventricle were more severely dilated in non-Chagas patients compared with Chagas patients.

Serum biomarkers. Table 1 shows median and interquartile ranges of biomarker measurements. When considering serum biomarker concentration, no significant difference was observed in the levels of candidate biomarkers (MMP9, TIMP1, neprilysin, orosomucoid, and IL6) between the non-chagasic and chagasic groups.

When considering the presence of an association between CD and each age- and gender-corrected serum biomarker, no effect was observed for any of the candidate biomarkers, except for TIMP1, which showed significant association

TABLE 1
Clinical characteristics and serum biomarkers of Chagas and non-Chagas patients with heart failure

	All patients (n = 173)	Non-Chagas (n = 79)	Chagas (n = 94)	P value
Demographic data				
Male gender, n (%)	84 (49)	46 (58)	38 (41)	0.032*
Age in years, mean (SD)	55 (12)	55 (14)	56 (10)	0.680†
Risk factors, n (%)				
Coronary artery disease	37/160 (23)	17/73 (23)	20/87 (23)	1.000*
Diabetes mellitus	26/161 (16)	10/73 (14)	16/88 (18)	0.521*
Hypertension	113/161 (70)	51/73 (70)	62/88 (71)	1.000*
Medications, n (%)				
Antiplatelet agents	51/162 (32)	25/73 (34)	26/89 (29)	0.502*
Statins	47/161 (29)	21/73 (29)	26/88 (30)	1.000*
Echocardiographic findings, mean (SD)				
LV ejection fraction in %	46.5 (18.4)	38.2 (15.3)	53.3 (18.0)	< 0.001‡
LV systolic diameter in mm	46.2 (14.9)	52.8 (14.1)	40.5 (13.4)	< 0.001‡
LV diastolic diameter in mm	60.6 (13.7)	65.7 (13.7)	56.2 (12.2)	< 0.001‡
LA diameter in mm	42.4 (7.4)	44.7 (6.2)	40.3 (7.9)	< 0.001‡
Serum biomarkers, median (interquartile range)				
MMP9 in ng/mL	n = 168	0.85 (0.28–1.48)	0.93 (0.29–1.94)	0.225‡
TIMP1 in ng/mL	n = 167	2.55 (0.78–2.77)	1.66 (0.77–2.76)	0.088‡
TIMP1/MMP9 ratio	n = 167	1.10 (0.55–2.05)	1.18 (0.68–2.01)	0.872
Neprilysin in pg/mL	n = 111	78 (63–273)	105 (64–275)	0.936‡
Orosomucoid in ng/mL	n = 165	2.66 (1.73–2.92)	1.75 (1.56–7.16)	0.330‡
IL6 in pg/mL	n = 171	1.56 (1.56–2.01)	1.56 (1.56–2.24)	0.727‡

IL6 = interleukin-6; LV = left ventricle; MMP9 = matrix metalloproteinase-9; TIMP1 = tissue inhibitor of metalloproteinase-1. Statistical tests: * Pearson's χ^2 ; † Student's *t* test; ‡ Mann-Whitney *U* test.

TABLE 2

Multivariable linear regression testing the association between Chagas disease and each serum biomarker, adjusted for age and gender

Biomarker	Effect (95% CI)	P value
MMP9	−462 (−1,140 to 216)	0.180
TIMP1	2.2 (0.1 to 4.5)	0.037
Neprilysin	−26,614 (−70,554 to 17,325)	0.232
Orosomucoid	21,112 (−5,112 to 889)	0.166
IL6	161 (−146 to 467)	0.303

IL6 = interleukin-6; MMP9 = matrix metalloproteinase-9; TIMP1 = tissue inhibitor of metalloproteinase-1.

between CD and higher serum levels of TIMP1 ($P = 0.037$) (Table 2 and Figure 1).

Supplemental Tables 1–6 show clinical characteristics of patients with high or low values of each biomarker, stratified according to Chagas status. Low MMP9, orosomucoid, and neprilysin levels were associated with worse cardiomyopathy severity (lower LVEF and more dilated LV) only in Chagas patients, while low TIMP1 levels were associated with worse cardiomyopathy severity in both Chagas and non-Chagas patients ($P < 0.05$ for all comparisons). Overall, a significant

correlation was observed between LVEF and TIMP1 levels ($r_s = 0.32$, $P = 0.002$), as well as orosomucoid ($r_s = 0.21$, $P = 0.039$) and IL-6 ($r_s = 0.25$, $P = 0.013$). No significant correlation was observed between LVEF and the other biomarkers or MMP9/TIMP1 ratio.

DISCUSSION

In the present study, we used data from a pilot gene expression profile study to select five candidate biomarkers for Chagas disease and found significantly higher levels of TIMP1 in CD when compared with non-CD patients with HF after adjustment for age and gender. In patients with heart failure, serum TIMP1 are increased when compared with healthy controls¹⁰ and correlate with severity of fibrosis found in a heart biopsy.^{11,12} In experimental models, the relationship between TIMP1 and myocardial fibrosis seems to occur independently of MMP inhibition, possibly through the integrin-B1 pathway.¹³ Myocardial fibrosis is one of the hallmarks of CD and may be the only finding in patients with embolic stroke of undetermined source.¹⁴ Thus, it is plausible to expect that TIMP1 should be increased in CD, as shown in the present study, potentially showing a role in disease severity.

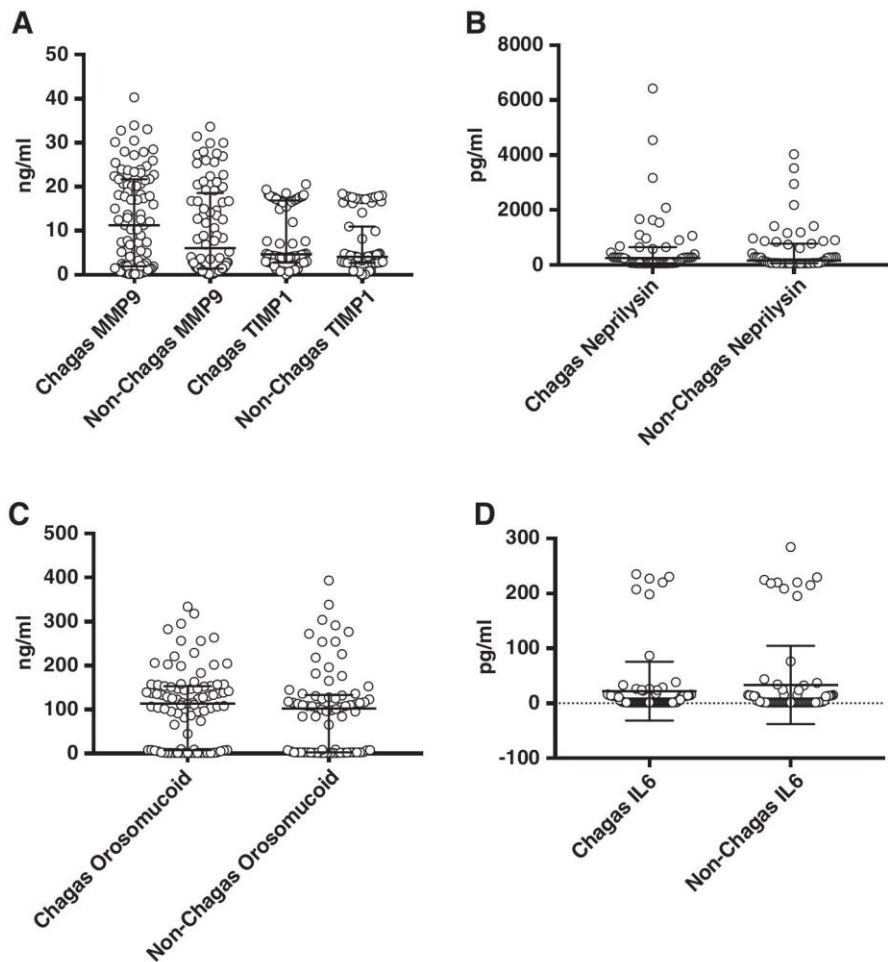


FIGURE 1. Serum biomarker levels in patients with heart failure (Chagas and non-Chagas etiologies). Dots represent individual biomarker levels, while horizontal black lines represent the 25th, 50th, and 75th percentiles. (A) Matrix metalloproteinase-9 (MMP9) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP1). (B) Neprilysin. (C) Orosomucoid. (D) Interleukin-6 (IL6). The only significant association was between Chagas disease and higher TIMP1 levels ($P = 0.037$); see Table 2.

Interestingly, in the present study, TIMP1 was increased in Chagas patients despite a lower myocardial disease severity on echocardiography when compared with non-Chagas patients, and higher TIMP1 levels correlated with higher LVEF.

Curiously, worse clinical severity of chagasic cardiomyopathy was associated with lower levels of inflammatory biomarkers MMP9, TIMP1, orosomucoid, and neprilysin; and only lower TIMP1 in non-chagasic cardiomyopathy. These results were unexpected because increased levels of these same biomarkers have been associated with worse prognosis in heart failure patients.^{15–18} Although these results should be interpreted cautiously and considered exploratory, they imply a different set of prognostic biomarkers in chagasic heart failure when compared with other etiologies.

Several important clinical outcomes are unexplained by structural cardiac disease severity. Stroke and cognitive impairment are both associated with CD independently of cardiac disease.^{3,19–22} Brain atrophy in CD has also been demonstrated in pathological case series²³ and in one study using brain computed tomography.²⁴ A causal link may therefore be missing between cardiac disease and these clinical outcomes in a significant proportion of CD patients, a link that may be filled by systemic inflammation and/or activation of neurodegenerative pathways. However, these neurological clinical outcomes were not evaluated in the present study and should be further investigated. In the present study, TIMP1 is probably one of multiple mediators of inflammatory injury.

Our patient population was composed of academic centers and may therefore suffer from selection bias of hospital-based cohorts. However, clinical characteristics such as age, gender, and severity of heart failure were like population-based cohorts^{19,20} and hospital-based cohorts.^{3,25,26} Echocardiographic characteristics were also similar.²⁶ These similarities suggest that our findings are generalizable to other populations caring for patients with CD. We did not include a comparison group without cardiac disease, so our results are restricted to patients with heart failure.

Despite a significant association found in our pilot study, we could not confirm an association between Chagas disease and the other serum biomarkers (MMP9, IL6, neprilysin, and orosomucoid). Recently, one study evaluated MMP and TIMP in 28 Chagas patients (asymptomatic or with HF) at two time points over 6 years. They found increased levels of MMP-2 in early HF stages and MMP-9 in late HF stages, while TIMP1 decreased over time in HF patients. Another group found increased levels of TNF-alpha, interferon-gamma, interleukin-6, and TGF-beta in HF and increased levels of IL10 in indeterminate form in patients with Chagas disease. However, all these studies compared clinical forms within Chagas disease with normal controls, while we compared Chagas HF with other etiologies for HF.

CONCLUSION

Our study found that an inflammatory and fibrosis-related serum biomarker, TIMP1, is increased in Chagas when compared with non-Chagas HF patients. Other inflammatory biomarkers (IL6, MMP-9, neprilysin, and orosomucoid) were not differentially present between both groups. Whether TIMP1 mediates the association between Chagas and cognitive impairment or stroke should be investigated in future studies.

Received May 1, 2020. Accepted for publication March 25, 2021.

Published online July 19, 2021.

Note: Supplemental tables appear at www.ajtmh.org.

Financial support: This study was supported by NIH grant RO1NS064905.

Authors' addresses: Karina Oliveira Garcia, Thiago Cerqueira Silva, and Jamary Oliveira-Filho, Postgraduate Program in Health Sciences and Neurocardiology Research Group, Federal University of Bahia, Bahia, Brazil, E-mails: kaolivegarcia@gmail.com, csilvathiago@hotmail.com, and jamary@mail.harvard.edu. Maria do Carmo Pereira Nunes, Lucas Campos Barbosa e Silva, and Antonio Luiz Pinho Ribeiro, Cardiology Service, Federal University of Minas Gerais, Minas Gerais, Belo Horizonte, Brazil, E-mails: mcarmo@waymail.com.br, lucascbs1103@hotmail.com, and alpr1963br@gmail.com. Iuri Ferreira Felix, Murilo Araujo Oliveira, Maria Eduarda Lisboa Marques, Leila Souza Brito Santos, Paulo Roberto Sampaio Peixoto Sousa, Pedro José Ramiro Muiños, Renata Martins Maia, Marília Bazzo Catto, Pedro Antonio Pereira Jesus, and Giovanna Ladeia Rocha, Neurocardiology Research Group, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil, E-mails: iuri.felix.96@gmail.com, muriloaraujoalegal@hotmail.com, duda_lisboa2011@hotmail.com, leila-brito@hotmail.com, prspdesousa@gmail.com, pedromuinos@hotmail.com, renata.martins.maia@hotmail.com, mariliacatto@hotmail.com, papj@terra.com.br, and giovannaladeia@gmail.com. Roque Aras, Cardiology Service, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil, E-mail: raras@ufba.br. Karen L. Furie, Neurology Service, Brown University, Providence, RI, E-mail: kfurie@lifespan.org.

REFERENCES

1. Pérez-Molina JA, Molina I, 2018. Chagas disease. *Lancet* 391: 82–94.
2. Umezawa ES, Stolf AM, Corbett CE, Shikanai-Yasuda MA, 2001. Chagas' disease. *Lancet* 357: 797–799.
3. Oliveira-Filho J et al., 2005. Chagas disease is an independent risk factor for stroke: baseline characteristics of a Chagas disease cohort. *Stroke* 36: 2015–2017.
4. Jin R, Liu L, Zhang S, Nanda A, Li G, 2013. Role of inflammation and its mediators in acute ischemic stroke. *J Cardiovasc Transl Res* 6: 834–851.
5. Jander S, Sitzer M, Schumann R, Schroeter M, Siebler M, Steinmetz H, Stoll G, 1998. Inflammation in high-grade carotid stenosis: a possible role for macrophages and T cells in plaque destabilization. *Stroke* 29: 1625–1630.
6. Mattila KJ, Valtonen VV, Nieminen MS, Asikainen S, 1998. Role of infection as a risk factor for atherosclerosis, myocardial infarction, and stroke. *Clin Infect Dis* 26: 719–734.
7. Elkind MS, Lin IF, Grayston JT, Sacco RL, 2000. *Chlamydia pneumoniae* and the risk of first ischemic stroke. The Northern Manhattan Stroke Study. *Stroke* 31: 1521–1525.
8. Jefferson AL et al., 2007. Inflammatory biomarkers are associated with total brain volume. *The Framingham Heart Study Neurology* 68: 1032–1038.
9. Jones WJ et al., 2001. Validating the Questionnaire for Verifying Stroke-Free Status (QVSFS) by neurological history and examination. *Stroke* 32: 2232–2236.
10. Milting H et al., 2008. Plasma biomarkers of myocardial fibrosis and remodeling in terminal heart failure patients supported by mechanical circulatory support devices. *J Heart Lung Transplant* 27: 589–596.
11. Batlle M, Pérez-Villa F, García-Pras E, Lázaro A, Orús J, Roqué M, Roig E, 2007. Down-regulation of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) expression in the myocardium of congestive heart failure patients. *Transplant Proc* 39: 2344–2346.
12. Polyakova V, Loeffler I, Hein S, Miyagawa S, Piotrowska I, Damer S, Risteli J, Schaper J, Kostin S, 2011. Fibrosis in endstage human heart failure: severe changes in collagen metabolism and MMP/TIMP profiles. *Int J Cardiol* 151: 18–33.
13. Takawale A, Zhang P, Patel VB, Wang X, Oudit G, Kassiri Z, 2017. Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 promotes myocardial fibrosis by mediating CD63-integrin $\beta 1$ interaction. *Hypertension* 69: 1092–1103.

14. McMurray JJV et al., 2014. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med* 371: 993–1004.
15. Radosinska J, Barancik M, Norbert Vrbjar N, 2017. Heart failure and role of circulating MMP-2 and MMP-9. *Panminerva Med* 59: 241–253.
16. Medeiros NI, Gomes JAS, Correa-Oliveira R, 2017. Synergic and antagonistic relationship between MMP-2 and MMP-9 with fibrosis and inflammation in Chagas' cardiomyopathy. *Parasite Immunol* 39:.
17. Kaplan P, Vrtovec B, Jug B, 2016. Orosomucoid is an independent predictor of prognosis in chronic heart failure. *Wien Klin Wochenschr* 128: 870–874.
18. Neri LR et al., 2019. Factors associated with abnormal cardiac magnetic resonance imaging in embolic stroke of undetermined source. *Int J Stroke* 14: NP6–NP9.
19. Lima-Costa MF et al., 2009. A population-based study of the association between *Trypanosoma cruzi* infection and cognitive impairment in old age (the Bambuí Study). *Neuroepidemiology* 32: 122–128.
20. Lima-Costa MF, Matos DL, Ribeiro AL, 2010. Chagas disease predicts 10-year stroke mortality in community-dwelling elderly: the Bambuí cohort study of aging. *Stroke* 41: 2477–2482.
21. Dias JS, Lacerda AM, Vieira-de-Melo RM, Viana LC, Jesus PA, Reis FJ, Nitrin R, Fichaman HC, Lopes AA, Oliveira-Filho J, 2009. Cognitive dysfunction in chronic Chagas disease cardiomyopathy. *Dement Neuropsychol* 3: 27–33.
22. Leon-Sarmiento FE et al., 2004. *Trypanosoma cruzi*-associated cerebrovascular disease: a case-control study in eastern Colombia. *J Neurol Sci* 217: 61–64.
23. de Queiroz AC, Ramos EA, 1979. Anatomic-pathological study of the brain in idiopathic cardiomegaly. *Arq Neuropsiquiatr* 37: 405–411.
24. Oliveira-Filho J et al., 2009. Chagas disease is independently associated with brain atrophy. *J Neurol* 256: 1363–1365.
25. Nunes MC, Barbosa MM, Ribeiro AL, Barbosa FB, Rocha MO, 2009. Ischemic cerebrovascular events in patients with Chagas cardiomyopathy: a prospective follow-up study. *J Neurol Sci* 278: 96–101.
26. Nunes MC et al., 2015. Prevalence and risk factors of embolic cerebrovascular events associated with Chagas heart disease. *Glob Heart* 10: 151–157.

GARCIA, KO. Avaliação de biomarcadores inflamatórios na cardiomiopatia chagásica [Tese]. Salvador: Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia; 2025. 134 f.

RESUMO

Introdução: A doença de Chagas (DC) está associada a um maior risco de acidente vascular cerebral (AVC) por meio da cardiopatia crônica, mas evidências crescentes sugerem que processos inflamatórios sistêmicos também contribuem para eventos cerebrovasculares e comprometimento cognitivo, mesmo quando a lesão miocárdica é discreta. A inflamação crônica desempenha papel central tanto na patogênese do AVC isquêmico agudo quanto na demência, levantando a hipótese de que marcadores pró-inflamatórios estariam elevados em pacientes com DC comparados a outras etiologias de insuficiência cardíaca (IC). **Objetivo:** Determinar se os níveis séricos de cinco biomarcadores pró-inflamatórios — interleucina-6 (IL-6), metaloproteinase-9 (MMP-9), inibidor tecidual de metaloproteinase-1 (TIMP-1), orosomucoide e neprilisina — são mais elevados em pacientes com IC de etiologia chagásica do que naqueles com IC não chagásica. **Métodos:** Em um desenho transversal, 173 pacientes com IC (94 com DC e 79 com outras causas) foram recrutados consecutivamente em ambulatorios de subespecialidade de dois hospitais universitários. A média de idade foi de 55 ± 12 anos, e 49 % eram do sexo masculino. A gravidade da IC foi avaliada por ecocardiograma transtorácico, e os níveis séricos dos biomarcadores foram mensurados por ensaio ELISA em amostras de sangue colhidas no dia da avaliação. **Resultados:** Apesar de o grupo não-chagásico apresentar pior função ventricular pelo ecocardiograma (fração de ejeção média de $38,2 \pm 15,3\%$ versus $53,3 \pm 18,0\%$ nos chagásicos; $p < 0,001$), encontramos níveis significativamente maiores de TIMP-1 sérico em pacientes com DC, com diferença média ajustada de 2,2 ng/ml (IC 95%: 0,1–4,5; $p = 0,037$). Além disso, os valores de TIMP-1 correlacionaram-se positivamente com a fração de ejeção ventricular esquerda ($r = 0,32$; $p = 0,002$), sugerindo vínculo com o remodelamento miocárdico subclínico. Em contraste, IL-6, MMP-9, orosomucoide e neprilisina não diferiram entre os grupos. Análises exploratórias de neuroimagem indicaram ainda que padrões de MMP-9 e TIMP-1 se associaram de forma distinta a infartos silentes e sinais de microembolia, apontando diferentes perfis de lesão vascular cerebral. **Discussão e Conclusão:** Em pacientes com IC, o aumento de TIMP-1 em portadores de DC ocorre mesmo na presença de função ventricular relativamente preservada, reforçando seu papel como mediador de fibroplasia precoce e possível indicador de risco vascular. A dissociação entre gravidade ecocardiográfica e ativação inflamatória sugere que o TIMP-1 pode ser um marcador sensível de lesão miocárdica e cerebral subclínica, com potencial para orientar estratégias de monitoramento e intervenções terapêuticas personalizadas na doença de Chagas.

Palavras-chave: Doença de Chagas. Mediadores de inflamação. Biomarcadores. Isquemia cerebral. Cardiomiopatia.

GARCIA, KO. Evaluation of inflammatory biomarkers in Chagas cardiomyopathy [Tesis]. Salvador: Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia; 2025. 134 f.

ABSTRACT

Background: Chagas disease (CD) is linked to an elevated stroke risk predominantly through chronic cardiomyopathy; however, mounting evidence suggests that systemic inflammatory processes also contribute to cerebrovascular events and cognitive impairment even when myocardial injury is mild. Chronic inflammation plays a central role in the pathogenesis of acute ischemic stroke and dementia, raising the hypothesis that pro-inflammatory biomarkers would be higher in CD patients than in those with other etiologies of heart failure (HF). **Objective:** To determine whether serum levels of five pro-inflammatory biomarkers—interleukin-6 (IL-6), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1), orosomucoid, and neprilysin—are higher in patients with Chagas-related HF compared to those with non-Chagas HF. **Methods:** In this cross-sectional study, 173 HF patients (94 with CD and 79 with other causes) were consecutively recruited from specialty HF clinics at two university hospitals. Mean age was 55 ± 12 years, and 49% were male. HF severity was assessed by transthoracic echocardiography, and serum biomarker concentrations were measured by ELISA in blood samples drawn on the day of evaluation. **Results:** Although non-Chagas patients had worse ventricular function (mean LVEF $38.2 \pm 15.3\%$ vs. $53.3 \pm 18.0\%$ in Chagas; $p < 0.001$), serum TIMP-1 was significantly higher in CD patients, with an adjusted mean difference of 2.2 ng/mL (95% CI 0.1–4.5; $p = 0.037$). TIMP-1 levels also correlated positively with LVEF ($r = 0.32$; $p = 0.002$), suggesting a link to subclinical myocardial remodeling. In contrast, IL-6, MMP-9, orosomucoid, and neprilysin did not differ between groups. Exploratory neuroimaging analyses further indicated that distinct patterns of MMP-9 and TIMP-1 were associated with silent infarcts and microembolic signals, pointing to different profiles of cerebral vascular injury. **Discussion and conclusion:** In HF patients, elevated TIMP-1 in those with CD occurs despite relatively preserved ventricular function, underscoring its role as an early fibroproliferative mediator and potential indicator of vascular risk. The dissociation between echocardiographic severity and inflammatory activation suggests that TIMP-1 may serve as a sensitive marker of subclinical myocardial and cerebral injury, with promise for guiding personalized monitoring and therapeutic strategies in Chagas disease.

Key-words: Chagas Disease. Mediators of inflammation. Biomarkers. Cerebral ischemia. Cardiomyopathy.

IV. RESULTADOS

IV.A. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS

Foram recrutados 173 pacientes em nossa amostra, com média de idade de 55 (+/- 12) anos, 84 (49%) do sexo masculino (Tabela 11). A doença de Chagas foi a etiologia da IC em 94 (54%) pacientes. As etiologias não chagásicas mais frequentes para IC foram: hipertensiva em 28 (16%), dilatada ou hipertrófica idiopática em 12 (7%), isquêmica em 11 (6%) e outras etiologias (por exemplo, periparto, viral, febre reumática) em 28 (16%). Ao comparar os grupos Chagas e não-Chagas, os chagásicos eram mais frequentemente do sexo feminino, mas apresentavam idade e distribuição de fatores de risco cerebrovascular semelhantes.

As características ecocardiográficas foram mais graves nos pacientes com cardiomiopatia não chagásica. A fração de ejeção média do ventrículo esquerdo (FEVE) foi menor nos pacientes não chagásicos em comparação aos pacientes chagásicos ($38,2 \pm 15,3\%$ versus $53,3 \pm 18,0\%$ respectivamente, $p < 0,001$). O ventrículo esquerdo foi mais severamente dilatado em pacientes não chagásicos, com maiores diâmetros sistólicos ($52,8 \pm 14,1$ mm versus $40,5 \pm 13,4$ mm) e diastólicos ($65,7 \pm 13,7$ mm versus $56,2 \pm 12,2$ mm), com $p < 0,001$ para as duas comparações. O diâmetro do átrio esquerdo também foi maior nos pacientes não chagásicos quando comparados aos chagásicos ($44,7 \pm 6,2$ mm versus $40,3 \pm 7,9$ mm, $p < 0,001$).

Tabela 1. Características clínicas e biomarcadores séricos de pacientes chagásicos e não chagásicos com insuficiência cardíaca.

	Todos (N = 173)	Não-Chagas (N = 79)	Chagas (N = 94)	Valor p
Dados demográficos				
Sexo masculino	84 (49)	46 (58)	38 (41)	0,0321
Idade em anos, média (DP)	55 (12)	55 (14)	56 (10)	0,6802
Fatores de risco, n (%)				
Doença arterial coronariana	37/160 (23)	17/73 (23)	20/87 (23)	1,0001
Diabetes mellitus	26/161 (16)	10/73 (14)	16/88 (18)	0,5211
Hipertensão	113/161 (70)	51/73 (70)	62/88 (71)	1,0001

Medicamentos, n (%)				
Agentes antiplaquetários	51/162 (32)	25/73 (34)	26/89 (29)	0,5021
Estatinas	47/161 (29)	21/73 (29)	26/88 (30)	1,0001
Achados ecocardiográficos, média (DP)				
Fração de ejeção VE (%)	46,5 (18,4)	38,2 (15,3)	53,3 (18,0)	<0,0013
Diâmetro sistólico VE (mm)	46,2 (14,9)	52,8 (14,1)	40,5 (13,4)	<0,0013
Diâmetro diastólico VE (mm)	60,6 (13,7)	65,7 (13,7)	56,2 (12,2)	<0,0013
Diâmetro AE (mm)	42,4 (7,4)	44,7 (6,2)	40,3 (7,9)	<0,0013
Biomarcadores séricos, mediana (intervalo interquartil)				
MMP-9 (ng/ml)	168	0,85 (0,28 - 1,48)	0,93 (0,29 - 1,94)	0,2253
TIMP-1 (ng/ml)	167	2,55 (0,78 - 2,77)	1,66 (0,77 - 2,76)	0,0883
Razão TIMP-1/MMP-9	167	1,10 (0,55 - 2,05)	1,18 (0,68 - 2,01)	0,8720
Neprilisina (pg/ml)	111	78 (63 - 273)	105 (64 - 275)	0,9363
Orosomucoide (ng/ml)	165	2,66 (1,73 - 2,92)	1,75 (1,56 - 7,16)	0,3303
IL-6 (pg/ml)	171	1,56 (1,56 - 2,01)	1,56 (1,56 - 2,24)	0,7273

Testes estatísticos: qui-quadrado de Pearson; teste T de Student; Teste U de Mann Whitney. DP = desvio padrão; VE = ventrículo esquerdo; AE = átrio esquerdo.

IV.B. BIOMARCADORES SÉRICOS

No total, 173 pacientes foram submetidos à dosagem de biomarcadores. A Tabela 4 mostra a mediana e o intervalo interquartil das medições dos biomarcadores.

As características demográficas e ecocardiográficas foram semelhantes para os pacientes que realizaram ou não as medidas de biomarcadores ($p > 0,1$ para todas as análises, dados não mostrados).

Ao considerar a concentração de biomarcador sérico, não foi observada diferença significativa nos níveis de biomarcadores candidatos (MMP-9, TIMP-1, neprilisina, orosomucoide e IL-6) entre os grupos não chagásico e chagásico.

Também foi observada correlação significativa entre os níveis de FEVE e TIMP-1 ($r = 0,32$; $p = 0,002$), bem como orosomucoide ($r = 0,21$; $p = 0,039$) e IL-6 ($r = 0,25$;

$p = 0,013$). Nenhuma correlação significativa foi observada entre a FEVE e os outros biomarcadores ou razão MMP-9 / TIMP-1.

Ao considerar a presença de uma associação entre DC e cada biomarcador sérico, corrigido por idade e sexo, foi observada associação significativa entre doença de Chagas e níveis séricos mais elevados de TIMP-1 ($p = 0,037$) (Tabela 12 e Figura 19). Nenhum efeito foi observado para os outros biomarcadores candidatos.

Tabela 2. Regressão linear multivariável testando a associação entre a doença de Chagas e cada biomarcador sérico, ajustado para idade e sexo.

Biomarcador	Efeito (IC 95%)	Valor p
MMP-9	-462 (-1140-216)	0,180
TIMP-1	2,2 (0,1-4,5)	0,037
Neprilisina	-26614 (-70554-17325)	0,232
Orosomucoide	21112 (-5112-889)	0,166
IL-6	161 (-146-467)	0,303

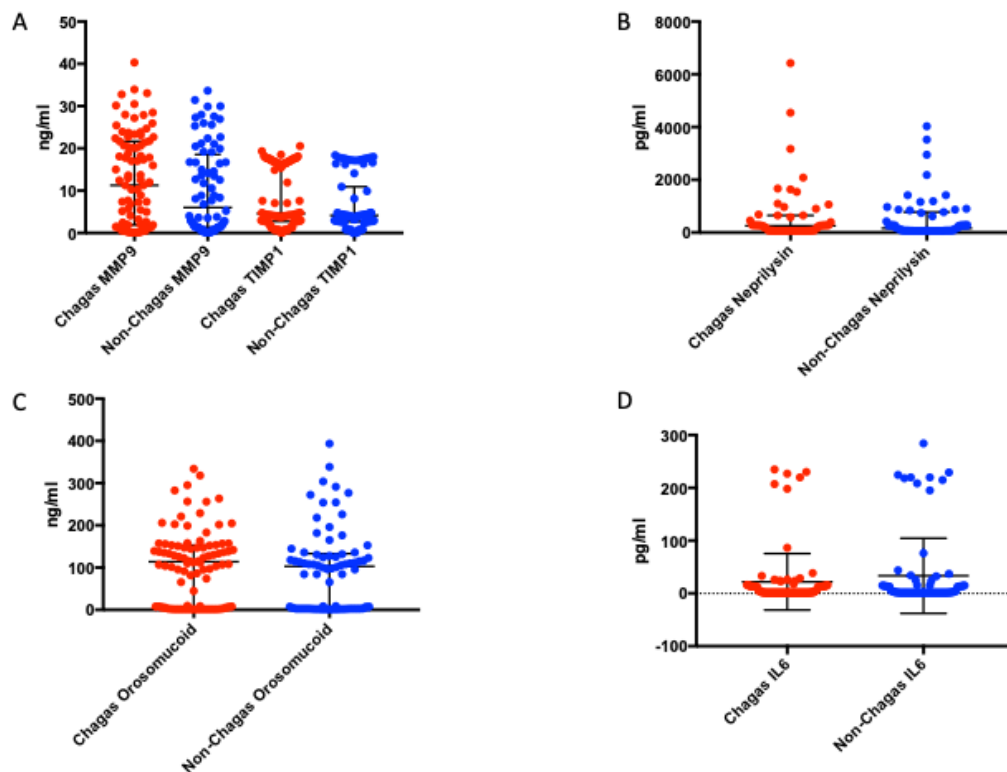


Figura 1. Níveis de biomarcadores séricos em pacientes com insuficiência cardíaca (etiologia chagásica e não chagásica). Os pontos representam níveis individuais de biomarcadores, enquanto as linhas pretas horizontais representam os percentis 25, 50 e 75. A: metaloproteinase-9 da matriz (MMP-9) e inibidor de tecido da metaloproteinase-1 (TIMP-1); B: Neprilisina; C: Orosomucoide; D: Interleucina-6 (IL-6). Associação significativa apenas entre doença de Chagas e níveis mais elevados de TIMP-1 ($p = 0,037$) - ver Tabela 12.

IV.C. NEUROIMAGEM

Considerando o número de infartos silenciosos observado ao estudo de ressonância magnética cerebral (Tabela 13), verificou-se a presença de um infarto em 45 pacientes e mais de um infarto em 14 pacientes.

Quando avaliada associação entre infartos silenciosos e cada biomarcador, comparando cada biomarcador em três grupos de infarto silencioso (ausência de infarto, presença de um infarto e presença de mais de um infarto), observou-se associação significativa entre infartos silenciosos e níveis séricos menores de MMP-9 ($p = 0,020$), TIMP-1 ($p = 0,020$) e orosomucoide ($p = 0,030$).

Tabela 3. Biomarcadores séricos em pacientes com insuficiência cardíaca chagásica, estratificados de acordo com a presença de infartos cerebrais silenciosos na ressonância magnética.

	Infartos silenciosos			Valor p^2
	0 (N = 218) ¹	1 (N = 45) ¹	>1 (N = 14) ¹	
MMP-9	12 (2-20)	3 (1-13)	1 (0-2)	0,020
TIMP-1	4,4 (2,7-16,5)	3,4 (2,6-4,4)	0,8 (0,8-2,7)	0,020
Razão TIMP-1/MMP-9	0,74 (0,33 – 1,16)	1,47 (0,72 – 6,34)	1,13 (0,50 – 2,42)	0,093
Neprilisina	265 (69-905)	283 (146-618)	62 (62-73)	0,068
Orosomucoide	110 (8-141)	98 (3-121)	3 (2-5)	0,030
IL-6	3 (2-16)	8 (2-26)	2 (2-2)	0,074

¹ Mediana (intervalo interquartil); n (%) e ² Teste Kruskal-Wallis.

Com relação à presença de sinais de microembolia cerebral (Tabela 14), houve maior número de sinais microembólicos em pacientes com IC chagásica associado a níveis elevados de MMP-9 ($p = 0,002$), TIMP-1 ($p < 0,001$) e orosomucoide ($p = 0,027$); e menores níveis de IL-6 ($p = 0,035$).

Não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os níveis de neprilisina em pacientes chagásicos quando considerada a presença ou ausência de sinais de microembolismo.

Tabela 4. Biomarcadores séricos em pacientes chagásicos com insuficiência cardíaca, estratificados de acordo com a presença de sinais de microembolia cerebral no Doppler transcraniano.

	Sinais microembólicos		
	Não (N = 226) ¹	Sim (N = 25) ¹	Valor P ²
MMP-9	10 (11)	20 (8)	0,002
TIMP-1	7,0 (6,6)	15,3 (4,5)	<0,001
Razão TIMP-1/MMP-9	2,36 (0,41)	0,85 (0,09)	0,217
Neprilisina	516 (1,066)	402 (242)	0,6
Orosomucoide	88 (87)	193 (125)	0,027
IL-6	22 (58)	7 (10)	0,035

¹ Média (DP); n (%) e ² Teste t de Student

Quando avaliada a correlação entre volume cerebral e níveis mais elevados dos biomarcadores séricos candidatos (Tabela 15), observamos que níveis mais elevados de MMP-9 estiveram associados a maior volume cerebral ($\rho=0,29$, $p=0,018$), enquanto os níveis de TIMP-1 estiveram associados a um maior volume cerebelar ($\rho=0,26$, $p=0,040$).

Houve uma tendência no biomarcador IL-6, com uma associação entre níveis elevados de IL-6 e maior volume cerebral ($\rho=0,24$, $p=0,053$).

Tabela 5. Correlação entre volume cerebral e volume cerebelar com os biomarcadores séricos em pacientes com insuficiência cardíaca.

	Volume cerebral		Volume cerebelar	
	Coefficiente de Spearman (ρ)	P-valor	Coefficiente de Spearman (ρ)	P-valor
MMP-9	0,29	0,018	0,19	0,143
TIMP-1	0,23	0,063	0,26	0,040
TIMP-1/MMP-9	-0,17	0,190	-0,03	0,762
Neprilisina	0,13	0,292	0,18	0,155
Orosomucoide	0,19	0,140	0,15	0,226
IL-6	0,24	0,053	0,19	0,130

Nas Tabelas 16 e 17 mostramos os resultados das análises multivariáveis para cada desfecho de neuroimagem (número de infartos lacunares, número de infartos territoriais, sinais de microembolia, volume cerebral e volume cerebelar).

Maiores níveis de MMP-9, TIMP-1 e orosomucoide estiveram associados a uma menor probabilidade de infartos lacunares (OR=0,92, p=0,016; OR=0,87, p=0,029; e OR=0,99, p=0,004, respectivamente), mas não de infartos territoriais.

Houve uma tendência nos mesmos biomarcadores MMP-9 e TIMP-1, com uma probabilidade maior de sinais de microembolia (OR=1,08, p=0,067; e OR=1,16, p=0,055, respectivamente).

Não houve associação entre a doença de Chagas e ~~a ocorrência de infartos lacunares, infartos territoriais~~, volume cerebral ou volume cerebelar. Também não houve interação significativa ($p>0,1$) entre a doença de Chagas e cada biomarcador para nenhum dos desfechos estudados.

Tabela 6. Regressão linear multivariável testando a associação entre achados de neuroimagem (proporção de volume cerebral e cerebelar no crânio, em %) e cada biomarcador, ajustado para idade e sexo.

	Volume cerebral			Volume cerebelar		
	Efeito ¹	IC 95% ¹	Valor p	Efeito ¹	IC 95% ¹	Valor p
MMP-9 (N=93)						
Etiologia chagásica	1,14	-0,99 a 3,28	0,290	4,44	0,10-13,82	0,5
MMP-9 (ng/mL)	0,09	-0,02 a 0,20	0,109	1,11	0,91-1,51	0,3
TIMP-1 (N=93)						
Etiologia chagásica	1,03	-1,27 a 3,34	0,376	0,46	0,03-4,64	0,5
TIMP-1 (ng/mL)	0,10	-0,09 a 0,29	0,285	0,88	0,48-1,16	0,5
TIMP-1/MMP-9 (N=93)						
Etiologia chagásica	1,05	-1,25 a 3,36	0,366	0,46	0,07-2,77	0,4
TIMP-1/MMP-9	-0,22	-0,64 a 0,21	0,309	0,97	0,79-1,00	0,5
NPLY (N=69)						
Etiologia chagásica	0,56	-1,80 a 2,92	0,636	0,59	0,05-6,47	0,7
NPLY (pg/ml) (efeito $\times 10^{-6}$)	-0,81	-8,54 a 6,92	0,834	1,00	1,00-1,00	0,5
OROS (N=93)						
Etiologia chagásica	1,27	-0,95 a 3,49	0,259	0,64	0,07-5,48	0,7
OROS (1:1000) (efeito $\times 10^{-6}$)	-7,88	-9,25 a 7,67	0,853	0,99	0,97-1,01	0,3
IL-6 (N=96)						
Etiologia chagásica	1,13	-1,07 a 3,34	0,310	0,46	0,07-2,77	0,4
IL-6 (pg/ml) (efeito $\times 10^{-4}$)	-1,04	-9,10 a 7,03	0,798	0,97	0,79-1,00	0,5

¹ Efeito medido em % do volume intracraniano, IC = intervalo de confiança

Tabela 7. Regressão logística ordinal multivariável testando a associação entre achados de

	Nº Infartos Lacunares			Nº Infartos Territoriais			Sinais de microembolia		
	OR ¹	IC 95% ¹	Valor p	OR ¹	IC 95% ¹	Valor p	OR ¹	IC 95% ¹	Valor p
MMP-9 (N=94)									
Etiologia chagásica	0,79	0,27 – 2,25	0,654	1,13	0,18 – 7,01	0,899	2,25	0,19 – 26,10	0,516
MMP-9 (ng/ml) (valores abaixo de 0,313=0,156)	0,92	0,86 – 0,99	0,016	0,87	0,72 – 1,04	0,125	1,08	0,99 – 1,17	0,067
TIMP-1 (N=93)									
Etiologia chagásica	0,81	0,28 – 2,40	0,715	0,98	0,15 – 6,29	0,986	1,62	0,14 – 19,36	0,702
TIMP-1 (ng/ml) (valores abaixo de 0,156=0,078)	0,87	0,76 – 0,99	0,029	0,96	0,81 – 1,14	0,658	1,16	1,00 – 1,36	0,055
NPLY (N=69)									
Etiologia chagásica	0,67	0,22 – 2,01	0,472	0,54	0,07 – 4,10	0,551	1,00	1,00 – 1,00	1,00
NPLY (pg/ml) (valores abaixo de 125=62,5)	0,99	0,99 – 1,00	0,203	0,99	0,99 – 1,00	0,263	0,99	0,99 – 1,00	0,702
OROS (N=93)									
Etiologia chagásica	0,80	0,27 – 2,39	0,683	1,09	0,17 – 6,88	0,928	2,60	0,25 – 26,63	0,421
OROS (1:1000) (valores abaixo de 3,13=1,56)	0,99	0,98 – 0,99	0,004	0,99	0,97 – 1,00	0,107	1,00	0,99 – 1,01	0,384
IL-6 (N=96)									
Etiologia chagásica	0,58	0,20 – 1,65	0,305	0,81	0,13 – 5,09	0,821	2,35	0,24 – 23,48	0,467
IL-6 (pg/ml) (valores abaixo de 3,13=1,56)	0,99	0,99 – 1,00	0,566	0,99	0,96 – 1,02	0,413	1,00	0,99 – 1,00	0,559
TIMP-1/MMP-9 (N=86)									
Etiologia chagásica	0,68	0,97 – 1,27	0,469	0,98	0,16 – 6,07	0,983	2,31	0,20 – 26,55	0,502
TIMP-1/MMP-9	1,11	0,97 – 1,27	0,132	1,13	0,91 – 1,39	0,264	0,64	0,22 – 1,86	0,410

neuroimagem (número de infartos silenciosos, sinais de microembolia) e cada biomarcador, ajustado para idade e sexo.

¹OR = razão de chances, IC = intervalo de confiança

VIII. ANEXOS

VIII.A. CÓPIA REPROGRÁFICA DO PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

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 frequentemente 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

Cont. parecer CONEP nº 240/2011

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 fibrilólise. 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 > 37,8°C 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.

Cont. parecer CONEP nº 240/2011

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

Cont. parecer CONEP nº 240/2011

(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.

Cont. parecer CONEP nº 240/2011

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."

Cont. parecer CONEP nº 240/2011

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.**

Cont. parecer CONEP nº 240/2011

- 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.

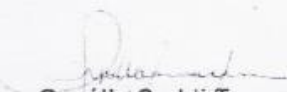
Resposta: Foi incluído no setor de "Custos" do TCLE a seguinte frase: "É garantido ao paciente uma indenização em casos de danos diretos decorrentes da participação deste estudo." No orçamento do estudo está previsto a contratação de um seguro contra danos.

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

VIII.B. CÓPIA REPROGRÁFICA DO TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

(TCLE)

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

Pesquisadores Responsáveis: Jamary Oliveira Filho, Francisco Reis, Karen Furie e Pedro Antônio Pereira de Jesus

Justificativa e Objetivo

Estamos solicitando sua participação em um projeto de pesquisa sobre doença de Chagas. A doença de Chagas é uma doença frequente 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) com cerca de 500 pacientes. 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 raio 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 acetil-salicílico (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 HUPES. 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 à 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 haverão 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

VIII.C. CÓPIA REPROGRÁFICA DO QUESTIONNAIRE FOR VERIFYING STROKE-FREE STATUS (QVSFS)

Questionnaire for Verifying Stroke-Free Status (QVSFS)

1. Were you ever told by a physician that you had a stroke?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

2. Were you ever told by a physician that you had a TIA, ministroke, or transient ischemic attack?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

3. Have you ever had sudden painless weakness on one side of your body?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

4. Have you ever had sudden numbness or a dead feeling on one side of your body?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

5. Have you ever had sudden painless loss of vision in one or both eyes?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

6. Have you ever suddenly lost one half of your vision?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

7. Have you ever suddenly lost the ability to understand what people are saying?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

8. Have you ever suddenly lost the ability to express yourself verbally or in writing?

☐ Yes

☐ No

☐ Unknown

VIII.D. CÓPIA REPROGRÁFICA DO QUESTIONÁRIO ESTRUTURADO PARA ADMISSÃO NO ESTUDO CLINICS

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 Hipertrofica (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 ☐

VIII.E. CÓPIA REPROGRÁFICA DA FICHA PARA COLETA DE DADOS ECOCARDIOGRÁFICOS

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 RISCOTabagismo:

(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

