

Alterações Microvasculares Coronarianas na Doença de Chagas

Marcos A. Rossi, Simone G. Ramos
Ribeirão Preto, SP

Necrose miocitolítica multifocal e difusa é um dos mais conspícuos achados histomorfológicos na cardiomiopatia chagásica aguda e crônica. Todavia, isoladamente, essa alteração morfológica não é específica. As características morfológicas são semelhantes às da micronecrose observada em um grande número de doenças cardíacas, particularmente as cardiomiopatias idiopáticas¹. Na realidade, a necrose miocitolítica pode ser uma lesão de reperfusão causada por obstrução vascular transitória seguida de refluxo^{2,3}. Nesta revisão, analisamos as evidências de alterações microcirculatórias na doença de Chagas, tanto no homem como em animais de experimentação.

Alterações microvasculares na doença de Chagas experimental

Alterações de permeabilidade nos capilares cardíacos associadas a congestão, estase e infiltração por células mononucleares, além de vasoconstrição, caracterizaram o primeiro registro de comprometimento microvascular na tripanossomiose experimental⁴. A seguir, a presença de lesões obstrutivas nos ramos intermediários das artérias coronárias associadas a múltiplos focos de infarto do miocárdio foi demonstrada em macacos cronicamente infectados com *Trypanosoma cruzi*⁵. Em outro trabalho, estão relatadas lesões inflamatórias necrosantes nas pequenas artérias sob o revestimento peritoneal do intestino grosso e, ocasionalmente, da aorta e das coronárias de camundongos infectados com o *T. cruzi*, interpretadas como de natureza alérgica⁶. Todavia, só recentemente alguns estudos têm claramente evidenciado a participação de mecanismos microvasculares na patogênese da cardiomiopatia aguda e crônica em animais experimentalmente infectados com *T. cruzi*⁷⁻⁹.

Estudos em camundongos - Camundongos isogênicos BALB/c sensibilizados com 3 a 5 inoculações, em intervalos de 15 dias, com formas epimastigotas da cepa PF avirulenta de *T. cruzi*, e desafiados, 30 dias após a última inoculação, com formas tripomastigotas da cepa Colômbia de *T. cruzi*, desenvolveram uma cardiomiopatia muito semelhante à aquela observada na fase crônica da doença de Chagas no homem¹⁰. Macroscopicamente se observou cardiomegalia com hipertrofia e dilatação das câmaras

ventriculares associada a adelgaçamento do ápice do ventrículo esquerdo (aneurisma apical). A microscopia revelou focos de necrose miocitolítica e degeneração miocárdica associados a uma resposta inflamatória predominantemente mononuclear, com concomitante fibrose intersticial e ocasionais pseudocistos. Além disso, agregados plaquetários e trombos oclusivos foram encontrados em pequenos vasos epicárdicos e intramiocárdicos de camundongos infectados, em comparação com camundongos controles. Esses resultados forneceram evidência direta da presença de doença microcirculatória na cardiomiopatia crônica experimental de camundongos infectados com *T. cruzi*¹¹. Essas alterações são, muito provavelmente, importantes na patogênese da lesão miocárdica focal, ponto crucial no desenvolvimento da cardiomiopatia. Por outro lado, a natureza focal da lesão miocárdica e o tipo de necrose se caracterizam como evidências indiretas do envolvimento da microcirculação nesse modelo. Apoio adicional à essa idéia foi a observação de focos de hipoxia miocárdica demonstrados histoquimicamente na cardiomiopatia crônica dos animais infectados. Significativamente, não foram observadas lesões inflamatórias dos vasos coronarianos nesse modelo.

Por outro lado, diversas alterações dinâmicas nos vasos coronarianos, como constrição vascular focal, formação de microaneurismas, dilatação e proliferação microvascular, têm sido demonstradas na doença de Chagas aguda experimental em camundongos¹². Essas alterações também têm sido relatadas em outras cardiomiopatias congestivas^{1,13}. As lesões microvasculares, constantemente presentes na evolução da doença de Chagas experimental, têm sido observadas antes do aparecimento de degeneração ou fibrose miocárdicas significativas e podem ser minimizadas pela administração crônica de verapamil, uma droga bloqueadora dos canais de cálcio, com efeito vasodilatador e anti-agregante plaquetário, o que permitiria a manutenção da perfusão microvascular¹⁴⁻¹⁶. A observação de trombos plaquetários na microcirculação coronariana de camundongos infectados levou à investigação dos possíveis mecanismos implicados. Demonstrou-se que na infecção aguda há aumento da reatividade plaquetária, fator que pode contribuir para o desenvolvimento das trombozes. A interação entre plaquetas e o endotélio lesado e/ou a superfície subendotelial pode estimular a ativação plaquetária com subsequente geração de tromboxana A₂ (TXA₂) e possivelmente do fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF). O achado de níveis elevados da TXA₂ no plasma de camundongos agudamente infectados contribuiria para o aumento da agregação plaquetária intravascular e do espasmo microvascular focal¹⁷.

Além disso, foi levantada a hipótese de que o parasitismo do endotélio de revestimento dos pequenos vasos coronarianos durante a infecção aguda induziria à geração de mensageiros intracelulares que alterariam a perfusão microvascular. Uma vez estabelecidas, essas alterações levariam a lesões miocárdicas essencialmente idênticas àquelas vistas em cardiopatias com envolvimento primário da microcirculação coronariana. Por fim, recentemente foi demonstrada, através de métodos autoradiográficos, uma diminuição progressiva da perfusão coronariana em corações de camundongos infectados com *T. cruzi* (cepa *Tulahuen*), após 15 e 30 dias, em comparação aos corações de camundongos não infectados com padrão normal de perfusão¹⁸.

Estudos em cães - Recentemente, estudos, tanto convencionais quanto ultra-estruturais, de corações de cães sacrificados 18 a 26 dias após a inoculação intraperitoneal de formas tripomastigotas da cepa 12SF de *T. cruzi*/kg de peso corporal, demonstraram a presença de uma miocardite caracterizada por pequenas áreas focais de lesão e necrose miocitária associada à infiltração mononuclear intersticial¹⁹. Ultra-estruturalmente, foram observadas alterações degenerativas nas células endoteliais em contato com linfócitos T, além de agregados plaquetários e trombos de fibrina nos capilares intramiocárdicos. Essas alterações são sugestivas de que uma possível interação entre células endoteliais e células imunes efetoras poderia ter papel importante na patogênese da lesão miocelular e da microangiopatia no modelo estudado.

Estudos *in vitro* - O envolvimento dos componentes da microcirculação tem sido demonstrado *in vitro*. A infecção direta pelo *T. cruzi* de culturas de células endoteliais humanas resultou na alteração de vários processos bioquímicos críticos na manutenção da perfusão microvascular, como a homeostase do Ca^{++20} , geração de trifosfato de inositol (IP3)²¹ e a síntese de prostaglandina I_2 . Mais recentemente, foi demonstrado que a infecção de células endoteliais de veia umbilical humana pelo *T. cruzi* resulta na alteração do metabolismo do AMP cíclico (AMPC) que desempenha um papel protetor contra a lesão direta e/ou indireta causada pela adesão e agregação de plaquetas circulantes às células endoteliais²³. Por outro lado, as células inflamatórias podem contribuir para um estado de hipoperfusão microvascular pela secreção de citocinas e outros fatores que sabidamente influenciam plaquetas e células endoteliais²³. As citocinas desempenham um importante papel na patogênese de várias infecções parasitárias²⁴. Na patogênese da infecção pelo *T. cruzi* seu papel tem sido investigado. O aumento da interleucina (IL)-1, da IL-6 e do fator 1 estimulador de colônias (CSF-1) na vigência de infecção de células endoteliais levaria a uma série de alterações nas funções destas²⁵. A IL-1b é elaborada por macrófagos ativado e células mononucleares do sangue periférico, inclusive aquelas infectadas com o *T. cruzi*, bem como por uma variedade de outros tipos celulares, como as células endoteliais²⁷⁻²⁹. As propriedades antitrombóticas das células endoteliais podem ser alteradas pela IL-1b. Esta citocina diminuiria a produ-

ção tissular do ativador do plasminogênio, além de aumentar a produção do inibidor desse ativador, o que poderia resultar na formação de trombos^{30,31}. Embora os produtos da IL-6 estejam acentuadamente aumentados em culturas de células endoteliais, não foi possível determinar se células não infectadas foram também induzidas a produzir essa citocina. Desde que IL-1b pode induzir a produção de IL-6 pelas células endoteliais^{27, 32}, não está claro se a produção da IL-6 pelas células endoteliais infectadas foi resultado direto da infecção ou induzida pela IL-1b produzida em resposta à infecção. A CSF-1 é um fator de crescimento importante para a proliferação e maturação de células das linhagens mononucleares²⁷. É também importante no recrutamento, podendo agir em consonância com a IL-18. Níveis elevados de CSF-1 foram encontrados em células endoteliais de cultura. Essas observações poderiam significar uma expansão da população de monócitos na microvasculatura, resultando na posterior elaboração de citocinas pró-inflamatórias. Ademais, tripomastigotas podem elaborar uma neuraminidase que poderia estar implicada na remoção do ácido siálico da superfície das células miocárdicas e endoteliais de mamíferos, predispondo à ligação de trombina. A perda desse protetor da superfície endotelial contribuiria para a agregação plaquetária e trombose dentro dos pequenos vasos coronarianos³³. Todos esses fatores atuando em conjunto, poderiam, em última instância, resultar em espasmo e trombose nos pequenos vasos coronarianos induzindo lesão miocelular focal.

Anormalidades microvasculares na doença de Chagas humana

Em 1911 foi relatado, pela primeira vez, uma reação inflamatória perivascular em corações humanos com cardiomiopatia chagásica crônica³⁴. Tempos depois, foi descrita uma arterite necrosante, com destruição parcial ou total da média das arteríolas nas proximidades dos plexos ou localizado sob a serosa, em biopsias do cárdia no megasôfago chagásico humano³⁵. O processo inflamatório em torno do vaso consistia principalmente de histiócitos, linfócitos e uns poucos eosinófilos. Estudos comparativos de corações humanos chagásicos e não chagásicos mostraram acentuadas irregularidades e constrições de vasos arteriolarres intramiocárdicos associadas com extensa miocitólise no grupo chagásico³⁶. Foi proposto que a miocitólise difusa encontrada na cardiomiopatia chagásica crônica seria causada por alterações metabólicas nas miocélulas como resultado de distúrbios circulatórios de baixa intensidade ou curta duração. A avaliação das condições da suplência sanguínea miocárdica através de métodos morfológicos em 41 corações chagásicos humanos sugere que a hipoxemia favoreceria o desenvolvimento das alterações miocárdicas focais, as quais posteriormente levariam a formação de áreas de adelgaçamento das paredes ventriculares e aneurisma apical³⁷. Um estudo histotopográfico comparando o sistema microcirculatório após a injeção de um meio opaco em co-

rações humanos chagásicos demonstrou descapilarização focal na cardiopatia chagásica crônica que seria decorrente de compressão extraluminal; foi sugerido que esta poderia ser a causa da necrose miocitolítica focal³⁸. A avaliação com rubídio-86 do fluxo sanguíneo capilar miocárdico de pacientes chagásicos crônicos sem manifestações clínicas de insuficiência cardíaca e com pequena cardiomegalia e sinais eletrocardiográficos típicos mostrou-se acentuadamente diminuído, enquanto os vasos coronarianos principais estavam aparentemente normais³⁹. Neste contexto, um estudo radiológico *post mortem* de corações chagásicos revelou alterações vasculares na área apical do coração caracterizada por vasos distorcidos e/ou número escasso e densidade diminuída das artérias, presumivelmente relacionadas a patogênese do aneurisma apical⁴⁰. Estudos de biópsia de corações chagásicos crônicos demonstraram espessamento acentuado da membrana basal envolvendo a maioria de miócitos e capilares (até 20 vezes a espessura normal)⁴¹, semelhante ao espessamento, com ou sem múltiplas camadas, relatado nas membranas basais de capilares miocárdicos em outras cardiomiopatias⁴². Estudo com o tálcio-201 em pacientes com cardiomiopatia chagásica crônica revelou distúrbio perfusional atribuído a defeitos reversíveis não relacionados a doença coronariana ou anormalidades da mobilidade das paredes^{43,44}, possivelmente refletindo isquemia microvascular⁴³. Recentemente foram relatadas em corações chagásicos crônicos lesões estenosantes arteriolares e pré-capilares e capilares associadas com degeneração isquêmica do miocárdio⁴⁵. Mais recentemente, foi verificado que pacientes chagásicos com cardiopatia crônica apresentam uma anormalidade da microvasculatura coronariana dependente do endotélio, como demonstrado por uma redução do fluxo coronariano induzida pela acetilcolina e uma resposta significativamente retardada, embora preservada, após a infusão de adenosina⁴⁶.

Conclusão - As evidências providas por estudos humanos e experimentais na cardiopatia de Chagas, aguda e crônica, são sugestivas de que o desenvolvimento das alterações miocárdicas ocorre, pelo menos em parte, como uma conseqüência da necrose celular aguda e progressiva iniciada e perpetuada por alterações na microcirculação miocárdica. Isto poderia implicar estratégias terapêuticas. Antagonistas de b-receptores poderiam manter uma perfusão microvascular adequada através da modulação do tônus vasomotor coronariano⁴⁷, prevenindo o desenvolvimento de focos de mionecrose. Os bloqueadores dos canais de cálcio poderiam prevenir a hipoxia tissular devido aos seus efeitos vasodilatadores e antiplaquetários^{15,16}. Os inibidores da enzima conversora poderiam agir pela ação inibitória sobre o efeito vasoconstritor da angiotensina⁴⁸ ou através de seu efeito benéfico sobre a mionecrose⁴⁹.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Referências

1. Factor SM, Sonnenblick EH - Hypothesis: is congestive cardiomyopathy caused by a hyperreactive myocardial microcirculation (microvascular spasm)? *Am J Cardiol* 1982;50:1149-52.
2. Jennings RB, Ganote CE - Structural changes in myocardium during ischemia. *Circ Res* 1974;35(suppl III):156-72.
3. Bulkley BH, Hutchins GM - Myocardial consequences of coronary artery bypass graft surgery: the paradox of necrosis in areas of revascularization. *Circulation* 1977;56:906-13.
4. Torres CM - Sobre a anatomia patológica da doença de Chagas. *Hospital* 1941;36:391-409.
5. Torres CM - Arteriolosclerose das finas ramificações arteriais do miocárdio (coronarite chagásica) e miocitólise focal do miocárdio na cardiopatia chagásica crônica. *Hospital* 1958;54:597-610.
6. Okumura M, Brito T, Pereira-da-Silva LH, Carvalho-da-Silva A, Correa-Neto A - The pathology of experimental Chagas' disease in mice. I. Digestive tract changes with special reference to necrotizing arteritis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1960;2:17-28.
7. Rossi MA - Microvascular changes as a cause of chronic cardiomyopathy in Chagas' disease. *Am Heart J* 1990;120:233-6.
8. Morris SA, Tanowitz HB, Wittner M, Bilezikian JP - Pathophysiological insights into the cardiomyopathy of Chagas' disease. *Circulation* 1990;82:1900-9.
9. Rossi MA, Bestetti RB - The challenge of chagasic cardiomyopathy: the pathological roles of autonomic abnormalities, autoimmune mechanisms and microvascular changes, and therapeutic implications. *Cardiology* 1995;86:1-7.
10. Rossi MA, Gonçalves S, Ribeiro-dos-Santos R - Experimental Trypanosoma cruzi cardiomyopathy in BALB/c mice. The potential role of intravascular platelet aggregation in its genesis. *Am J Pathol* 1984;114:209-16.
11. Rossi MA, Carobrez SG - Experimental Trypanosoma cruzi cardiomyopathy in BALB/c mice: histochemical evidence of hypoxic changes in the myocardium. *Br J Exp Pathol* 1985;66:155-60.
12. Factor SM, Cho S, Wittner M, Tanowitz HB - Abnormalities of the coronary microcirculation in acute murine Chagas' disease. *Am J Trop Med Hyg* 1985;34:246-53.
13. Factor SM, Minase T, Cho S, Fein F, Capasso JM, Sonnenblick EH - Coronary microvascular abnormalities in the hypertensive-diabetic rat: a primary cause of cardiomyopathy? *Am J Pathol* 1984;116:9-20.
14. Morris SA, Weiss LM, Factor SM, Bilezikian JP, Tanowitz HB, Wittner M - Verapamil ameliorates clinical, pathological and biochemical manifestations of experimental chagasic cardiomyopathy in mice. *J Am Coll Cardiol* 1989;14:782-9.
15. Factor SM, Minase T, Cho S, Dominitz R, Sonnenblick EH - Microvascular spasm in the cardiomyopathic Syrian hamster: a preventable cause of focal myocardial necrosis. *Circulation* 1982; 66:342-54.
16. Bonadonna G, Lechi C, Corradini P, Sinigaglia D, Togni PD, Miroslawa G - Verapamil inhibits platelet aggregation by a calcium independent mechanism. *Thromb Haemost* 1986;56:308-10.17.
17. Tanowitz HB, Burns ER, Sinha KA et al - Enhanced platelet adherence and aggregation in Chagas' disease: a potential pathogenic mechanism for cardiomyopathy. *Am J Trop Med Hyg* 1990;43:274-81.
18. Tanowitz HB, Morris SA, Factor SM, Weiss LM, Wittner M - Parasitic diseases of the heart. I: Acute and chronic Chagas' disease. *Cardiovasc Pathol* 1992;1:715.
19. Andrade ZA, Andrade SG, Correa R, Sadigursky, Ferrans VJ - Myocardial changes in acute Trypanosoma cruzi infection. Ultrastructural evidence of immune damage and the role of microangiopathy. *Am J Pathol* 1994;144:1403-11.
20. Morris SA, Tanowitz HB, Hatcher V, Bilezikian JP, Wittner M - Alterations in intracellular calcium following infection of human endothelial cells with Trypanosoma cruzi. *Mol Biochem Parasitol* 1988;29:213-21.
21. Morris SA, Bilezikian JP, Hatcher V, Weiss LM, Tanowitz HB, Wittner M - Trypanosoma cruzi: infection of cultured human endothelial cells alters inositol phosphate synthesis. *Exp Parasitol* 1989;69:330-9.
22. Morris SA, Tanowitz HB, Makman M, Hatcher VB, Bilezikian JP, Wittner M - Trypanosoma cruzi: alteration of cAMP metabolism following infection of human endothelial cells. *Exp Parasitol* 1992; 74:69-76.
23. Weinstein C, Fenoglio JJ - Myocarditis. *Hum Pathol* 1987;18:613-8.
24. Titus RG, Sherry B, Cerami A - The involvement of TNF, IL-1 and IL-6 in immune response to protozoan parasites. *Parasitol Today* 1991;7:A13-6.
25. Tanowitz HB, Gumprecht JP, Spurr D et al - Cytokine gene expression of endothelial cells infected with Trypanosoma cruzi. *J Infect Dis* 1992;166:598-603.
26. Van Voorhis WC - Coculture of human peripheral blood mononuclear cells with Trypanosoma cruzi leads to proliferation of lymphocytes and cytokine produc-

- tion. *J Immunol* 1992;184:239-48.
27. Mantovani A, Dejana E - Cytokines as communication signals between leukocytes and endothelial cells. *Immunol Today* 1989; 10:370-5.
 28. Libby P, Ordovas JM, Auger KR, Robbins LK, Birinyi K, Dinarello CA - Endotoxin and tumor necrosis factor induce interleukin-1 gene expression in adult human vascular endothelial cells. *Am J Pathol* 1986;124:179-86.
 29. Le J, Vilcek J - Tumor necrosis factor and interleukin-1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* 1987; 56:234-48.
 30. Nachman RL, Hajar KA, Silverstein RL, Dinarello CA - Interleukin 1 induces endothelial cell synthesis of plasminogen activator inhibitor. *J Exp Med* 1986;163:1595-600.
 31. Bevilacqua MP, Pober JS, Majeau GR, Cotran RS, Gimbrone MA, Jr - Interleukin 1 (IL-1) induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J Exp Med* 1984;160:618-23.
 32. Loppnow H, Libby P - Adult human vascular endothelial cells express the IL-6 gene differentially in response to LPS or IL-1. *Cell Immunol* 1989;122:493-503.
 33. Libby P, Warner SJC, Friedman GB - Interleukin 1: a mitogen for human vascular smooth muscle cells that induces the release of growth-inhibitory prostanoids. *J Clin Invest* 1988;81:487-98.
 34. Vianna G - Contribuição para o estudo da anatomia patológica da moléstia de Chagas. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1911;3:276-94.
 35. Brito T, Vasconcelos E - Necrotizing arteritis in megaesophagus. *Histopathology of ninety-one biopsies taken from the cardia. Rev Inst Med Trop São Paulo* 1959;1:195-206.
 36. Torres CM - Miocitólise e fibrose do miocárdio na doença de Chagas. *Mem inst OswaldoCruz* 1960;58:161-82.
 37. Oliveira JAM - Contribuição ao estudo da patogenia do "aneurisma da ponta" na cardiopatia chagásica. Tese de doutoramento, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP, 1967.
 38. Jrg ME - Tripanosomiasis cruzi; anarquia angiopotográfica por descapilarización mesenquimorreactiva, cofactor patogénico de la miocardiopatia crónica. *Pren Med Argent* 1974;61:94-106.
 39. Kuschnir E, Kustich F, Epelman M, Santamarina N, Podio RB - Valoracion del flujo miocardico con Rb 86 en pacientes con cardiopatia chagásica, con insuficiencia coronariana y en controles normales. *Arq Bras Cardiol* 1974;27:187-96.
 40. Ferreira CS, Lopes ER, Chapadeiro E, Almeida HO, Souza WF, Silva Neto JJ - Coronariografia post mortem na cardite chagásica crônica: correlação anátomo-radiológica. *Arq Bras Cardiol* 1980; 34:81-6.
 41. Ferrans VJ, Milei J, Tomita Y, Storino RA - Basement membrane thickening in cardiac myocytes and capillaries in chronic Chagas' disease. *Am J Cardiol* 1988;61:1137-40.
 42. Factor SM, Minase T, Bhan R, Wolinsky H, Sonnenblick EH - Hypertensive diabetic cardiomyopathy in the rat: ultrastructural features. *Virchows Arch (Pathol Anat)* 1983;398:305-17.
 43. Hagar JM, Tubau JF, Rahimtoola SH - Chagas' heart disease in the USA: Thallium abnormalities mimic coronary artery disease. *Circulation* 1991;84(suppl):II-631.
 44. Marin-Neto JA, Marzullo P, Marcassa C et al - Myocardial perfusion abnormalities in chronic Chagas's disease as detected by Thallium-201 scintigraphy. *Am J Cardiol* 1992;69:780-4.
 45. Rossi L, Maturri L - Cardiomiopatia chagásica. *Aggiornamento istopatologico. Suppl Med d'Italia* 1994;10:87-90.
 46. Torres FW, Acquatella H, Condado JA, Dinsmore R, Palacios IF - Coronary vascular reactivity is abnormal in patients with Chagas' disease. *Am Heart J* 1995;129:995-1001.
 47. Wharton JM, Coleman RE, Strauss HC - The role of autonomic nervous system in sudden cardiac death. *Trends Cardiovasc Med* 1992;2:65-71.
 48. Schelling P, Fischer H, Ganten D - Angiotensin and cell growth: A link to cardiovascular hypertrophy? *J Hypertens* 1991;9:3-15.
 49. Rezkalla S, Kloner RA, Khatib G, Khatib R - Effect of delayed captopril therapy on left ventricular mass and myonecrosis during acute coxsachevirus murine myocarditis. *Am Heart J* 1990;120: 1377-81.