

Base Racional e Plano de Estudo Prospectivo para Avaliar o Efeito de Terapêutica Antiplaquetária e Vasodilatadora Microcirculatória em Pacientes com Cardiopatia Chagásica Crônica e Distúrbios Microvasculares Coronários

Leon Gustavo dos Reis Macedo, Daniel Conterno Lemos, Igor Matos Lago, Geraldo Luiz de Figueiredo, Moysés de Oliveira Lima Filho, André Schmidt, Marcus Vinicius Simões, Benedito Carlos Maciel, J. Antonio Marin-Neto

RESUMO

Introdução: Há evidência, embasada por estudos em modelos experimentais de infecção pelo *Trypanosoma cruzi*, e também por investigações histopatológicas em humanos com a doença de Chagas, de que distúrbios de natureza isquêmica participem da patogênese de lesões miocárdicas na fase crônica da moléstia. Esses distúrbios isquêmicos derivam de desregulação microcirculatória. Dor precordial atípica é sintoma comum em pacientes na fase crônica da doença de Chagas. Em substancial proporção desses pacientes, apesar da inexistência de obstruções coronárias angiograficamente detectáveis, documenta-se com cintilografia miocárdica a ocorrência de distúrbios perfusionais durante o estresse, que são reversíveis após repouso. **Métodos:** Estudo unicêntrico, prospectivo, de coorte única, com intervenção terapêutica seguida de reavaliação quantitativa, após 90 dias, da área ventricular apresentando alterações perfusionais isquêmicas inicialmente detectadas em pacientes cardiopatas chagásicos com coronárias angiograficamente normais. A cintilografia miocárdica de perfusão será executada com o método SPECT, antes e após 90 dias da intervenção terapêutica, tendo o sestamibi-Tc99m como radiotraçador e o esforço físico ou o estímulo vasodilatador com dipiridamol como estressores. A intervenção terapêutica consistirá de ácido acetilsalicílico (dose de 100 mg diária) associado a verapamil (dose diária de 160 mg, em duas tomadas de 80 mg). O desfecho primário do estudo será redução > 50% da área ventricular de isquemia

ABSTRACT

Rationale and Design of a Prospective Study to Assess the Effect of Microcirculatory Antiplatelet and Vasodilation Therapy in Patients with Chronic Chagas Heart Disease and Coronary Microvascular Disease

Background: There is evidence based on experimental models studies in infections by *Trypanosoma cruzi*, as well as histopathologic studies in individuals with Chagas heart disease, suggesting that ischemia plays a role in the pathogenesis of myocardial lesions in the chronic phase of the disease. These ischemic disorders are caused by microcirculatory dysregulation. Atypical angina is a common symptom in patients in the chronic phase of Chagas heart disease. In a large number of patients, despite the absence of significant angiographic coronary obstructions, the occurrence of perfusion abnormalities is documented by myocardial scintigraphy during stress, which is reversible after rest. **Methods:** This is a single center, prospective, single cohort study, with a therapeutic intervention, followed by a late quantitative reevaluation of the myocardial perfusion defects, initially detected in patients with Chagas heart disease and angiographically normal coronary arteries. Myocardial perfusion single-photon emission computed tomography (SPECT) will be performed before and 90 days after the therapeutic intervention, using sestamibi-Tc99m as a radiotracer and physical exercise or vasodilation stimulation with dipyridamol as stressors. The therapeutic intervention will consist of acetylsalicylic acid (single

Laboratório de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista da Divisão de Cardiologia do Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto, SP, Brasil.
Correspondência: J. Antonio Marin Neto. Avenida Bandeirantes, 3.900 – Campus Universitário Monte Alegre – Ribeirão Preto, SP, Brasil – CEP 14048-900

E-mail: marin_net@yahoo.com

Recebido em: 1º/12/2011 • Aceito em: 6/2/2012

miocárdica reversível calculada pelo mapa polar da cintilografia miocárdica de perfusão. **Conclusões:** Este é o primeiro estudo de intervenção terapêutica para atenuar ou reverter alterações miocárdicas isquêmicas de origem microvascular em pacientes com cardiopatia chagásica crônica.

DESCRIPTORES: Doença de Chagas. Isquemia miocárdica. Angina microvascular. Ácido acetilsalicílico. Verapamil.

Há diversas linhas de evidência que corroboram o conceito de que isquemia miocárdica, provocada por distúrbios microcirculatórios, seja importante mecanismo patogênico na cardiopatia da doença de Chagas. Todo o tema foi recentemente revisto, em extensão e profundidade, em duas publicações abrangentes, sendo os pontos mais conspícuos relatados a seguir.^{1,2}

ESTUDOS HISTOPATOLÓGICOS EM HUMANOS

Pesquisas assim realizadas durante a fase aguda da moléstia de Chagas atribuíram à inflamação perivascular microcirculatória pelo menos parte da responsabilidade pela degeneração miocárdica observada.³ Outros estudos necroscópicos foram realizados, agora em pacientes mortos durante a fase crônica da doença, e descreveram proliferação intimal, constrição luminal e colapso de arteríolas intramiocárdicas.⁴ Tais anormalidades microcirculatórias, que incluíam a presença de marcante espessamento da membrana basal em capilares, foram interpretadas como causando a miocitólise focal distribuída difusamente nesses estudos necroscópicos, bem como em espécimes obtidos por biópsia miocárdica.⁵ Diversos outros estudos vieram reforçar o conceito de que padrões anormais de vasodilatação e vasoconstrição, em nível microcirculatório, produzam lesões miocárdicas em pacientes com doença de Chagas.⁶⁻⁹ Também chamava a atenção dos pesquisadores o fato de que a característica necrose celular focal e sua imediata consequência – a fibrose reparativa intersticial –, detectadas em corações chagásicos, obedecessem ao mesmo padrão observado em modelos experimentais de lesão miocárdica induzida por isquemia e reperfusão. Tais considerações levaram a postular-se que distúrbios microvasculares transitórios, de baixa intensidade e curta duração, estivessem essencialmente implicados na patogênese da cardiopatia chagásica crônica.^{10,11} Estudos em material de necropsia, correlacionando a presença de aneurismas apicais com escores proporcionais à massa miocárdica e à condição de irrigação coronária, concluíam pela interveniência de fatores de isquemia na gênese daquela lesão tipicamente chagásica.¹² Outras investigações independentes levaram a aventar-se que os típicos aneurismas ventriculares presentes em muitos pacientes com cardiopatia chagásica crônica decorram da coalescência de microinfartos induzidos

daily dose of 100 mg) associated to verapamil (80 mg bid and a total daily dose of 160 mg). The primary endpoint of the study is a reduction > 50% of the area of ischemic myocardium calculated by the polar scintigraphic map. **Conclusions:** This is the first study of a therapeutic approach to attenuate or revert ischemic myocardial perfusion abnormalities of microvascular origin in patients with chronic Chagas heart disease.

DESCRIPTORS: Chagas disease. Myocardial ischemia. Microvascular angina. Acetylsalicylic acid. Verapamil.

principalmente em regiões “divisoras de águas”, isto é, em territórios vasculares coronários relativamente rarefeitos, e onde distúrbios microcirculatórios possam ser desencadeados por hiperestimulação adrenérgica anormal.¹³ Esta última noção, inclusive, poderia ser considerada um possível elo fisiopatológico entre as hipóteses patogênicas microcirculatória e neurogênica da cardiopatia chagásica crônica.¹⁴

ESTUDOS EM MODELOS EXPERIMENTAIS DE INFECÇÃO PELO *Trypanosoma cruzi*

Ainda na década de 1970, estudos histopatológicos e histoenzimológicos em ratos Wistar infectados cronicamente com o *Trypanosoma cruzi* ou submetidos a injeções repetitivas de isoproterenol evidenciavam semelhanças entre as lesões miocárdicas detectadas em ambos os modelos experimentais; e também sugeriam que as lesões miofibrilares, de aspecto isquêmico, poderiam ser causadas por cardiotoxicidade dependente de estimulação catecolamínica excessiva.¹⁵

Em estudos experimentais no modelo murino de doença de Chagas foi possível detectar por meio de técnicas histoquímicas a isquemia miocárdica, que se associou a distúrbios microvasculares coronários que culminavam com a presença de trombos plaquetários oclusivos.^{16,17} Também nesse modelo experimental foram descritas outras anormalidades microcirculatórias estruturais, que determinavam a ocorrência de proliferação intimal e constrição vascular focal.¹⁸ Tais alterações foram atribuídas a lesões endoteliais diretamente ligadas à infecção pelo parasito¹⁹ ou indiretamente produzidas por mecanismos imunológicos celulares.²⁰

As alterações microcirculatórias provocadas pela infecção por *Trypanosoma cruzi* podem ser dependentes de excessiva produção de endotelina, que inibe a formação de cAMP, induz espasmo arteriolar e estimula a adesão plaquetária ao endotélio.²¹ Outra possibilidade consiste na produção, por formas tripomastigotas de *Trypanosoma cruzi*, de neuraminidases removedoras do ácido siálico das superfícies endoteliais, tornando-as vulneráveis ao ataque plaquetário e subsequente trombose local.²² Ainda outra possibilidade fisiopatológica reside no aumento dos níveis de tromboxano-A₂, detectado no modelo murino de infecção chagásica, reforçando a

tendência de adesividade e agregação plaquetária e levando a trombooses localizadas.²³

É bem conhecido o fato de que o infiltrado inflamatório tipicamente encontrado em corações chagásicos leve à produção de citocinas capazes de induzir reatividade microvascular anormal. Trabalho seminal realizado em modelo murino de infecção por *Trypanosoma cruzi* demonstrou que esses distúrbios podem ser parcialmente reversíveis por administração precoce de verapamil: com esse agente vasodilatador em nível microvascular, também provido de atividade antiplaquetária, foi possível reduzir a mortalidade da fase inicial da infecção e também atenuar a progressão das lesões miocárdicas na fase crônica.²⁴ O mesmo agente mostrou-se capaz de reverter os distúrbios microvasculares – espasmos segmentares e hipofluxo capilar – diretamente visualizados em preparação de tecido cremastérico de camundongos infectados com *Trypanosoma cruzi*.²⁵ Finalmente, outros mecanismos moleculares interferindo com a funcionalidade microcirculatória parecem existir na cardiomiopatia de etiologia chagásica; por exemplo, a calreticulina, uma proteína ligante de cálcio, componente do parasito, também presente no coração humano, mostrou-se capaz de modular o sistema de complemento e inibir a angiogênese.²⁶

INVESTIGAÇÕES CLÍNICAS

Aspectos clínicos

Inicialmente, diversas manifestações clínicas da cardiopatia da doença de Chagas em sua fase crônica sugerem a participação de isquemia miocárdica em sua patogênese. Substancial proporção de pacientes (20%-50%) tem dor precordial que parece angina em seu caráter (opressão, queimação) e localização (retroesternal), mas que não tem usualmente relação constante com o esforço físico (ocorre muitas vezes em repouso) e não se alivia na maioria dos casos por uso de nitratos.²⁷ Em concomitância a esses sintomas, ao eletrocardiograma, muitos indivíduos chagásicos, similarmente aos pacientes com isquemia clássica por obstrução coronária, exibem alterações do segmento ST compatíveis com isquemia miocárdica, bem como ondas Q indicativas de necrose miocárdica e áreas de inatividade elétrica.²⁷⁻²⁹ Também de forma análoga ao verificado nos pacientes com doença coronária, em muitos cardiopatas chagásicos se detecta a presença de discinergias ventriculares regionais.³⁰ Não obstante essas similitudes clínicas entre as cardiopatias por obstrução coronária e por infecção com o *Trypanosoma cruzi*, nesta última, quase invariavelmente, a cinecoronariografia de contraste radiológico evidencia coronárias angiograficamente normais, isto é, sem obstruções detectáveis em artérias epicárdicas.^{27,31,32}

Disfunção coronária macrovascular

Se, mesmo com todos aqueles comemorativos clínicos acima citados, a anatomia coronária vista angiogra-

ficamente revela-se normal nos pacientes chagásicos crônicos, a funcionalidade da macrocirculação coronária pode estar alterada. Assim, a resposta vasodilatadora à acetilcolina, dependente de integridade endotelial, pode estar deprimida, em contraste com a preservação da resposta à adenosina, que prescinde da ação do endotélio.³³ Outro estudo, em nosso laboratório, mostrou, com angiografia coronária quantitativa, respostas atenuadas aos testes da hiperventilação e da administração de nitrato, em pacientes chagásicos crônicos com angina atípica, mas suficientemente eloquente do ponto de vista clínico, para indicar-se a coronariografia.³⁴ Em conjunto, esses resultados expressam a ocorrência de regulação anormal da circulação coronária em nível epicárdico, relacionada com disfunção endotelial e não-endotelial, em pacientes cardiopatas chagásicos crônicos manifestando precordialgia, mas com coronárias isentas de lesões obstrutivas pela coronariografia.

Evidência objetiva de distúrbios perfusionais miocárdicos em humanos com cardiopatia chagásica crônica

Ainda na década de 1970 os trabalhos pioneiros de Kuschnir et al.^{35,36}, em Córdoba, Argentina, usando técnicas nucleares primitivas (medida do fluxo miocárdico global com ⁸⁶Rubídio) evidenciaram que pacientes chagásicos crônicos, em comparação a controles normais, e similarmente a coronariopatas crônicos, apresentavam redução da perfusão miocárdica, em repouso, e também durante estimulação por esforço físico.

Diversos estudos empregando cintilografia miocárdica de perfusão, realizados independentemente por vários grupos de investigadores, evidenciaram a ocorrência de marcantes distúrbios perfusionais em corações de pacientes chagásicos crônicos.^{32,34,37,38} Como, nesses estudos, as artérias coronárias fossem angiograficamente normais, tais resultados atestam veementemente a possibilidade de alterações microvasculares, de acordo com os indícios obtidos com os estudos experimentais.^{32,34,37,38} Um desses estudos, em nossos laboratórios, empregando ²⁰¹Tálio como radiotraçador, em esforço e redistribuição, mostrou defeitos fixos, paradoxais e reversíveis em todos os 23 pacientes incluídos; enquanto os defeitos fixos (denotando provavelmente a presença de fibrose) eram principalmente vistos em áreas ventriculares exibindo acinesia ou discinesia, os defeitos reversíveis (indicando isquemia induzida pelo esforço físico) podiam ser detectados em 8 (35%) dos pacientes, usualmente em áreas ventriculares com mobilidade segmentar normal ou relativamente pouco prejudicada.³⁸

Outra investigação, também realizada em nossos laboratórios, empregando ²⁰¹Tálio, focalizou a correlação topográfica entre os defeitos perfusionais detectados com o método tomográfico SPECT e as anormalidades contráteis regionais do ventrículo esquerdo, em 37 pacientes com vários estágios da cardiopatia chagásica crônica.³⁹ Corroborando os resultados do estudo anterior,

em 78% dos pacientes foram detectadas anormalidades perfusionais que guardavam nítida relação topográfica com os locais acometidos por alterações de mobilidade (regiões apical e inferior-posterior do ventrículo esquerdo). Muito notavelmente, defeitos reversíveis, indicando isquemia miocárdica, foram visibilizados em segmentos ventriculares com mobilidade preservada, em 5 de 12 pacientes chagásicos sem quaisquer outras manifestações patológicas de cardiopatia (forma indeterminada). Portanto, pela primeira vez, os defeitos perfusionais compatíveis com isquemia miocárdica desencadeada por esforço físico eram detectados precocemente em pacientes chagásicos (antes de manifestarem cardiopatia), sugerindo que tais distúrbios microvasculares precedam e inclusive determinem o aparecimento, em fases posteriores, de alterações da contratilidade ventricular regional. Este conceito é particularmente reforçado pela constatação de que os defeitos reversíveis (isquêmicos) predominavam justamente em áreas miocárdicas onde depois se instalam comumente os aneurismas ventriculares.

O radiotraçador usado nos estudos acima – ²⁰¹Tálio – tem sua acumulação e retenção afetadas não somente pelo fluxo regional, mas também dependentes do estado metabólico da célula miocárdica. Assim, permanecia a possibilidade de que os defeitos de captação detectados pudessem ser devidos a distúrbios no funcionamento metabólico celular, induzidos pelo infiltrado inflamatório, e não fossem causados por reais anormalidades do fluxo regional. Entretanto, esta hipótese pôde ser descartada quando se recorreu ao estudo, em nossos laboratórios, de 18 pacientes com dor precordial suficientemente severa para indicar-se a coronariografia; nessa ocasião, um traçador perfeito de fluxo – microesferas marcadas com ^{99m}Tecnécio – foi injetado na cavidade ventricular esquerda dos 18 pacientes que não apresentavam obstruções coronárias.³⁴ Em 10 deles defeitos perfusionais foram detectados em 49 de 126 segmentos do ventrículo esquerdo (39%). Em 19 desses segmentos (40%) com defeitos perfusionais em repouso havia grave discinergia, provavelmente indicativa de fibrose regional extensa. Em contraste, os demais 60% dos segmentos ventriculares com defeitos reais de perfusão ocorriam em áreas de mobilidade normal ou minimamente reduzida. Isso novamente indigitava que as alterações perfusionais microvasculares deveriam anteceder a instalação das anormalidades contráteis, e poderiam estar implicadas causalmente em sua gênese.

A hipótese acima foi reforçada pela demonstração, em outro estudo de nossos laboratórios, de que os defeitos isquêmicos reversíveis se tornavam, em alguns desses pacientes, evolutivamente irreversíveis, quando o estudo perfusional foi repetido após intervalo médio de 5,6 anos.⁴⁰ Entre os 36 pacientes avaliados inicialmente, 20 (56%) apresentavam defeitos reversíveis envolvendo em média $10,2 \pm 9,7\%$ da área ventricular tomograficamente delineada pela cintilografia miocárdica de

perfusão. Outro aspecto marcante foi que a instalação da irreversibilidade se correlacionou de forma nítida com a perda da função sistólica ventricular observada em 36 pacientes cardiopatas chagásicos assim evoluídos.

Consequências fisiopatológicas e oportunidades de intervenção terapêutica

Com base nas evidências acima arroladas, pode-se identificar como consequência fisiopatológica dos distúrbios microvasculares, indutores de isquemia miocárdica, a depressão da função ventricular contrátil. Torna-se possível hipotetizar que pelo menos dois mecanismos liguem essas duas expressões fisiopatológicas da cardiopatia da doença de Chagas.

O primeiro consistiria de um estado contrátil semelhante ao verificado em cardiopatas isquêmicos por doença arterial coronária, de verdadeira hibernação miocárdica, quando áreas ventriculares são submetidas a hipoperfusão crônica. Somente uma iniciativa de pesquisa, em nossos laboratórios, foi conduzida até o momento, testando a hipótese de que áreas ventriculares discinérgicas pudessem ser devidas a hibernação miocárdica; o estudo, empregando a técnica da potenciação pós-extrassistólica durante cineventriculografia de contraste radiológico, foi positivo no sentido de evidenciar que em muitas áreas com discinergia era possível identificar reserva contrátil, portanto ainda com viabilidade.^{40,41} Todavia, a investigação foi negativa quanto à hipótese testada, no sentido de que não se observou, conforme esperado, que a viabilidade mascarada por discinergia, e desmascarada pela potenciação pós-extrassistólica, predominasse ou somente aparecesse em regiões exibindo defeitos perfusionais reversíveis durante a cintilografia miocárdica.⁴²

O segundo, talvez mais decisivo, redundaria em morte celular e consequente fibrose reparadora. Nesse contexto, é possível divisar que haja relevantes implicações de ordem terapêutica potencialmente capazes de atenuar, retardar ou mesmo deter a progressão da disfunção miocárdica ocasionada por distúrbios micro-circulatórios isquêmicos.

Embora não tenham ainda sido realizados estudos de cunho essencialmente terapêutico para evitar isquemia miocárdica na cardiopatia chagásica crônica, podem ser considerados como indícios alentadores alguns resultados de pesquisas realizadas de forma indireta no contexto. Assim, a administração prolongada de dipiridamol⁴³ ou aguda de dinitrato de isossorbida⁴⁴ se associou a melhora nítida da função sistólica ventricular esquerda. Nesses estudos não se demonstrou, contudo, que a melhora da função ventricular estivesse associada a remissão de isquemia miocárdica, de forma que, muito possivelmente, ela poderia resultar, simplesmente, de condições hemodinâmicas mais apropriadas, durante o efeito do dipiridamol e do dinitrato, ante os efeitos sistêmicos desses dois fármacos.

Portanto, está aberta a perspectiva para estudo em que os sintomas e os sinais objetivos sugestivos de isquemia miocárdica causada por distúrbios microvasculares sejam tentativamente atenuados ou mesmo revertidos por agentes que atuam em nível microcirculatório. Esta é a proposta da presente investigação clínica, em que os pacientes chagásicos com aquelas características serão tratados a médio prazo com a combinação de um vasodilatador microvascular – verapamil – e ácido acetilsalicílico como inibidor da ativação e agregação plaquetária.

MÉTODOS

Serão selecionados pacientes chagásicos que tenham sido submetidos a cateterismo cardíaco nos Laboratórios de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista da Divisão de Cardiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, e que reúnam as seguintes características de inclusão: a) indicação do exame por dor precordial; b) com coronárias angiograficamente normais ou sem lesões > 30%; c) com função ventricular esquerda sistólica global preservada ou apenas discretamente comprometida (fração de ejeção ventricular esquerda > 40%); d) com disfunção contrátil regional (por exemplo, hipocinesia, acinesia ou discinesia apical e/ou posterior-lateral) sugestiva de cardiomiopatia chagásica crônica; e) dois exames sorológicos positivos para doença de Chagas com métodos diferentes (ELISA, hemaglutinação ou imunofluorescência indireta).

Após essa seleção inicial, será apresentado o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) aos pacientes que não apresentem os critérios de exclusão iniciais: história de diabetes melito, hipertensão arterial sistêmica grave (graus leve ou mesmo moderado, controlado, são aceitáveis), frequência cardíaca < 60 bpm ou pressão arterial sistólica < 90 mmHg, e uso ou necessidade clínica de medicamento cronotrópico negativo (digitalico, betabloqueador adrenérgico ou amiodarona).

Após assinatura do TCLE, os pacientes serão submetidos a avaliação laboratorial: eletrocardiografia, Holter de 24 horas, exames de função hepática e renal, colesterol total e frações, glicemia de jejum para eventual detecção dos critérios de exclusão adicionais:

- bloqueio atrioventricular de 2º ou 3º graus;
- doença do nó sinusal;
- arritmia ventricular complexa;
- alteração de função hepática (albumina sérica < 3 g/dl ou bilirrubinas totais > 1 mg/dl ou tempo de protrombina > 25% do controle);
- alteração de função renal (creatinina > 1,4);
- diabetes melito (glicemia de jejum > 126 mg/dl).

Se não houver nenhum critério de exclusão, cada paciente será submetido a exame cintilográfico perfusio-

nal para detecção de defeitos perfusionais reversíveis, consistindo no último critério de inclusão. Aqueles apresentando tais alterações serão tratados com verapamil 80 mg duas vezes por dia + ácido acetilsalicílico 100 mg uma vez por dia, durante 90 dias. Completados os 90 dias, será repetida a cintilografia miocárdica de perfusão.

Os desfechos do estudo serão verificados após 90 dias do início do tratamento, e consistirão de: desfecho primário – redução $\geq 50\%$ das alterações perfusionais miocárdicas regionais; desfecho secundário – desaparecimento ou alívio graduado da dor precordial.

Cintilografia de perfusão miocárdica será realizada utilizando-se o método SPECT com câmara digital DST (Sopha Medical Vision, Twinsburg, Estados Unidos) equipado com um detector duplo, campo de visão retangular, processador dedicado (NXT-P, Sopha Medical Vision) e colimadores de alta resolução e baixa energia.

Teste ergométrico ou estímulo vasodilatador com dipiridamol será usado como estressor. Sestamibi-Tc99m será utilizado como radiotraçador para avaliação de fluxo sanguíneo regional miocárdico, na dose de 12 mCi a 15 mCi em repouso e de 25 mCi a 30 mCi no pico do estresse.

Cálculo amostral

O cálculo amostral será baseado nas seguintes premissas:

1) os métodos e análises cintilográficos serão os mesmos usados no trabalho que gerou a publicação de 2009, em população de chagásicos com perfil semelhante ao previsto nesta pesquisa⁴⁰;

2) a área ventricular esquerda de defeitos perfusionais reversíveis medida em mapas polares cintilográficos será da ordem de 10,2%, em média, com $\sigma = 9,7\%$ relativamente à área ventricular total;

3) com α bicaudal de 0,05 e $1/\beta = 0,8$, estima-se que para detectar, após o tratamento, redução de pelo menos 50% da área de isquemia miocárdica serão necessários 63 pacientes;

4) estimou-se em 10% a perda de pacientes entre a primeira e a segunda fases do estudo, portanto, $63/1 - 0,1 = 70$ pacientes;

5) como se estima, com base naquele estudo, que pelo menos 56% dos pacientes considerados inicialmente entrem no estudo após verificação dos critérios de inclusão e exclusão, para conseguir-se 70 deles com defeitos perfusionais será necessário arrolar 125 pacientes com as características essenciais deste estudo.

Usou-se a fórmula de cálculo amostral para detecção de diferença entre duas médias⁴⁵: $N = 2.K \cdot \sigma^2 / \Delta^2$

em que N = número de pacientes, K = constante = 7.849 para os valores de α e β acima definidos, $\sigma = 9,7$ e $\Delta = 4,85 = 50\%$ de 10,2.

CONCLUSÕES

Este é o primeiro estudo de intervenção terapêutica para atenuar ou reverter alterações miocárdicas isquêmicas de origem microvascular em pacientes com cardiopatia chagásica crônica.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses relacionado a este manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. Marin-Neto JA, Cunha Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. *Circulation*. 2007; 115(9):1109-23.
2. Rossi MA, Tanowitz HB, Malvestio LM, Celes MR, Campos EC, Blefari V, et al. Coronary microvascular disease in chronic Chagas cardiomyopathy including an overview on history, pathology, and other proposed pathogenic mechanisms. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4(8):e674.
3. Vianna G. Contribuição para o estudo da anatomia patológica da moléstia de Chagas. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1911;3(2): 276-94.
4. Torres CM. Miocitólise e fibrose do miocárdio na doença de Chagas. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 1960;58(1):161-82.
5. Ferrans VJ, Milei J, Tomiata Y, Storino RA. Basement membrane thickening in cardiac myocytes and capillaries in chronic Chagas' disease. *Am J Cardiol*. 1988;61(13):1137-40.
6. Laranja FS, Dias E, Nobrega G, Miranda A. Chagas' disease: a clinical, epidemiologic and pathologic study. *Circulation*. 1956;14(6):1035-59.
7. Köberle F. Chagas' heart disease and Chagas' syndromes: the pathology of American trypanosomiasis. *Adv Parasitol*. 1968; 6:63-116.
8. Ferreira CS, Lopes ER, Chapadeiro E, Almeida HO, Souza WF, Silva Neto JJ. Coronariografia post-mortem na cardite chagásica crônica: correlação anátomo-radiológica. *Arq Bras Cardiol*. 1980;34(2):81-6.
9. Higuchi ML, Brito T, Parzianello LC, Fukasawa S, Ramires JA. Severe arteriolar dilatation and ischemic lesions in chronic Chagas' cardiopathy: a 3D confocal laser microscopic study. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:382.
10. Morris SA, Tanowitz HB, Wittner M, Bilezikian JP. Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas' disease. *Circulation*. 1990;82(6):1900-9.
11. Rossi MA. Microvascular changes as a cause of chronic cardiomyopathy in Chagas' disease. *Am Heart J*. 1990;120(1):233-6.
12. Oliveira JAM. Heart aneurysm in Chagas disease. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1998;40(5):301-7.
13. Higuchi ML, Fukasawa S, De Brito T, Parzianello LC, Bellotti G, Ramires JA. Different microcirculatory and interstitial matrix patterns in idiopathic dilated cardiomyopathy and Chagas disease: a three dimensional confocal microscopy study. *Heart*. 1999;82(3):279-85.
14. Oliveira JSM, Santos JCM, Muccillo G, Ferreira AL. Increased capacity of the coronary arteries in chronic Chagas' heart disease: further support for the neurogenic pathogenesis concept. *Am Heart J*. 1985;109(2):304-8.
15. Oliveira JAM. Observações sobre a histoquímica de algumas enzimas do miocárdio na fase crônica da infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*, Chagas, 1909, em ratos Wistar. *Rev Goiana Med*. 1976;22(1):1-65.
16. Rossi MA, Gonçalves S, Ribeiro-dos-Santos R. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: the potential role of intravascular platelet aggregation in its genesis. *Am J Pathol*. 1984;114(2):209-16.
17. Rossi MA, Carobrez SG. Experimental *Trypanosoma cruzi* cardiomyopathy in BALB/c mice: histochemical evidence of hypoxic changes in the myocardium. *Br J Exp Pathol*. 1985; 66(2):155-60.
18. Factor SM, Cho S, Wittner M, Tanowitz HB. Abnormalities of the coronary microcirculation in acute murine Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg*. 1985;34(2):246-53.
19. Rossi MA. Aortic endothelial cell changes in the acute septicemic phase of experimental *Trypanosoma cruzi* infection in rats: scanning and transmission electron microscopy study. *Am J Trop Med Hyg*. 1997;57(3):321-7.
20. Andrade ZA, Andrade SG, Correa R, Sadigursky M, Ferrans VJ. Myocardial changes in acute *Trypanosoma cruzi* infection: ultrastructural evidence of immune damage and the role of microangiopathy. *Am J Pathol*. 1994;144(6):1403-11.
21. Morris SA, Tanowitz HB, Makman M. *Trypanosoma cruzi*: alteration of cAMP metabolism following infection of human endothelial cells. *Exp Parasit*. 1992;74(1):69-76.
22. Libby P, Alroy J, Pereira MEA. A neuraminidase from *Trypanosoma cruzi* removes sialic acid from the surface of mammalian myocardial and endothelial cells. *J Clin Invest*. 1986;77(1):127-35.
23. Tanowitz HB, Burns ER, Sinha KA, Kahn NN, Morris SA, Factor SM, et al. Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas' heart disease: a potential pathogenic mechanism for cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg*. 1990;43(3):274-81.
24. Morris SA, Weiss LM, Factor SM, Bilezikian JP, Tanowitz H, Wittner M. Verapamil ameliorates clinical, pathological and biochemical manifestations of the experimental chagasic cardiomyopathy in mice. *J Am Coll Cardiol*. 1989;14(3):782-9.
25. Tanowitz HB, Kaul DK, Chen B, Morris SA, Factor SM, Weiss LM, et al. Compromised microcirculation in acute murine *Trypanosoma cruzi* infection. *J Parasitol*. 1996;82(1):124-30.
26. Ferreira V, Molina MC, Schwaeble W, Lemus D, Ferreira A. Does *Trypanosoma cruzi* calreticulin modulate the complement system and angiogenesis? *Trends Parasitol*. 2005;21(4):169-74.
27. Marin-Neto JA, Rasssi Jr A, Simões MV, Maciel BC, Schmidt A. Chagas heart disease. In: Yusuf S, Cairns JA, Camm AJ, Fallen EL, Gersh BJ, editors. *Evidence-based cardiology*. 3rd ed. New York: Wiley Blackwell; 2010. p. 823-41.
28. Feit A, El-Sherif N, Korostoff S. Chagas' disease masquerading as coronary artery disease. *Arch Intern Med*. 1983;143(1):144-5.
29. Simões MV, Mello Ayres E, Attab-Santos JL, Schmidt A, Pintya AO, Maciel BC, et al. Detection of myocardial ischemia in Chagas' heart disease patients with angina-like symptoms by the effort test and holter monitoring. *Arq Bras Cardiol*. 1993; 60(5):315-9.
30. Hammermeister KE, Caeiro T, Crespo E, Palmero H, Gibson DG. Left ventricular wall motion in patients with Chagas' disease. *Br Heart J*. 1984;51(1):70-6.
31. Arreaza N, Puigbó JJ, Acquatella H, Casal H, Giordano H, Valecillos R, et al. Radionuclide evaluation of left ventricular function in chronic Chagas' cardiomyopathy. *J Nucl Med*. 1983; 24(7):563-7.
32. Hagar JM, Rahintool SH. Chagas' heart disease in the United States. *N Engl J Med*. 1991;325(11):763-8.
33. Torres FW, Acquatella H, Condado JA, Dinsmore R, Palácios IF. Coronary vascular reactivity is abnormal in patients with Chagas' disease. *Am Heart J*. 1995;129(5):995-1001.
34. Marin-Neto JA, Simões MV, Ayres-Neto EM, Santos JLA, Gallo Junior L, Amorim DS, et al. Studies of the coronary circulation in Chagas' heart disease. *São Paulo Med J*. 1995;113(2):826-34.

35. Kuschnir E, Kustich F, Epelman M, Santamarina N, Podio RB. Valoración de flujo miocárdico con Rb 86, en pacientes con cardiopatía chagásica, con insuficiencia coronaria y en controles normales. Parte 1: Estudios basales. *Arq Bras Cardiol.* 1974;27(1):187-96.
36. Kuschnir E, Kustich F, Epelman M, Santamarina N, Podio RB. Valoración de flujo miocárdico con Rb 86, en pacientes con cardiopatía chagásica, con insuficiencia coronaria y en controles normales. Parte 2: Respuesta al ejercicio y a la cardiotonificación aguda. *Arq Bras Cardiol.* 1974;27:721-32.
37. Castro R, Kuschnir E, Sgammini H. Evaluación de la performance cardíaca y perfusión miocárdica con radiotrazadores en la cardiopatía chagásica crónica. *Fed Arg Cardiol.* 1988; 17(2):226-31.
38. Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C, Gallo Junior L, Maciel BC, Bellina CR, et al. Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas' disease as detected by thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol.* 1992;69(8):780-4.
39. Simões MV, Pintya AO, Marin GB, Sarabanda AV, Antloga CM, Pazin-Filho A, et al. Relation of regional sympathetic denervation and myocardial perfusion disturbances to wall motion impairment in Chagas cardiomyopathy. *Am J Cardiol.* 2000;86(9):975-81.
40. Hiss FC, Lascala TF, Maciel BC, Marin-Neto JA, Simões MV. Changes in myocardial perfusion correlate with deterioration of left ventricular systolic function in chronic Chagas cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol Img JACC Cardiovasc Imaging.* 2009;2(2):164-72.
41. Brandão JMM, Miziara A, Figueiredo GL, Lima Filho MO, Ayres-Neto EM, Marin-Neto JA. Potenciação pós-extrassistólica na cardiopatía chagásica crónica. Estudo com ventriculografia de contraste radiológico. *Arq Bras Cardiol.* 2005;84(5): 376-80.
42. Miziara A, Marin-Neto JA, Marchini JFM, Figueiredo GL, Pintya AO, Simões MV, et al. Discinergia ventricular esquerda reversível identificada por potenciação pós-extrassistólica em miocardiopatía chagásica crónica não é causada por hibernação miocárdica. *Rev Bras Cardiol Invasiva.* 2009;17(3):358-68.
43. Kuschnir E, Sgammini H, Castro R, Evequoz C, Ledesma R. Miocardiopatía chagásica crónica: efectos del dipiridamol sobre la dinámica ventricular. *Arq Bras Cardiol.* 1983;41(5):373-8.
44. Marin-Neto JA, Souza ACS, Maciel BC, Gallo Junior L, Iazigi N. Avaliação angiocardiógráfrica nuclear do efeito do dinitrato de isosorbitol em pacientes chagásicos. *Arq Bras Cardiol.* 1988;51(5):367-71.
45. Wassertheil-Smoller S. *Biostatistics and epidemiology: a primer for health and biomedical professionals.* 3rd ed. New York: Springer Verlag; 2004.