

PAOLA ROSA LUZ

**DETERMINAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DA LECTINA LIGANTE DE
MANOSE (MBL) E DA PROTEÍNA C-REATIVA (CRP) EM PORTADORES DA
DOENÇA DE CHAGAS CRÔNICA**

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre, pelo Programa de Pós
Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de
Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.
Orientadora: Prof.^a Dr.^a Iara José Messias-Reason

**CURITIBA
2008**

Há quase 100 anos, na pequenina Lassance, lugarejo histórico situado no Vale do Rio das Velhas em Minas Gerais, uma série de pessoas humildes participavam juntamente com Carlos Chagas de sua grande descoberta. Entre elas, a menina Berenice, a primeira paciente tratada dedicadamente por Chagas. Sem dúvida figura histórica, e uma das primeiras "colaboradoras" do genial cientista brasileiro.

Ao lembrar este fato, dedico este trabalho a todos os colaboradores voluntários, espalhados por todo o Brasil. Em seu trabalho anônimo do dia-a-dia, prestam serviço inestimável à saúde do País, exemplo de solidariedade humana, merecedor de todo o reconhecimento.

AGRADECIMENTOS

Durante esta trajetória tive a oportunidade de conhecer e de contar com a ajuda de muitas pessoas cuja participação facilitou enormemente o desenvolvimento deste trabalho. Registro aqui meus sinceros agradecimentos a todos que de alguma forma colaboraram na sua concretização.

Não poderia deixar de agradecer primeiramente a minha orientadora, Dr^a. Iara José de Taborda Messias-Reason, não apenas pela orientação dedicada, mas por sua amizade e carinho. Agradeço ainda:

- ❖ A colaboração da equipe do Ambulatório de Atenção ao Paciente Chagásico, representado pela Dr^a Márcia Iurico Miyazaki, Rehlindes Teleginski Rodrigues e Luisa Fanes, cuja parceria foi fundamental e certamente rendeu bons frutos, incluindo a realização de novas amizades.
- ❖ A inestimável colaboração do biólogo Ery Pedro Tavares, pela participação ativa e companheirismo durante as coletas das amostras dos pacientes.
- ❖ Ao bioquímico Renato Nisihara pela imprescindível ajuda na realização dos imunoenaios e no desenvolvimento da parte estatística.
- ❖ À bióloga Leonilda Maria Trierweiler, da Sorologia do HC-UFPR, pelo auxílio nas determinações das concentrações séricas da CRP.
- ❖ Ao Dr. Nelson Chiminacio Neto, médico residente do serviço de Ecocardiografia do HC-UFPR, pela ajuda na análise dos prontuários médicos dos pacientes e pelas verdadeiras aulas de fisiologia que muitas vezes tornavam-se nossos encontros, sobre este fascinante órgão que é o coração.
- ❖ À Dr^a Angélica W. Boldt pela amizade e presença constante, além da boa vontade nas correções da parte escrita.

- ❖ À Prof^a Dr^a Shirley Ramos da Rosa Utyiama pelas valiosas sugestões e ajuda na correção do trabalho.
- ❖ Aos demais técnicos e colegas do Laboratório de Imunopatologia do HC pelo apoio e bom convívio.
- ❖ Aos pacientes, razão deste estudo, e aos controles saudáveis pela participação voluntária, exemplo de altruísmo e solidariedade.
- ❖ À secretária da Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFPR, Regina Montrezol, pela constante ajuda e boa vontade na resolução das questões burocráticas do curso.
- ❖ Aos colegas de mestrado que tornaram esta jornada mais prazerosa, especialmente à Adélia Grzybowski, Luciane Tulcholski e Brenda Folly.
- ❖ Aos familiares e amigos que sempre me incentivaram.
- ❖ E, finalmente, agradeço a Deus por ter colocado todas estas pessoas no meu caminho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	iii
LISTA DE QUADROS E TABELAS	ix
LISTA DE GRÁFICOS.....	xi
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xii
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xiv
1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	3
2.1 DOENÇAS NEGLIGENCIADAS.....	3
2.2 DOENÇA DE CHAGAS.....	4
2.2.1 Histórico	4
2.2.2 Agente etiológico e vetores	5
2.2.3 Ciclo de vida.....	6
2.2.4 Transmissão.....	8
2.2.5 Epidemiologia.....	9
2.2.6 Sintomatologia e Formas Clínicas.....	11
2.2.7 Aspectos Imunopatológicos.....	14
2.2.7.1 Patogênese da Cardiomiopatia Chagásica Crônica	15
2.2.8 Diagnóstico laboratorial	17
2.2.9 Tratamento e Prevenção	18
2.3 O SISTEMA COMPLEMENTO	19
2.3.1 Vias de Ativação.....	20
2.3.2 O Sistema Complemento na Doença de Chagas	22
2.4 A LECTINA LIGANTE DE MANOSE	24
2.4.1 Estrutura e Funções	24
2.4.2 Polimorfismo do gene <i>MBL2</i>	27
2.4.3 MBL e Associação com Doenças.....	29
2.5 PROTEÍNA C-REATIVA	31
2.5.1 Considerações Gerais.....	31
2.5.2 Estrutura Molecular e Função Biológica	31

2.5.3 Utilização Clínica da CRP	33
2.6 CRP E MBL NA DOENÇA DE CHAGAS	34
3 OBJETIVOS	36
3.1 OBJETIVO PRINCIPAL	36
3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS	36
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	36
4.1 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA	36
4.2 CASUÍSTICA	37
4.2.1 Pacientes.....	37
4.2.1.1 Aspectos Gerais	37
4.2.1.2 Sexo	37
4.2.1.3 Grupo étnico	38
4.2.1.4 Formas Clínicas	39
4.2.1.5 Grupos Etários	41
4.2.2 Controles	41
4.3 METODOLOGIA	42
4.3.1 Coleta de sangue	42
4.3.2 Quantificação Sérica de MBL	42
4.3.3 Quantificação da Proteína-C Reativa de alta sensibilidade.....	44
4.3.4 Análise Estatística	45
5 RESULTADOS	46
5.1 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP ENTRE PACIENTES E CONTROLES	46
5.2 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS EM RELAÇÃO À CLASSIFICAÇÃO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA.....	50
5.3 DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL NOS PACIENTES E CONTROLES	54
5.4 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO	56
5.5 CONCENTRAÇÕES DE MBL E CRP NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO À IDADE	57
5.6 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS.....	61

5.7 DISTRIBUIÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA, DE ACORDO COM SEXO, IDADE E ETNIA DOS PACIENTES E CONTROLES	62
5.8 CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES SÉRICOS DE MBL E CRP NOS PACIENTES.....	67
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	72
7 CONCLUSÕES	74
REFERÊNCIAS	75
APÊNDICES.....	87

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CARLOS CHAGAS.....	4
FIGURA 2 - INSETO DO GÊNERO TRIATOMA.....	6
FIGURA 3 - CICLO DE VIDA DO <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
FIGURA 4 - MUNICÍPIOS DE ÁREAS CHAGÁSICAS NO PARANÁ (1979-2000) ...	10
FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA EVOLUÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA DE CHAGAS.....	13
FIGURA 6 - VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO	20
FIGURA 7 - ESTRUTURA DA MOLÉCULA DE MBL.....	25
FIGURA 8 - FUNÇÕES DA MBL.....	26
FIGURA 9 - GENE <i>MBL2</i>	27
FIGURA 10 - ESTRUTURA DA MOLÉCULA DA CRP.....	32
FIGURA 11 - FUNÇÕES BIOLÓGICAS DA CRP.....	32

LISTA DE QUADROS E TABELAS

QUADRO 1 - ESTADIAMENTO DO COMPROMETIMENTO MIOCÁRDICO NA CARDIOMIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA.....	40
TABELA 1 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP ENTRE PACIENTES E CONTROLES	46
TABELA 2 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DOS PACIENTES E OS CONTROLES.....	47
TABELA 3 - COMPARAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE MBL E DE CRP ENTRE AS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E OS CONTROLES NORMAIS.....	49
TABELA 4 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP NOS PACIENTES COM E SEM A FORMA CARDÍACA SEGUNDO O RISCO ASSOCIADO À DOENÇA CARDIOVASCULAR.....	50
TABELA 5 - COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS NAS DIFERENTES CLASSES FUNCIONAIS.....	51
TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS NAS DIFERENTES CLASSES FUNCIONAIS SEGUNDO O RISCO DE DOENÇA CARDIOVASCULAR.....	52
TABELA 7 - COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA	53
TABELA 8 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS ENTRE AS DIFERENTES CLASSES FUNCIONAIS E CONTROLES	54
TABELA 9 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA ENTRE OS PACIENTES TOTAIS E OS CONTROLES.....	55
TABELA 10 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA ENTRE OS PACIENTES NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS E OS CONTROLES.....	55
TABELA 11 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO	56

TABELA 12 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS EM RELAÇÃO AO SEXO	57
TABELA 13 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉERICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA	58
TABELA 14 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉERICA DE CRP NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA	59
TABELA 15 - CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS E A IDADE	59
TABELA 16 - MEDIANA DE IDADE NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS.....	61
TABELA 17 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉERICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS	62
TABELA 18 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉERICA NOS PACIENTES TOTAIS DE ACORDO COM O SEXO, A FAIXA ETÁRIA E O GRUPO ÉTNICO	63
TABELA 19 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉERICA NAS FORMAS CLÍNICAS CARDÍACA ISOLADA E ASSOCIADA DE ACORDO COM O SEXO, A FAIXA ETÁRIA E A ETNIA.....	64
TABELA 20 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉERICA NOS PACIENTES NÃO CARDÍACOS DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA DOS PACIENTES	65
TABELA 21 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉERICA NOS CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO, A FAIXA ETÁRIA E O GRUPO ÉTNICO	66
TABELA 22 - CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL	67

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM O SEXO	38
GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO.....	39
GRÁFICO 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA.....	40
GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA.....	41
GRÁFICO 5 – CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES NORMAIS.....	48
GRÁFICO 6 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CRP NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS	48
GRÁFICO 7 – VALORES MÉDIOS DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA.....	58
GRÁFICO 8 - CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL E A IDADE NOS PACIENTES CARDÍACOS.....	60
GRÁFICO 9 - CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AHA	- <i>American Heart Association</i>
CCC	- Cardiomiopatia chagásica crônica
CRD	- Domínio de Reconhecimento de Carboidratos
CRP	- <i>C Reactive Protein</i>
DAF	- Fator acelerador de decaimento
DC	- Doença de Chagas
DTH	- Hipersensibilidade do tipo tardia
ELISA	- Ensaio de imunoadsorção ligado à enzima
Fc	- Fragmento cristalizável das imunoglobulinas
FEVE	- Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
Funasa	- Fundação Nacional de Saúde
HC	- Hospital de Clínicas
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana adquirida
HRP	- <i>Horseradish peroxidase</i>
hs-CRP	- <i>high sensitivity CRP</i>
IC	- Insuficiência cardíaca
IFI	- Imunofluorescência indireta
IL	- Interleucina
KDa	- Quilodaltons
LES	- Lupus eritematoso sistêmico
MAC	- <i>Membrane Attack Complex</i>
MASP	- <i>MBL-associated Serine Protease</i>
MBL	- <i>Mannose Binding Lectin</i>
NK	- <i>Natural Killer</i>
OMS	- Organização Mundial da Saúde
Phc	- Fosfatidilcolina
snRNP	- ribonucleoproteína
SNP	- <i>Single Nucleotide Polymorphism</i>
Sucam	- Superintendência de Campanhas de Saúde Pública
SMF	- <i>Sistema Mononuclear Fagocítico</i>
TMB	- tetrametilbenzidina

RESUMO

A Doença de Chagas afeta aproximadamente 18 milhões de pessoas em toda América Latina. Embora a maioria dos indivíduos infectados permaneça na forma indeterminada, ou assintomática, a cada ano cerca de 2 a 5% destes evoluem para alguma das formas sintomáticas da doença, com comprometimento cardíaco, digestivo e neurológico. Estima-se que 30% - 40% dos pacientes desenvolvem a cardiomiopatia chagásica crônica (CCC), a qual é caracterizada por uma inflamação crônica, progressiva e multifocal, com formação de fibrose e perda de função, levando à insuficiência cardíaca (IC). Não existe marcador laboratorial capaz de indicar quais pacientes evoluirão da forma indeterminada para as formas sintomáticas da DC. A lectina ligante de manose (MBL) é uma molécula de reconhecimento do sistema imune inato que desempenha um importante papel na primeira linha de defesa contra infecções. Sua relevância é bem conhecida em diferentes doenças infecciosas, inflamatórias e autoimunes. A deficiência de MBL tem sido relacionada com susceptibilidade em infecções causadas por vírus, bactérias, fungos e protozoários. Por outro lado, altos níveis de MBL parecem beneficiar patógenos intracelulares, os quais se utilizam da opsonização por C3 para invadir as células do hospedeiro. Além disso, existem evidências do papel pró-inflamatório da MBL e sua participação na injúria tecidual, influenciando na gravidade de várias doenças, incluindo cardiovasculares. A proteína C - reativa (CRP) é uma proteína de fase aguda com importante função na defesa do organismo e tem sido utilizada como marcador prognóstico para doenças cardiovasculares. No presente estudo determinou-se as concentrações séricas de MBL e CRP em pacientes chagásicos crônicos e sua relação com a susceptibilidade, progressão e gravidade da doença. Foram investigados 150 pacientes, 70 (46,7%) homens e 80 (53,3%) mulheres, mediana da idade de $57 \pm 9,7$ anos, apresentando as formas clínicas indeterminada ($n = 62$), cardíaca ($n = 54$), digestiva ($n = 15$) e associada ($n = 19$), além de 139 controles saudáveis. As concentrações séricas de MBL e CRP foram determinadas através de ensaio de imunoadsorção ligado à enzima e por nefelometria, respectivamente. Embora não tenham sido observadas diferenças significativas nos níveis de MBL entre pacientes e controles ($p=ns$), esses foram mais elevados nos pacientes masculinos quando comparados ao sexo feminino ($p = 0,0396$). Observou-se uma associação positiva entre altos níveis de MBL em pacientes com IC quando comparado aos pacientes sem IC (Med = 2.369 ng/ml vs 800 ng/ml; $p = 0,0204$). Com relação aos níveis de CRP, não se observou diferença significativa entre as diferentes formas clínicas, porém um aumento não significativo ocorreu no grupo com IC, em relação ao grupo sem IC. Um aumento gradativo dos níveis séricos de MBL com a faixa etária foi observado nos pacientes totais ($p=0,0115$) e na forma cardíaca ($p = 0,0270$). Por fim, uma associação positiva entre valores altos de MBL (> 1.000 ng/ml) e a idade nos pacientes totais [64% ou 11/17 vs 36% ou 49/84; p Fisher = 0,027; O.R = 1,69] foi evidenciada. De acordo com os resultados obtidos, a deficiência de MBL parece não conferir susceptibilidade à infecção pelo *T. cruzi* "per se". Porém, altas concentrações da proteína estão associadas com a gravidade do acometimento cardíaco e permitem sugerir um papel pró-inflamatório da MBL na progressão da CCC, promovendo ativação do complemento e injúria tecidual, contribuindo para o desenvolvimento da IC.

ABSTRACT

Chagas disease affects approximately 18 millions of people widespread throughout Latin America. Although, most of infected individuals remain in the indeterminate or asymptomatic form of the disease, about 2 - 5% of them progress, each year, to some of the symptomatic forms, presenting cardiac, digestive and neurologic commitment. About 30% - 40% of patients will develop the chronic chagasic cardiomyopathy (CCC), which is characterized by a chronic, progressive and multifocal inflammation, with fibrosis and function lost, leading to cardiac insufficiency (CI). There is no available laboratory marker to indicate which patients will progress from the indeterminate to the symptomatic forms. Mannose binding lectin (MBL) is a recognition molecule of the innate immunity that plays a crucial role in host defense, mediating the phagocytosis and complement-mediated destruction of pathogens. There are several studies emphasizing the relevance of MBL in different infectious, inflammatory and autoimmune diseases. MBL deficiency has been implicated in susceptibility in viral, bacterial, fungal, and protozoan infections. However, high MBL levels might be advantageous for intracellular organisms, which use C3 opsonization to enter the host cells. In addition, a relevant role for MBL in the tissue injury involved in inflammatory cardiac disorders has been suggested. C-Reactive Protein (CRP) is an acute phase protein with an important function in the inflammatory response, used as a prognostic marker of cardiovascular diseases. The aim of this study was to determinate MBL and CRP levels and to investigate their relationship with susceptibility, progression and severity in chronic Chagas disease. The study included 150 chagasic patients - 80 female and 70 male; median age = $57 \pm 9,7$ years - presenting indeterminate (n=62), cardiac (n=54), digestive (n = 15) and associated (n=19) clinical forms. As controls 139 healthy subjects were investigated. MBL and CRP levels were measured through enzyme-linked immunosorbent assay and nephelometry, respectively. There was no significant difference in MBL levels between patients and controls. However, MBL levels were increased in male when compared with female patients ($p = 0,0396$). A positive association between high MBL levels (>1.000 ng/ml) was observed in patients presenting CI (Med = 2.369 ng/ml) when compared with individuals without CI (Med = 800 ng/ml; $p = 0,0204$). There was no statistic difference in CRP levels between the clinical forms, and although they were increased in the patients with CI in relation to the patients without CI, this difference was not significant. In addition, a progressive increase of MBL levels was evidenced with the age in the patients total ($p=0,0115$) and cardiac patients ($p = 0,0270$). Finally, a positive association between high MBL levels (> 1.000 ng/ml) and patients age [64%, 11/17 vs 36%, 49/84; p Fisher = 0,027; O.R = 1,69] was evidenced. According to these results, MBL deficiency appears not to confer susceptibility to *T. cruzi* infection "per se". However, high concentrations of this protein were associated with severity of cardiac commitment. These data suggest a pro-inflammatory role for MBL in CCC progression, by promoting complement activation and tissue injury contributing to CCI development.

1 INTRODUÇÃO

O sistema complemento possui importância fundamental na homeostasia e na defesa imunológica do organismo, sendo que interações entre diversas proteínas séricas do hospedeiro podem ativá-lo através das vias clássica, alternativa e das lectinas.

A MBL (lectina ligante de manose) representa a proteína central de ativação da via das lectinas, a qual desempenha importante papel na primeira linha de defesa do hospedeiro contra infecções, antes da produção de anticorpos. A MBL se liga a carboidratos presentes na superfície de diversos patógenos, promovendo a opsonização, fagocitose e sua destruição mediada pela ativação do complemento (TURNER, 2003). A variação da concentração interindividual de MBL é geneticamente determinada (MADSEN et al., 1995). Cerca de 13% da população mundial possui haplótipos que determinam baixa produção de MBL e 22% simplesmente não a produz (VERDU et al., 2006). Baixas concentrações de MBL têm como consequência diminuição ou ausência da ativação da via das lectinas do complemento, e estão associadas a uma maior susceptibilidade a infecções por vírus, bactérias, fungos e protozoários. Porém, em alguns casos, a deficiência de MBL parece ser vantajosa, especialmente em infecções causadas por patógenos intracelulares, os quais usam a opsonização por componentes do complemento e seus respectivos receptores nos fagócitos para infectar o hospedeiro (TURNER, 2003). Além disso, existem evidências do seu papel pró-inflamatório e participação na injúria tecidual, influenciando na gravidade de várias doenças, inclusive cardiovasculares (JORDAN; MONTALTO; STAHL, 2001; BUSCHE et al., 2008).

A proteína C-Reativa (CRP) participa das reações inflamatórias agudas, exercendo um importante papel na defesa do organismo. Esta proteína tem sido bastante utilizada como marcador prognóstico em cardiopatias não chagásicas.

A Doença de Chagas (DC) é uma das doenças de mais larga distribuição no continente americano, afetando milhões de indivíduos, com relevantes implicações médicas, sociais e econômicas (JUNQUEIRA JUNIOR, 2006). O *Trypanosoma cruzi*, agente causal da DC, é um patógeno intracelular obrigatório, que infecta principalmente macrófagos, fibroblastos, células do miocárdio, gliais e reticuloendoteliais (LEVINSON; JAWETZ, 2006; LIEKE et al., 2006).

Muitos medicamentos foram testados contra o *T. cruzi*, porém, sem sucesso (DIAS, 1999). As drogas utilizadas atualmente no tratamento etiológico são efetivas apenas na fase aguda da infecção e o tratamento é frequentemente interrompido devido aos efeitos colaterais. Há mais de 25 anos não são produzidos novos medicamentos (DOS SANTOS; SOARES; DE CARVALHO, 2004; DNDI, 2007).

A infecção chagásica ocorre predominantemente nos primeiros anos de vida. Os indivíduos que sobrevivem ao período agudo da infecção permanecem infectados pelo resto da vida, pela inexistência de tratamento efetivo. É considerada uma doença incapacitante, que na sua fase crônica acomete indivíduos em idade produtiva, apresentando repercussões importantes de ordem socioeconômica e previdenciária. A magnitude do custo social da doença torna-se evidente quando se considera o elevado número de pessoas infectadas. Destaca-se o elevado custo social incidente sobre a imensa parcela da força de trabalho dedicado à produção agrícola. Em alguns dos centros metropolitanos, a prevalência de trabalhadores acometidos pela doença é de 4 a 7% (VINHAES; DIAS, 2000). Além disso, os indivíduos chagásicos são muitas vezes estigmatizados pelo diagnóstico da doença, chegando a ser rejeitados em exames admissionais (IANNI; MADY, 1997).

A mortalidade precoce e invalidez causada pela DC resultam em uma perda econômica devastadora nas Américas. Em 1995, esta foi estimada em US\$ 8,156 milhões, o qual é equivalente a 2.5% da dívida externa da América Latina. Entre 1979 e 1981, cerca de 300 milhões de dólares foram gastos no Brasil, segundo estimativas baseadas no número total de casos da doença naquele período (MONCAYO, 1997; MONCAYO, 2003). De acordo com pesquisas recentes a DC está associada com 14.000 mortes por ano e 0,7 milhões de incapacitados, globalmente, constituindo a sexta mais importante doença tropical negligenciada do mundo (HOTEZ et al., 2007). A DC é um exemplo primário do peso significativo e sofrimento imposto pelas doenças negligenciadas, altamente prevalentes nas Américas (FRANCO-PAREDES et al., 2007).

Os avanços alcançados no controle da transmissão vetorial é um fator determinante da redução do número de chagásicos, contudo, é preciso avançar no controle da doença existente entre os milhões de infectados (YASUDA, 2000). Estratégias no sentido de se definir grupos de risco, passíveis de intervenção terapêutica e/ou readaptação profissional, são fundamentais e devem ser encorajadas (RIBEIRO; ROCHA, 1998; YASUDA, 2000).

Existe uma ampla variação na evolução das formas clínicas da DC, que compreende casos de inalterabilidade por toda vida à progressão continuada da doença, culminando com a morte do indivíduo. Porém, há muita controvérsia sobre que fatores influenciam essa evolução. Embora numerosos estudos tenham demonstrado o envolvimento da resposta imune na fisiopatogenia da DC, nenhum estudo investigou a participação da MBL nessa doença. Além disso, um único estudo investigou o papel da CRP na cardiopatia chagásica crônica, reuendo investigações mais apuradas.

A elucidação dos processos imunopatológicos envolvidos na DC é essencial não somente para melhorar o entendimento da sua patogênese, como também os métodos de prevenção e terapêuticos, conduzindo a possíveis medidas que possam modificar a história natural em benefício dos milhões de chagásicos existentes. Considerando-se a ausência de marcadores prognósticos capazes de indicar os caminhos da evolução da DC, o presente trabalho visa contribuir neste aspecto, investigando a influência das concentrações séricas de MBL e CRP em pacientes chagásicos na evolução clínica dessa esquecida população.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

As doenças negligenciadas são doenças que afetam milhares de pessoas ao redor do mundo, mas que não dispõem de tratamentos eficazes ou adequados. Em sua maioria, são doenças tropicais infecciosas que afetam principalmente populações pobres e esquecidas; a exemplo da leishmaniose, da doença do sono, da malária e da DC, que geram um impacto devastador sobre a humanidade. Nas doenças "extremamente negligenciadas", como a DC, a maioria dos indivíduos infectados é oriunda de área rural, pertencente aos extratos sociais menos favorecidos e, portanto, com baixo poder aquisitivo. Por este motivo, tais doenças têm sido progressivamente marginalizadas, pois não existe interesse por parte da indústria farmacêutica em investir na pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos (DNDI, 2007; FRANCO-PAREDES et al., 2007).

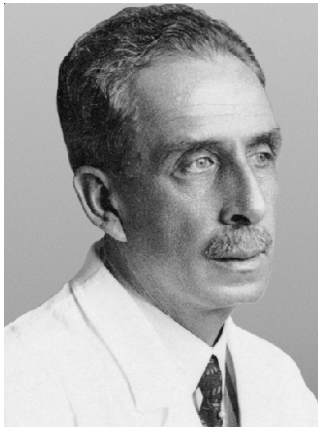
2.2 DOENÇA DE CHAGAS

2.2.1 Histórico

“Em 1907, ei-lo no vale do Rio das Velhas, no lugarejo histórico de Lassance, cumprindo o seu rigoroso programa de luta antipalúdica que o mais perfeito sucesso viria coroar. A sua casa e o seu laboratório eram apenas um vagão de estrada de ferro... Distante da família, longe do conforto, em que se criara, lutava frente a frente contra o terrível mal, porfiando com incedível zelo na preservação da saúde dos obreiros por cuja vida os responsabilizara. Movido por nobilíssimo sentimento de compaixão humana, ia sempre muito além do que lhe exigiam as obrigações da rotina profilática. Percorria aquelas paragens desoladas, levando a incontáveis vítimas de muitos males o remédio salvador e a palavra amiga, guiado seu cérebro privilegiado de pesquisador pelos impulsos generosos de seu coração de médico” (DIAS, E., 1989).

A citação acima se refere à trajetória de Carlos Ribeiro Justiniano Chagas (FIGURA 1), médico sanitarista e genial cientista brasileiro, que em 1909 concluiu as pesquisas destinadas a debelar a tripanossomíase americana, posteriormente denominada Doença de Chagas, em sua homenagem.

FIGURA 1 - CARLOS CHAGAS



FONTE: Capa do J. Bras. Patol. Med. Lab. vol.38 nº 4 (2002)

Recém formado em Medicina, com uma tese sobre o controle da malária, integrou-se à equipe de Oswaldo Cruz chefiando os trabalhos de combate à malária em Lassance, Minas Gerais, onde estava sendo construída a Estrada de Ferro Central do Brasil. Como bom cientista, sua curiosidade levou-o a examinar animais e

peessoas, buscando informações sobre as principais doenças da região. Encontrou barbeiros infectados com uma espécie de protozoário ainda desconhecida, e os enviou para Oswaldo Cruz, que em seu laboratório, no Rio de Janeiro, conseguiu infectar micos, comprovando a suspeita de Chagas de que este protozoário deveria ser uma espécie nova que circularia entre barbeiro, mamíferos e talvez humanos. A partir daí, Carlos Chagas procurou incessantemente aquele protozoário no sangue de pessoas e animais residentes em casas infestadas por barbeiros. Foi assim que no dia 14 de abril de 1909, ao examinar Berenice, uma criança febril de dois anos de idade, Carlos Chagas descobriu em seu sangue aquele mesmo protozoário encontrado nos barbeiros e nas diversas espécies de animais examinados. Sua sintomatologia coincidia com àquela observada nos animais experimentalmente infectados em laboratório (NEVES, 2005; FIOCRUZ, 2007).

O trabalho de Carlos Chagas é único na história da medicina. Este notável pesquisador não somente identificou o agente etiológico, como também seus reservatórios, além de estudar a morfologia e biologia do parasito nos hospedeiros vertebrado e invertebrado. Seu trabalho abrange ainda diversos outros aspectos da doença, tais como: anatomia patológica, epidemiologia, etiologia, formas clínicas, meios de transmissão, patogenia, profilaxia e sintomatologia (NEVES, 2005). Foi ele ainda o primeiro a discutir a importância social da nova doença, entre as endemias que assolavam o País. Fazendo uso das palavras do seu mentor, Oswaldo Cruz:

"O descobrimento desta moléstia constitui o mais belo exemplo do poder da lógica a serviço da ciência. Nunca até agora, nos domínios das pesquisas biológicas, se tinha feito um descobrimento tão complexo e brilhante e, o que mais, por um só pesquisador".

2.2.2 Agente etiológico e vetores

O *Trypanosoma cruzi*, protozoário flagelado causador da DC, assim denominado por Carlos Chagas em homenagem a Oswaldo Cruz, é um parasita intracelular que infecta uma variedade de tipos celulares, mas principalmente macrófagos e fibroblastos (LIEKE et al., 2006). O *T. cruzi* é transmitido por um inseto hematófago vulgarmente conhecido por "barbeiro", "chupão" ou "fincão" (FIGURA 2). Os barbeiros, também chamados chupanças, bicudos ou procotós, são insetos muito conhecidos das populações rurais de várias regiões do Brasil. São hemípteros de tamanho relativamente grande, geralmente pretos ou acinzentados, possuem

manchas vermelhas, amarelas ou alaranjadas ao redor de seu abdome (DIAS, 1999). A seguir, apresenta-se uma ilustração de um exemplar do gênero *Triatoma*, bem como a classificação taxonômica do inseto:

FIGURA 2 - INSETO DO GÊNERO TRIATOMA



Classe: *Insecta*
 Ordem: *Hemiptera*
 Família: *Reduviidae*
 Subfamília: *Triatominae*
 Gênero: *Triatoma*

FONTE: http://www.vcu.edu/csbc/vpp/parasites_tcruzi_biobg.html

O barbeiro vive em paredes de choupanas rurais e se alimenta de sangue humano à noite, picando principalmente ao redor da boca e dos olhos, daí o termo “chupão” (LEVINSON; JAWETZ, 2006). Podem alimentar-se de qualquer tipo de sangue seja de ave, mamífero, homem, ou mesmo animais de sangue frio. A picada do inseto não é dolorosa, pois o barbeiro possui na saliva uma substância que anestesia o local onde introduz sua probóscide, porém provoca uma pequena coceira.

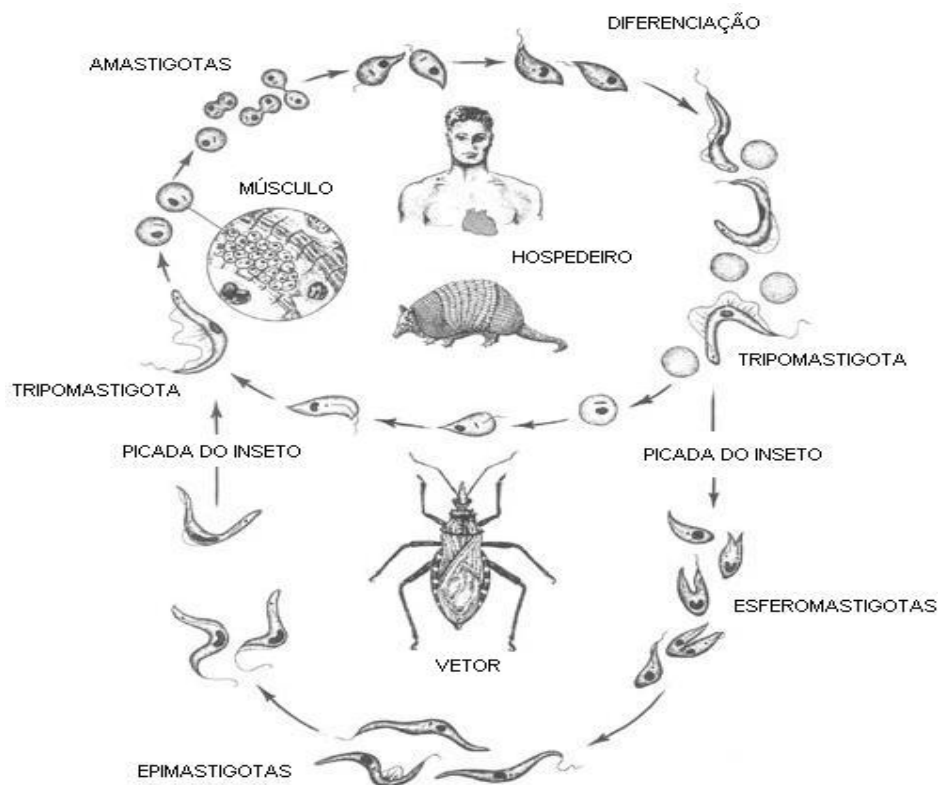
Existem mais de 100 espécies de barbeiros amplamente difundidas nas Américas, sendo encontrados desde o sul dos Estados Unidos até o sul da Argentina (DIAS, 1989). Segundo dados da Funasa, das 118 espécies conhecidas, 42 foram identificadas até agora no país, das quais 30 já capturadas em ambiente domiciliar. Dessas, cinco são vetores potenciais, por ordem de importância: *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida*.

2.2.3 Ciclo de vida

O *T. cruzi* possui em seu ciclo biológico, nos hospedeiros vertebrado e invertebrado, várias formas evolutivas (FIGURA 3). O ciclo de vida envolve o inseto redúvidio do gênero *Triatoma* como vetor, e seres humanos e animais como hospedeiros reservatórios, os quais incluem gatos e cachorros domésticos, além de

espécies selvagens como tatu, guaxinim e rato. Nos hospedeiros vertebrados e na cultura de tecidos são encontradas intracelularmente as formas amastigotas, e extracelularmente as formas tripomastigotas presentes no sangue circulante.

FIGURA 3 - CICLO DE VIDA DO *Trypanosoma cruzi*



FONTE: http://www.bact.wisc.edu/foodsafety/parasite/t_cruzi_lcycle.jpg

O ciclo no barbeiro começa com a ingestão de tripomastigotas presentes no sangue do hospedeiro reservatório. No estômago do inseto, essas se transformam em formas arredondadas, com flagelo circundando o corpo, denominadas esferomastigotas, que por sua vez transformam-se em epimastigotas, estando presentes em todo intestino. No intestino médio, as formas epimastigotas se multiplicam por divisão binária simples, sendo responsáveis pela manutenção da infecção no vetor. No reto, as epimastigotas se diferenciam em tripomastigota, as quais são infectantes para os vertebrados. Considerando o mecanismo natural de infecção pelo *T. cruzi*, as formas tripomastigotas metacíclicas eliminados nas fezes e

urina do vetor, durante ou logo após o repasto sanguíneo, penetram através do local da picada e interagem com células do sistema mononuclear fagocítico (SMF) da pele ou mucosas. Neste local ocorre a transformação das tripomastigotas em amastigotas, que então se multiplicam por divisão binária simples. Em seguida, ocorre a diferenciação das amastigotas em tripomastigotas, as quais são liberadas da célula hospedeira para o interstício e entram na corrente circulatória. A partir daí podem atingir outras células de qualquer tecido ou órgão e cumprir novo ciclo celular, quando não destruídas por mecanismos imunológicos do hospedeiro. Para completar o ciclo, tripomastigotas podem ser novamente ingeridas por triatomíneos, onde cumprirão seu ciclo extracelular (NEVES, 2005).

A tripomastigota metacíclica constitui a forma mais natural de infecção para o hospedeiro. Entretanto, recentes estudos têm demonstrado que amastigotas circulam no sangue de mamíferos infectados e estas podem invadir suas células (KAHN et al., 1995). Muitos tipos celulares podem ser infectados, entretanto, células do miocárdio, gliais e reticuloendoteliais são os alvos mais frequentes (LEVINSON; JAWETZ, 2006).

2.2.4 Transmissão

A DC era primitivamente restrita aos pequenos mamíferos das matas e campos das Américas, tais como tatus, gambás e roedores, os quais convivem com barbeiros silvestres, e por onde circula o *T. cruzi* sem ocasionar prejuízo aos mesmos. A chegada do homem e os processos de colonização ocasionando desequilíbrios ecológicos (devido ao desmatamento e queimadas) desalojaram os barbeiros do seu ambiente silvestre, fazendo com que os mesmos invadissem as habitações rústicas e pobres dos lavradores e colonos e, conseqüentemente, levando a doença ao homem e aos mamíferos domésticos (DIAS; DIAS, 1989).

Os triatomíneos, hematófagos estritos, encontraram naquelas habitações uma condição ideal de abrigo e oferta de alimento abundante, tornando a transmissão vetorial o mecanismo primário de difusão da doença. Esta adaptação dos vetores à domiciliação é considerada o fator primordial da ocorrência e da expansão da DC humana (VINHAES; DIAS, 2000).

O mecanismo de transmissão de maior importância epidemiológica é o vetorial (NEVES, 2005). A infecção também pode ser transmitida através de

transfusão sanguínea e transplante, que é considerado o segundo modo mais comum de transmissão do *T. cruzi*. O terceiro modo é a transmissão vertical ou congênita (SCHMUNIS, 2007). Existem ainda outras vias de transmissão secundárias tais como: amamentação, acidentes de laboratório e, excepcionalmente, pela via oral - através da ingestão de água ou alimentos contendo fezes de barbeiro contaminadas (DIAS, 1999; PUNUKOLLU et al., 2007).

Existem relatos do encontro de tripomastigotas em sangue menstrual de mulheres chagásicas e no esperma de cobaias infectados. Além disso, já se conseguiu demonstrar infecção experimental, após depositar o *T. cruzi* em vagina de ratas. Entretanto, a via de transmissão sexual nunca foi comprovada na espécie humana (NEVES, 2005).

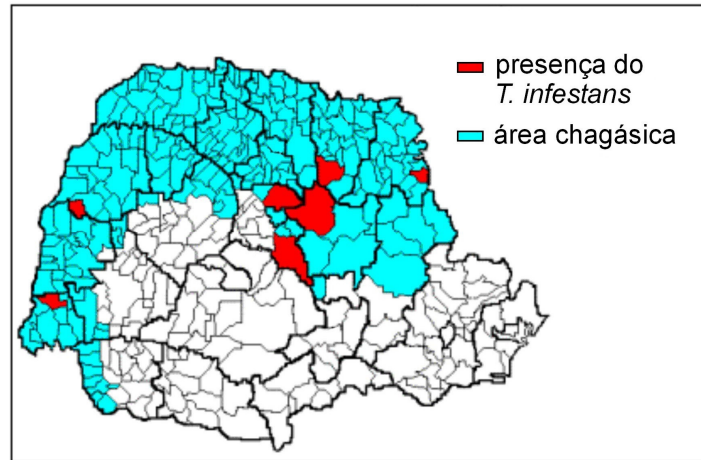
2.2.5 Epidemiologia

A infecção chagásica estende-se através das Américas do Norte, Central e do Sul, distribuindo-se em 21 países. Durante muito tempo a DC foi considerada uma endemia exclusiva das Américas e por esse motivo, foi inicialmente denominada “tripanossomíase americana” (LEVINSON; JAWETZ, 2006). Atualmente sabe-se que a DC é um problema mundial, com diversos casos notificados em países considerados não endêmicos, como Espanha, Estados Unidos, Canadá e Austrália, os principais destinos dos imigrantes latinos. Problemas econômicos e políticos estimulam a migração, propagando a DC dos países endêmicos para os países desenvolvidos. Em áreas não endêmicas, as principais vias de transmissão ocorrem por transfusão sanguínea, transplante de órgãos e através da via congênita (REYES, 1993; SCHMUNIS, 2007; PIRON et al., 2008).

As medidas de controle adotadas modificaram consideravelmente a epidemiologia da doença, no que diz respeito à sua incidência e formas de transmissão (LEDERBOUR; DIAS; VINHAES, 2004). Após mais de 20 anos desde a implementação destas ações de controle de maneira sistemática e regular, a Organização Pan-Americana da Saúde certificou o Brasil, em 2006, como a primeira nação da América Latina livre da transmissão da DC pela espécie *Triatoma infestans*, restando apenas o estado da Bahia com potencial de transmissão (OPAS/OMS, 2006). No Paraná, de acordo com dados da Funasa, a espécie *T. infestans* foi encontrada pela última vez, em 1991. Apesar das ações de controle desenvolvidas no Paraná pela antiga Sucam até 1.989 e, posteriormente pela

Funasa, verifica-se que a abrangência da área chagásica ainda é expressiva (FIGURA 4).

FIGURA 4 - MUNICÍPIOS DE ÁREAS CHAGÁSICAS NO PARANÁ (1979-2000)



FONTE: Funasa - Sesa

Embora o *T. infestans*, responsável por grande parte dos casos crônicos existentes no estado tenha sido exterminado, permanecem ainda outras espécies vetoras, perfazendo a área chagásica do estado do Paraná (FERREIRA, FREITAS e COSTA, 2007). Casos autóctones, que até recentemente vinham sendo detectados de maneira isolada na Amazônia, vêm aumentando gradativamente nos últimos anos. Ao mesmo tempo, espécies de triatomíneos silvestres aproximam-se perigosamente do domicílio humano, como é o caso do *Panstrongylus megistus* no Paraná (KOPP, 2005), o que significa que a endemia pode se expandir geograficamente. Além disso, devido ao aumento da tendência à migração global, a extensão da DC ameaça expandir-se exponencialmente para regiões não endêmicas (BARCELÓ, 2006).

Apesar da significativa diminuição da infecção e mortalidade nas últimas décadas, alcançada através das iniciativas do controle vetorial e do monitoramento de doadores em bancos de sangue, estima-se que existam 16 a 18 milhões de indivíduos infectados, desde o sul dos Estados Unidos até a Patagônia. Calcula-se ainda que a população sob risco de contaminação na América Latina seja de aproximadamente noventa milhões (TDR, 2005; MAGUIRE, 2006). O inquérito sorológico nacional, realizado no final da década de 70, estimou a existência de

cinco milhões de brasileiros infectados pelo *T. cruzi*, na área endêmica que se estende do Piauí ao Rio Grande do Sul (VINHAES; DIAS, 2000). Segundo dados do mesmo inquérito a prevalência para DC no Estado do Paraná foi de 4,0% na época (CAMARGO et al., 1984). Com base nesta prevalência, (SILVEIRA, 2000) estimaram em 166.511 o número de casos positivos da doença para este Estado com população rural de 4.164.943 de habitantes

A mortalidade precoce e invalidez causada por esta doença, a qual frequentemente ocorre na população mais produtiva, jovens adultos, resulta em uma perda econômica devastadora nas Américas. Em 1995, esta foi estimada em US\$8,156 milhões, o qual é equivalente a 2.5% da dívida externa da América Latina. Estimativas antigas sugerem que trezentos milhões de dólares foram perdidos no Brasil entre 1979 e 1981 baseados no número total de casos da doença naquele período (MONCAYO, 1997; MONCAYO, 2003). Dados mais recentes demonstram que globalmente, a DC está associada com 14.000 mortes por ano e 0,7 milhões de incapacitados, constituindo a sexta mais importante doença tropical negligenciada do mundo (HOTEZ et al., 2007).

A ausência de políticas públicas voltadas para o desenvolvimento de ações para os casos crônicos impede a implantação de estratégias para notificar, quantificar e qualificar as informações. Da mesma forma, a falta de notificação compulsória impossibilita qualquer estimativa mais acurada de prevalência e incidência, desconhecendo-se assim a real dimensão do problema atual (FERREIRA; FREITAS; COSTA, 2007).

2.2.6 Sintomatologia e Formas Clínicas

De modo geral, reconhece-se a presença de três estádios na DC: agudo, crônico indeterminado e crônico determinado. A fase aguda, geralmente oligossintomática, inicia-se após o período de incubação de cerca de sete a dez dias, não sendo reconhecida na maioria das vezes. É mais grave em crianças menores de dois anos, nas quais a letalidade pode chegar a 10% (RIBEIRO; ROCHA, 1998). Os sintomas, quando presentes, surgem no próprio lugar onde se deu a contaminação pelas fezes do inseto e consistem em: edema facial e presença de um nódulo próximo à picada, conhecido como chagoma ou sinal de Romanã, acompanhados de febre, linfadenopatia e hepatoesplenomegalia (LEVINSON; JAWETZ, 2006).

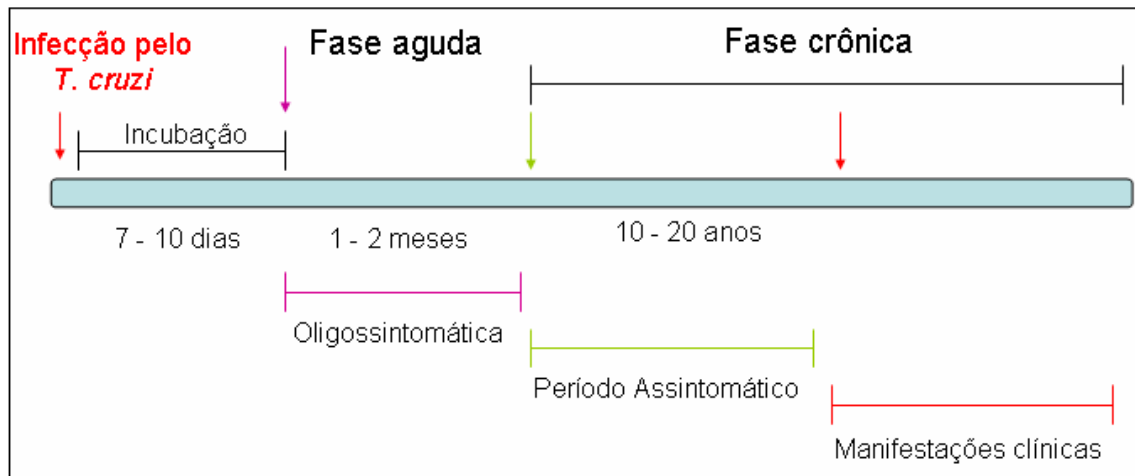
A febre, um dos sintomas mais freqüentes nessa fase da doença, às vezes o único, é baixa e contínua, com duração prolongada por semanas. O "mal estar", a falta de apetite, o aceleração dos batimentos cardíacos, o freqüente aumento do fígado e do baço, inchações da face e do corpo, surgem alguns dias após a penetração do parasita e indicam sua disseminação pelo organismo. O quadro anteriormente descrito é mais comum em crianças com idade entre um e cinco anos. Em pessoas mais velhas, geralmente, esses sinais ficam muito atenuados e a fase inicial da doença passa despercebida, confundindo-se com uma "gripe" ou "mal estar" passageiro. Em geral, a fase aguda da infecção dura algumas semanas, sendo que a febre e os demais sintomas tendem a desaparecer espontaneamente. Em certos casos graves, porém, sobretudo em crianças, pode sobrevir a morte em face de um ataque intensivo dos parasitas ao coração e sistema nervoso central (DIAS; DIAS, 1989). No início da infecção a parasitemia é mais elevada. Quando o hospedeiro desenvolve resposta imune eficaz, a parasitemia diminui e a infecção tende a se cronicar (NEVES, 2005).

Após quatro a dez semanas de infecção, inicia-se a fase crônica indeterminada, também conhecida como fase latente, que é caracterizada pela ausência de sintomas, além de radiografia e eletrocardiograma normais. A maioria dos indivíduos permanece nessa forma indefinidamente, outros, geralmente após intervalo de dez a 20 anos, evoluem para alguma das formas crônicas determinadas da doença, com comprometimento cardíaco, digestivo ou neurológico. O músculo cardíaco é o tecido mais freqüente e mais intensamente afetado. Além disso, o dano neuronal provoca arritmias cardíacas e perda do tônus muscular do cólon e esôfago, levando à formação de megacólon e megaesôfago, respectivamente (RIBEIRO; ROCHA, 1998; LEVINSON; JAWETZ, 2006). Na figura 5 encontra-se uma representação esquemática da evolução clínica da DC.

Segundo RIBEIRO e ROCHA (1998), estima-se que cerca de 50% dos indivíduos infectados se encontrem no estágio indeterminado. Embora os pacientes nesta condição apresentem de modo geral bom prognóstico, cerca de 2 a 5% evoluem anualmente para uma das formas sintomáticas da doença. Em cinco a dez anos de evolução clínica, cerca de um terço dos pacientes na forma indeterminada poderão ser cardiopatas. A maioria apresentará cardiopatia leve, porém, alguns indivíduos evoluirão para formas mais graves (RIBEIRO; ROCHA, 1998). Nos estágios finais, ocorre acentuado aumento do coração com grave insuficiência

cardíaca (IC), fenômenos tromboembólicos e arritmias graves (ROSSI, MENGEL, 1992). A IC é o estado fisiopatológico em que o coração é incapaz de bombear sangue a uma taxa satisfatória às necessidades dos tecidos metabolizadores, ou pode fazê-lo apenas a partir de uma pressão de enchimento elevada (BRAUNWALD; BRISTOW, 2000).

FIGURA 5 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DA EVOLUÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA DE CHAGAS



FONTE: O AUTOR

As mortes causadas por DC ocorrem comumente devido a arritmias e falha cardíaca. A morte súbita representa um risco constante em qualquer estágio clínico e pode ocorrer em um a dois terços dos pacientes que vão a óbito devido à DC. Embora a maioria destes pacientes tenha apresentado evidências clínicas de IC prévia, cerca de um terço a um quinto das mortes súbitas entre chagásicos ocorrem em pacientes assintomáticos. Assim, esta pode ser a primeira manifestação clínica da doença, retirando a vida de pessoas jovens, produtivas e em condições aparentemente saudáveis (RIBEIRO; ROCHA, 1998; ROSSI; MENGEL, 1992).

2.2.7 Aspectos Imunopatológicos

Existem fortes evidências da participação tanto da resposta imune humoral como celular na patogênese da DC.

A fase aguda caracteriza-se pela intensa multiplicação do parasita e invasão às células do hospedeiro. Num estudo experimental em ratos, sugeriu-se que as formas tripomastigotas sanguíneas penetram ativamente nos macrófagos (KIPNIS; CALICH; DA SILVA, 1979). À medida que o ciclo de invasão e ruptura celular se repete, o histiotropismo se desloca do SMF para células musculares lisas e cardíacas, e para o sistema nervoso. A disseminação do parasita pelos tecidos do hospedeiro provoca áreas de inflamação multifocal em diversos órgãos, predominantemente no coração e sistema nervoso, seguido de miosite focal e comprometimento dos plexos nervosos intestinais, nos casos mais graves. Ao mesmo tempo em que a infecção se estende aos diferentes tecidos, a parasitemia aumenta e a resposta imune é iniciada com a produção de anticorpos e intensa reatividade celular no sítio inicial de inoculação. Durante a fase aguda, existe uma relação evidente entre as lesões inflamatórias e a presença do *T. cruzi*, pois ao romperem as células do hospedeiro estes podem ativar mediadores químicos da inflamação (DIAS; DIAS, 1989).

Nas lesões agudas, demonstrou-se através de imunofluorescência a presença de depósitos de imunoglobulinas na superfície do *T. cruzi* em áreas de acúmulo de polimorfonucleares, sugerindo uma forte reação humoral do tipo II com a formação local de imunocomplexos. Embora a multiplicação do parasita seja evidente durante o período agudo da infecção, a intensa miocardite nesta fase exhibe sinais ultraestruturais de danos causados pela imunidade mediada por células com predomínio de monócitos, histiócitos, linfócitos, neutrófilos e eosinófilos. Estas atingem cardiomiócitos parasitados e não parasitados, além do endotélio de capilares miocárdias, levando à microangiopatia. Tanto na forma indeterminada quanto na cardíaca observou-se que o sistema imune está igualmente mobilizado, com produção de anticorpos *T. cruzi* específicos e dirigidos a antígenos próprios. (ANDRADE, 1969; ANDRADE, 1992).

A resposta imune do hospedeiro é capaz de reduzir consideravelmente a carga parasitária e promover a modulação da inflamação, caracterizando o fim da fase aguda. Porém, a inflamação persiste na fase indeterminada, de forma branda e focal (ANDRADE, 1999). Com o fim da fase aguda, os protozoários que não foram

eliminados pela resposta humoral podem permanecer viáveis no interior das células infectadas. Não há dúvidas de que o sistema imune é capaz de reconhecer antígenos do *T. cruzi* e proteger o hospedeiro contra a infecção massiva. Entretanto, este não é capaz de eliminar todos os parasitas e assim, a infecção crônica prossegue (BRAUN; DE TITTO, 1985).

2.2.7.1 Patogênese da Cardiomiopatia Chagásica Crônica

Diferentes hipóteses têm sido propostas para explicar a patogênese da cardiopatia chagásica crônica (CCC).

Diversas investigações independentes têm demonstrado que a miocardite difusa com miocitólise e fibrose reparativa, marcantes na CCC, são características de uma reação de hipersensibilidade do tipo tardia (DTH), com infiltrados inflamatórios compostos principalmente de células mononucleares, onde predominam as células linfóides (TORRES, 1960; ROSSI; BESTETTI, 1995). Junto com a demonstração da deposição de imunoglobulinas e complemento no tecido cardíaco, estes achados constituem importantes evidências do envolvimento de fatores imunológicos na patogênese da CCC (CUNHA-NETO et al., 2006). Apesar da evidente participação da resposta imune na injúria tecidual do miocárdio, a natureza do(s) antígeno(s) essencial (is) que incita(m) a resposta imune destrutiva permanece indefinida (MARIN-NETO et al., 2007).

Antígenos e DNA provenientes do *T. cruzi* foram encontrados no tecido cardíaco de pacientes chagásicos crônicos, e células T CD8⁺ foram isoladas de material de biópsia em endocárdio de pacientes com a DC cardíaca (FONSECA et al., 2005). Isto fornece evidências do recrutamento e expansão de células T- *T. cruzi* específicas para o miocárdio, possivelmente relacionadas à persistência do parasita. Porém, o material proveniente dos parasitas encontrado no miocárdio de pacientes chagásicos crônicos é bastante escasso em comparação com a intensidade da miocardite. Além disso, DNA de *T. cruzi* tem sido também detectado em tecido cardíaco de pacientes com a forma indeterminada. Por fim, a intensidade da parasitemia não está diretamente relacionada com a evolução clínica dos pacientes. Os ninhos de Gaspar Vianna, estrutura semelhante a um cisto, formada pelo agrupamento das formas amastigotas no interior das células do hospedeiro, podem permanecer livres de inflamação, apesar do intenso parasitismo. Portanto, outros fatores, além da persistência do parasita, devem fazer com que um subgrupo de

indivíduos apresentem danos progressivos no miocárdio (CUNHA-NETO et al., 2006; MARIN-NETO et al., 2007).

Tem sido bastante discutida a hipótese da autoimunidade, na qual se afirma que a quebra da tolerância imunológica e conseqüente dano cardíaco seriam secundários a uma resposta originalmente protetora. Vários mecanismos responsáveis por desencadear a autoimunidade, após a infecção pelo *T. cruzi* têm sido sugeridos: a exposição de antígenos seqüestrados após o dano tecidual, seguida por sensibilização em ambiente inflamatório; o mimetismo molecular, no qual células T e B reconhecem antígenos do parasita que compartilham epítomos similares a componentes específicos do miocárdio, gerando uma resposta autoimune cruzada; e a ativação policlonal levando a produção de autoanticorpos (MARIN-NETO et al., 2007). O soro de pacientes chagásicos contém autoanticorpos específicos para vários autoantígenos expressos em tecidos cardíacos, nervosos, entre outros. No trabalho de GOIN et al. (1997), o soro de mais de 80% dos pacientes apresentaram anticorpos antineurônio. No mesmo estudo, anticorpos funcionais contra receptores adrenérgicos e muscarínicos encontrados no soro de chagásicos, com a forma cardíaca arritmica, induziu arritmia em coelhos. O soro de pacientes chagásicos crônicos contém anticorpos cross-reativos entre proteínas humana e do *T. cruzi*, muitas das quais são evolutivamente conservadas. Anticorpos cross-reativos entre a proteína P0 ribossomal do *T. cruzi* e o receptor β 1-adrenérgico foram detectados em pacientes chagásicos (FERRARI et al., 1995). Além disso, anticorpos cross-reativos entre a cadeia pesada da miosina e a proteína B14 do *T. cruzi* são mais freqüentes no soro de pacientes com a forma cardíaca do que em pacientes na forma indeterminada (CUNHA-NETO et al., 1995).

A resposta *T. cruzi* específica devido à persistência do parasita nos tecidos e a autoimunidade não são incompatíveis ou mutuamente exclusivas e, provavelmente, a combinação de ambas as respostas estejam envolvidas na patogênese da DC. Entretanto, os mecanismos imunopatológicos envolvidos na CCC permanecem pouco compreendidos e bastante controversos. Determinar se a autoimunidade e o mimetismo molecular, tanto quanto a resposta imune dirigida ao parasita, são causas ou conseqüências do dano tecidual na DC cardíaca é a chave para compreender a patogênese da CCC (MARIN-NETO et al., 2007).

2.2.8 Diagnóstico laboratorial

A doença aguda é diagnosticada pela demonstração da presença de tripomastigotas, formas presentes na corrente sanguínea em abundância apenas nessa fase. Com esta finalidade, podem ser realizados esfregaços espessos e delgados do sangue do paciente. Na fase crônica, as formas amastigotas predominam nos tecidos e as tripomastigotas são escassas na circulação. O diagnóstico laboratorial nessa fase, portanto, é difícil e outros métodos diagnósticos tais como: hemocultura, xenodiagnóstico e testes sorológicos são requeridos. (FERREIRA; ÁVILA, 2001; NEVES, 2005).

O xenodiagnóstico consiste em permitir que barbeiros não infectados, criados em laboratório, se alimentem do sangue do paciente, e após várias semanas o conteúdo intestinal dos insetos é examinado em busca do *T. cruzi*. Os testes sorológicos são amplamente utilizados, seja na triagem de doadores em banco de sangues, no monitoramento da terapêutica antiparasitária, para fins trabalhistas, a fim de confirmar ou excluir uma suspeita clínica e em inquéritos soropidemiológicos. A Imunofluorescência Indireta (IFI) é o primeiro teste a tornar-se positivo. A IFI para pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi* das classes IgG e IgM é considerado o teste referência no diagnóstico da DC crônica e aguda, respectivamente. São também utilizados os métodos da hemaglutinação indireta e a fixação do complemento, o qual foi introduzido por Guerreiro e Machado em 1913 e atualmente apresenta apenas valor histórico, embora ainda seja utilizado em alguns centros especializados (FERREIRA; ÁVILA, 2001; LEVINSON; JAWETZ, 2006).

O teste ELISA (ensaio de imunoadsorção ligado à enzima - *enzyme linked immunosorbent assay*) para o diagnóstico da DC foi descrito por Voller et al. (1975). O teste foi padronizado em placas de microtitulação contendo antígenos provenientes de *T. cruzi*. Após incubação do soro teste e subsequente adição de anticorpo conjugado à enzima, a reação é revelada através de substrato cromógeno. A intensidade da coloração é proporcional a concentração de anticorpo presente na amostra, que é quantificada através de espectrofotometria. A padronização do teste imunoenzimático abriu amplas perspectivas na sorologia da DC, devido a sua alta sensibilidade, especificidade, leitura objetiva e possibilidade de automação (FERREIRA; ÁVILA, 2001).

Além dos testes laboratoriais, a procedência do paciente (se oriundo de área rural e/ou endêmica), tipo de habitação, histórico familiar da doença, bem como de hemotransfusão são dados úteis para o diagnóstico clínico da DC (MALTA, 1996).

2.2.9 Tratamento e Prevenção

As drogas disponíveis para o tratamento etiológico da fase aguda são Nifurtimox e Benzonidazol, as quais atuam nas formas tripomastigotas no sangue, porém, são pouco efetivas contra amastigotas no tecido (LEVINSON; JAWETZ, 2006). Além disso, a produção do Nifurtimox no Brasil foi descontinuada na década de 80 (COURA, 2008). A descoberta da doença na fase aguda é extremamente importante, pois os recursos terapêuticos disponíveis podem proporcionar cura total da infecção, especialmente se o medicamento for administrado adequada e precocemente (DIAS; DIAS, 1989). Por outro lado, a eficácia do Benzonidazol na fase crônica é bastante discutida. Foi demonstrado através de um estudo experimental que seu uso na fase crônica previne o desenvolvimento de cardiomiopatia crônica grave, apesar de não ocorrer erradicação completa do parasita (GARCIA et al., 2005). Atualmente, um estudo multicêntrico denominado BENEFIT está sendo realizado a fim de avaliar a eficácia do tratamento com Benzonidazol na DC crônica, em humanos.

Há mais de 25 anos não são produzidos novos fármacos com maior eficácia e menos efeitos colaterais do que as duas únicas drogas ainda utilizadas no tratamento etiológico da DC (DOS SANTOS; SOARES; DE CARVALHO, 2004). Um grande volume de trabalhos científicos tratam da biologia, imunologia e genética do parasita causador da DC. Porém, todo esse conhecimento não foi revertido em novas ferramentas terapêuticas. A crise da falta de medicamentos para doenças negligenciadas é o resultado tanto das insuficientes políticas públicas voltadas para produção e desenvolvimento de medicamentos de interesse nacional dos países em desenvolvimento, quanto da falha de mercado, provocada pelo baixo interesse econômico que esses pacientes representam para a indústria (DNDI, 2007).

Não há droga profilática ou vacinas efetivas disponíveis, as quais têm sido testadas apenas em modelos animais experimentais da DC (MILLER et al., 1997). A prevenção envolve proteção contra a picada do barbeiro, melhoria das habitações e controle do inseto (LEVINSON; JAWETZ, 2006). Dependem, portanto, de políticas públicas voltadas à justiça social e à preservação ambiental (DIAS, 2001).

2.3 O SISTEMA COMPLEMENTO

O sistema complemento é parte integrante da resposta imunológica, sendo considerado um dos principais mediadores da defesa inata do hospedeiro, além de induzir a inflamação e contribuir na remoção de complexos imunes e células apoptóticas. É formado por mais de 30 proteínas plasmáticas e associadas à membrana que interagem entre si, constituindo um complexo sistema reconhecido como um dos principais mecanismos efetores na defesa contra infecções (UTIYAMA; MESSIAS-REASON; KOTZE, 2004a; UTIYAMA; MESSIAS-REASON; KOTZE, 2004b). Várias destas proteínas são proteases inativas (zimógenos ou pró-enzimas) as quais se tornam ativas somente após sua clivagem, geralmente por outra protease específica, desencadeando uma série de reações enzimáticas sequenciais em cascata (DIAS DA SILVA; KIPNIS, 1984; MURPHY; TRAVERS; WALPORT, 2008).

O sistema complemento é mediador de muitas interações celulares e humorais que ocorrem no hospedeiro incluindo quimiotaxia, fagocitose, adesão celular e diferenciação de células B, auxiliando a coordenar e dirigir a resposta imune (CARROLL, 2004). Uma vez ativado, é capaz de induzir várias atividades biológicas através da interação de seus produtos com receptores celulares específicos ou pela inserção de complexos protéicos à membrana celular, formando o complexo de ataque à membrana (MAC). O MAC é o produto final da cascata do complemento resultando em lise e destruição da célula-alvo (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003; UTIYAMA; MESSIAS-REASON; KOTZE, 2004a).

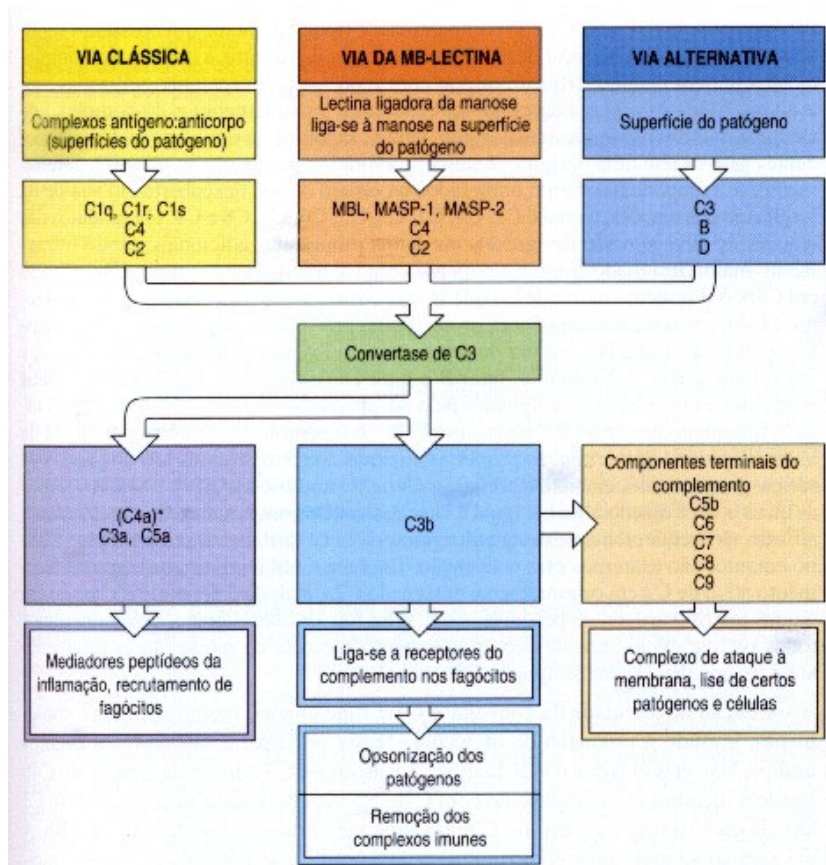
Além do efeito benéfico para o hospedeiro, o complemento apresenta uma relevante participação na etiologia de diferentes doenças imunologicamente mediadas, nas quais uma ativação imprópria, ou excessiva, pode promover grave destruição tecidual decorrente do processo inflamatório. O papel do complemento na patogênese de inúmeras doenças inflamatórias tem sido evidenciado em estudos experimentais e clínicos (WALPORT, 2001).

2.3.1 Vias de Ativação

Três diferentes vias podem iniciar a cascata do complemento (FIGURA 6): a via clássica, a via alternativa e a via das lectinas (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1997; JANEWAY JR; TRAVERS, 2002; FUJITA, 2002).

A via clássica promove a interação entre a imunidade inata e adaptativa. Sua ativação ocorre quando moléculas de C1q ligam-se a imunoglobulinas IgG ou IgM, a proteínas de fase aguda, a moléculas modificadas e a células apoptóticas ou necróticas. Quando a molécula de C1q se liga ao seu substrato ocorre uma mudança de conformação, que resulta na ativação das serinas proteases C1r e C1s associadas à estrutura colagenosa da molécula C1q. A proteína C1s ativa C4 e C2 formando o complexo C4b2a, denominado de C3 convertase.

FIGURA 6 - VIAS DE ATIVAÇÃO DO SISTEMA COMPLEMENTO



FONTE: Adaptado de JANEWAY JR e TRAVERS (2002)

O componente C3 do complemento pode ser ativado por hidrólises espontâneas e contínuas, através do reconhecimento direto de moléculas presentes na superfície dos patógenos, iniciando a via alternativa de modo independente de anticorpo. O C3 ativado liga-se ao fator B, que sofre ativação e clivagem pelo fator D, originando o complexo C3bBb, funcionalmente idêntico a C3 convertase da via clássica.

A ativação pela via das lectinas ocorre em resposta ao reconhecimento de carboidratos comuns à superfície dos patógenos através da MBL ou ficolinas. A via das lectinas foi mais recentemente descoberta e é a menos caracterizada das três vias (DEGN; THIEL; JENSENIUS, 2007).

Os eventos precoces da ativação do complemento, citados anteriormente, nas três vias convergem para a formação da enzima C3 convertase. Nas vias clássica e das lectinas, a C3 convertase é formada a partir do C4b ligado a membrana e complexado com C2a. Na via alternativa uma C3 convertase homóloga é formada a partir do C3b ligado à membrana alvo e complexado com Bb. Tanto a convertase da via clássica quanto da via alternativa, formadas e unidas à superfície do patógeno, clivam C3 gerando grandes quantidades de C3b, molécula efetora principal na opsonização, e C3a, peptídeo mediador da inflamação. Essas reações enzimáticas onde as proteínas inativas do complemento são clivadas, geralmente produzem um fragmento maior, uma serina-protease ativa que é retida na superfície do patógeno assegurando a ativação da próxima proteína também nesta superfície, e um pequeno fragmento peptídico que é liberado do sítio da reação e atua como mediador solúvel (JANEWAY JR; TRAVERS, 2002).

As moléculas de C3b atuam como opsoninas, unindo-se covalentemente ao patógeno e sinalizando-o para a destruição pelos fagócitos portadores de receptores específicos. Moléculas de C3b também se ligam a C3 convertase para formar a C5 convertase, que catalisa a clivagem proteolítica de C5, produzindo o pequeno peptídeo C5a, importante mediador da inflamação, bem como o fragmento maior, C5b. Nas vias clássica e da MBL, a C5 convertase é formada pela ligação de C3b a C4b-2a, produzindo C4b-2a-3b; e na via alternativa, pela ligação de C3b a C3b-Bb produzindo C3b-Bb-3b. O C5 liga-se ao sítio de C3b da C5 convertase e é clivado pela atividade da serina protease C2a ou Bb, gerando então, C5b e C5a. Esta reação é mais limitada que a clivagem de C3, já que C5 só pode ser clivado quando se liga a C3b no complexo C5 convertase (ABBAS; LICHTMAN; POBER, 1997).

O fragmento C5b inicia os eventos tardios de ativação do complemento, onde os componentes terminais irão formar o MAC. Quando C5 é clivado, ocorre a liberação de C5b que se liga ao C6. O complexo C5b6 por sua vez liga-se a uma molécula de C7. Alterações de conformação promovem a exposição de um sítio hidrofóbico em C7, através do qual o MAC se insere na bicamada lipídica. O C8 se liga ao C5b do complexo C5b67 associado à membrana, inserindo-se também na bicamada lipídica. Na seqüência, cerca de 10 a 16 moléculas de C9 polimerizam-se e formam um poro de 10nm na bicamada lipídica, destruindo a integridade da membrana e interferindo no gradiente eletrolítico da célula, levando à sua lise (JANEWAY JR; TRAVERS, 2002).

2.3.2 O Sistema Complemento na Doença de Chagas

Existem muitas evidências sobre o envolvimento do sistema complemento na infecção pelo *T. cruzi* e seu importante papel na DC, considerando que esse sistema constitui uma das primeiras linhas de defesa do sistema imune a entrar em contato com as formas infectantes do parasita. Foi demonstrado por meio de estudo *in vivo* que a ativação do complemento é fundamental para o controle da DC, sendo que a sua depleção está associada com alta parasitemia e mortalidade precoce em camundongos (BUDZKO; PIZZIMENTI; KIERSZENBAUM, 1975).

A ação lítica do complemento sobre as formas tripomastigotas foi demonstrada por KIPNIS, SUCUPIRA e DA SILVA (1987). Embora as formas tripomastigotas sanguíneas do *T. cruzi* sejam lisadas pela ação combinada de anticorpos específicos e complemento, uma proporção de parasitas sobrevivem devido a diversos mecanismos de escape à lise pelo complemento existentes no *T. cruzi*. Em estudos pioneiros da década de 80 foi demonstrado que tanto as formas tripomastigotas metacíclicas, presentes na porção final do tubo digestivo do parasita, quanto as sanguíneas ou derivadas de culturas, produzem moléculas que interferem na enzima C3 convertase, que desempenha papel central na ativação das vias clássica e alternativa, permitindo o escape dos parasitas à ação lítica do complemento (KIPNIS et al., 1986; KIPNIS et al., 1988). JOINER et al. (1988) fizeram a caracterização bioquímica de um fator produzido pelas formas tripomastigotas do *T. cruzi* capaz de acelerar o decaimento da C3 convertase. NORRIS et al. (1991) purificaram esta glicoproteína, a gp160, e demonstraram sua atividade regulatória. A gp160 restringe a ativação do complemento através da

ligação do componente C3b e inibição da formação de C3 convertase. Essa proteína é ancorada na membrana do parasita através de uma ligação glicosil fosfatidil inositol, similar à proteína regulatória do complemento humana, denominada fator de aceleração do decaimento (DAF). TAMBOURGI et al., (1993) evidenciaram que o DAF do *T. cruzi* possui similaridades genéticas e funcionais ao DAF humano.

FERREIRA et al. (2004) demonstraram que a via clássica pode ser inibida *in vitro* pela calreticulina do *T. cruzi*, assim como a ligação de MBL à manose. Relatou-se ainda que as formas tripomastigotas circulantes na fase aguda da doença expressam em sua membrana uma trans-sialidase que catalisa a transferência de ácido siálico a partir de glicoconjugados do hospedeiro para moléculas de superfície do *T. cruzi*. Além disso, a enzima trans-neuroaminidase do *T. cruzi* pode promover a de-sialilação, ou seja, retirar ácido siálico da superfície de células endoteliais e do miocárdio de mamíferos, bem como de eritrócitos (LIBBY; ALROY; PEREIRA, 1986). Superfícies de membrana celular associadas à resíduos de ácido siálico restringem a ativação da via alternativa do complemento (AIELLO et al., 2002).

O *T. cruzi* no sistema digestivo do inseto vetor, durante sua diferenciação em formas infectantes, torna-se resistente à lise pela via alternativa do complemento. Foi relatado que a forma predominante do componente C3 encontrado na superfície das formas epimastigotas é o C3b, enquanto que o principal componente nas tripomastigotas é o fragmento iC3b que está na forma inativa e, portanto, não participa da formação de MAC (JOINER et al., 1986). Os autores também demonstraram que o componente C3b falha em ligar-se ao fator B, de amplificação da via alternativa, enquanto apresenta ligação acentuada ao componente de inibição, o fator H. Além disso, as formas amastigotas acumulam em sua superfície grande quantidade de componentes terminais do complemento, o que aumenta consideravelmente sua infectividade, sem causar a morte do parasita. IIDA, WHITLOW e NUSSENZWEIG (1989) sugeriram que as formas amastigotas possuem em sua superfície uma proteína que se liga ao complexo C5b-9 inibindo sua inserção na membrana dos parasitas e protegendo-os da lise mediada pelo complemento.

AIELLO et al. (2002) postularam um possível papel para o complemento na patogênese da CCC. Segundo estes pesquisadores, a persistência do parasita na fase crônica pode causar de-sialilação do miocárdio e de células endoteliais pela enzima trans-neuroaminidase do *T. cruzi*, levando à ativação do complemento e

depósito de MAC na superfície destas células. Os autores demonstraram um aumento na deposição de MAC no miocárdio de pacientes com CCC e sugerem que este fato está associado a inflamação ativa e a fibrose característica das lesões presentes na CCC (AIELLO et al., 2002). Já no trabalho de MESSIAS-REASON, URBANETZ e PEREIRA DA CUNHA (2003) demonstrou-se um papel imunogenético do complemento na DC. Os autores observaram que os alótipos C3 F e BF S da via alternativa são marcadores de susceptibilidade e proteção à cardiopatia chagásica, respectivamente.

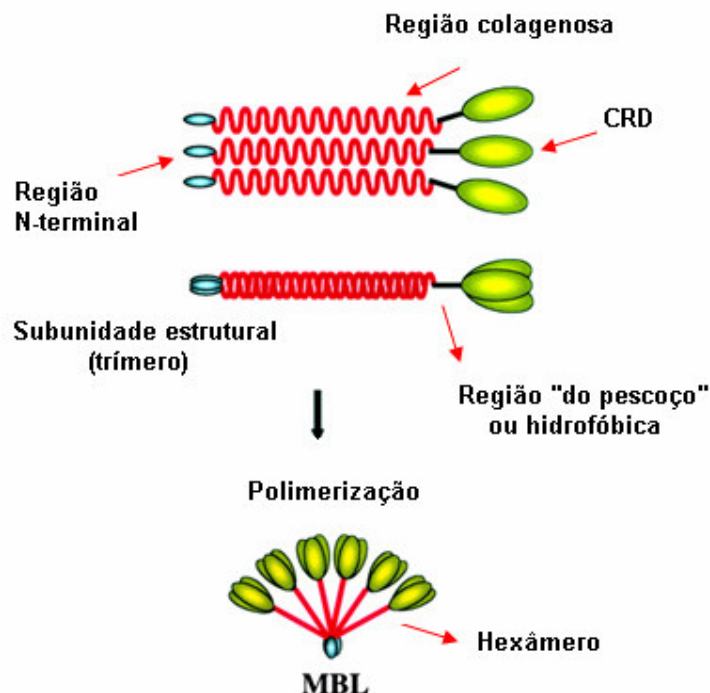
2.4 A LECTINA LIGANTE DE MANOSE

2.4.1 Estrutura e Funções

A lectina ligante de manose, MBL (*mannose-binding lectin*) é uma proteína solúvel dependente de cálcio, pertencente à família das colectinas que desempenha importante papel na primeira linha de defesa do hospedeiro contra infecções, por se tratar de uma molécula de reconhecimento padrão do sistema imune inato (TURNER, 2003). As colectinas são assim denominadas por serem moléculas compostas de uma região colagenosa e um domínio de lectina do tipo-C, responsável pelo reconhecimento de carboidratos (CRD) (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003). A MBL é uma proteína oligomérica, cujos monômeros polimerizam-se podendo formar desde dímeros até hexâmeros (FIGURA 7).

Cada monômero, ou subunidade, consiste de três cadeias polipeptídicas idênticas de aproximadamente 32 KDa, contendo uma região N-terminal rica em cisteína, uma região colagenosa, uma região hidrofóbica e um domínio de reconhecimento de carboidratos (TAYLOR et al., 1989). O tipo mais comum de MBL circulante parece constituir-se de oligômeros formados por duas a oito subunidades, com massa molecular aparente de 200-700 kDa. A MBL se liga a diversos açúcares tais como manose, fucose, glucose e N-acetil-D-glucosamina, comuns às superfícies dos patógenos, podendo interagir com uma ampla variedade de vírus, bactérias, fungos, leveduras e protozoários (TURNER, 2003).

FIGURA 7 - ESTRUTURA DA MOLÉCULA DE MBL



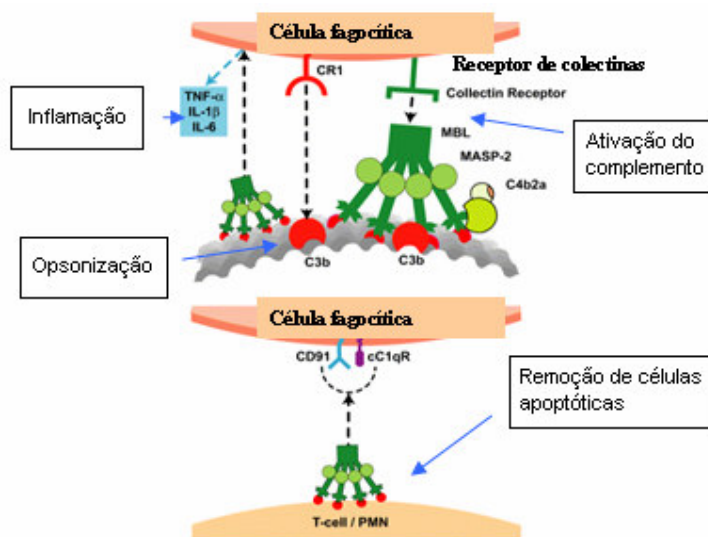
FONTE: Adaptado de FUJITA (2002)

Um papel para a MBL na defesa do hospedeiro foi primeiramente proposto em 1987 quando IKEDA *et al.* (1987) observaram sua capacidade de ativar a via clássica do complemento. Recentemente foi descoberto que MBL ativa o sistema complemento ao formar um complexo com serina proteases denominadas MASPs, as quais receberam este nome devido à associação com MBL (*MBL-associated serine proteases*). Três proteases, MASP-1, MASP-2 e MASP-3 são atualmente conhecidas por associarem-se à MBL (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003). MASP-1 e MASP-2 são similares aos componentes C1r e C1s da via clássica. Quando o complexo MBL/MASP-2 liga-se à superfície do patógeno ocorre uma mudança conformacional que ativa MASP-2, clivando C4 e C2 para gerar C4bC2b, a C3 convertase (THIEL *et al.*, 1997). A via da lectina, então, inicia a ativação do complemento similarmente à via clássica (FIGURA 6), formando a C3 convertase e clivando o C3 em C3b e C3a (PRODINGER *et al.* 1999). MASP-1 mostra alguma atividade na clivagem de C3 (MATSUSHITA; FUJITA, 1992) porém, sua significância

biológica é controversa. Nenhum substrato foi identificado para MASP-3 (DAHL et al., 2001).

Existem evidências de que MBL possui pelo menos quatro diferentes funções (FIGURA 8): (i) a ativação do complemento, (ii) a promoção da opsonofagocitose (independente de complemento), por interagir diretamente com receptores de superfície celular; (iii) a modulação da inflamação e (iv) a promoção de apoptose (TURNER, 2003). Evidências funcionais indicam que os diferentes oligômeros podem ter atividades biológicas diferentes (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003).

FIGURA 8 - FUNÇÕES DA MBL



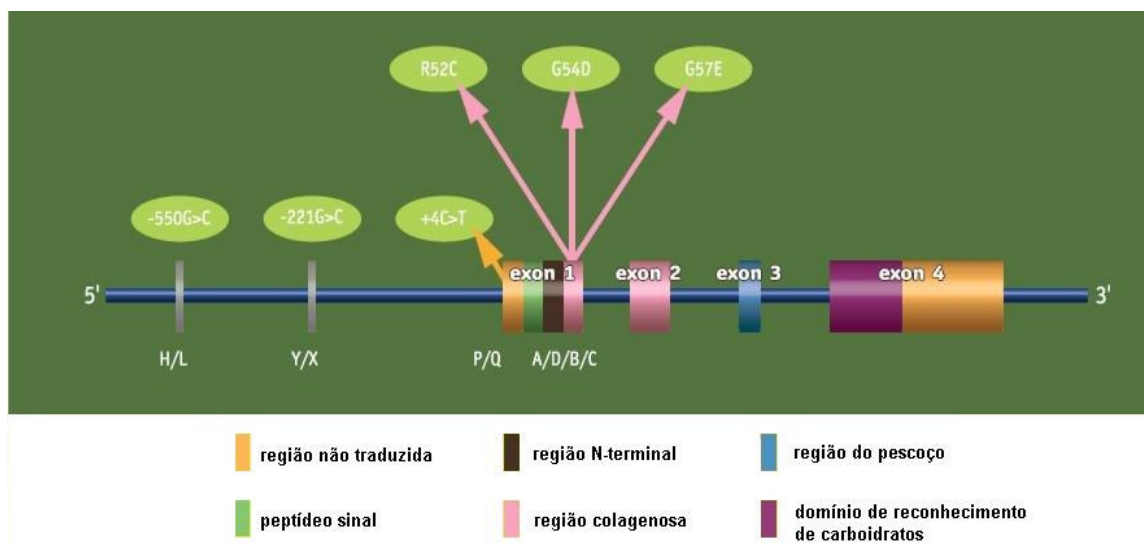
FONTE: adaptado de TURNER (2003)

Sua importante atividade funcional explica por que a deficiência de MBL foi primeiro identificada em associação com uma disfunção opsônica em crianças com infecção de repetição (VALDIMARSSON et al., 1998; SUPER et al., 1989), demonstraram a reconstituição da atividade opsônica em indivíduos deficientes através da infusão de MBL.

2.4.2 Polimorfismo do gene *MBL2*

A concentração de MBL no plasma varia significativamente entre diferentes indivíduos e é determinada geneticamente por polimorfismos de nucleotídeo simples (SNP's) no primeiro exon e na região promotora do gene que codifica a MBL (*MBL2*) (FIGURA 9) (MADSEN et al., 1995).

FIGURA 9 - GENE *MBL2*



FONTE: <http://www.innogenetics.com/geneticstesting.html?id=52>

O gene *MBL2* está localizado no cromossomo 10q11.2-q21 (SASTRY et al., 1989) e compreende uma região que inclui 10 kb, onde existem ao menos 87 sítios polimórficos (BERNIG et al., 2004).

Três SNP's nos códons 52 (Arg52Cys, alelo *D*), 54 (Gly54Asp, alelo *B*) and 57 (Gly57Glu, alelo *C*) do exon 1 resultam em falha na produção da proteína multimérica completa e funcional, além de alterar significativamente a sua concentração sérica. Indivíduos heterozigotos para estas mutações apresentam uma diminuição substancial na concentração sérica de MBL, sendo que MBL é indetectável em homozigotos, levando a deficiência nestes indivíduos. A MBL aberrante não se liga significativamente à manose e não promove a ativação da via da lectina. Entretanto, esta talvez funcione como uma opsonina ou como um

mediador da citotoxicidade celular (SUPER et al., 1992). Polimorfismos na região promotora do gene *MBL2* (*H/L*, *X/Y*, *P/Q*, nas posições -221, -550 e +4, respectivamente) são também conhecidos por afetar a concentração de MBL (LIPSCOMBE et al., 1995; HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003; TURNER, 2003).

Os diferentes polimorfismos existentes resultam em uma dramática variação na concentração de MBL de até mil vezes em indivíduos aparentemente saudáveis (valores <20–10,000 ng/ml em europeus). É importante notar que indivíduos saudáveis, mesmo com genótipos idênticos, podem apresentar variações de até três vezes nos níveis de MBL (STEFFENSEN et al., 2000; DOMMETT; KLEIN; TURNER, 2006). Outros fatores podem afetar os níveis de produção de MBL, tais como hormônios do crescimento (HANSEN et al., 2001) e da tireóide (RIIS et al., 2005) e durante resposta de fase aguda (THIEL et al., 1992). Porém, é importante ressaltar que este aumento não é superior a três vezes, sendo bastante inferior comparado aos valores determinados pela variação genética (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003).

Aproximadamente um terço da população Européia possui genótipos conferindo baixos níveis de MBL e cerca de 5% possui níveis muito baixos (DOMMETT; KLEIN; TURNER, 2006). Muitos pesquisadores sugerem que a alta frequência de genótipos associados à deficiência está associada com vantagens biológicas, como por exemplo, nos casos em que a MBL pode exacerbar ao invés de amenizar a doença. Porém, VERDU et al. (2006) afirmam que a alta frequência de alelos associados com a diminuição, ou ausência, da produção de MBL resultam exclusivamente da migração humana e deriva genética. Segundo os autores, a neutralidade de *MBL2* suporta fortemente a noção de que o polimorfismo deste gene não possui um forte efeito na saúde da população, sugerindo que esta lectina é altamente redundante na defesa em humanos.

2.4.3 MBL e Associação com Doenças

O processo de opsonização e fagocitose do parasita, bem como sua destruição ou sobrevivência no interior das células fagocíticas é crucial para o estabelecimento da doença. A MBL desempenha um papel central na interação inicial entre patógenos e fagócitos, mediando a opsonização e a fagocitose, diretamente, ou pela ativação do sistema complemento (JACK; KLEIN; TURNER, 2001). Genótipos de MBL que codificam baixos níveis sorológicos da proteína têm sido associados com susceptibilidade a infecções causadas por microorganismos extracelulares (SUMMERFIELD et al., 1995). Por outro lado, a deficiência pode ser benéfica para o hospedeiro, e está associada com proteção em infecções causadas por alguns microorganismos intracelulares, tais como *Leishmania chagasi* (SANTOS et al., 2001) e *Mycobacterium leprae* (DORNELLES; PEREIRA-FERRARI; MESSIAS-REASON, 2006; MESSIAS-REASON et al., 2007). Esses patógenos utilizam a MBL ou fatores do complemento ativados pela via das lectinas, como a opsonização através de C3 e o receptor de C3 presente em monócitos/macrófagos, para facilitar sua entrada nas células-alvo. Esta idéia é corroborada pelos achados de GARRED et al. (1994), em que demonstrou-se uma frequência maior de suficiência de MBL em pacientes Etíopios com hanseníase do que nos controles. DORNELLES, PEREIRA-FERRARI E MESSIAS-REASON (2006) sugeriram um papel protetor da deficiência de MBL contra o desenvolvimento das formas graves e multibacilares na hanseníase. Indivíduos com baixos níveis de MBL teriam uma diminuição da fagocitose mediada pela MBL, o que dificultaria a internalização destes patógenos (TURNER, 2003).

A principal glicoproteína de superfície das formas amastigotas, a SA85-1, é ligante da MBL humana (Kahn et al., 1996). Além disso, foi demonstrado que a adesão de amastigotas de *T. cruzi* a macrófagos é facilitada pelo receptor de manose (KAHN et al., 1995; KAHN et al., 1996). Sabe-se ainda que receptores de manose localizados na superfície das células do músculo cardíaco estão envolvidos na ligação e internalização do *T. cruzi* (MEIRELLES et al., 1999; SOEIRO et al., 1999).

A inflamação mediada por complemento tem sido reconhecida por desempenhar um importante papel na injúria tecidual. MBL e MASPs são proteínas séricas sintetizadas principalmente pelos hepatócitos e, assim como ocorre com outras moléculas de defesa, espera-se uma produção exacerbada durante

processos inflamatórios (HOLMSKOV; THIEL; JENSENIUS, 2003). De fato, evidências crescentes de um papel pró-inflamatório ativo da MBL, em diferentes doenças crônicas infecciosas, como a hepatite C (ALVES PEDROSO et al., 2008) e inflamatórias, como a febre reumática (SCHAFRANSKI et al., 2004) estão surgindo. Nestes casos, altos níveis de MBL parecem estar envolvidos com a gravidade, pior prognóstico e menor resposta ao tratamento.

Vários pesquisadores têm destacado a importância do papel pró-inflamatório da MBL em distúrbios cardíacos. Segundo CHAN et al. (2006), a MBL aumenta a injúria tecidual no processo inflamatório que ocorre na reperfusão pós isquêmica. JORDAN; MONTALTO; STAHL (2001) utilizando um modelo experimental, demonstraram que a MBL pode ligar-se ao endotélio causando excessiva ativação do complemento e subsequente dano ao tecido. Segundo os autores, os achados de que a MBL se liga a células endoteliais re-oxigenadas após a reperfusão isquêmica, permitem especular o uso de inibidores da via das lectinas a fim de reduzir a injúria tecidual. BUSCHE et al. (2008) observaram que a MBL desempenha um papel crítico na isquemia e injúria pós-reperfusão do miocárdio, em um modelo experimental de diabetes. Além disso, a ausência de MBL parece inibir a remodelação hipertrófica e a perda de células progenitoras cardíacas após duas semanas de hiperglicemia em camundongos. Num estudo realizado em pacientes com artrite reumatóide, níveis altos de MBL foram associados com risco aumentado de isquemia, infarto do miocárdio e morte súbita (TROELSEN et al., 2007). SCHAFRANSKI et al. (2008) demonstraram que genótipos que determinam alta produção de MBL aumentam o risco de cardite aguda e crônica em pacientes com febre reumática. Por outro lado, SAEVARSDOTTIR et al. (2005) observaram que pacientes com alta concentração de MBL apresentam uma probabilidade menor de infarto do miocárdio, devido a sua importante função na remoção fagocítica de debris celulares e complexos auto-ímmunes. No referido trabalho, sugere-se a dosagem das concentrações MBL como um adjuvante na avaliação prognóstica do infarto do miocárdio em pacientes considerados de alto risco, embora não seja conhecido seu valor preditivo para essa condição.

2.5 PROTEÍNA C-REATIVA

2.5.1 Considerações Gerais

A proteína C-reativa (CRP) foi descoberta em 1930, na Universidade de Rockefeller, e foi assim denominada por reagir com o polissacarídeo C da parede celular do pneumococo (DU CLOS, 2000). É considerada uma proteína de fase aguda por ser produzida rapidamente num período de 24 – 48 horas, em resposta a estímulos pró-inflamatórios. Sintetizada pelos hepatócitos, a CRP é liberada no sistema circulatório principalmente pela ação da IL-6, desencadeada por uma resposta inespecífica a infecções ou à processos inflamatórios não infecciosos (LUHR, 2000; JANEWAY JR; TRAVERS, 2002).

A concentração da CRP na circulação sanguínea pode elevar-se em até 1000 vezes frente a uma resposta inflamatória, trauma ou infecções, decrescendo rapidamente assim que o organismo retorna às condições fisiológicas. Em pessoas saudáveis, os valores circulantes de CRP encontram-se abaixo de 0,5 mg/dl, enquanto que nos estados de injúria tecidual, infecção ou inflamação aguda, esses valores podem atingir 2,0 a 50,0 mg/dl, entre 4-8 horas após um processo inflamatório agudo (VOLANAKIS, 2001). Um estudo sobre a variabilidade nas concentrações séricas de CRP em indivíduos saudáveis não encontrou diferença em relação ao sexo, e a associação com a idade foi fraca (MACY; HAYES; TRACY, 1997).

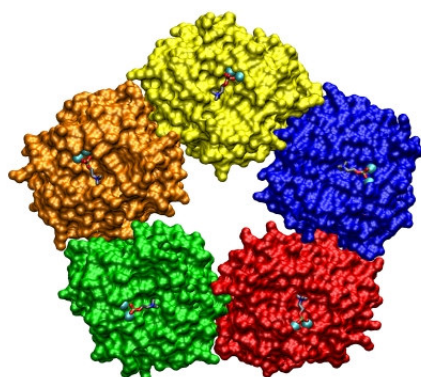
2.5.2 Estrutura Molecular e Função Biológica

A CRP é membro de uma família de proteínas denominada pentraxinas, as quais são formadas por cinco subunidades idênticas, simetricamente arranjadas entre si, originando uma estrutura quaternária pentamérica (FIGURA 10). Possui peso molecular aproximado de 118 kDa e cada subunidade é composta por 206 aminoácidos (VOLANAKIS, 2001).

Dentre as principais funções biológicas da CRP (FIGURA 11) destacam-se a defesa do hospedeiro contra patógenos e a eliminação de células necróticas e apoptóticas (VOLANAKIS, 2001), evidenciando seu importante papel na imunidade inata do hospedeiro. Tais funções são desempenhadas através do recrutamento de diversos componentes do sistema imune, como ativação do sistema complemento e

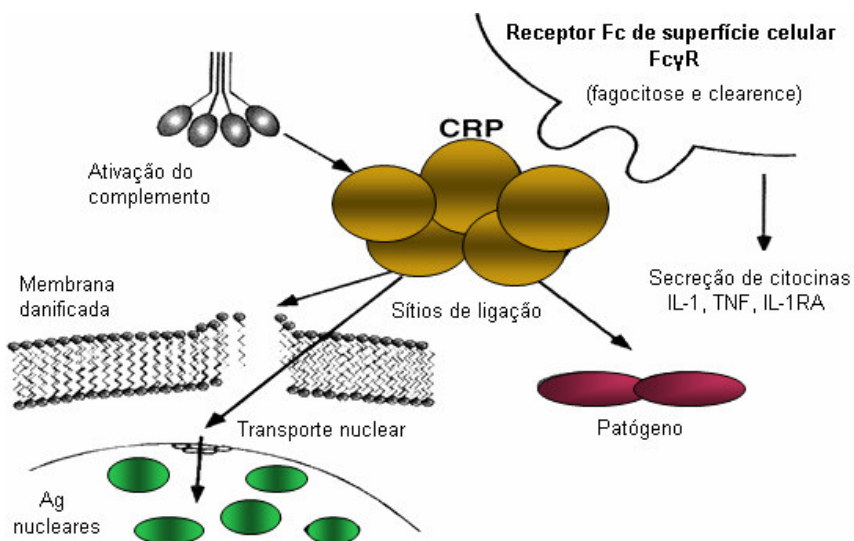
estimulação de sinais inflamatórios, promovendo tanto a resposta imune celular quanto a humoral (DU CLOS, 2000; JANEWAY JR; TRAVERS, 2002).

FIGURA 10 - ESTRUTURA DA MOLÉCULA DA CRP



FONTE: <http://c-reactive-protein-crp.blogspot.com>

FIGURA 11 - FUNÇÕES BIOLÓGICAS DA CRP



FONTE: Adaptado de DU CLOS (2000)

A CRP reconhece patógenos e células danificadas no organismo, desencadeando a opsonização e a fagocitose. O reconhecimento dos patógenos pela CRP é dependente de cálcio, e ocorre através da sua interação com ligantes específicos, o que foi inicialmente demonstrado pela sua reação com o polissacarídeo C do pneumococo. A fosfatidilcolina (Phc), presente em diversas bactérias, fungos e membranas celulares danificadas, tornam-se ligantes para a CRP, bem como a cromatina nuclear quando exposta ou desnaturada, como ocorre nos mecanismos de apoptose ou necrose celular. A CRP liga-se ainda a pequenas partículas nucleares como a ribonucleoproteína (snRNP), importante auto-antígeno envolvido no lúpus eritematoso sistêmico (LES). Também interage com antígenos próprios, através do reconhecimento padrão de ligantes específicos, sendo ativamente transportada para o núcleo da célula danificada, onde se liga avidamente a antígenos nucleares, promovendo a eliminação dos antígenos nucleares e membranas danificadas. A CRP ativa a via clássica do complemento ligando-se à C1q, porém, de maneira mais limitada que os componentes iniciais clássicos da cascata do complemento, ocorrendo assim, menor formação do MAC. Além disso, induz a expressão de moléculas de adesão e aumenta a destruição de células endoteliais (VOLANAKIS, 2001). Sua interação com receptores celulares Fc leva a um aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, intensificando, portanto, a resposta à inflamação (DU CLOS, 2000; VOLANAKIS, 2001).

Até o momento, não existem na literatura relatos de deficiência desta proteína "*in vivo*" (DU CLOS, 2000) sugerindo que, provavelmente, tal deficiência seria incompatível com a vida.

2.5.3 Utilização Clínica da CRP

A quantificação dos níveis de CRP circulante trata-se de uma avaliação rotineira, já consagrada no monitoramento de processos inflamatórios. Sua determinação é utilizada não apenas a fim de monitorar o processo inflamatório em doenças, bem como o sucesso do tratamento (DU CLOS, 2000).

Atualmente, a CRP é considerada um marcador inflamatório com valor preditivo para vários tipos de doenças cardiovasculares (BASSUK; RIFAI; RIDKER, 2004). Demonstrou-se que a CRP possui importante papel na patogênese da doença arterial, atuando como mediador da aterotrombose (SHISHEHBOR; BHATT; TOPOL, 2003), sendo também reconhecida como um novo fator de risco para a

aterosclerose sistêmica (RIDKER; STAMPFER; RIFAI, 2001). Além disso, a CRP tem se mostrado útil na predição do primeiro evento cardiovascular (RIDKER et al., 2002).

O gene que codifica a CRP é polimórfico e, atualmente, existem evidências diretas de que alguns desses polimorfismos afetam a quantidade da proteína produzida, e evidências indiretas de que exista um impacto dessa variação em doenças cardiovasculares (HAGE; SZALAI, 2007).

Na dosagem da CRP de alta sensibilidade (hs-CRP), concentrações mínimas circulantes desta prote[ina são mensuradas através de técnicas como a nefelometria, introduzida em 1996 na Alemanha (LUHR, 2000). Por ser tratar de um fator de risco para doenças cardiovasculares, a determinação da hs-CRP tem sido bastante utilizada na predição de doença cardíaca coronariana (DANESH et al., 2004). Foi demonstrado em diversos estudos que valores de CRP inferiores a 0,1 mg/dl representam baixo risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Já concentrações entre 0,1 a 0,3 mg/dl e superiores a 0,3 mg/dl estão relacionadas a riscos moderado e elevado de complicações cardíacas, respectivamente. A concentração de CRP pode também indicar quais pacientes possuem maior risco de recorrência de eventos, a curto e longo prazo, pós-procedimento de angioplastia coronariana percutânea (CHUNG et al., 2001; RIDKER et al., 2002). O uso clínico da quantificação da CRP, através da hs-CRP, tem auxiliado no diagnóstico mais preciso de processos incipientes de inflamação, bem como no acompanhamento dos pacientes em estados inflamatórios persistentes.

2.6 CRP E MBL NA DOENÇA DE CHAGAS

O papel da CRP como marcador inflamatório e sua importância em doenças cardiovasculares é bem conhecido. Porém, são raros os relatos associando as concentrações de CRP com a DC crônica, sendo que em apenas um a participação dessa proteína no desenvolvimento da CCC é sugerida. Segundo LOPEZ et al. (2006), valores aumentados de CRP estão associados com as formas cardíacas mais graves e esta proteína pode ser considerada um marcador prognóstico da CCC. COUTINHO et al. (1998) demonstraram a existência de uma molécula antigenicamente relacionada à CRP, uma possível molécula CRP-like, expressa na superfície das formas tripomastigotas do *T. cruzi*. Segundo estes autores, anticorpos

policlonais contra estas moléculas inibem a invasão de células musculares cardíacas pelo parasita.

Por sua vez, Kahn et al. (1996) caracterizaram a interação entre MBL e *T. cruzi*, *in vitro*, demonstrando que a principal glicoproteína de superfície das formas amastigotas, a SA85-1, é ligante da MBL humana. Os autores também observaram que a adesão de formas amastigotas de *T. cruzi* a macrófagos é facilitada pelo receptor de manose (KAHN et al., 1995); (KAHN et al., 1996). Receptores de manose localizados na superfície das células do músculo cardíaco estão envolvidos na ligação e internalização do *T. cruzi* (MEIRELLES et al., 1999; SOEIRO et al., 1999). Anteriormente, pensava-se que a expressão de receptores de manose restringia-se a macrófagos presentes nos tecidos. Atualmente, sabe-se que estes receptores são expressos em outras células, tais como subpopulações de células endoteliais, células de músculo liso, epitélio pigmentado da retina, células mesangiais do rim e células mielóides e células de sarcoma de Kaposi (MEIRELLES et al., 1999). SOEIRO et al. (1999) demonstraram que receptores de manose localizados na superfície de cardiomiócitos estão envolvidos na ligação e internalização do *T. cruzi*. Entretanto, até o momento são inexistentes dados demonstrando a real participação da MBL na fisiopatologia da DC.

Considerando que a deficiência de MBL tem sido associada com proteção em infecções causadas por parasitas intracelulares, aliado à participação dessa proteína nas diversas doenças inflamatórias e auto-imunes, mecanismos esses também presentes na DC, justificam-se os objetivos do presente estudo, tanto pela relevância clínica quanto pelo caráter pioneiro.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO PRINCIPAL

Verificar se há associação entre os níveis circulantes da Lectina Ligante de Manose (MBL) e da Proteína C-Reativa (CRP) na susceptibilidade, progressão e gravidade da Doença de Chagas crônica.

3.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Quantificar os valores séricos de MBL na amostra paciente e controles;
- Quantificar os valores séricos de CRP na amostra paciente;
- Comparar as concentrações séricas de MBL e CRP entre pacientes apresentando as diferentes formas clínicas da doença;
- Investigar a relação entre as concentrações de MBL e a susceptibilidade à infecção pelo *T. cruzi*;
- Investigar a relação entre as concentrações séricas de MBL e CRP e a progressão para as formas sintomáticas da Doença de Chagas;
- Relacionar as concentrações séricas de ambas as proteínas e o grau de acometimento da forma cardíaca;
- Correlacionar as concentrações séricas de MBL e CRP.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA

O presente estudo faz parte de um amplo projeto intitulado “Investigação de Marcadores da Imunidade Inata na Doença de Chagas”, desenvolvido sob a coordenação da Prof^ª. Dr^ª. Iara José Taborda de Messias-Reason, o qual foi submetido à análise e parecer do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC-UFPR), tendo sido devidamente aprovado em reunião no dia 31 de julho de 2007 e registrado sob o número 1457.122/2007-06.

4.2 CASUÍSTICA

4.2.1 Pacientes

4.2.1.1 Aspectos Gerais

Participaram deste estudo 150 pacientes consecutivos, comprovadamente chagásicos, apresentando a forma crônica da doença, independente da forma clínica, registrados no Ambulatório de Atenção ao Paciente Chagásico do Hospital de Clínicas da Universidade federal do Paraná (HC-UFPR).

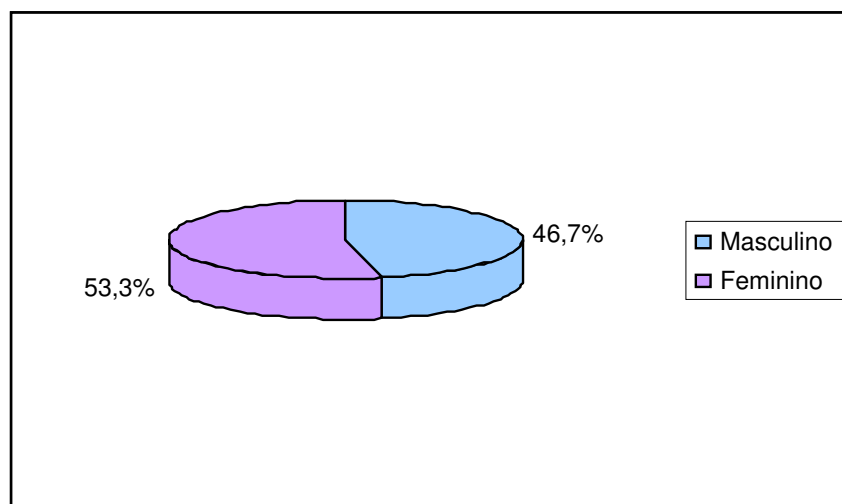
De modo geral, a trajetória do paciente portador da DC tem início em bancos de sangue, ao procurar este serviço com o intuito de fazer uma doação. Frequentemente, este é o momento em que o indivíduo descobre que está infectado e é informado que não pode ser doador, devido à existência do parasita no seu sangue. A partir de então, o paciente é orientado a procurar o Ambulatório de Atenção ao Paciente Chagásico do Hospital de Clínicas - UFPR, único serviço especializado em Curitiba e região para este fim. Atualmente são acompanhados periodicamente cerca de 540 pacientes nesse Ambulatório. O convite para participar do estudo e a coleta das amostras foram realizados no período compreendido entre junho de 2007 a fevereiro de 2008, na ocasião das consultas, após cada paciente ler e assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

A caracterização da amostra paciente foi determinada e devidamente registrada com base na análise de seu histórico clínico, o qual foi levantado através de consulta ao questionário epidemiológico utilizado pelo ambulatório.

4.2.1.2 Sexo

Dentre os 150 pacientes, 70 (46,7%) eram do sexo masculino e 80 (53,3%) eram do sexo feminino (GRAFICO 1), com idade variando de 34 a 90 anos (mediana = 57 anos) no momento da coleta.

GRÁFICO 1 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM O SEXO



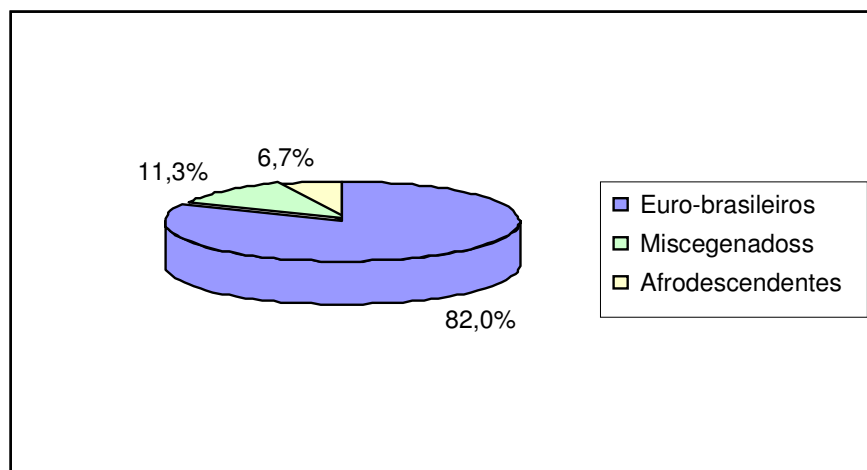
4.2.1.3 Grupo étnico

A população brasileira é formada por extensa miscigenação entre Ameríndios, Europeus e Africanos, constituindo uma das populações mais variadas do mundo. Entretanto, atualmente a relevância em se caracterizar uma amostra de estudo de acordo com sua etnia, na população brasileira, é discutida. (PIMENTA et al., 2006), através de um estudo utilizando marcadores genéticos, concluíram que a cor da pele de um indivíduo, determinada pela avaliação do seu fenótipo, é um preditor pobre de ancestralidade genômica. Segundo PENA (2005), o baixo nível de variabilidade da espécie humana é incompatível com a existência de raças, e a cor e/ou ancestralidade geográfica possuem pouca ou nenhuma importância útil na prática. O referido autor mostrou que mesmo as chamadas doenças raciais como anemia falciforme são o produto de estratégias evolucionárias selecionadas em populações expostas a agentes específicos, cujos territórios não têm nenhuma relação com a cor da pele ou origem continental dos indivíduos.

Porém, como uma grande diversidade no polimorfismo de *MBL2* associado à doenças nos diferentes grupos étnicos tem sido descrita (MINCHINTON et al., 2002), optou-se em realizar a classificação dos pacientes segundo sua origem étnica, neste estudo. Os critérios utilizados para este fim foram: a cor da pele, traços fisionômicos e ascendência dos indivíduos. A amostra foi constituída por 123 (82%) pacientes

com ascendência européia, denominados euro-brasileiros, 10 (6,7%) afrodescendentes e 17 (11,3%) indivíduos miscigenados (GRÁFICO 2). Em algumas análises, os indivíduos afrodescendentes e miscigenados foram reunidos em um único grupo denominado “não euro-brasileiros”.

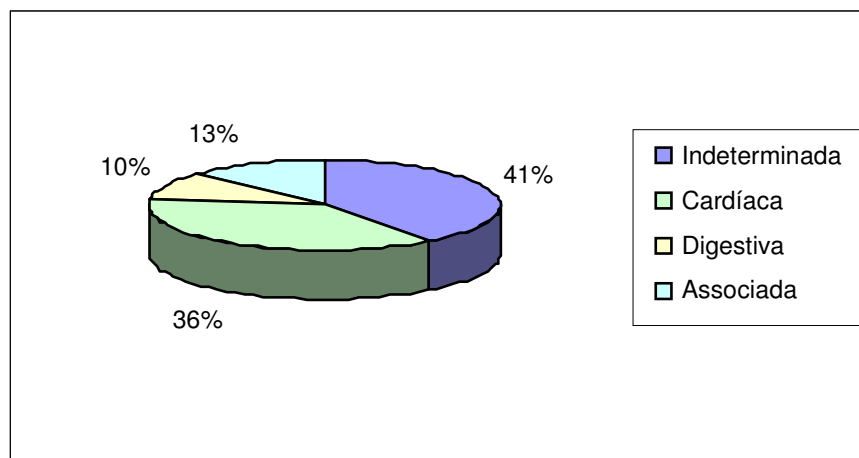
GRÁFICO 2 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO



4.2.1.4 Formas Clínicas

Para a determinação das formas clínicas da doença foram utilizadas as fichas clínicas dos pacientes e/ou os prontuários médicos. Dos 150 pacientes, 62 (41%) apresentaram a forma indeterminada, 54 (36%) a forma cardíaca, 15 (10%) a forma digestiva e 19 (13%) a forma associada (cardíaca com digestiva) (GRÁFICO 3). Em algumas análises, os pacientes cardíacos foram reunidos em um único grupo, independentemente de apresentarem a forma isolada ou associada.

GRÁFICO 3 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA



Os pacientes cardíacos foram estadiados segundo a classificação da *American Heart Association* (AHA), adaptada para DC, indicada pelo Consenso Brasileiro de 2005 (QUADRO 1). Esta classificação permite a identificação de subgrupos distintos, tanto sob o ponto de vista prognóstico como terapêutico. Os parâmetros eletrocardiográficos, radiológicos e ecocardiográficos necessários para o estadiamento dos pacientes foram avaliados através de consulta aos prontuários médicos.

QUADRO 1 - ESTADIAMENTO DO COMPROMETIMENTO MIOCÁRDICO NA CARDIOMIOPATIA CHAGÁSICA CRÔNICA

Estádios	ECG	ECO	IC
A	<i>Alterado</i>	<i>Normal</i>	<i>Ausente</i>
B1	<i>Alterado</i>	<i>Alterado FEVE >45%</i>	<i>Ausente</i>
B2	<i>Alterado</i>	<i>Alterado FEVE <45%</i>	<i>Ausente</i>
C	<i>Alterado</i>	<i>Alterado</i>	<i>Compensável</i>
D	<i>Alterado</i>	<i>Alterado</i>	<i>Refratária</i>

Nota: ECG = eletrocardiograma; ECO = ecocardiograma; IC = insuficiência cardíaca; FEVE = fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

FONTE: Consenso Brasileiro em Doença de Chagas (2005)

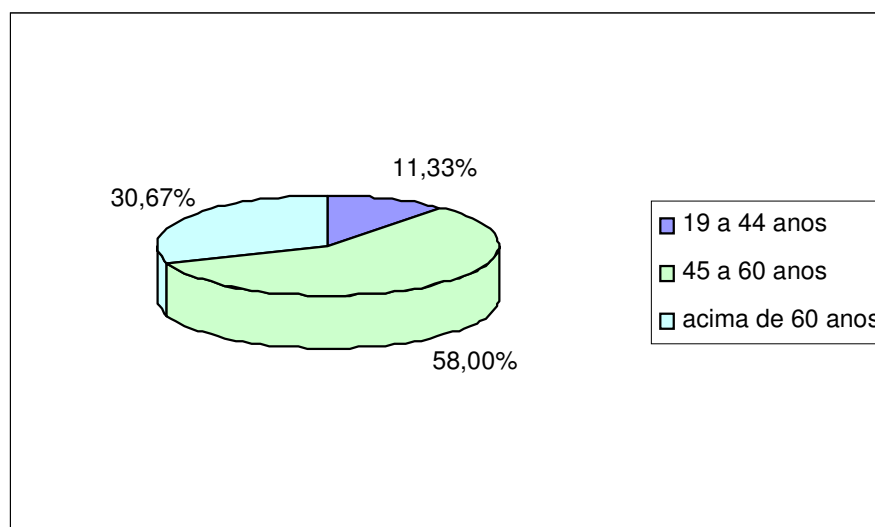
4.2.1.5 Grupos Etários

Os pacientes, assim como os controles, foram divididos em 3 grupos por faixa etária: 19 a 44 anos, 45 a 60 anos e acima de 60 anos. As faixas etárias foram estabelecidas para facilitar o pareamento entre pacientes e controles. Dos 150 pacientes analisados, 17 (11,33%) estavam no grupo etário de 19 – 44 anos, 87 (58%) no grupo etário de 45 a 60 anos e 46 (30,67%) no grupo etário >60 anos (GRÁFICO 4).

As informações relativas à idade, sexo, etnia, formas clínicas e concentrações de MBL e CRP de cada paciente, encontram-se no Apêndice 1.

Foram excluídos do estudo: pacientes com sorologia negativa ou duvidosa para DC; pacientes com forma clínica não especificada; e indivíduos com evidências de cardiopatia de etiologia não chagásica.

GRÁFICO 4 – DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA



4.2.2 Controles

O grupo controle foi constituído por 139 adultos saudáveis com sorologia negativa para DC, selecionados entre os doadores voluntários do Banco de Sangue do HC-UFPR, os quais foram pareados com relação à amostra paciente de acordo com sexo, etnia e faixa etária.

Entre os indivíduos do grupo controle, 68 (49%) eram do sexo masculino e 71 (51%) eram do sexo feminino, com faixa etária variando de 19 a 78 anos (Med = 50 anos). Dos 139 controles analisados, 54 (38,85%) estavam no grupo etário de 19 – 44 anos, 71 (51,08%) no grupo etário de 45 – 60 anos e 14 (10,07%) no grupo etário >60 anos. Referente ao grupo étnico, 111 (80%) controles foram classificados como euro-brasileiros, 14 (10%) como miscigenados e 14 (10%) como afrodescendentes (APÊNDICES 3 a 6).

As informações do grupo controle relativas à idade, sexo, etnia, concentração de MBL e concentração de CRP, encontram-se no apêndice 2.

4.3 METODOLOGIA

4.3.1 Coleta de sangue

A coleta das amostras de sangue foi realizada no período compreendido entre julho de 2007 a março de 2008.

Após o devido esclarecimento e consentimento de cada paciente, coletou-se aproximadamente 10 ml de seu sangue venoso, em tubos sem anticoagulante, para posterior separação do soro. As amostras foram centrifugadas, divididas em 4 alíquotas de aproximadamente 500 ul e armazenadas à temperatura de -80°C, até o momento das análises laboratoriais.

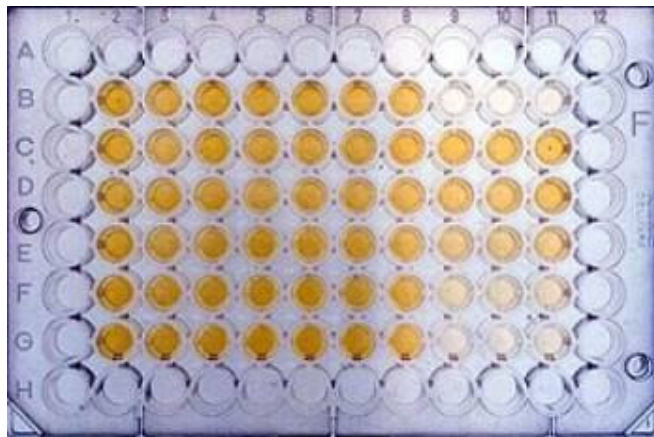
4.3.2 Quantificação Sérica de MBL

A determinação da concentração sérica da MBL foi realizada através do ensaio de imunoadsorção ligado à enzima, ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*), utilizando-se kits comerciais (AntibodyShop®, Dinamarca). O imunoensaio foi realizado em microplacas adsorvidas com anticorpo monoclonal dirigido contra o domínio de reconhecimento de carboidrato da MBL. Todos os reagentes são fornecidos pelo fabricante.

Os indivíduos foram classificados, segundo seus níveis individuais de MBL circulante, em três diferentes grupos: foram considerados altos, valores séricos acima de 1000 ng/ml; médios, valores entre 100-1000 ng/ml; e baixos (ou deficientes), valores abaixo de 100 ng/ml.

O ensaio de ELISA foi realizado em microplacas de titulação de poliestireno (FIGURA 12) adsorvidas com anticorpo monoclonal dirigido contra o domínio de carboidrato da MBL. Todos os reagentes foram fornecidos pelo fabricante.

FIGURA 12 – MICROPLACA DE TITULAÇÃO UTILIZADA NAS REAÇÕES ENZIMÁTICAS



FORNE: O AUTOR

As amostras de soro dos pacientes, dos controles sadios e dos controles internos da técnica foram previamente diluídas a 1:100 com tampão de diluição. Adicionou-se em cada cavidade de reação da microplaca, 100 μ l dos 8 calibradores com diferentes concentrações de MBL humana (0 a 50 ng/ml) em duplicata, 100 μ l do branco (tampão de diluição sem amostra), 100 μ l dos 3 soros controles internos da técnica (MBL abaixo de 100 ng/ml, entre 100 e 1000 ng/ml e acima de 1000 ng/ml) e 100 μ l das diluições dos soros dos pacientes e dos controles sadios.

Foi realizada incubação por 1 hora à temperatura ambiente, período no qual a MBL presente na amostra liga-se aos anticorpos monoclonais anti-MBL adsorvidos na placa. Foram realizadas 4 lavagens da placa, com o tampão de lavagem específico, para a retirada do material em excesso, evitando ligações inespecíficas. Adicionou-se à reação 100 μ l de anticorpo monoclonal anti-MBL biotilado e incubou-se novamente por 1 hora à temperatura ambiente. Esse anticorpo de detecção, ou anticorpo secundário, liga-se aos oligômeros de MBL através de sítio

de ligação com carboidratos que não estão sendo utilizados na ligação com o anticorpo primário.

Realizou-se 4 novas lavagens da placa, para a retirada dos anticorpos não ligados a MBL, e adicionou-se à reação 100µl de streptavidina conjugada com HRP (*horseradish peroxidase*). Esta reação ocorre em 1 hora à temperatura ambiente. Durante este período ocorre a formação de um complexo com o anticorpo secundário. O conjugado que não se ligou foi removido por 4 lavagens com tampão específico. Na seqüência, acrescentou-se o substrato cromógeno tetrametilbenzidina (TMB) fornecedor de hidrogênio para a reação do substrato peróxido de hidrogênio (H₂O₂) com a peroxidase, o qual gera um produto colorido (azul). Esta reação foi realizada em exatos 15 minutos, protegida da luz. Adicionou-se então 50µl de uma solução de bloqueio de reação, a qual pela alteração da coloração (para amarelo) das soluções indica que a reação enzimática foi bloqueada.

A intensidade de cor foi aferida em um leitor de ELISA a 450nm (HEWLETT PACKARD, DESKJET 420, GERMANY). A absorvância obtida é proporcional à concentração de oligômeros de MBL presentes na amostra. A partir das leituras da absorvância dos calibradores, determinou-se um fator multiplicador para o cálculo dos valores séricos de MBL.

$$\diamond \text{ Fator} = \frac{\text{Concentração de MBL dos calibradores em ng/ml}}{\text{Absorbância dos calibradores}}$$

$$\diamond \text{ MBL (ng/ml)} = \text{Fator} \times \text{Absorbância da amostra} \times \text{Diluição da amostra}$$

4.3.3 Quantificação da Proteína-C Reativa de alta sensibilidade

A quantificação ultra-sensível de CRP sérica foi determinada através da técnica de Nefelometria padrão, segundo (RIFAI, TRACY e RIDKER, 1999), utilizando-se kits comerciais (Dade Behring Diagnostic, Marburgh, Alemanha), cujo intervalo de referência detecta concentrações entre 0,075 e 4,8 mg/dl.

A nefelometria é uma técnica analítica quantitativa baseada na interação da radiação eletromagnética com partículas em suspensão. O método consiste em medir a turbidez de uma solução particulada na presença de um feixe de luz incidente. No caso do kit utilizado, partículas de poliestireno são revestidas com

anticorpo monoclonal específico contra a CRP humana que, ao formarem complexos antígeno-anticorpo, dispersam a luz irradiada. O feixe de luz que sofre dispersão é então detectado por sensores que o transformam em um sinal. A intensidade da luz dispersa depende da concentração de CRP na amostra, que é diretamente proporcional ao sinal, podendo ser representada através de um gráfico. As concentrações das amostras são automaticamente calculadas por comparação com diluições de padrões fornecidos pelo fabricante, de concentrações conhecidas. O equipamento, denominado nefelômetro, possui um computador e software apropriado, através do qual uma curva de referência é comparada a cada uma das amostras (LUHR, 2000).

A quantificação da CRP foi realizada em parte da amostra paciente, e não no grupo controle. Esta foi utilizada como marcador inflamatório com o objetivo de verificar se níveis elevados de MBL estariam relacionados à resposta inflamatória dos pacientes. Além disso, a concentração sérica de CRP foi avaliada como marcador cardíaco e, nesse caso, o grupo de comparação utilizado foi o de pacientes chagásicos, sem alterações clínicas cardíacas.

4.3.4 Análise Estatística

Na análise estatística deste trabalho foi utilizado os programa “Microsoft - Statistica versão 5.5” e “GraphPad Prism – versão 3.0”. Para a comparação de dois grupos em relação à concentração de MBL e de CRP adotou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Quando a comparação envolveu mais de dois grupos utilizou-se o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis, e para a comparação de dois grupos em relação a variáveis dicotômicas, adotou-se o teste do Qui-quadrado. A correlação das concentrações de MBL e de CRP entre si, e de ambas em relação à idade, foi avaliada pelo coeficiente de correlação de Spearman. O nível de significância adotado foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP ENTRE PACIENTES E CONTROLES

A quantificação dos níveis séricos de MBL foi realizada em 150 pacientes, sendo 54 com a forma cardíaca, 62 com a indeterminada, 15 com a digestiva e 19 com a forma associada (TABELA 2). Na tabela 1 encontram-se os valores das concentrações de MBL observados nos pacientes com DC e controles normais. Para a MBL, foram obtidos valores de <50 ng/ml (indetectáveis) a 5.600 ng/ml nos pacientes com a forma indeterminada, de <50 ng/ml a 7.213,5 ng/ml na forma cardíaca isolada, de <50 ng/ml a 5.465 ng/ml na forma digestiva, e de <50 ng/ml a 5.600 ng/ml na forma associada. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores séricos de MBL dos pacientes quando comparados aos controles normais ($p = 0,3631$).

TABELA 1 – COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP ENTRE PACIENTES E CONTROLES

Forma Clínica	MBL (ng/ml)		CRP (mg/dl)	
	n	Mediana (min - max)	n	Mediana (min - max)
Pacientes	150	1421 (<50,0 – 7214)	95	0,31 (<0,08 – 4,25)
Controles	139	1400 (<50,0 – 8076,5)	nd	--
Valor de p^*		0,3631		--

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney

nd = não determinado

-- Não aplicável

A determinação dos níveis séricos de CRP foi realizada em 95 dos 150 pacientes investigados, dentre os quais 44 apresentando a forma cardíaca, 36 a forma indeterminada, 5 a digestiva e 10 a forma associada (TABELA 2). Valores de CRP <0,08 a 3,77 mg/dl foram detectados nos indeterminados, <0,08 a 4,25 mg/dl nos cardíacos, de 0,09 a 0,31 na forma digestiva e <0,08 a 0,76 mg/dl na forma associada. Níveis séricos de CRP inferiores a 0,08 mg/dl encontram-se abaixo do limite de detecção da técnica. Cinco pacientes indeterminados, 7 cardíacos, 5 com a

forma digestiva e 10 com a associada apresentaram níveis de CRP < 0,08 mg/dl. Como explicado na metodologia, a quantificação de CRP não foi realizada no grupo controle.

Na tabela 2 são apresentados os valores de medianas das concentrações de MBL e de CRP observados nos pacientes com as diferentes formas clínicas e dos controles normais. Embora tenha sido observado um aumento dos valores séricos de CRP na forma indeterminada, quando comparado à forma digestiva, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de CRP entre as diferentes formas clínicas.

TABELA 2 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP ENTRE AS FORMAS CLÍNICAS DOS PACIENTES E OS CONTROLES

Forma Clínica	MBL (ng/ml)		CRP (mg/dl)	
	n	Mediana (min – max)	n	Mediana (min – max)
Indeterminada	62	1.135 (<50.0 – 5.600)	36	0,34 (<0,08 – 3,77)
Cardíaca	54	1.481 (<50.0 – 7.214)	44	0,24 (<0,08 – 4,25)
Digestiva	15	1.865 (<50.0 – 5.465)	5	0,18 (<0,08 – 0,31)
Associada	19	2.119 (<50.0 – 5.600)	10	0,34 (<0,08 – 0,76)
Controles	139	1.400 (<50.0 – 8.076)	nd	--
Valor de p*		0,2328		0,5257

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

nd = não determinado

-- Não aplicável

As medianas das concentrações de MBL entre os pacientes nas diferentes formas clínicas foram similares à mediana dos controles normais, exceto na forma associada, cuja mediana (2.119 ng/ml) apresentou-se consideravelmente aumentada em relação aos controles normais (1.400 ng/ml). Esta diferença, no entanto, não atingiu nível de significância na análise estatística.

O gráfico 5 demonstra os valores das medianas da concentração de MBL nos pacientes com as diferentes formas clínicas e os controles.

O gráfico 6 apresenta os valores da concentração de CRP nos pacientes com as diferentes formas clínicas da doença.

GRÁFICO 5 – CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES NORMAIS

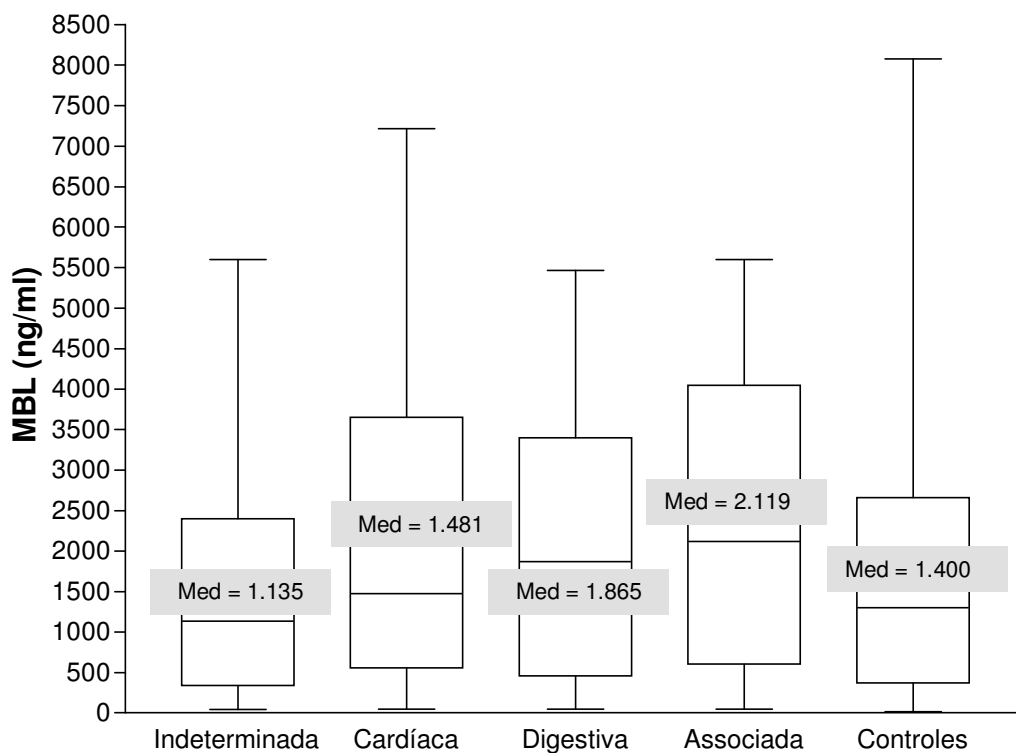
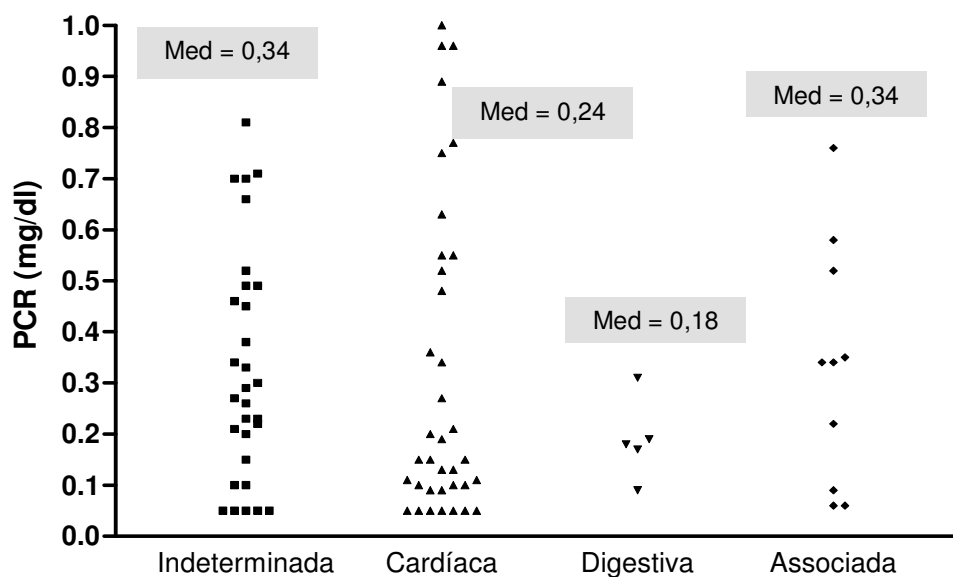


GRÁFICO 6 - CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CRP NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS



Na tabela 3, os pacientes nas diferentes formas clínicas foram analisados dois a dois pelo teste de Mann-Whitney e não foi evidenciada diferença nas concentrações de MBL e CRP entre os grupos. Embora tenha sido observado um aumento dos valores séricos de MBL na forma associada, e uma diminuição dos valores de CRP na forma digestiva, em relação às demais formas clínicas, estas diferenças não foram estatisticamente significativas.

Análises comparativas adicionais, entre os níveis séricos de MBL, nas várias formas clínicas da DC e nos controles normais, foram realizadas e confirmam os resultados já obtidos (TABELAS 17, 18, 19 e 20).

TABELA 3 - COMPARAÇÃO DOS VALORES SÉRICOS DE MBL E DE CRP ENTRE AS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E OS CONTROLES NORMAIS

Formas clínicas sob comparação	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
	Valor de p^*	Valor de p^*
Indeterminada x cardíaca	0,0699	0,6755
Indeterminada x digestiva	0,5370	0,0831
Indeterminada x associada	0,1098	0,6035
Indeterminada x controles	0,5940	--
Cardíaca x digestiva	0,5557	0,4879
Cardíaca x associada	0,8603	0,2266
Cardíaca x controles	0,1177	--
Digestiva x associada	0,4558	0,1409
Digestiva x controles	0,7147	--
Associada x controles	0,1940	--

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

-- Teste não aplicado

Na tabela 4 podem ser observadas as concentrações séricas de CRP nos pacientes segundo o risco de doença cardiovascular. Não houve diferença significativa entre a forma cardíaca isolada, cardíacos totais e não cardíacos.

Dentre os 95 pacientes avaliados, 62 (65,26%), apresentaram valores de CRP sérica abaixo de 0,5 mg/dl (valor encontrado em indivíduos saudáveis) e 33 (34,74%) apresentaram níveis acima deste valor. De acordo com o risco de doenças cardiovasculares, 18 (18,95%) pacientes apresentaram níveis inferiores a 0,1 mg/dl (risco baixo), 30 (31,58%) apresentaram níveis entre 0,1 e 0,3 mg/dl (risco médio) e 47 (49,47%) apresentaram níveis superiores a 0,3 mg/dl (risco elevado) (TABELA 4).

TABELA 4 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP NOS PACIENTES COM E SEM A FORMA CARDÍACA SEGUNDO O RISCO ASSOCIADO À DOENÇA CARDIOVASCULAR

<i>Formas Clínicas</i>		Cardíaca Isolada (n=44)	Cardíacos Totais (n=54)	Não Cardíacos (n=41)	<i>Valor de P*</i>
Níveis CRP (mg/dl)					
<0,1	(n)	9	12	6	
Risco baixo	(mediana)	0,09	0,09	<0,08	0,9255
0,1-0,3	(n)	15	17	15	
Risco médio	(mediana)	0,15	0,15	0,21	0,0544
>0,3	(n)	20	25	20	
Risco alto	(mediana)	0,96	0,75	0,68	0,1583

NOTA: Cardíacos Totais = formas clínicas isolada + associada

(*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis

Na tabela 4, não foi possível calcular o valor exato da mediana das concentrações de CRP dos pacientes com níveis <0,1 mg/dl, não cardíacos, pois cinco dos seis pacientes deste grupo apresentaram valores inferiores a 0,08 mg/dl e, portanto, indetectáveis.

5.2 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS EM RELAÇÃO À CLASSIFICAÇÃO DA INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

Dos 73 pacientes que apresentavam a forma cardíaca (54 isolada e 19 associada), 15,1% (11/73) foram incluídos no grupo A; 27,4% (20/73) no grupo B1; 53,4% (39/73) no grupo C; e 2,7% (2/73) no grupo D, de acordo com a classificação funcional sugerida pelo Consenso em Doença de Chagas de 2005 (QUADRO 1).

Nenhum paciente foi classificado no grupo B2, provavelmente devido ao fato de indivíduos com FEVE < 45% frequentemente apresentarem IC, característica que os enquadra na classe C. Além disso, deve-se considerar que os grupos B1 e B2 englobam pacientes com diferentes manifestações clínicas e graus de comprometimento cardíaco. As classificações funcionais são tentativas de estratificar os pacientes a fim de facilitar a conduta médica no que se refere ao manejo dos mesmos, porém possuem suas limitações.

Apenas um paciente com a forma cardíaca foi excluído desta classificação por apresentar eletrocardiograma normal.

Na tabela 5 são apresentados os valores das concentrações de MBL e CRP observados nos pacientes de acordo com as diferentes classes funcionais.

TABELA 5 - COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS NAS DIFERENTES CLASSES FUNCIONAIS

Classificação Funcional	MBL (ng/ml)		CRP (mg/dl)	
	n	Mediana (min – max)	n	Mediana (min – max)
A	11	357,8 (<50,0 – 3.700)	7	0,22 (<0,08 – 0,96)
B1	20	2.500 (<50,0 – 5.600)	13	0,15 (<0,08 – 2,25)
B2	0	--	0	--
C	39	2.421,8 (<50,0 – 7.213,5)	32	0,34 (<0,08 – 4,25)
D	2	1.827,3 (1.285,5 – 2.369)	2	2,01 (0,35 – 3,66)
Valor de p^*		0,0041		0,5621

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis
 -- Não aplicável

Como pode ser observado na tabela 5, houve diferença estatisticamente significativa para os valores de MBL entre os diferentes grupos ($p = 0,0041$). Os indivíduos na classe funcional A apresentaram concentrações séricas de MBL significativamente reduzidas em relação a todos os demais grupos. Análises adicionais comparando-se diferentes combinações entre os grupos nas classes funcionais foram realizadas e corroboram com estes resultados (TABELA 8).

Para os valores de CRP, não se observou diferença estatisticamente significativa em relação à classificação funcional dos pacientes, embora na classe D a concentração de CRP encontre-se bastante elevada em relação aos demais grupos (2,01 mg/dl) (TABELA 5), embora outros pesquisadores tenham demonstrando sua relevância como marcador prognóstico. Entretanto, tal associação talvez não tenha sido evidenciada devido ao pequeno número amostral na classe D. O pequeno número de indivíduos na classe funcional D deve-se ao fato de que os pacientes com IC refratária sentem cansaço aos mínimos esforços e muitos encontram-se internados, na fila de espera do transplante cardíaco. Sendo assim, dificilmente são encontrados nas consultas periódicas do ambulatório, onde foram realizadas as coletas. Por esta razão, em algumas análises optou-se em reunir os pacientes em apenas dois grupos, de acordo com a presença ou ausência de IC (TABELA 6).

TABELA 6 - CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS NAS DIFERENTES CLASSES FUNCIONAIS SEGUNDO O RISCO DE DOENÇA CARDIOVASCULAR

<i>Classe Funcional</i>		<i>A</i>	<i>B1</i>	<i>C</i>	<i>D</i>	<i>Valor de P</i>
		<i>n</i> (mediana)	<i>n</i> (mediana)	<i>n</i> (mediana)	<i>n</i> (mediana)	
<i>CRP (mg/dl)</i>	<i>Baixo</i> (níveis <0,1)	1 --	4 <0,08	7 0,09	0 --	0,8398
	<i>Médio</i> (entre 0,1 e 0,3)	3 0,15	6 0,17	8 0,13	0 --	0,7019
	<i>Alto</i> (níveis > 0,3)	3 0,89	3 1,43	17 0,63	2 2,01	0,8628

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis
RDC = Risco de doenças cardiovasculares
-- Não aplicável

Na tabela 6 não foi possível calcular a mediana exata para os indivíduos na classe funcional B1 com valores séricos de CRP <0,1 mg/dl, pois três dos quatro pacientes do referido grupo apresentaram níveis séricos de CRP inferiores a 0,08 mg/dl e, portanto, abaixo do limite de detecção da técnica.

Na tabela 7 são apresentadas as concentrações de MBL e CRP observadas nos pacientes de acordo com a presença de IC. Os pacientes com IC apresentaram valores de MBL bastante aumentados em relação aos pacientes sem IC, e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p = 0,0204$). Embora a mediana das concentrações de CRP tenha sido mais elevada no grupo com insuficiência (classes C + D), em relação ao grupo sem insuficiência (classes A + B1), esta diferença não foi estatisticamente significativa, e isto pode ser explicado pelo pequeno número de pacientes na classe D.

TABELA 7 - COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA

IC	MBL (ng/ml)		CRP (mg/dl)	
	n	Mediana (min – max)	N	Mediana (min – max)
Ausente (Classes A + B1)	31	800 (0 – 5.690,0)	20	0,17 (0,08 – 2,25)
Presente (Classes C + D)	41	2.369 (0 – 7.213,5)	34	0,34 (0,08 – 4,25)
Valor de p^*		0,0204		0,8584

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney. Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística
IC = insuficiência cardíaca

Na tabela 8 encontram-se os dados referentes aos pacientes cardíacos distribuídos nas diferentes classes funcionais de IC, de acordo com as concentrações de CRP associadas a risco baixo (<0,1 mg/dl), médio (entre 0,1-0,3 mg/dl) e alto (>0,3 mg/dl) de doença cardiovascular. Comparando-se os indivíduos na classe funcional A com os grupos B1, C+D e em relação aos controles, observaram-se diferenças estatisticamente significativas.

TABELA 8 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS ENTRE AS DIFERENTES CLASSES FUNCIONAIS E CONTROLES

Grupos sob comparação	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
	Valor de p^*	Valor de p^*
A x B1	0,0105	1,00
A x C+D	0,0002	0,9831
A x controles	0,0053	--
B1 x C+D	0,5690	0,7515
B1 x controles	0,7042	--
C+D x controles	0,3190	--

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney.
 Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística
 -- Não aplicado

5.3 DISTRIBUIÇÃO DOS VALORES SÉRICOS BAIXOS, MÉDIOS E ALTOS DE MBL NOS PACIENTES E CONTROLES

Dentre os 150 pacientes incluídos no estudo, 60% (90/150) apresentaram níveis altos (>1000 ng/ml), 27,33% (41/150) níveis médios (101–1000 ng/ml) e 12,67% (19/150) níveis baixos de MBL sérica (\leq 100 ng/ml). Quanto aos controles normais, dos 139 indivíduos estudados, 55,40% (77/139) apresentaram níveis altos (>1000 ng/ml), 25,90% (36/139) níveis médios (101–1000 ng/ml) e 18,70% (26/139) níveis baixos de MBL sérica (\leq 100 ng/ml).

Na tabela 9 apresenta-se a distribuição das concentrações de MBL entre pacientes totais e controles. Não houve diferença significativa com relação aos valores baixos, médios e altos de MBL entre os dois grupos. Na tabela 10 apresenta-se a distribuição dos pacientes nas diferentes formas clínicas da doença, agrupados de acordo com os respectivos níveis séricos de MBL (baixos, médios e altos). Embora tenha sido observada uma porcentagem menor de indivíduos com deficiência de MBL nos pacientes totais e nas diferentes formas clínicas, em relação aos controles, essa diferença não foi estatisticamente significativa.

TABELA 9 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA ENTRE OS PACIENTES TOTAIS E OS CONTROLES

Concentração de MBL (ng/ml)	Pacientes Totais n (%)	Controles n (%)	Valor de p^*
<100	19 (12,7)	26 (18,7)	0,1569
De 100 a 1000	41 (27,3)	36 (25,9)	0,7829
> 1000	90 (60)	77 (55,4)	0,4284

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

TABELA 10 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA ENTRE OS PACIENTES NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS E OS CONTROLES

Concentração de MBL (ng/ml)	Forma Clínica				Controles n (%)
	Indeterminada n (%)	Cardíaca n (%)	Digestiva n (%)	Associada n (%)	
<100	9 (14,5)	6 (11,1)	2 (13,3)	2 (10,5)	26 (18,7)
De 100 a 1000	18 (29)	15 (27,8)	4 (26,7)	4 (21,1)	36 (25,9)
> 1000	35 (56,5)	33 (61,1)	9 (60)	13 (68,4)	77 (55,4)
Total	62	54	15	19	139

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis
Valores de P não significativos

5.4 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO

Nas tabelas 11 e 12 são apresentados os valores de medianas das concentrações séricas de MBL e de CRP, respectivamente, observados entre os pacientes com DC e controles normais, de acordo com o sexo.

Observaram-se valores de MBL mais elevados no sexo masculino quando comparados ao sexo feminino nas formas clínicas cardíaca, digestiva e associada. Porém, houve diferença estatisticamente significativa apenas ao reuniur-se todos os pacientes em um único grupo ($p = 0,0396$). Nos controles, bem como nas diferentes formas clínicas isoladamente não se observou diferença significativa nas concentrações séricas de MBL em relação ao sexo (TABELA 11).

TABELA 11 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO AO SEXO

		Sexo		Valor de p*
		Masculino (n) (mediana)	Feminino (n) (mediana)	
MBL (ng/ml)	Formas Clínicas			
	Pacientes Totais	70 1.920,8	80 1.181,0	0,0396
	Indeterminada	23 1.097,1	39 1.380,7	0,0967
	Cardíaca isolada	32 1.769,2	22 1.344,5	0,8121
	Digestiva	4 2.504,8	11 1.865,1	0,7441
	Associada	11 2.529,4	8 1.129,4	0,3424
	Controles	68 1.259,3	71 1.500,0	0,8069

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney
Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística

Com relação aos valores de CRP, não se observaram diferenças estatisticamente significativas quando se comparou o sexo feminino com o masculino (TABELA 12). Não foi possível calcular o valor de p na forma clínica digestiva, pois para comparações através do teste não-paramétrico de Mann-Whitney são necessários pelo menos três dados pareados.

TABELA 12 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS EM RELAÇÃO AO SEXO

		Sexo		Valor de p^*
		Masculino (n) (mediana)	Feminino (n) (mediana)	
CRP (mg/dl)	Pacientes Total	47 0,31	48 0,30	0,4133
	Indeterminada	12 0,39	24 0,32	0,9198
	Cardíaca	27 0,21	17 0,34	0,6834
	Digestiva	2 0,24	3 0,18	--
	Associada	5 0,34	5 0,58	0,1508

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney
-- Teste não aplicável

5.5 CONCENTRAÇÕES DE MBL E CRP NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO À IDADE

Nas tabelas 13 e 14 são apresentadas as concentrações séricas de MBL e CRP, respectivamente, observadas entre os pacientes com as diferentes formas clínicas da DC e os controles normais, de acordo com o grupo etário.

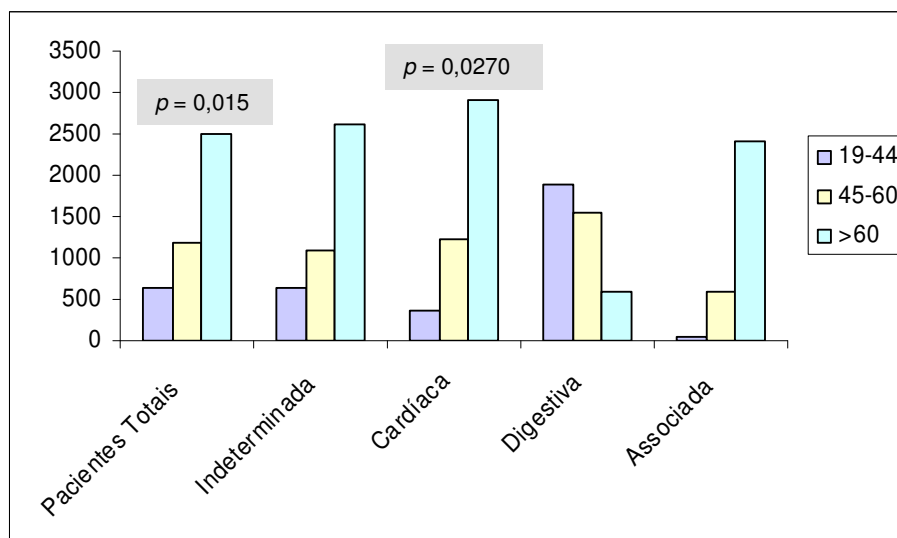
Como pode ser observado na tabela 13, as medianas dos níveis séricos de MBL aumentaram gradativamente com a faixa etária nos pacientes totais ($p=0,0115$) e na forma cardíaca ($p = 0,0270$). O gráfico 7 ilustra os dados da tabela 13.

TABELA 13 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA

<i>Grupo Etário</i>		<i>19 – 44 anos</i>	<i>45 – 60 anos</i>	<i>> 60 anos</i>	<i>Valor de p*</i>
<i>Formas Clínicas</i>		<i>(n)</i> <i>(mediana)</i>	<i>(n)</i> <i>(mediana)</i>	<i>(n)</i> <i>(mediana)</i>	
MBL (ng/ml)	Pacientes Totais	17 636,6	87 1.192,3	46 2.500,0	0,0115
	Indeterminada	11 636,6	37 1.100,0	14 2.605,9	0,2471
	Cardíaca	3 368,1	31 1.219,2	20 2.901,7	0,0270
	Digestiva	2 1.882,6	8 1.552,5	5 600,0	0,9324
	Associada	1 --	11 2.118,8	7 2.400,0	0,2580
	Controles	53 1.520,0	71 1.517,2	14 620,0	0,4499

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis
Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística
-- Não aplicável

GRÁFICO 7 – VALORES MÉDIOS DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA



Na tabela 14 observou-se um aumento gradativo dos níveis séricos de CRP no grupo CT de acordo com a faixa etária, porém, esta diferença não foi estatisticamente significativa.

TABELA 14 - COMPARAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE CRP NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS EM RELAÇÃO À FAIXA ETÁRIA

<i>Formas Clínicas</i>		<i>Grupo Etário</i>			<i>Valor de p*</i>
		<i>19 – 44 anos (n) (mediana)</i>	<i>45 – 60 anos (n) (mediana)</i>	<i>> 60 anos (n) (mediana)</i>	
CRP (mg/dl)	Pacientes Totais	8 0,20	59 0,25	28 0,35	0,4453
	CT	3 0,09	31 0,25	20 0,50	0,1035
	NC	5 0,49	28 0,25	8 0,32	0,4056

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis
CT = cardíacos total (formas cardíaca + associada)
NC = não cardíacos

Na tabela 15 observa-se a correlação existente entre as concentrações séricas de MBL e CRP em relação à idade nos pacientes cardíacos, considerando as formas clínicas isolada e associada. Os gráficos 8 e 9 ilustram estes dados.

TABELA 15 - CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS DE MBL E CRP NOS PACIENTES CARDÍACOS E A IDADE

Variáveis sob comparação	n	(*) Valor de R	Valor de p*
MBL x Idade	73	0,3337	0,0039
CRP x Idade	58	0,2895	0,0262

NOTA: (*) Coeficiente de correlação de Spearman
Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística

GRÁFICO 8 - CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL E A IDADE NOS PACIENTES CARDÍACOS

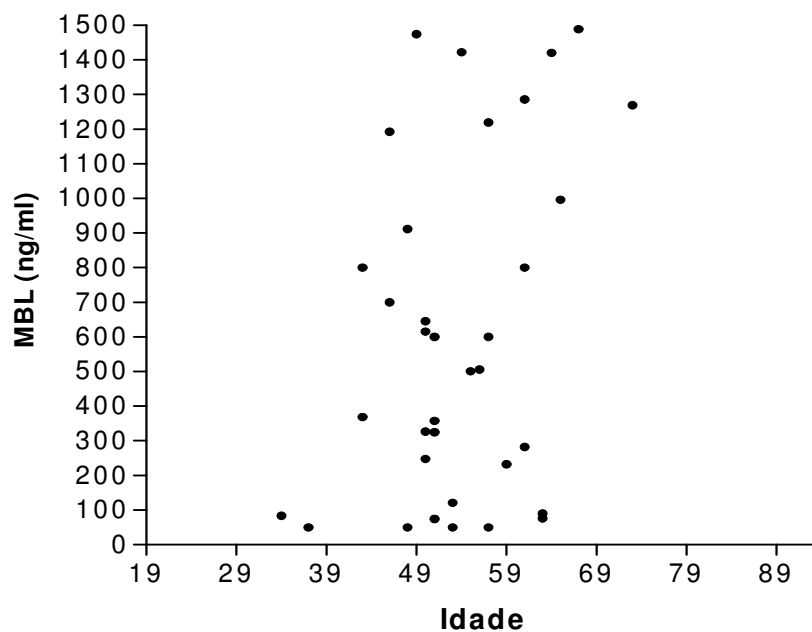
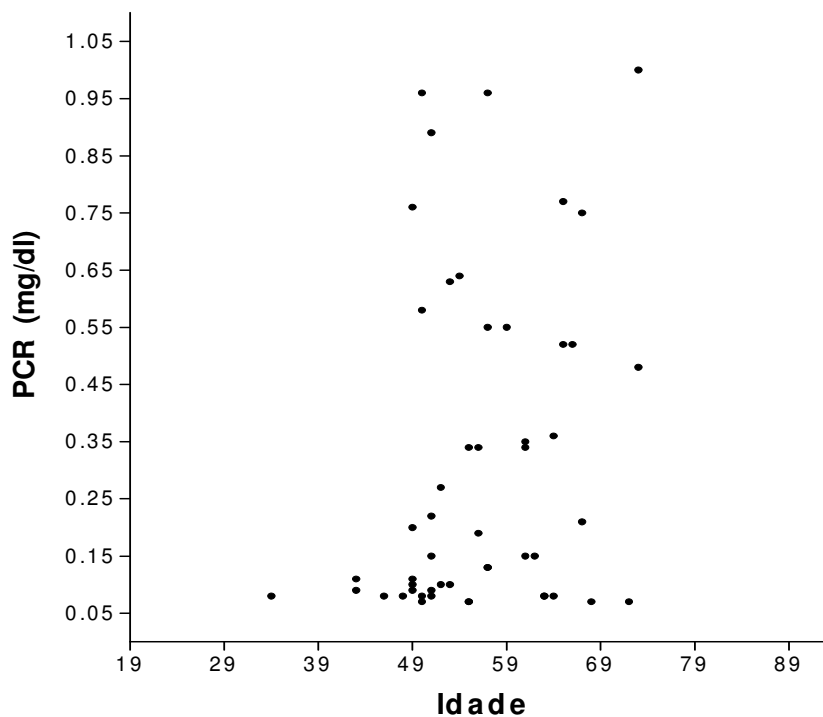


GRÁFICO 9 - CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CRP E A IDADE NOS PACIENTES CARDÍACOS



Na tabela 16 encontram-se as medianas de idade dos pacientes em cada uma das formas clínicas. Embora as medianas tenham sido bastante próximas, o maior valor foi observado na forma cardíaca. Devido às próprias características da DC, não foi possível determinar o tempo exato de infecção de cada paciente, porém, sabe-se que em geral os indivíduos são infectados na infância. Esta observação é bastante importante, pois permite-nos inferir que estes pacientes possuem, provavelmente, um tempo médio de doença similar.

TABELA 16 - MEDIANA DE IDADE NAS DIFERENTES FORMAS CLÍNICAS

Forma Clínica	N	Idade
		Med (Mín – Máx)
Indeterminada	62	54,5 (34-76)
Cardíaca	54	57 (34-90)
Digestiva	15	55 (36-81)
Associada	19	55 (37-73)

Além disso, quando se analisou a mediana de idade nos pacientes cardíacos nas diferentes classes funcionais, foi observado um aumento gradativo da idade conforme o grau de acometimento cardíaco (A = 53,29; B = 54,69; C = 57,97). A classe D foi desconsiderada nessa análise, devido ao pequeno número de pacientes classificados nesse grupo (n = 2).

5.6 CONCENTRAÇÃO DE MBL E CRP NOS PACIENTES E CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS.

Cada um dos grupos definidos pela forma da doença e o grupo controle, tanto para os valores de MBL como de CRP, foram avaliados quanto à etnia dos indivíduos. Foi evidenciada diferença estatisticamente significativa entre as concentrações séricas de MBL no grupo controle, com relação ao grupo étnico dos indivíduos. Como pode ser observado na tabela 17, a concentração de MBL nos indivíduos controles sem ascendência principal européia (chamados neste estudo de “não euro-brasileiros”) apresentou-se bastante diminuída (MED = 573,85 ng/ml) em relação aos pacientes com ascendência semelhante, nas diferentes formas clínicas.

A concentração sérica de CRP em relação à etnia dos indivíduos não foi avaliada. Devido ao pequeno número amostral apresentado ao distribuir os indivíduos nas diferentes formas clínicas e respectivos grupos étnicos, esta análise não teria relevância estatística.

TABELA 17 - COMPARAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL NAS FORMAS CLÍNICAS DA DOENÇA DE CHAGAS E NOS CONTROLES EM RELAÇÃO À ETNIA DOS INDIVÍDUOS

Grupo Étnico		EUB (n) (mediana)	NEUB (n) (mediana)	Valor de p^*
Formas Clínicas				
MBL (ng/ml)	Indeterminada	56 1.098,6	6 2.375,6	0,4825
	Cardíaca	40 1.761,9	14 1.378,6	0,7823
	Digestiva	11 1.005,0	4 2.500,0	0,3961
	Associada	15 1.829,9	4 2.909,4	0,4236
	Controles	111 1.600,0	28 573,85	0,0441

NOTA: (*) Teste não-paramétrico de Mann-Whitney
 Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística
 EUB = euro-brasileiros
 NEUB = "não euro-brasileiros" (afrodescendentes + miscigenados)

5.7 DISTRIBUIÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICAS, DE ACORDO COM SEXO, IDADE E ETNIA DOS PACIENTES E CONTROLES

Na tabela 18 são apresentadas as frequências das distribuições das concentrações da MBL (baixa, média e alta) nos pacientes totais de acordo com o sexo, a faixa etária e o grupo étnico dos indivíduos. Observou-se uma proporção similar das concentrações baixas, médias e altas de MBL, quando comparou-se os indivíduos de acordo com o sexo e a etnia. Porém, com relação a essas variáveis,

observou-se uma tendência ao aumento gradativo na proporção de indivíduos do nível baixo (<100 ng/ml) ao alto (>1.000 ng/ml) de MBL.

TABELA 18 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA NOS PACIENTES TOTAIS DE ACORDO COM O SEXO, A FAIXA ETÁRIA E O GRUPO ÉTNICO

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	100 - 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n =70)	9 (12,86 %)	16 (22,86%)	45 (64,28%)	0,5047
	Feminino (n =80)	10 (12,50%)	25 (31,25 %)	45 (56,25%)	
Idade	19 a 44 anos (n = 17)	4 (23,53%)	7 (41,18%)	6 (35,29%)	0,0284
	45 a 60 anos (n = 87)	8 (9,20%)	28 (32,18%)	51 (58,62%)	
	Acima de 60 anos (n = 46)	7 (15,22%)	6 (13,04%)	33 (71,74%)	
Etnia	EUB (n =122)	16 (13,11%)	35 (28,69%)	71 (58,20)	0,6386
	NEUB (n =28)	3 (10,71%)	6 (21,43%)	19 (67,86%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado
 Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística
 EUB = euro-brasileiros
 NEUB = “não euro-brasileiros” (afrodescendentes + miscigenados)

Com relação à faixa etária, as distribuições encontradas nos pacientes com níveis baixos, médios e altos de MBL não foram homogêneas, e esta diferença foi estatisticamente significativa ($p = 0,0284$). Pode ser notado que a proporção de indivíduos deficientes no grupo etário mais jovem foi bastante superior aos demais grupos, enquanto que níveis altos de MBL foram mais frequentes nos indivíduos acima de 60 anos. Porém, o número amostral do grupo etário mais jovem é pouco representativo ($n=4$) e, portanto, é provável que a significância encontrada deva-se aos indivíduos acima de 45 anos. Para confirmar esta hipótese realizou-se um novo agrupamento de dados a partir da classificação utilizada na tabela 18. Os pacientes foram reclassificados em apenas dois grupos segundo os níveis de MBL e a faixa etária. Com relação aos níveis de MBL os pacientes foram classificados em superiores ou inferiores a 1.000 ng/ml e de acordo com a idade, os mesmos foram

agrupados em indivíduos acima ou abaixo de 45 anos. Novamente evidenciou-se uma associação positiva entre valores altos de MBL e a idade dos indivíduos [64% ou 11/17 vs 36% ou 49/84; p Fisher = 0,027; O.R = 1,6922 (1.094<O.R.<9.0288)].

Na tabela 19 são apresentadas as frequências das distribuições das concentrações de MBL (baixa, média e alta) nos pacientes cardíacos de acordo com o sexo, a faixa etária e o grupo étnico dos indivíduos. Assim como nos pacientes totais, no grupo de cardíacos observou-se a mesma tendência de uma maior proporção de indivíduos deficientes no grupo etário mais jovem e níveis altos de MBL nos indivíduos acima de 60 anos ($p = 0,0191$). Observou-se também diferença estatisticamente significativa em relação ao sexo ($p = 0,0326$), provavelmente devido ao pequeno número de indivíduos deficientes do sexo feminino na amostra em estudo.

TABELA 19 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA NAS FORMAS CLÍNICAS CARDÍACA ISOLADA E ASSOCIADA DE ACORDO COM O SEXO, A FAIXA ETÁRIA E A ETNIA

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	100 - 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n = 43)	7 (16,28%)	7 (16,28%)	29 (67,44%)	0,0326
	Feminino (n = 30)	1 (3,33%)	12 (40%)	17 (56,67%)	
Idade	19 a 44 anos (n = 4)	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	0,0191
	45 a 60 anos (n = 42)	4 (9,53%)	14 (33,33%)	24 (57,14%)	
	Acima de 60 anos (n = 27)	2 (7,41%)	3 (11,11%)	22 (81,48%)	
Etnia	EUB (n = 55)	6 (10,91%)	15 (27,27%)	34 (61,82%)	0,9121
	NEUB (n = 18)	2 (11,11%)	4 (22,22%)	12 (66,67%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

Valores de $p < 0,05$ indicam significância estatística

EUB = euro-brasileiros

NEUB = "não euro-brasileiros" (afrodescendentes + miscigenados)

Na tabela 20 são apresentadas as frequências das distribuições das concentrações da MBL (baixa, média e alta) nos pacientes não cardíacos, de acordo com o sexo, a faixa etária e o grupo étnico dos indivíduos. Não houve diferenças estatisticamente significativas nas distribuições dos indivíduos. É interessante notar que, diferentemente do observado nos pacientes cardíacos, a proporção de indivíduos com altos níveis de MBL aumentou de modo similar nos três grupos etários.

TABELA 20 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA NOS PACIENTES NÃO CARDÍACOS DE ACORDO COM O SEXO, A IDADE E A ETNIA DOS PACIENTES

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	100 - 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n= 27)	3 (11,11%)	8 (29,63%)	16 (59,26%)	0,7221
	Feminino (n = 50)	9 (18%)	13 (26%)	28 (56%)	
Idade	19 a 44 anos (n = 13)	2 (15,39%)	5 (38,46%)	6 (46,15%)	0,3055
	45 a 60 anos (n = 45)	4 (8,89%)	14 (31,11%)	27 (60%)	
	Acima de 60 anos (n = 19)	5 (26,32%)	3 (15,79%)	11 (57,89%)	
Etnia	EUB (n = 67)	10 (14,93%)	20 (29,85%)	37 (55,22%)	0,6785
	NEUB (n = 10)	1 (10%)	2 (20%)	7 (70%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

EUB = euro-brasileiros

NEUB = “não euro-brasileiros” (afrodescendentes + miscigenados)

Na tabela 21 são apresentadas as frequências das distribuições das concentrações de MBL (baixa, média e alta) na amostra controle de acordo com o sexo, a faixa etária e o grupo étnico dos indivíduos. A distribuição dos indivíduos com níveis altos, médios e baixos de MBL de acordo com o sexo e a idade foram bastante similares. Com relação ao grupo étnico, observou-se uma proporção maior de indivíduos com concentrações de MBL médias e baixas nos “não euro-brasileiros” e um número aumentado de indivíduos “euro-brasileiros” com níveis altos de MBL, embora esta diferença não tenha sido estatisticamente significativa.

TABELA 21 - CONCENTRAÇÕES BAIXA, MÉDIA E ALTA DE MBL SÉRICA NOS CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO, A FAIXA ETÁRIA E O GRUPO ÉTNICO

Variável	Classificação	MBL (ng/ml)			Valor de p^*
		< 100	100 - 1000	> 1000	
Sexo	Masculino (n = 68)	13 (12,12%)	18 (26,47%)	37 (54,41%)	0,9926
	Feminino (n = 71)	13 (18,31%)	19 (26,76%)	39 (54,93%)	
Idade	19 a 44 anos (n = 54)	11 (20,37%)	12 (22,22%)	31 (57,41%)	0,3033
	45 a 60 anos (n = 71)	13 (18,31%)	17 (23,94%)	41 (57,75%)	
	Acima de 60 anos (n = 14)	2 (14,29%)	7 (50%)	5 (35,71%)	
Etnia	EUB (n = 111)	19 (17,12%)	25 (22,52%)	67 (60,36%)	0,1315
	NEUB (n = 28)	7 (25%)	10 (35,71%)	11 (39,29%)	

NOTA: (*) Teste de Qui-quadrado

EUB = euro-brasileiros

NEUB = “não euro-brasileiros” (afrodescendentes + miscigenados)

5.8 CORRELAÇÃO ENTRE OS VALORES SÉRICOS DE MBL E CRP NOS PACIENTES

Para os grupos definidos segundo a forma clínica da doença, estimou-se o coeficiente de correlação entre as concentrações séricas de MBL e de CRP. Testou-se a hipótese nula de inexistência de correlação entre estas variáveis, *versus* a hipótese alternativa de existência de correlação. Não houve qualquer correlação entre os valores de MBL e CRP nos pacientes (TABELA 22).

TABELA 22 - CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE MBL E CRP NOS PACIENTES

Formas Clínicas	n	(*) Valor de R	Valor de p^*
Indeterminada	40	-0,008735	0,9573
Cardíaca	44	0,1114	0,4715
Digestiva	5	0,1000	0,9500
Associada	10	-0,1890	0,6073
Pacientes Totais	95	0,05870	0,7190

NOTA: (*) Coeficiente de correlação de Spearman

6 DISCUSSÃO

Este é o primeiro estudo que investigou o papel das concentrações de MBL na DC. Investigou-se um número representativo de pacientes (n=150) na fase crônica, apresentando todo o espectro de manifestações clínicas da doença. Não foram observadas diferenças significantes nas concentrações de MBL entre as formas clínicas e controles, apesar de ter sido observado um aumento dos níveis de MBL nos pacientes com a forma associada, embora o número relativamente pequeno (n=15) de pacientes nesta forma clínica deva ser considerado.

Têm-se demonstrado em estudos recentes que a inflamação desempenha um papel crucial tanto na gênese quanto na progressão da CCC (LOPEZ et al., 2006). A partir de estudos de associação entre MBL e doenças surgiram evidências do papel primordial da MBL na modulação da inflamação (TURNER, 2003). O mecanismo através do qual a MBL pode induzir uma resposta inflamatória não está claro, mas

sabe-se que a mesma é capaz de promover a inflamação pela modulação dose-dependente de citocinas, tais como (IL)-1alfa e IL-1beta, e IL-10, e IL-6 (FRASER et al., 2006), secretadas pelos monócitos (JACK et al., 2001).

Apesar do seu aumento moderado no processo inflamatório quando comparado à proteína C-reativa, a MBL é considerada uma proteína de fase aguda (THIEL et al., 1992), cujos níveis circulantes sofrem aumento de 1.5 – 3 vezes durante trauma ou infecções (VOLANAKIS, 2001). Neste estudo, foram observados níveis aumentados tanto da MBL quanto da CRP nas formas cardíacas mais graves. Porém esse aumento foi estatisticamente significativo apenas para MBL, provavelmente devido ao menor número amostral em que foi realizada a dosagem de CRP, principalmente após a estratificação dos pacientes nas classes funcionais. Os níveis de MBL aumentados observados nos pacientes cardíacos estão provavelmente relacionados ao processo inflamatório progressivo característico da CCC, embora não tenha sido observada correlação entre os níveis de MBL e CRP neste estudo. Após a lesão do tecido cardíaco provocada pelo parasita, novos epítopos antigênicos são expostos, podendo ocorrer a ligação da MBL a carboidratos anteriormente sequestrados, ativando o sistema complemento e intensificando a reação inflamatória.

Com relação ao sexo, observou-se um aumento significativo da concentração de MBL no sexo masculino quando comparado ao feminino ($p = 0,0396$). O sexo masculino é considerado um fator de mau prognóstico na CCC, ocorrendo maior mortalidade entre homens com idade entre 30 e 59 anos. Este achado tem sido relacionado com alta frequência de anormalidades eletrocardiográficas nestes pacientes (BASQUIERA et al., 2003). Considerando-se este fato, os dados encontrados permitem sugerir que concentrações elevadas de MBL, predominantes nos indivíduos do sexo masculino nesta população em estudo, podem influenciar na evolução clínica dos pacientes, conferindo maior predisposição em desenvolver cardiopatias graves na DC, em comparação ao sexo feminino. Corroborando com estes dados, um trabalho de 2006 envolvendo pacientes com hanseníase também demonstrou níveis séricos de MBL mais elevados nos pacientes masculinos quando comparados aos pacientes femininos (DORNELLES, 2006).

O nível circulante de MBL após o nascimento corresponde em média a dois terços do nível de adultos e, em aproximadamente um mês de vida, estes níveis

igualam-se aos dos adultos (THIEL; FREDERIKSEN; JENSENIUS, 2006). Porém, neste estudo, observou-se um aumento gradativo dos níveis séricos de MBL nos pacientes totais ($p=0,0115$) e na forma cardíaca ($p = 0,0270$), ao avaliar os pacientes em grupos etários crescentes. Enquanto que nos controles, o valor da mediana reduziu-se em cerca de 50% em indivíduos acima de 60 anos em relação aos grupos etários mais jovens. Considerando-se a atividade pró-inflamatória da MBL, sugere-se que seus níveis possam aumentar à medida que na CCC o comprometimento cardíaco avança com a idade. Como os pacientes cardíacos correspondem a 46 % da amostra total de pacientes, isto pode explicar a significância estatística também encontrada para as concentrações de MBL nos pacientes totais, em relação ao grupo etário. Porém, sabe-se que as concentrações de MBL na resposta inflamatória podem sofrer um aumento de no máximo três vezes, em relação à produção basal determinada geneticamente. Portanto, existe ainda a possibilidade de que os pacientes possuam genótipos que determinem alta produção de MBL, mas apenas a genotipagem desses indivíduos poderá confirmar essa hipótese.

Com relação à etnia dos indivíduos observou-se diferença significativa na concentração de MBL entre indivíduos euro-brasileiros e “não euro-brasileiros”, na população estudada.

Existe uma grande diversidade no polimorfismo de *MBL2* associado a doenças nos diferentes grupos étnicos (MINCHINTON et al., 2002). Em africanos, as concentrações séricas baixas devem-se à alta frequência (0,24) da variante C, a qual resulta em uma alta frequência (0,06) de indivíduos com deficiência de MBL, sendo também responsável pela frequência relativamente alta (0,13) de haplótipos baixo produtores desta proteína (MADSEN et al., 1998). Os achados desses pesquisadores com relação às concentrações de MBL em indivíduos africanos corroboram, portanto, com os resultados observados no presente estudo em indivíduos afro-descendentes e miscegenados. Além disso, deve-se considerar o fato de que indivíduos com o mesmo genótipo *MBL2* podem apresentar variações consideráveis nos níveis séricos de MBL (THIEL; FREDERIKSEN; JENSENIUS, 2006). O estudo do genótipo *MBL2* em relação às várias doenças, além da avaliação das concentrações séricas é recomendado, pois existem diferenças marcantes na frequência dos seus genótipos entre grupos étnicos distintos (MADSEN et al., 1998).

O número de indivíduos com níveis de MBL inferiores a 100 ng/ml, que correspondem à deficiência, apresentou-se reduzido nos pacientes totais (14,5%) em relação aos controles (18,7%). Embora essa diferença não tenha atingido significância estatística, níveis diminuídos de MBL podem estar associados à proteção contra a infecção pelo *T. cruzi*. Por se tratar de um parasita intracelular, esse patógeno poderia utilizar a MBL ou fatores do complemento ativados pela via das lectinas, como a opsonização através de C3 e o receptor de C3 presente em monócitos/macrófagos, para facilitar sua entrada nas células-alvo, como já demonstrado em outros estudos envolvendo MBL e infecções intracelulares. Portanto, qualquer redução na ativação do complemento pode reduzir o parasitismo (TURNER, 2003). Observou-se também uma maior proporção de indivíduos deficientes na forma indeterminada (14,5%) quando comparado às formas determinadas (11,1% nos cardíacos; 13,3% na forma digestiva e 10,5% na forma associada). Embora não tenha sido demonstrada diferença estatística entre esses dados, pode-se sugerir um provável papel protetor da deficiência de MBL, contra a progressão da DC. Porém, somente estudos envolvendo o polimorfismo genético de MBL poderão confirmar tais hipóteses.

Dentre os controles sadios 18,7% apresentaram níveis de MBL relacionados à deficiência. Esta proporção aproxima-se ao encontrado em outros estudos de associação com MBL e doenças realizados na mesma área geográfica. SCHAFRANSKI et al. (2004) detectaram 17,1% e (CARVALHO et al., 2007), 13,33% de indivíduos sadios deficientes para MBL. Um estudo recente em pacientes com hanseníase encontrou 19,09% de deficiência em indivíduos saudáveis (DORNELLES; PEREIRA-FERRARI; MESSIAS-REASON, 2006). Em estudos realizados em populações de diferentes áreas geográficas têm sido observadas variações entre 10,0% a 16% de deficiência de MBL em indivíduos sadios (CHRISTIANSEN et al., 1999; KILPATRICK et al., 2003; INANC et al., 2005).

Embora a deficiência de MBL tenha sido associada à proteção contra infecções causadas por microrganismos intracelulares, neste estudo não foi possível observar tal relação. Por outro lado, ao se analisar os níveis de MBL com relação ao estadiamento da forma cardíaca, uma associação positiva entre níveis altos (> 1000 ng/ml) e insuficiência cardíaca foi encontrada ($p=0,0204$; Med = 2.369,0 ng/ml). Níveis significativamente mais baixos de MBL (Med = 800,0 ng/ml) foram observados na classe funcional A, onde se encontram pacientes com forma cardíaca

leve. Deve-se considerar também que as classificações funcionais utilizadas para estadiar o grau de comprometimento da CCC são algumas vezes falhas. Além de subjetivas, apresentam baixas sensibilidade e especificidade, pois se baseiam em dados clínicos, muitas vezes obtidos a partir de relatos do próprio paciente e interpretação destes pelo médico. A partir destes resultados, pode-se sugerir que os valores séricos de MBL não estão relacionados ao desenvolvimento das formas clínicas da DC “*per se*”. Porém, níveis aumentados desta proteína estão associados à gravidade da doença cardíaca, enquanto que níveis diminuídos parecem estar relacionados à proteção contra o desenvolvimento de cardiopatias graves. Em conclusão, estes dados indicam a contribuição da MBL em altas concentrações na evolução da forma cardíaca na DC e, talvez, esta proteína pode ser um bom candidato a marcador laboratorial prognóstico, capaz de indicar o risco de desenvolvimento de insuficiência cardíaca em indivíduos chagásicos.

Os níveis séricos de CRP sabidamente possuem valor prognóstico em cardiopatias não chagásicas. No presente estudo, observou-se um aumento das concentrações séricas nos pacientes cardíacos com insuficiência cardíaca, em relação ao grupo sem insuficiência, porém esta diferença não foi estatisticamente significativa. Somente um estudo investigou a relação dos níveis de CRP na CCC, no qual uma associação positiva entre valores aumentados da proteína e a gravidade da forma cardíaca foi observada (LOPEZ et al., 2006). No referido estudo, os autores sugerem o uso da CRP como marcador prognóstico da CCC. Entretanto, é importante ressaltar que foram avaliados apenas 64 pacientes e 20 controles, além de não ter sido utilizada a dosagem ultra-sensível da CRP.

Embora tenha ocorrido um aumento gradativo dos níveis de CRP com a idade dos indivíduos, não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa com relação à faixa etária dos pacientes. Também não se observou diferença nas concentrações de CRP entre os sexos nas diferentes formas clínicas da DC. Entretanto, deve-se considerar a redução do número amostral ao estratificar os pacientes em diferentes grupos. Sendo assim, estudos futuros com maior número amostral fazem-se necessários para confirmar estes resultados. Por fim, como observado em outros estudos onde investigou-se a correlação entre os níveis séricos de MBL e CRP (CARVALHO et al., 2007), não evidenciou-se interdependência entre as concentrações séricas dessas proteínas. É provável, portanto, que os níveis aumentados de MBL neste estudo devam-se primariamente

à produção determinada pela genética dos indivíduos, apesar da sua importante contribuição no processo inflamatório característico da CCC.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabe-se que aproximadamente 50% dos indivíduos infectados pelo *T. cruzi* permanecem indefinidamente na forma clínica indeterminada. Apesar de estes indivíduos apresentarem em geral bom prognóstico, a cada ano cerca de 2 a 5 % evolui para algumas das formas sintomáticas da doença. O período compreendido entre a infecção e o aparecimento da doença sintomática pode variar de cinco a vinte anos e o órgão mais importante acometido é o coração. Em cinco ou dez anos, cerca de um terço dos indivíduos chagásicos irão desenvolver algum tipo de cardiopatia. A maioria deles apresentará cardiopatia leve, mas alguns pacientes irão progredir para formas graves, incluindo a insuficiência cardíaca (ROSSI; MENGEL, 1992; RIBEIRO; ROCHA, 1998).

Há muitas controvérsias sobre os fatores que influenciam a evolução clínica da DC, já que alguns pacientes apresentam formas graves enquanto outros permanecem assintomáticos por toda a vida (RIBEIRO; ROCHA, 1998). A patogênese da DC é bastante complexa, sendo que diferentes fatores podem influenciar na infecção propriamente dita e na evolução da doença. Existem algumas evidências de que a variabilidade na resposta do hospedeiro à infecção pelo *T. cruzi* pode ser determinada por fatores genéticos do parasita (VAGO et al., 2000), mas está claro que a resposta imune do hospedeiro é um fator determinante no estabelecimento da infecção e na evolução da DC (YASUDA, 2000; DUTRA; ROCHA; TEIXEIRA, 2005).

Os dados obtidos neste estudo mostram uma relação significativa entre a concentração sérica da MBL e a progressão da cardiopatia na DC. Observou-se que os pacientes pertencentes aos grupos B1, C e D da classificação funcional de IC, apresentaram medianas bastante aumentadas em relação ao grupo A, no qual o ECG alterado constitui a única alteração clínica desses pacientes. Níveis aumentados de MBL parecem estar relacionados, portanto, com o desenvolvimento de formas cardíacas mais graves e podem constituir um importante mediador do processo inflamatório envolvido na CCC. Altos níveis de MBL circulantes podem levar à sua deposição no miocárdio e ativação do complemento, aumentando a

injúria tecidual e contribuindo para o desenvolvimento da IC. Tais evidências indicam que a avaliação da concentração sérica de MBL em pacientes chagásicos pode ser uma ferramenta útil na rotina ambulatorial, como marcador prognóstico, capaz de auxiliar no monitoramento clínico dos pacientes, permitindo a identificação dos casos de risco, possibilitando intervenções precoces e auxiliando na determinação da terapêutica adequada. Sendo assim, os níveis de MBL poderiam ser utilizados como marcadores auxiliares na prevenção de complicações próprias da doença e no acompanhamento das formas clínicas mais graves, contribuindo tanto na melhoria de qualidade de vida dos pacientes como diminuindo custos com saúde pública. Entretanto, o desenho de estudo utilizado não nos permite afirmar que estes marcadores precedem a progressão da doença. Um estudo de coorte prospectivo longitudinal seria necessário para essa finalidade. Porém, os resultados deste trabalho confirmam a necessidade de se estabelecer novas diretrizes para o estadiamento dos pacientes chagásicos, bem como direcionar estratégias terapêuticas que possam modificar o prognóstico e aumentar a sobrevida destes pacientes, ao invés da atual conduta passiva, aguardando-se a instalação da cardiopatia.

A terapia de reposição utilizando MBL, derivada de plasma ou recombinante, tem sido apontada como uma alternativa para modificar a história natural de doenças crônicas (GUPTA; GUPTA; HAJELA, 2008). GARRED et al. (2002) demonstraram o papel modificador da terapia com MBL na fibrose cística. Da mesma forma, um painel de novos anticorpos monoclonais inibitórios tem sido desenvolvido para inibir a ligação da MBL e a ativação da via das lectinas (ZHAO et al., 2002). A terapia anti-MBL poderia ser utilizada em estudos com modelos experimentais da DC e eventualmente, seu uso poderia ser explorado em estudos clínicos com pacientes chagásicos alto produtores de MBL. Além disso, drogas que interfiram na ativação da via das lectinas talvez sejam úteis para proteger indivíduos da excessiva ativação do complemento e prevenir os consequentes danos teciduais na DC.

7 CONCLUSÕES

- As concentrações de MBL nos pacientes cardíacos foram estatisticamente diferentes entre as classes funcionais ($p = 0,0041$), sendo que níveis elevados de MBL associaram-se positivamente com a presença de insuficiência cardíaca ($p = 0,0204$).
- As concentrações de MBL apresentaram-se significativamente elevadas nos pacientes do sexo masculino em relação ao sexo feminino ($p = 0,0396$) e nos pacientes afrodescendentes e miscigenados, em relação aos controles saudáveis ($p = 0,0441$).
- Ocorreu um aumento crescente das concentrações de MBL de acordo com a faixa etária nos pacientes totais ($p = 0,0115$) e cardíacos ($p = 0,0270$).
- Não se observaram diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de CRP entre as diferentes formas clínicas, classes funcionais, sexo, idade ou etnia dos pacientes.
- Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas quanto às concentrações de MBL entre pacientes totais ou nas diferentes formas clínicas da DC em relação aos controles saudáveis.
- Não houve correlação entre os níveis séricos de MBL e CRP nos pacientes totais ou nas diferentes formas clínicas.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. Cellular and Molecular Immunology. USA: W. B. Saunders Company. 1997.

AIELLO, V. D.; REIS, M. M.; BENVENUTI, L. A.; HIGUCHI MDE, L.; RAMIRES, J. A.; HALPERIN, J. A. A possible role for complement in the pathogenesis of chronic chagasic cardiomyopathy. J Pathol, v.197, n.2, Jun, p.224-9. 2002.

ALVES PEDROSO, M. L.; BOLDT, A. B.; PEREIRA-FERRARI, L.; STEFFENSEN, R.; STRAUSS, E.; JENSENIUS, J. C.; IOSHII, S. O.; MESSIAS-REASON, I. Mannan-binding lectin MBL2 gene polymorphism in chronic hepatitis C: association with the severity of liver fibrosis and response to interferon therapy. Clin Exp Immunol, v.152, n.2, May, p.258-64. 2008.

ANDRADE, Z. A. Immunopathology of Chagas disease. Mem Inst Oswaldo Cruz, v.94 Suppl 1, p.71-80. 1999.

BARCELÓ, A. Chagas' disease--an epidemic that can no longer be ignored. Lancet, v.368, n.9536, Aug 19, p.619. 2006.

BASQUIERA, A. L.; SEMBAJ, A.; AGUERRI, A. M.; OMELIANIUK, M.; GUZMAN, S.; MORENO BARRAL, J.; CAEIRO, T. F.; MADOERY, R. J.; SALOMONE, O. A. Risk progression to chronic Chagas cardiomyopathy: influence of male sex and of parasitaemia detected by polymerase chain reaction. Heart, v.89, n.10, Oct, p.1186-90. 2003.

BASSUK, S. S.; RIFAI, N.; RIDKER, P. M. High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance. Curr Probl Cardiol, v.29, n.8, Aug, p.439-93. 2004.

BERNIG, T.; TAYLOR, J. G.; FOSTER, C. B.; STAATS, B.; YEAGER, M.; CHANOCK, S. J. Sequence analysis of the mannose-binding lectin (MBL2) gene reveals a high degree of heterozygosity with evidence of selection. Genes Immun, v.5, p. 461-476. 2004.

BRAUN, M.; DE TITTO, E. [Immune response to *Trypanosoma cruzi*. An approach to the pathogenesis of Chagas' disease]. Acta Physiol Pharmacol Latinoam, v.35, n.1, p.1-47. 1985.

BRAUNWALD, E.; BRISTOW, M. R. Congestive heart failure: fifty years of progress. Circulation, v.102, n.20 Suppl 4, Nov 14, p.IV14-23. 2000.

BUDZKO, D. B.; PIZZIMENTI, M. C.; KIERSZENBAUM, F. Effects of complement depletion in experimental chagas disease: immune lysis of virulent blood forms of *Trypanosoma cruzi*. Infect Immun, v.11, n.1, Jan, p.86-91. 1975.

BUSCHE, M. N.; WALSH, M. C.; MCMULLEN, M. E.; GUIKEMA, B. J.; STAHL, G. L. Mannose-binding lectin plays a critical role in myocardial ischaemia and reperfusion injury in a mouse model of diabetes. Diabetologia, v.51, n.8, Aug, p.1544-51. 2008.

CAMARGO, M. E.; DA SILVA, G. R.; DE CASTILHO, E. A.; SILVEIRA, A. C. Serological survey of the prevalence of Chagas' infection in Brazil, 1975/1980. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, v.26, n.4, Jul-Aug, p.192-204. 1984.

CARROLL, M. C. The complement system in B cell regulation. *Mol Immunol*, v.41, n.2-3, Jun, p.141-6. 2004.

CARVALHO, E. G.; DA ROSA UTIYAMA, S. R.; DA SILVA KOTZE, L. M.; MESSIAS-REASON, I. T. Serum mannan-binding lectin levels in patients with celiac disease: an analysis of clinical and autoimmune features. *Dig Dis Sci*, v.52, n.9, Sep, p.2145-51. 2007.

CHAN, R. K.; IBRAHIM, S. I.; TAKAHASHI, K.; KWON, E.; MCCORMACK, M., EZEKOWITZ, A.; CARROLL, M. C.; MOORE JR, F. D.; AUSTEN JR, W. G. The differing roles of the classical and mannose-binding lectin complement pathways in the events following skeletal muscle ischemia-reperfusion. *J Immunol*, v.177, n.11, Dec 1, p.8080-5. 2006.

CHUNG, M. K.; MARTIN, D. O.; SPRECHER, D.; WAZNI, O.; KANDERIAN, A.; CARNES, C. A.; BAUER, J. A.; TCHOU, P. J.; NIEBAUER, M. J.; NATALE, A.; VAN WAGONER, D. R. C-reactive protein elevation in patients with atrial arrhythmias: inflammatory mechanisms and persistence of atrial fibrillation. *Circulation*, v.104, n.24, Dec 11, p.2886-91. 2001.

Consenso Brasileiro em Doença de Chagas. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 8: 29 p. 2005.

COURA, J. R. A história da terapêutica da doença de Chagas. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=126>. Acesso em: 15 dez.

COUTINHO, C. L. M.; CAVALCANTI, G. H.; BONALDO, M. C.; MORTENSEN, R. F.; ARAÚJO-JORGE, T. C. *Trypanosoma cruzi*: Detection of a Surface Antigen Cross-Reactive to Human C-Reactive Protein. *Experimental Parasitology*, v.90, p.143-53. 1998.

CUNHA-NETO, E.; BILATE, A. M.; HYLAND, K. V.; FONSECA, S. G.; KALIL, J.; ENGMAN, D. M. Induction of cardiac autoimmunity in Chagas heart disease: a case for molecular mimicry. *Autoimmunity*, v.39, n.1, Feb, p.41-54. 2006.

CUNHA-NETO, E.; DURANTI, M.; GRUBER, A.; ZINGALES, B.; DE MESSIAS, I.; STOLF, N.; BELLOTTI, G.; PATARROYO, M. E.; PILLEGGI, F.; KALIL, J. Autoimmunity in Chagas disease cardiopathy: biological relevance of a cardiac myosin-specific epitope crossreactive to an immunodominant *Trypanosoma cruzi* antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A*, v.92, n.8, Apr 11, p.3541-5. 1995.

DAHL, M. R.; THIEL, S.; MATSUSHITA, M.; FUJITA, T.; WILLIS, A. C.; CHRISTENSEN, T.; VORUP-JENSEN, T.; JENSENIUS, J. C. MASP-3 and its association with distinct complexes of the mannan-binding lectin complement activation pathway. *Immunity*, v.15, n.1, Jul, p.127-35. 2001.

DANESH, J.; WHEELER, J. G.; HIRSCHFIELD, G. M.; EDA, S.; EIRIKSDOTTIR, G.; RUMLEY, A.; LOWE, G. D.; PEPYS, M. B.; GUDNASON, V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med*, v.350, n.14, Apr 1, p.1387-97. 2004.

DEGN, S. E.; THIEL, S.; JENSENIUS, J. C. New perspectives on mannan-binding lectin-mediated complement activation. *Immunobiology*, v.212, n.4-5, p.301-11. 2007.

DIAS DA SILVA, W.; KIPNIS, T. L. Complement system: an ingenious biochemical mechanism, a co-participant in the natural defense and a mediator of cell interaction. *AMB Rev Assoc Med Bras*, v.30, n.3-4, Mar-Apr, p.67-72. 1984.

DIAS, E. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Doença de Chagas: Textos de apoio. Disponível em: <<http://www4.prossiga.br/Chagas/doenca/sec/dc-cd-571/dc-cd-571-02.html>> Acesso em: 06 maio 2007.

DIAS, J. C. Chagas disease, environment, participation, and the state. *Cad Saude Publica*, v.17 Suppl, p.165-9. 2001.

DIAS, J. C. P. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Superintendência de Campanhas de Saúde Pública. Doença de Chagas: Textos de apoio. Disponível em: <<http://www4.prossiga.br/Chagas/doenca/sec/dc-cd-571/dc-cd-571-09.html>> Acesso em: 06 maio 2007.

_____. O tratamento específico da Doença de Chagas. Disponível em: <<http://www.datasus.gov.br/cns/temas/tribuna/tratamento.htm>> Acesso em: 06 maio 2007.

DNDI. Drugs for Neglected Diseases *iniaciative*. Doenças Negligenciadas. Disponível em: <http://www.dndi.org.br/Portugues/doencas_negligenciadas.aspx> Acesso em: 24 ago 2007.

DOMMETT, R. M.; KLEIN, N.; TURNER, M. W. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens*, v.68, n.3, Sep, p.193-209. 2006.

DORNELLES, L. N. Concentração sérica da lectina ligante de manose (MBL) em pacientes portadores de hanseníase. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2006. 104 p.

DORNELLES, L. N.; PEREIRA-FERRARI, L.; MESSIAS-REASON, I. Mannan-binding lectin plasma levels in leprosy: deficiency confers protection against the lepromatous but not the tuberculoid forms. *Clin Exp Immunol*, v.145, n.3, Sep, p.463-8. 2006.

DOS SANTOS, R. R.; SOARES, M. B.; DE CARVALHO, A. C. Bone marrow cells transplant in the treatment of chronic chagasic cardiomyopathy. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.37, n.6, Nov-Dec, p.490-5. 2004.

DU CLOS, T. W. Function of C-reactive protein. *Ann Med*, v.32, n.4, May, p.274-8. 2000.

DUTRA, W. O.; ROCHA, M. O.; TEIXEIRA, M. M. The clinical immunology of human Chagas disease. *Trends Parasitol*, v.21, n.12, Dec, p.581-7. 2005.

FERRARI, I.; LEVIN, M. J.; WALLUKAT, G.; ELIES, R.; LEBESGUE, D.; CHIALE, P.; ELIZARI, M.; ROSENBAUM, M.; HOEBEKE, J. Molecular mimicry between the immunodominant ribosomal protein P0 of *Trypanosoma cruzi* and a functional epitope on the human beta 1-adrenergic receptor. *J Exp Med*, v.182, n.1, Jul 1, p.59-65. 1995.

FERREIRA, A. W. e ÁVILA, S. L. M. Diagnóstico laboratorial. Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001.

FERREIRA, H. C.; FREITAS, L. A. M. S.; COSTA, M. A. R. Ecologia e a saúde: casos crônicos da doença de Chagas - A importância da notificação. Disponível em: <<http://www.endemias.com/artigo.pdf>> Acesso em: 14 maio 2008.

FERREIRA, V.; VALCK, C.; SANCHEZ, G.; GINGRAS, A.; TZIMA, S.; MOLINA, M. C.; SIM, R.; SCHWAEBLE, W.; FERREIRA, A. The classical activation pathway of the human complement system is specifically inhibited by calreticulin from *Trypanosoma cruzi*. *J Immunol*, v.172, n.5, Mar 1, p.3042-50. 2004.

FIOCRUZ. Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas - IPEC. Doença de Chagas. Disponível em: <<http://www.ipec.fiocruz.br/pepes/dc/dc.html>> Acesso em: 06 maio 2007.

FONSECA, S. G.; MOINS-TEISSERENC, H.; CLAVE, E.; IANNI, B.; NUNES, V. L.; MADY, C.; IWAI, L. K.; SETTE, A.; SIDNEY, J.; MARIN, M. L.; GOLDBERG, A. C.; GUILHERME, L.; CHARRON, D.; TOUBERT, A.; KALIL, J.; CUNHA-NETO, E. Identification of multiple HLA-A*0201-restricted cruzipain and FL-160 CD8+ epitopes recognized by T cells from chronically *Trypanosoma cruzi*-infected patients. *Microbes Infect*, v.7, n.4, Apr, p.688-97. 2005.

FRANCO-PAREDES, C.; VON, A.; HIDRON, A.; RODRIGUEZ-MORALES, A. J.; TELLEZ, I.; BARRAGAN, M.; JONES, D.; NAQUIRA, C. G.; MENDEZ, J. Chagas disease: an impediment in achieving the Millennium Development Goals in Latin America. *BMC Int Health Hum Rights*, v.7, n.1, Aug 28, p.7. 2007.

FRASER, D. A.; BOHLSON, S. S.; JASINSKIENE, N.; RAWAL, N.; PALMARINI, G.; RUIZ, S.; ROCHFORD, R.; TENNER, A. J. C1q and MBL, components of the innate immune system, influence monocyte cytokine expression. *J Leukoc Biol*, v.80, n.1, Jul, p.107-16. 2006.

FUJITA, T. Evolution of the lectin-complement pathway and its role in innate immunity. *Nat Rev Immunol*, v.2, n.5, May, p.346-53. 2002.

GARCIA, S.; RAMOS, C. O.; SENRA, J. F.; VILAS-BOAS, F.; RODRIGUES, M. M.; CAMPOS-DE-CARVALHO, A. C.; RIBEIRO-DOS-SANTOS, R.; SOARES, M. B. Treatment with benznidazole during the chronic phase of experimental Chagas' disease decreases cardiac alterations. *Antimicrob Agents Chemother*, v.49, n.4, Apr, p.1521-8. 2005.

GARRED, P.; HARBOE, M.; OETTINGER, T.; KOCH, C.; SVEJGAARD, A. Dual role of mannan-binding protein in infections: another case of heterosis? *Eur J Immunogenet*, v.21, n.2, Apr, p.125-31. 1994.

GARRED, P.; PRESSLER, T.; LANNG, S.; MADSEN, H. O.; MOSER, C.; LAURSEN, I.; BALSTRUP, F.; KOCH, C.; KOCH, C. Mannose-binding lectin (MBL) therapy in an MBL-deficient patient with severe cystic fibrosis lung disease. *Pediatr Pulmonol*, v.33, n.3, Mar, p.201-7. 2002.

GOIN, J. C.; LEIROS, C. P.; BORDA, E.; STERIN-BORDA, L. Interaction of human chagasic IgG with the second extracellular loop of the human heart muscarinic acetylcholine receptor: functional and pathological implications. *Faseb J*, v.11, n.1, Jan, p.77-83. 1997.

GUPTA, K.; GUPTA, R. K.; HAJELA, K. Disease associations of mannanose-binding lectin & potential of replacement therapy. *Indian J Med Res*, v.127, n.5, May, p.431-40. 2008.

HAGE, F. G.; SZALAI, A. J. C-Reactive Protein Gene Polymorphisms, C-Reactive Protein Blood Levels, and Cardiovascular Disease Risk. *Journal of the American College of Cardiology*, v.50, n.12, p.1115-22. 2007.

HANSEN, T. K.; THIEL, S.; DALL, R.; ROSENFALCK, A. M.; TRAINER, P.; FLYVBJERG, A.; JORGENSEN, J. O.; CHRISTIANSEN, J. S. GH strongly affects serum concentrations of mannan-binding lectin: evidence for a new IGF-I independent immunomodulatory effect of GH. *J Clin Endocrinol Metab*, v.86, n.11, Nov, p.5383-8. 2001.

HOLMSKOV, U.; THIEL, S.; JENSENIUS, J. C. Collections and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense. *Annu Rev Immunol*, v.21, p.547-78. 2003.

HOTEZ, P. J.; MOLYNEUX, D. H.; FENWICK, A.; KUMARESAN, J.; SACHS, S. E.; SACHS, J. D.; SAVIOLI, L. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*, v.357, n.10, Sep 6, p.1018-27. 2007.

IANNI, B. M.; MADY, C. The indeterminate form of Chagas's disease. Myths vs facts. *Arq Bras Cardiol*, v.68, n.3, Mar, p.147-8. 1997.

IIDA, K.; WHITLOW, M. B.; NUSSENZWEIG, V. Amastigotes of *Trypanosoma cruzi* escape destruction by the terminal complement components. *J Exp Med*, v.169, n.3, Mar 1, p.881-91. 1989.

IKEDA, K.; SANNOH, T.; KAWASAKI, N.; KAWASAKI, T.; YAMASHINA, I. Serum lectin with known structure activates complement through the classical pathway. . J Biol Chem, v.262, p.7451-7454. 1987.

JACK, D. L.; KLEIN, N. J.; TURNER, M. W. Mannose-binding lectin: targeting the microbial world for complement attack and opsonophagocytosis. Immunol Rev, v.180, Apr, p.86-99. 2001.

JACK, D. L.; READ, R. C.; TENNER, A. J.; FROSCHE, M.; TURNER, M. W.; KLEIN, N. J. Mannose-binding lectin regulates the inflammatory response of human professional phagocytes to *Neisseria meningitidis* serogroup B. J Infect Dis, v.184, n.9, Nov 1, p.1152-62. 2001.

JANEWAY JR, C.; TRAVERS, P. Immunobiologia. O sistema imunológico na saúde e na doença. Porto Alegre: Artes Médicas. 2002.

JOINER, K.; SHER, A.; GAITHER, T.; HAMMER, C. Evasion of alternative complement pathway by *Trypanosoma cruzi* results from inefficient binding of factor B. Proc Natl Acad Sci, v.83, n.17, p.6593-7. 1986.

JOINER, K. A.; DA SILVA, W. D.; RIMOLDI, M. T.; HAMMER, C. H.; SHER, A.; KIPNIS, T. L. Biochemical characterization of a factor produced by trypomastigotes of *Trypanosoma cruzi* that accelerates the decay of complement C3 convertases. J Biol Chem, v.263, n.23, Aug 15, p.11327-35. 1988.

JORDAN, J. E.; MONTALTO, M. C.; STAHL, G. L. Inhibition of mannose-binding lectin reduces postischemic myocardial reperfusion injury. Circulation, v.104, n.12, Sep 18, p.1413-8. 2001.

JUNQUEIRA JUNIOR, L. F. Echoes from the 22nd annual applied research meeting on chagas disease and the 10th annual applied research meeting on leishmaniasis. Rev Soc Bras Med Trop, v.39, n.6, Nov-Dec, p.565-6. 2006.

KAHN, S. J.; WLEKLINSKI, M.; ARUFFO, A.; FARR, A.; CODER, D.; KAHN, M. *Trypanosoma cruzi* amastigote adhesion to macrophages is facilitated by the mannose receptor. J Exp Med., v.182, n.5, Nov 1, p.1243-58. 1995.

KAHN, S. J.; WLEKLINSKI, M.; EZEKOWITZ, R. A.; CODER, D.; ARUFFO, A.; FARR, A. The major surface glycoprotein of *Trypanosoma cruzi* amastigotes are ligands of the human serum mannose-binding protein. Infect Immun, v.64, n.7, Jul, p.2649-56. 1996.

KIPNIS, T. L.; CALICH, V. L.; DA SILVA, W. D. Active entry of bloodstream forms of *Trypanosoma cruzi* into macrophages. Parasitology, v.78, n.1, Feb, p.89-98. 1979.

KIPNIS, T. L.; JOINER, K. A.; SILVA, W. D. D.; RIMOLDI, M. T.; HAMMER, C. H.; SHER, A. Identification of membrane components of *Trypanosoma cruzi* modulators of complement system. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v.83., n.1, p.571-5. 1988.

KIPNIS, T. L.; SUCUPIRA, M.; DA SILVA, W. D. Transformation of *Trypanosoma cruzi* trypomastigote bloodstream forms by immune IgM and its Fab mu fragment into activators of the alternative complement pathway. *Braz J Med Biol Res*, v.20, n.1, p.105-14. 1987.

KIPNIS, T. L.; TAMBOURGI, D. V.; SUCUPIRA, M.; DA SILVA, W. D. Effect of *Trypanosoma cruzi* membrane components on the formation of the classical pathway C3 convertase. *Braz J Med Biol Res*, v.19, n.2, p.271-8. 1986.

LEDERBOUR, C. C.; DIAS, J. C. P.; VINHAES, M. C. Relatório Final. II Reunião Anual de Avaliação do Programa de Controle da Doença de Chagas. Uberaba, MG, 22 A 24 de outubro de 2003. Brasília: 10/12/2003, p.1-5. 2004

LEVINSON, W.; JAWETZ, E. *Microbiologia médica e imunologia*. Porto Alegre: Artmed. 2006. 632 p.

LIBBY, P.; ALROY, J.; PEREIRA, M. E. A neuraminidase from *Trypanosoma cruzi* removes sialic acid from the surface of mammalian myocardial and endothelial cells. *J Clin Invest*, v.77, n.1, Jan, p.127-35. 1986.

LIEKE, T.; STEEG, C.; GRAEFE, S. E.; FLEISCHER, B.; JACOBS, T. Interaction of natural killer cells with *Trypanosoma cruzi*-infected fibroblasts. *Clin Exp Immunol*, v.145, n.2, Aug, p.357-64. 2006.

LIPSCOMBE, R. J.; SUMIYA, M.; SUMMERFIELD, J. A.; TURNER, M. W. Distinct physicochemical characteristics of human mannose binding protein expressed by individuals of differing genotype. *Immunology*, v.85, n.4, Aug, p.660-7. 1995.

LOPEZ, L.; ARAI, K.; GIMENEZ, E.; JIMENEZ, M.; PASCUZO, C.; RODRIGUEZ-BONFANTE, C.; BONFANTE-CABARCAS, R. [C-reactive protein and interleukin-6 serum levels increase as Chagas disease progresses towards cardiac failure]. *Rev Esp Cardiol*, v.59, n.1, Jan, p.50-6. 2006.

LUHR, T. Development of a High-Sensitivity C-Reactive Protein Assay. *IVDT*: p.27 p. 2000.

MACY, E. M.; HAYES, T. E.; TRACY, R. P. Variability in the measurement of C-reactive protein in healthy subjects: implications for reference intervals and epidemiological applications. *Clin Chem*, v.43, n.1, Jan, p.52-8. 1997.

MADSEN, H. O.; GARRED, P.; THIEL, S.; KURTZHALS, J. A.; LAMM, L. U.; RYDER, L. P.; SVEJGAARD, A. Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol*, v.155, n.6, Sep 15, p.3013-20. 1995.

MADSEN, H. O.; SATZ, M. L.; HOGH, B.; SVEJGAARD, A.; GARRED, P. Different molecular events result in low protein levels of mannan-binding lectin in populations from southeast Africa and South America. *J Immunol*, v.161, n.6, Sep 15, p.3169-75. 1998.

MAGUIRE, J. H. Chagas' disease--can we stop the deaths? *N Engl J Med*, v.355, n.8, Aug 24, p.760-1. 2006.

MALTA, J. Doença de Chagas. São Paulo: Sarvier. 1996.

MARIN-NETO, S. J. A.; CUNHA-NETO, E.; MACIEL, B. C.; SIMÕES, M. V. Pathogenesis of Chronic Chagas Heart Disease. *Circulation*, v.115, p.1109-1123. 2007.

MATSUSHITA, M.; FUJITA, T. Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J Exp Med*, v.176, n.6, Dec 1, p.1497-502. 1992.

MEIRELLES, M. N.; PEREIRA, M. C.; SINGER, R. H.; SOEIRO, MDE. N.; GARZONI, L. R.; SILVA, D. T.; BARBOSA, H. S.; ARAUJO-JORGE, T. C.; MASUDA, M. O.; CAPELLA, M. A.; LOPES, A. G.; VERMELHO, A. B. *Trypanosoma cruzi*-cardiomyocytes: new contributions regarding a better understanding of this interaction. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.94 Suppl 1, p.149-52. 1999.

MESSIAS-REASON, I. J.; BOLDT, A. B.; MORAES BRAGA, A. C.; VON ROSEN SEELING STAHLKE, E.; DORNELLES, L.; PEREIRA-FERRARI, L.; KREMSNER, P. G.; KUN, J. F. The association between mannan-binding lectin gene polymorphism and clinical leprosy: new insight into an old paradigm. *J Infect Dis*, v.196, n.9, Nov 1, p.1379-85. 2007.

MESSIAS-REASON, I. J.; URBANETZ, L.; PEREIRA DA CUNHA, C. Complement C3 F and BF S allotypes are risk factors for Chagas disease cardiomyopathy. *Tissue Antigens*, v.62, n.4, Oct, p.308-12. 2003.

MILLER, M. J.; WRIGHTSMAN, R. A.; STRYKER, G. A.; MANNING, J. E. Protection of mice against *Trypanosoma cruzi* by immunization with paraflagellar rod proteins requires T cell, but not B cell, function. *J Immunol*, v.158, n.11, Jun 1, p.5330-7. 1997.

MINCHINTON, R. M.; DEAN, M. M.; CLARK, T. R.; HEATLEY, S.; MULLIGHAN, C. G. Analysis of the relationship between mannose-binding lectin (MBL) genotype, MBL levels and function in an Australian blood donor population. *Scand J Immunol*, v.56, n.6, Dec, p.630-41. 2002.

MONCAYO, A. Progress towards the elimination of transmission of Chagas disease in Latin America. *World Health Stat Q*, v.50, n.3-4, p.195-8. 1997.

_____. Chagas disease: current epidemiological trends after the interruption of vectorial and transfusional transmission in the Southern Cone countries. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.98, n.5, Jul, p.577-91. 2003.

MURPHY, K.; TRAVERS, P.; WALPORT, M. *Immunobiology*: Garland Science, Taylor & Francis Group, LLC. 2008.

NEVES, D. P. *Parasitologia Humana*: Atheneu. 2005. 494 p.

NORRIS, K. A.; BRADT, B.; COOPER, N. R.; SO, M. Characterization of a *Trypanosoma cruzi* C3 binding protein with functional and genetic similarities to the human complement regulatory protein, decay-accelerating factor. *J Immunol*, v.147, n.7, Oct 1, p.2240-7. 1991.

PENA, S. D. Reasons for banishing the concept of race from Brazilian medicine. *Hist Cienc Saude Manguinhos*, v.12, n.2, p.321-46. 2005.

PIMENTA, J. R.; ZUCCHERATO, L. W.; DEBES, A. A.; MASELLI, L.; SOARES, R. P.; MOURA-NETO, R. S.; ROCHA, J.; BYDLOWSKI, S. P.; PENA, S. D. Color and genomic ancestry in Brazilians: a study with forensic microsatellites. *Hum Hered*, v.62, n.4, p.190-5. 2006.

PIRON, M.; VERGES, M.; MUNOZ, J.; CASAMITJANA, N.; SANZ, S.; MAYMO, R. M.; HERNANDEZ, J. M.; PUIG, L.; PORTUS, M.; GASCON, J.; SAULEDA, S. Seroprevalence of *Trypanosoma cruzi* infection in at-risk blood donors in Catalonia (Spain). *Transfusion*, v.48, n.9, Sep, p.1862-8. 2008.

PUNUKOLLU, G.; GOWDA, R. M.; KHAN, I. A.; NAVARRO, V. S.; VASAVADA, B. C. Clinical aspects of the Chagas' heart disease. *Int J Cardiol*, v.115, n.3, Feb 14, p.279-83. 2007.

REYES, P. A. Chagas' disease in north America. *Am Heart J*, v.126, n.6, Dec, p.1496. 1993.

RIBEIRO, A. L.; ROCHA, M. O. Indeterminate form of Chagas disease: considerations about diagnosis and prognosis. *Rev Soc Bras Med Trop*, v.31, n.3, May-Jun, p.301-14. 1998.

RIDKER, P. M.; RIFAI, N.; ROSE, L.; BURING, J. E.; COOK, N. R. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med*, v.347, n.20, Nov 14, p.1557-65. 2002.

RIDKER, P. M.; STAMPFER, M. J.; RIFAI, N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *Jama*, v.285, n.19, May 16, p.2481-5. 2001.

RIFAI, N.; TRACY, R. P.; RIDKER, P. M. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem*, v.45, n.12, Dec, p.2136-41. 1999.

RIIS, A. L.; HANSEN, T. K.; THIEL, S.; GRAVHOLT, C. H.; GJEDDE, S.; GORMSEN, L. C.; JORGENSEN, J. O.; WEEKE, J.; MOLLER, N. Thyroid hormone increases mannan-binding lectin levels. *Eur J Endocrinol*, v.153, n.5, Nov, p.643-9. 2005.

ROSSI, M. A.; BESTETTI, R. B. The challenge of chagasic cardiomyopathy. The pathologic roles of autonomic abnormalities, autoimmune mechanisms and microvascular changes, and therapeutic implications. *Cardiology*, v.86, n.1, p.1-7. 1995.

ROSSI, M. A.; MENGEL, J. O. The pathogenesis of chronic Chagas' myocarditis: the role of autoimmune and microvascular factors. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, v.34, n.6, Nov-Dec, p.593-9. 1992.

SAEVARSDOTTIR, S.; OSKARSSON, O. O.; ASPELUND, T.; EIRIKSDOTTIR, G.; VIKINGSDOTTIR, T.; GUDNASON, V.; VALDIMARSSON, H. Mannan binding lectin as an adjunct to risk assessment for myocardial infarction in individuals with enhanced risk. *J Exp Med*, v.201, n.1, Jan 3, p.117-25. 2005.

SANTOS, I. K.; COSTA, C. H.; KRIEGER, H.; FEITOSA, M. F.; ZURAKOWSKI, D.; FARDIN, B.; GOMES, R. B.; WEINER, D. L.; HARN, D. A.; EZEKOWITZ, R. A.; EPSTEIN, J. E. Mannan-binding lectin enhances susceptibility to visceral leishmaniasis. *Infect Immun*, v.69, n.8, Aug, p.5212-5. 2001.

SASTRY, K.; HERMAN, G. A.; DAY, L.; DEIGNAN, E.; BRUNS, G.; MORTON, C. C.; EZEKOWITZ, R. A. The human mannose-binding protein gene. Exon structure reveals its evolutionary relationship to a human pulmonary surfactant gene and localization to chromosome 10. *J Exp Med*, v.170, p.1175-1189. 1989.

SCHAFRANSKI, M. D.; PEREIRA FERRARI, L.; SCHERNER, D.; TORRES, R.; JENSENIUS, J. C.; MESSIAS-REASON, I. J. High-producing MBL2 genotypes increase the risk of acute and chronic carditis in patients with history of rheumatic fever. *Mol Immunol*, v.45, n.14, Aug, p.3827-31. 2008.

SCHAFRANSKI, M. D.; STIER, A.; NISIHARA, R.; MESSIAS-REASON, I. J. Significantly increased levels of mannose-binding lectin (MBL) in rheumatic heart disease: a beneficial role for MBL deficiency. *Clin Exp Immunol*, v.138, n.3, Dec, p.521-5. 2004.

SCHMUNIS, G. A. Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.102, n.2, Oct 30, p.75-85. 2007.

SHISHEHBOR, M. H.; BHATT, D. L.; TOPOL, E. J. Using C-reactive protein to assess cardiovascular disease risk. *Cleve Clin J Med*, v.70, n.7, Jul, p.634-40. 2003.

SILVEIRA, A. C. Current situation with chagas disease vector control in the Americas. *Cad Saude Publica*, v.16 Suppl 2, p.35-42. 2000.

SOEIRO, MDE, N.; PAIVA, M. M.; BARBOSA, H. S.; MEIRELLES M. DE, N.; ARAUJO-JORGE, T. C. A cardiomyocyte mannose receptor system is involved in *Trypanosoma cruzi* invasion and is down-modulated after infection. *Cell Struct Funct*, v.24, n.3, Jun, p.139-49. 1999.

STEFFENSEN, R.; THIEL, S.; VARMING, K.; JERSILD, C.; JENSENIUS, J. C. Detection of structural gene mutations and promoter polymorphisms in the mannose-binding lectin (MBL) gene by polymerase chain reaction with sequence-specific primers. *J Immunol Methods*, v.241, n.1-2, Jul 31, p.33-42. 2000.

SUMMERFIELD, J. A.; RYDER, S.; SUMIYA, M.; THURSZ, M.; GORCHEIN, A.; MONTEIL, M. A.; TURNER, M. W. Mannose binding protein gene mutations associated with unusual and severe infections in adults. *Lancet*, v.345, n.8954, Apr 8, p.886-9. 1995.

SUPER, M.; GILLIES, S. D.; FOLEY, S.; SASTRY, K.; SCHWEINLE, J. E.; SILVERMAN, V. J.; EZEKOWITZ, R. A. Distinct and overlapping functions of allelic forms of human mannose binding protein. *Nat Genet*, v.2, n.1, Sep, p.50-5. 1992.

SUPER, M.; THIEL, S.; LU, J.; LEVINSKY, R. J.; TURNER, M. W. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet*, v.2, n.8674, Nov 25, p.1236-9. 1989.

TAMBOURGI, D. V.; KIPNIS, T. L.; DA SILVA, W. D.; JOINER, K. A.; SHER, A.; HEATH, S.; HALL, B. F.; OGDEN, G. B. A partial cDNA clone of trypomastigote decay-accelerating factor (T-DAF), a developmentally regulated complement inhibitor of *Trypanosoma cruzi*, has genetic and functional similarities to the human complement inhibitor DAF. *Infect Immun*, v.61, n.9, Sep, p.3656-63. 1993.

TAYLOR, M. E.; BRICKELL, P. M.; CRAIG, R. K.; SUMMERFIELD, J. A. Structure and evolutionary origin of the gene encoding a human serum mannose-binding protein. *Biochem. J.*, p.262:763. 1989.

TDR. Tropical Disease Research: progress 2003-2004. Seventeenth Programme Report of the UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases 2005.

THIEL, S.; FREDERIKSEN, P. D.; JENSENIUS, J. C. Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. *Mol Immunol*, v.43, n.1-2, Jan, p.86-96. 2006.

THIEL, S.; HOLMSKOV, U.; HVIID, L.; LAURSEN, S. B.; JENSENIUS, J. C. The concentration of the C-type lectin, mannan-binding protein, in human plasma increases during an acute phase response. *Clin Exp Immunol*, v.90, n.1, Oct, p.31-5. 1992.

THIEL, S.; VORUP-JENSEN, T.; STOVER, C. M.; SCHWAEBLE, W.; LAURSEN, S. B.; POULSEN, K.; WILLIS, A. C.; EGGLETON, P.; HANSEN, S.; HOLMSKOV, U.; REID, K. B.; JENSENIUS, J. C. A second serine protease associated with mannan-binding lectin that activates complement. *Nature*, v.386, n.6624, Apr 3, p.506-10. 1997.

TORRES, C. M. Myocytolysis and fibrosis of the myocardium in Chagas' disease. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v.58, Nov, p.161-82. 1960.

TROELSEN, L. N.; GARRED, P.; MADSEN, H. O.; JACOBSEN, S. Genetically determined high serum levels of mannose-binding lectin and agalactosyl IgG are associated with ischemic heart disease in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*, v.56, n.1, Jan, p.21-9. 2007.

TURNER, M. W. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Mol Immunol*, v.40, n.7, Nov, p.423-9. 2003.

UTIYAMA, S. R. R.; MESSIAS-REASON, I. T.; KOTZE, L. M. S. Conceitos atuais na ativação do sistema complemento e suas propriedades biológicas. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v.36, n.3, p.183-188. 2004a.

_____. O sistema complemento nas doenças: genética e patogenia. *Rev Bras Reumatol*, v.44, n.4, p.277-286. 2004b.

VAGO, A. R.; ANDRADE, L. O.; LEITE, A. A.; D'AVILA REIS, D.; MACEDO, A. M.; ADAD, S. J.; TOSTES JR., S.; MOREIRA, M. C.; FILHO, G. B.; PENA, S. D. Genetic characterization of *Trypanosoma cruzi* directly from tissues of patients with chronic Chagas disease: differential distribution of genetic types into diverse organs. *Am J Pathol*, v.156, n.5, May, p.1805-9. 2000.

VALDIMARSSON, H.; STEFANSSON, M.; VIKINGSDDOTTIR, T.; ARASON, G. J.; KOCH, C.; THIEL, S.; JENSENIUS, J. C. Reconstitution of opsonizing activity by infusion of mannan-binding lectin (MBL) to MBL-deficient humans. *Scand J Immunol*, v.48, n.2, Aug, p.116-23. 1998.

VERDU, P.; BARREIRO, L. B.; PATIN, E.; GESSAIN, A.; CASSAR, O.; KIDD, J. R.; KIDD, K. K.; BEHAR, D. M.; FROMENT, A.; HEYER, E.; SICA, L.; CASANOVA, J. L.; ABEL, L.; QUINTANA-MURCI, L. Evolutionary insights into the high worldwide prevalence of MBL2 deficiency alleles. *Hum Mol Genet*, v.15, n.17, Sep 1, p.2650-8. 2006.

VINHAES, M. C.; DIAS, J. C. Chagas disease in Brazil. *Cad Saude Publica*, v.16 Suppl 2, p.7-12. 2000.

VOLANAKIS, J. E. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol*, v.38, n.2-3, Aug, p.189-97. 2001.

VOLLER, A.; DRAPER, C.; BIDWELL, D. E.; BARTLETT, A. Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for chagas' disease. *Lancet*, 1975. 1(7904): p. 426-8.

WALPORT, M. J. Complement. First of two parts. *N Engl J Med*, v.344, n.14, Apr 5, p.1058-66. 2001.

YASUDA, M. A. S. XVI Annual meeting of Applied Research in Chagas Disease and IV meeting of Applied Research in Leishmaniasis. Uberaba, 27-29 October 2000. Abstracts. São Paulo, p.27-119. 2000.

ZHAO, H.; WAKAMIYA, N.; SUZUKI, Y.; HAMONKO, M. T.; STAHL, G. L. Identification of human mannose binding lectin (MBL) recognition sites for novel inhibitory antibodies. *Hybrid Hybridomics*, v.21, n.1, Feb, p.25-36. 2002.

APÊNDICES

APÊNDICE 1 - PLANILHA DE DADOS DE PACIENTES.....	89
APÊNDICE 2 - PLANILHA DE DADOS DE CONTROLES.....	93
APÊNDICE 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS E CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO.....	97
APÊNDICE 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS E CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO	97
APÊNDICE 5 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES CHAGÁSICOS DE ACORDO COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA.....	97
APÊNDICE 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS E CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA ...	98

CODIFICAÇÕES

Para "SEXO": 1 = masculino
 2 = feminino

Para "ETNIA" 1 = euro-brasileiro
 2 = miscigenado
 3 = afrodescendente

Para "DOENÇA" 1 = indeterminada
 2 = cardíaca
 3 = digestiva
 4 = associada

APÊNDICE 1 - PLANILHA DE DADOS DE PACIENTES

N	CÓDIGO	SEXO	IDADE	ETNIA	DOENÇA (Classe Funcional)	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
1	DC001JAM	M	61	1	4(D)	1285	0,35
2	DC002ND	M	49	1	2(C)	7214	0,11
3	DC003EFL	F	51	1	1	1025	<0,08
4	DC004RS	F	56	2	4(C)	2119	0,34
5	DC005JRF	M	63	1	2(C)	6379	1,84
6	DC006MPA	M	63	1	4(B1)	89	<0,08
7	DC007MFA	M	52	1	2(C)	2422	0,10
8	DC008JMS	M	52	1	2(C)	2448	0,27
9	DC009JMS	M	64	1	2(C)	5128	<0,08
10	DC010AMN	F	73	1	2(C)	6016	0,48
11	DC011MCF	F	52	1	1	134	0,46
12	DC013JTS	F	53	1	1	143	0,70
13	DC014VMZ	M	34	2	2(B1)	83	<0,08
14	DC015ASL	F	57	1	1	1192	0,21
15	DC016MN	F	50	1	1	2170	<0,08
16	DC018AS	F	60	1	1	641	1,16
17	DC019CCS	F	43	1	1	2330	2,10
18	DC020MEL	F	47	1	1	2812	<0,08
19	DC021CSP	F	54	1	1	1170	0,38
20	DC022LFM	F	59	1	2(A)	232	0,55
21	DC023VT	M	52	1	2(D)	2369	3,66
22	DC024AAS	M	64	1	1	127	0,26
23	DC025JLO	M	51	3	2(A)	74	0,89
24	DC026JCD	M	62	1	1	2012	0,33
25	DC027MDS	M	71	1	2(C)	2651	4,25
26	DC028ABA	M	48	1	2(C)	911	<0,08
27	DC029JPS	M	63	1	3	5465	0,31
28	DC030MFP	F	50	1	2(B1)	248	1,43
29	DC031RL	M	55	1	4(C)	2529	0,34
30	DC032AR	M	61	3	2(A)	282	0,15
31	DC033AMP	F	43	1	2(C)	368	0,09
32	DC034IML	F	57	1	2(C)	1219	0,13
33	DC035EO	M	58	2	1	1451	0,27
34	DC036BR	M	55	1	1	1014	<0,08
35	DC037NR	F	57	1	3	224	0,19
36	DC039COM	F	52	1	1	130	0,22

N	CÓDIGO	SEXO	IDADE	ETNIA	DOENÇA (Classe Funcional)	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
37	DC040PNF	F	60	1	1	1399	0,23
38	DC041MT	F	44	1	3	1865	0,09
39	DC042MHF	F	58	1	1	1097	1,90
40	DC043JCM	M	67	1	2(C)	1488	0,75
41	DC044FCM	M	53	1	1	885	0,10
42	DC045MAS	F	49	1	1	1460	0,15
43	DC046AMO	F	55	1	1	330	0,10
44	DC048LRS	M	62	1	1	1381	0,52
45	DC049NRS	F	52	1	1	2552	0,70
46	DC050AFS	M	50	3	2(A)	645	<0,08
47	DC051OS	M	67	1	2(C)	5172	0,21
48	DC052JAN	F	73	3	2(C)	1269	1,00
49	DC053MAL	M	49	1	2(C)	1474	0,20
50	DC054ALS	M	65	1	2(C)	2803	0,77
51	DC055RMR	F	50	1	4(C)	327	0,58
52	DC056EM	F	49	3	4(C)	1559	0,76
53	DC057EC	F	53	1	1	69	0,20
54	DC058MRM	F	44	1	1	637	1,44
55	DC059ECF	M	55	1	1	1314	0,45
56	DC060WRC	M	66	1	4(C)	1830	0,52
57	DC061MRS	F	53	1	2(C)	121	0,63
58	DC062IFM	M	54	1	2(B1)	1422	2,25
59	DC063MRC	M	64	1	1	67	0,81
60	DC064JCD	M	40	1	1	726	0,49
61	DC065CA	M	51	1	2(A)	358	0,15
62	DC066OH	F	53	1	1	122	0,71
63	DC067ABC	M	53	1	3	310	0,17
64	DC068JAB	M	63	1	2(C)	76	<0,08
65	DC069MRK	F	58	1	1	1859	1,64
66	DC070PCA	M	59	1	1	2464	<0,08
67	DC071MGC	F	69	1	1	1904	0,23
68	DC072DCV	F	51	1	4(A)	325	0,22
69	DC073NMR	F	56	1	1	562	0,66
70	DC074ISS	F	42	1	1	356	0,29
71	DC075JMP	M	56	1	2(B1)	506	0,19
72	DC076JSO	F	64	1	2(C)	1420	2,42
73	DC077VST	F	61	1	1	661	0,34
74	DC078SPL	M	50	1	2(A)	615	0,96
75	DC079VLC	M	46	1	2(B1)	1192	<0,08

N	CÓDIGO	SEXO	IDADE	ETNIA	DOENÇA (Classe Funcional)	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
76	DC080AC	M	60	1	1	342	0,49
77	DC081MRP	M	65	1	2(C)	996	0,52
78	DC082OS	F	51	3	2(C)	600	<0,08
79	DC083VAP	M	57	1	2(C)	<50	0,96
80	DC084MMP	F	43	1	2(C)	800	0,11
81	DC085HKB	F	59	1	1	2200	0,30
82	DC086MAA	F	81	1	3	<50	0,18
83	DC087MSS	M	51	2	4(C)	4400	0,09
84	DC089AAB	M	64	3	2(C)	5150	0,36
85	DC090CLA	F	54	1	4(B1)	5600	<0,08
86	DC092AJO	F	49	3	2(B1)	2700	0,10
87	DC093GRA	F	61	1	2(C)	4400	0,34
88	DC094JPP	F	74	1	1	3200	-
89	DC095WVS	M	72	1	4(C)	5500	-
90	DC096MBS	M	63	1	2(B1)	4200	1,51
91	DC097MDB	F	54	1	3	3600	-
92	DC098NTO	F	42	1	1	<50	-
93	DC099VRC	F	51	1	1	1500	-
94	DC100MJS	M	70	2	3	4700	-
95	DC101MLB	F	65	2	1	<50	-
96	DC102JBS	M	50	1	4(B1)	5100	-
97	DC103MVA	F	45	1	1	<50	-
98	DC104JA	M	78	1	2(B1)	2050	1,34
99	DC105JO	M	50	1	1	2800	3,77
100	DC106ORN	F	68	1	4(B1)	2600	-
101	DC107RAB	F	36	3	3	1900	-
102	DC108CH	F	55	2	3	3100	-
103	DC109JCC	M	59	1	1	3400	-
104	DC110CMC	F	57	1	2(C)	600	0,55
105	DC111MBF	F	51	1	3	2100	-
106	DC112MFC	F	53	1	2(B1)	<50	0,10
107	DC113FA	F	53	1	1	90	-
108	DC114FAS	M	56	2	1	105	-
109	DC115IFS	F	55	1	3	1005	-
110	DC116JRS	M	71	1	3	79	-
111	DC117LDP	F	62	1	2(B1)	3800	0,15
112	DC118MRR	F	55	1	4(A)	500	-
113	DC119JH	M	76	1	1	5600	-
114	DC120JRA	M	57	1	2(C)	5600	0,13

N	CÓDIGO	SEXO	IDADE	ETNIA	DOENÇA (Classe Funcional)	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
115	DC121AJC	M	34	1	1	4500	-
116	DC122CAO	F	60	1	3	3200	-
117	DC123JA	M	55	2	4(A)	3700	-
118	DC124MIS	F	49	1	2(B1)	4800	0,09
119	DC125SPN	M	85	1	2(B1)	3500	-
120	DC126RSL	M	49	3	2(C)	5250	-
121	DC128MD	M	73	1	4(C)	3700	-
122	DC129PMS	M	55	1	1	600	-
123	DC131AVB	M	48	1	2(C)	<50	-
124	DC132ER	M	69	1	4(B1)	2400	-
125	DC133MAD	F	47	1	3	700	-
126	DC134CB	M	37	1	4(A)	<50	-
127	DC136PSR	M	66	1	1	5600	-
128	DC137CMB	M	40	1	1	3700	-
129	DC138MIR	F	52	1	2*	5600	-
130	DC139JP	M	38	1	1	600	-
131	DC140ACD	F	42	1	1	<50	-
132	DC141IAS	F	47	1	1	<50	-
133	DC142JPT	M	43	1	1	600	-
134	DC143MSR	F	67	1	1	<50	-
135	DC144MFP	F	61	2	3	600	-
136	DC145AGS	F	90	2	2(C)	3000	-
137	DC146ANP	F	62	2	1	5400	-
138	DC147MCS	M	64	2	1	3600	-
139	DC148RGP	F	62	1	1	4700	-
140	DC150SFM	F	43	1	1	1600	-
141	DC151ISF	F	46	1	4(A)	700	-
142	DC152AAF	F	61	2	2(B1)	800	-
143	DC153NOS	F	57	1	1	1100	-
144	DC154CSN	F	54	1	1	1800	-
145	DC155MAL	F	57	1	2(C)	2500	-
146	DC156IVP	M	53	1	1	3000	-
147	DC157BFR	F	52	2	1	3300	-
148	DC158DAC	F	60	1	2(C)	3500	-
149	DC159NMS	F	60	2	2(B1)	3300	-
150	DC160JFS	M	58	2	2(B1)	4200	-

NOTA: * ECG normal (não foi possível utilizar a classificação funcional)

APÊNDICE 2 - PLANILHA DE DADOS DE CONTROLES

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
1	1 M	50	1	2	1100	—
2	2 M	42	2	1	280	—
3	3 M	34	2	1	3500	—
4	4 M	19	2	1	500	—
5	5 M	29	1	1	3500	—
6	6 M	52	1	1	3600	—
7	7 M	70	1	1	1400	—
8	8 M	51	1	1	480	—
9	9 M	54	1	3	4500	—
10	10 M	26	1	1	250	—
11	11 M	20	1	1	550	—
12	12 M	75	1	2	350	—
13	13 M	41	1	2	4500	—
14	14 M	33	1	1	<50	—
15	15 M	37	1	1	3100	—
16	16 M	29	1	1	4000	—
17	17 M	45	2	1	3500	—
18	18 M	31	1	1	2000	—
19	19 M	51	1	1	800	—
20	20 M	78	2	1	400	—
21	21 M	25	2	1	3500	—
22	22 M	41	2	1	4200	—
23	23 M	37	2	1	780	—
24	24 M	49	2	2	4500	—
25	25 M	27	2	2	350	—
26	26 M	61	2	1	640	—
27	27 M	41	2	1	<50	—
28	28 M	63	2	1	600	—
29	29 M	57	2	2	2050	—
30	31 M	45	2	2	<50	—
31	32 M	52	2	2	<50	—
32	33 M	49	2	1	1100	—
33	34 M	50	2	1	980	—
34	37 M	55	2	1	<50	—

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
35	38 M	48	2	2	2100	—
36	39 M	50	2	1	400	—
37	40 M	51	2	1	2600	—
38	41 M	64	2	1	1700	—
39	42 M	68	2	1	2500	—
40	43 M	26	2	1	1700	—
41	44 M	60	2	1	370	—
42	45 M	56	2	2	450	—
43	46 M	40	2	1	650	—
44	47 M	56	2	2	1500	—
45	48 M	39	2	1	1400	—
46	49 M	28	2	1	370	—
47	50 M	49	2	1	2800	—
48	51 M	40	2	1	1800	—
49	52 M	37	2	1	2500	—
50	53 M	31	2	1	1200	—
51	54 M	52	2	1	3200	—
52	55 M	51	2	1	400	—
53	56 M	36	2	1	<50	—
54	57 M	41	2	3	450	—
55	58 M	38	2	3	600	—
56	59 M	59	2	1	2500	—
57	60 M	52	2	1	1800	—
58	62 M	59	2	1	700	—
59	63 M	52	2	1	400	—
60	64 M	38	2	1	70	—
61	65 M	30	2	1	1900	—
62	66 M	54	2	1	2600	—
63	67 M	35	1	1	<50	—
64	68 M	54	2	1	5000	—
65	69 M	37	1	1	<50	—
66	70 M	46	2	1	6000	—
67	71 M	30	2	1	3000	—
68	72 M	47	1	1	5800	—
69	73 M	42	1	1	6200	—
70	74 M	59	1	1	1600	—

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
71	75 M	42	2	1	1600	—
72	76 M	45	2	1	<50	—
73	77 M	58	2	1	<50	—
74	78 M	51	2	1	<50	—
75	79 M	33	1	1	5000	—
76	80 M	32	2	1	6200	—
77	81 M	43	1	1	4600	—
78	82 M	30	2	2	4600	—
79	83 M	33	1	1	5000	—
80	84 M	69	2	1	6200	—
81	85 M	57	2	1	2800	—
82	86 M	38	1	2	<50	—
83	87 M	51	2	1	<50	—
84	88 M	33	1	1	<50	—
85	89 M	32	2	1	2100	—
86	90 M	41	2	1	250	—
87	91 M	42	1	1	4800	—
88	92 M	32	2	1	2200	—
89	93 M	54	2	1	1700	—
90	94 M	41	2	1	4800	—
91	95 M	42	1	1	3800	—
92	96 M	58	2	1	4100	—
93	97 M	51	2	1	4800	—
94	98 M	30	2	2	<50	—
95	99 M	42	1	1	<50	—
96	100 M	45	2	1	<50	—
97	101 M	32	2	1	2200	—
98	500705A	20	2	1	44,4	—
99	500605A	22	2	1	2715	—
100	508305 A	23	1	1	8077	—
101	510005 A	41	1	1	1471	—
102	509905 A	27	1	1	1520	—
103	509805 A	44	1	1	742,8	—
104	509505 A	49	1	1	2035,0	—
105	508805 A	51	1	3	408,7	—
106	508005 A	50	1	1	1567	—

N	CÓDIGO	IDADE	SEXO	ETNIA	MBL (ng/ml)	CRP (mg/dl)
107	506005 A	58	1	1	3016	—
108	494405 A	51	1	1	18,6	—
109	492905 A	54	1	1	996,6	—
110	491305 A	53	1	1	2010,5	—
111	480205 A	51	1	1	268,1	—
112	473905 A	52	1	1	725,6	—
113	473805 A	54	1	1	2251	—
114	466905 A	57	1	1	1887	—
115	466005 A	51	1	1	2501	—
116	462705 A	52	1	1	2488	—
117	462205 A	51	1	1	1517	—
118	459505 A	53	1	1	629,5	—
119	459205 A	51	1	1	64,5	—
120	458905 A	55	1	1	2271	—
121	457905 A	55	1	1	<50	—
122	456905 A	52	1	1	2013	—
123	454205 A	54	1	1	<50	—
124	452505 A	56	1	1	2276	—
125	452305 A	58	1	1	6969	—
126	448405 A	53	1	1	1649	—
127	446605 A	50	1	1	717	—
128	446505 A	57	1	1	113,3	—
128	445905 A	52	1	1	1048	—
130	01 CN	69	1	3	689,8	—
131	02 CN	55	1	3	1015	—
132	03 CN	72	1	3	547,7	—
133	04 CN	49	1	3	<50	—
134	05 CN	67	1	3	<50	—
135	06 CN	75	1	3	1119	—
136	07 CN	52	1	3	776	—
137	08 CN	67	1	3	532	—
138	09 CN	67	1	3	<50	—
139	10 CN	57	1	3	3006	—

APÊNDICE 3 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS E
CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O SEXO

SEXO	PACIENTES		CONTROLES	
	NÚMERO	%	NÚMERO	%
MASCULINO	70	46,7	68	48,9
FEMININO	80	53,3	71	51,1
TOTAL	150	100	139	100

APÊNDICE 4 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS E
CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM O GRUPO ÉTNICO

GRUPO ÉTNICO	PACIENTES		CONTROLES	
	NÚMERO	%	NÚMERO	%
EURO-BRASILEIRO	137	78,29	87	79,09
MISCIGENADO	13	7,43	8	7,27
AFRODESCENDENTE	23	13,14	14	12,73
TOTAL	175	100	110	100

APÊNDICE 5 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES CHAGÁSICOS DE ACORDO
COM A FORMA CLÍNICA DA DOENÇA

FORMA CLÍNICA DA DOENÇA	PACIENTES	
	NÚMERO	%
INDETERMINADA	62	41,33
CARDÍACA ISOLADA	54	36
DIGESTIVA	15	10
ASSOCIADA	19	12,67
TOTAL	175	100

APÊNDICE 6 - DISTRIBUIÇÃO DOS PACIENTES COM DOENÇA DE CHAGAS E
CONTROLES NORMAIS DE ACORDO COM A FAIXA ETÁRIA

FAIXA DE IDADE	PACIENTES		CONTROLES	
	NÚMERO	%	NÚMERO	%
19 A 44 ANOS	17	11,33	54	38,85
45 A 60 ANOS	87	58,00	71	51,08
ACIMA DE 60 ANOS	46	30,67	14	10,07
TOTAL	150	100,00	139	100,00
MEDIANA	55 (34 a 90 anos)		50 (19 a 78 anos)	