

O Carvedilol Potencializa o Efeito Antioxidante das Vitaminas E e C na Cardiopatia Chagásica Crônica

Carvedilol Enhances the Antioxidant Effect of Vitamins E and C in Chronic Chagas Heart Disease

Patrícia Budni¹, Roberto Coury Pedrosa^{2,3}, Eduardo Monguilhott Dalmarco¹, Juliana Bastos Dalmarco¹, Tânia Sílvia Frode¹, Danilo Wilhelm Filho¹

Universidade Federal de Santa Catarina¹, Florianópolis, SC; Universidade Federal do Rio de Janeiro²; Hospital Universitário Clementino Fraga Filho³, Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Resumo

Fundamento: A doença de Chagas continua a ser uma importante doença endêmica no país, sendo o acometimento cardíaco a sua manifestação mais grave.

Objetivo: Verificar se o uso concomitante de carvedilol potencializará o efeito antioxidante das vitaminas E e C na atenuação do estresse oxidativo sistêmico na cardiopatia chagásica crônica.

Métodos: Foram estudados 42 pacientes com cardiopatia chagásica, agrupados de acordo com a classificação modificada de Los Andes, em quatro grupos: 10 pacientes no grupo IA (eletrocardiograma e ecocardiograma normais: sem envolvimento do coração), 20 pacientes do grupo IB (eletrocardiograma normal e ecocardiograma anormal: ligeiro envolvimento cardíaco), oito pacientes no grupo II (eletrocardiograma e ecocardiograma anormais, sem insuficiência cardíaca: moderado envolvimento cardíaco) e quatro pacientes no grupo III (eletrocardiograma e ecocardiograma anormais com insuficiência cardíaca: grave envolvimento cardíaco). Os marcadores de estresse oxidativo foram medidos no sangue, antes e após um período de seis meses de tratamento com carvedilol e após seis meses de terapia combinada com vitaminas E e C. Os marcadores foram: atividades da superóxido dismutase, catalase, glutatona peroxidase, glutatona S-transferase e redutase, mieloperoxidase e adenosina deaminase, e os níveis de glutatona reduzida, de espécies reativas do ácido tiobarbitúrico, proteína carbonilada, vitamina E e óxido nítrico.

Resultados: Após o tratamento com carvedilol, todos os grupos apresentaram diminuições significativas dos níveis de proteína carbonilada e glutatona reduzida, enquanto os níveis de óxido nítrico e atividade da adenosina aumentaram significativamente apenas no grupo menos acometido (IA). Além disso, a maioria das enzimas antioxidantes mostrou atividades diminuídas nos grupos menos acometidos (IA e IB). Com a adição das vitaminas ao carvedilol houve diminuição dos danos em proteínas, nos níveis de glutatona e na maior parte da atividade das enzimas antioxidantes.

Conclusões: A queda dos níveis de estresse oxidativo, verificada pelos marcadores testados, foi mais acentuada quando da associação do fármaco carvedilol com as vitaminas antioxidantes. Os dados sugerem que tanto o carvedilol isoladamente como sua associação com as vitaminas foram eficazes em atenuar o dano oxidativo sistêmico em pacientes com CC, especialmente aqueles menos acometidos, sugerindo a possibilidade de sinergismo entre esses compostos. (Arq Bras Cardiol. 2013;101(4):304-310)

Palavras-chave: Cardiomiopatia Chagásica / terapia; Antagonistas Adrenérgicos Beta; Antioxidantes; Vitamina E; Vitamina C.

Abstract

Background: Chagas disease is still an important endemic disease in Brazil, and the cardiac involvement is its more severe manifestation.

Objective: To verify whether the concomitant use of carvedilol will enhance the antioxidant effect of vitamins E and C in reducing the systemic oxidative stress in chronic Chagas heart disease.

Methods: A total of 42 patients with Chagas heart disease were studied. They were divided into four groups according to the modified Los Andes classification: 10 patients in group IA (normal electrocardiogram and echocardiogram; no cardiac involvement); 20 patients in group IB (normal electrocardiogram and abnormal echocardiogram; mild cardiac involvement); eight patients in group II (abnormal electrocardiogram and echocardiogram; no heart failure; moderate cardiac involvement); and four patients in group III (abnormal electrocardiogram and echocardiogram with heart failure; severe cardiac involvement). Blood levels of markers of oxidative stress were determined before and after a six-month period of treatment with carvedilol, and six months after combined therapy of carvedilol with vitamins E and C. The markers analyzed were as follows: activities of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione S-transferase and reductase, myeloperoxidase and adenosine deaminase; and the levels of reduced glutathione, thiobarbituric-acid reactive substances, protein carbonyls, vitamin E, and nitric oxide.

Results: After treatment with carvedilol, all groups showed significant decrease in protein carbonyls and reduced glutathione levels, whereas nitric oxide levels and adenosine activity increased significantly only in the less severely affected group (IA). In addition, the activity of most of the antioxidant enzymes was decreased in the less severely affected groups (IA and IB). By combining the vitamins with carvedilol, a reduction in protein damage, in glutathione levels, and in the activity of most of the antioxidant enzymes were observed.

Conclusions: The decrease in oxidative stress levels observed by means of the markers tested was more significant when carvedilol was used in combination with the antioxidant vitamins. The findings suggest that both carvedilol alone and in combination with the vitamins were effective in attenuating the systemic oxidative stress in patients with Chagas heart disease, especially those less severely affected, thus suggesting the possibility of synergism between these compounds. (Arq Bras Cardiol. 2013;101(4):304-310)

Keywords: Chagas, Cardiomyopathy / therapy; Adrenergic Beta-Antagonists; Antioxidants; Vitamin E; Vitamin C.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Patrícia Budni •

Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Cidade Universitária, Trindade. CEP 80040-900, Florianópolis, SC - Brasil

E-mail: budnip@gmail.com

Artigo recebido em 03/01/13; revisado em 07/01/13; aceito em 30/04/13.

DOI: 10.5935/abc.20130184

Introdução

O acometimento cardíaco é a manifestação mais grave e frequente da doença de Chagas na fase crônica em áreas endêmicas, sendo a principal causa de morte em pacientes com idade entre 30-50 anos¹.

A patogênese da cardiopatia chagásica crônica (CCC) ainda não está totalmente compreendida, em parte porque a progressão da doença depende de uma complexa interação parasito-hospedeiro. Alguns mecanismos têm sido propostos para explicar a patogênese da CCC, entre eles a hipótese de uma resposta imunoinflamatória amplificada, entre outros processos, pela geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) na presença do parasita ou seu antígeno^{2,3}.

Estratégias de tratamento tradicional para insuficiência cardíaca, como betabloqueadores, mostraram importante melhora na sobrevida e progressão da insuficiência cardíaca (IC), no entanto ainda são escassas as estratégias que focam especificamente a CCC^{4,5}.

O carvedilol é uma combinação de bloqueadores adrenérgicos beta-1 e alfa-1 aprovados para o tratamento de insuficiência cardíaca e disfunção ventricular esquerda. Grande número de evidências experimentais e clínicas sugere que, além de seu bloqueio adrenérgico, o fármaco também possui potente atividade antioxidante⁶.

Temos mostrado recentemente que um aumento do estresse oxidativo está associado com a progressão da doença de Chagas⁷ e que o uso de intervenção antioxidante foi eficaz em atenuar o mesmo, com potencial de influenciar o curso da doença^{8,9}. Também, recentemente, nosso grupo mostrou que a administração de carvedilol foi eficaz em atenuar o insulto oxidativo nos diferentes estágios da doença, um efeito que pode ser particularmente importante na CCC¹⁰.

O objetivo principal deste estudo foi investigar se o carvedilol potencializaria o efeito antioxidante das vitaminas E e C, já demonstrado em estudos prévios em nosso laboratório, nos biomarcadores de estresse oxidativo e inflamatórios presentes no sangue de pacientes com CCC.

Métodos

Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo de intervenção terapêutica (RBR-95, JNQP), prospectivo, de amostra pertencente a uma coorte aberta, constituída de pacientes acompanhados no Serviço de Cardiologia do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF-UFRJ).

Seleção dos pacientes

A amostra do estudo foi composta de pacientes que tivessem seguido o fluxograma de atendimento do ambulatório de doença de Chagas do HUCFF-UFRJ, de forma espontânea. Somente foram incluídos pacientes chagásicos crônicos com idade entre 21-70 anos, que mantiveram os mesmos hábitos alimentares, sem outras doenças associadas e que estavam afastados da zona

endêmica há mais de 20 anos. Pacientes com hipertensão arterial, doença pulmonar obstrutiva crônica, cardiomiopatia de qualquer outra origem que não chagásica, doença cardíaca valvar, disfunção da tireoide, consumo excessivo de tabaco/álcool, disfunções imunológicas conhecidas, anormalidades nos eletrólitos séricos (potássio e cálcio) ou doença sistêmica foram excluídos do estudo. O projeto do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa do HUCFF-UFRJ (parecer CEP n.º 053/07). Todos os pacientes receberam informações sobre o estudo e assinaram o termo de consentimento informado, livre e esclarecido.

Os pacientes foram acompanhados pela mesma equipe de médicos. Visitas médicas foram agendadas no ambulatório regularmente, com intervalo médio de quatro meses e, quando necessário, submetidos a avaliação laboratorial. Todos os pacientes encontravam-se clinicamente estáveis por pelo menos três meses no momento em que a amostra de sangue para este estudo foi coletada. A dieta dos pacientes foi pobre quanto a antioxidantes nutricionais mais importantes e, portanto, a ingestão de vitaminas C e E foi considerada negligenciável. Medicamentos que alteravam o equilíbrio hidroeletrólítico foram interrompidas por 48 horas antes das análises laboratoriais e clínicas, e não houve intercorrências clínicas durante esse período.

Os pacientes foram agrupados de acordo com a classificação modificada de Los Andes¹¹, em quatro grupos: 10 pacientes no grupo IA (eletrocardiograma e ecocardiograma normais: sem envolvimento do coração), 20 pacientes do grupo IB (eletrocardiograma normal e ecocardiograma anormal: ligeiro envolvimento cardíaco), oito pacientes no grupo II (eletrocardiograma e ecocardiograma anormais, sem insuficiência cardíaca: moderado envolvimento cardíaco) e quatro pacientes no grupo III (eletrocardiograma e ecocardiograma anormais com insuficiência cardíaca: grave envolvimento cardíaco).

Os biomarcadores de estresse oxidativo foram medidos antes e após seis meses de tratamento isolado com carvedilol (divididos em três doses de 12,5 mg ao dia, compreendendo dose final diária de 37,5 mg) e antes e após seis meses de sua associação com vitaminas E (800 UI) e C (500 mg), em dose única diária. Entre a etapa do uso isolado do carvedilol e a terapia combinada houve um período de seis meses sem nenhum fármaco.

Diagnóstico sorológico da doença de Chagas

Realizado em todos os pacientes através da pesquisa de anticorpos anti-*T. cruzi*, utilizando dois métodos. A diluição considerada reação sorológica positiva foi a estabelecida pelo laboratório do centro de referência de Manguinhos-Fiocruz/RJ.

O paciente soropositivo foi aquele com dois testes sorológicos positivos, em duas coletas diferentes. No caso de dúvida entre os métodos, as amostras de soro foram retestadas pelo método de imunofluorescência e, persistindo a discrepância, foi considerado o resultado desse método. O sangue foi coletado sempre pela mesma pessoa, no mesmo dia da semana, na parte da manhã e em jejum.

Fármacos e reagentes

O fármaco carvedilol, (RS)-1-(9H-carbazol-4-iloxi)-3-[2-(2-etoxifenoxil) etilamino] propan-2-ol, e as vitaminas E (E-Tabs) e C (Energil C) foram gentilmente cedidos por laboratório farmacêutico do estado de São Paulo (Brasil) do grupo EMS Sigma Farma.

Os reagentes referentes às análises de biomarcadores de estresse oxidativo foram adquiridos da Sigma Chemical Co. (St. Louis, EUA).

Análise estatística

As comparações estatísticas dos marcadores de estresse oxidativo e inflamatórias dentro dos diferentes grupos foram realizadas segundo análise de variância (ANOVA), a um fator, complementada pelo teste de Tukey-Kramer. Os dados foram analisados pelo método dos modelos lineares generalizados para medidas repetidas. Para todas as análises foi utilizado o *software* SPSS versão 11.5.0, adquirido sob licença pela Universidade Federal de Santa Catarina em 6/9/2002. O nível de significância mínimo adotado foi de 5%.

Resultados

A avaliação radiológica mostrou que o índice cardiotorácico aumentou com o grau de comprometimento cardíaco ($p = 0,0001$) e considerada cardiomegalia quando os valores foram maiores do que 0,50. O ecocardiograma mostrou fração de ejeção nos pacientes do grupo III significativamente menor do que nos demais grupos ($p = 0,0001$). O diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo foi corrigido para a área corporal, e valores acima de 32 mm/m² foram considerados anormais. Com base nesse critério, 12 pacientes apresentaram dilatação do ventrículo esquerdo. O comprometimento miocárdio à direita, expresso pela hipertensão pulmonar, esteve presente nos pacientes dos grupos II e III (Tabela 1).

Ao analisar o perfil dos diferentes grupos, observou-se que os pacientes do grupo IA mostraram níveis de GSH significativamente diminuídos, tanto após o tratamento com carvedilol ($0,18 \pm 0,12 \mu\text{mol ml}^{-1}$) como após a sua combinação com as vitaminas antioxidantes ($0,14 \pm 0,10 \mu\text{mol ml}^{-1}$), em comparação com indivíduos não tratados ($0,31 \pm 0,17 \mu\text{mol ml}^{-1}$). Os níveis de TBARS e da vitamina E mantiveram-se inalterados quando comparados com o tratamento isolado do carvedilol, mas, após a adição de vitaminas, os níveis plasmáticos de TBARS diminuíram significativamente em comparação com os pacientes não tratados ($13,11 \pm 9,98 \text{ nmol ml}^{-1} - 6,10 \pm 3,02 \text{ nmol ml}^{-1}$), enquanto os níveis plasmáticos de vitamina E aumentaram em relação ao tratamento isolado com carvedilol ($12,44 \pm 2,85 \mu\text{mol L}^{-1} - 16,18 \pm 3,45 \mu\text{mol L}^{-1}$) - Tabela 2. No entanto, o conteúdo de proteína carbonil (PC) mostrou diminuição significativa em pacientes tratados com carvedilol ($0,04 \pm 0,01 \text{ nmol mg}^{-1}$) e tratados com vitaminas ($0,09 \pm 0,03 \text{ nmol mg}^{-1}$), em comparação aos pacientes não tratados ($0,15 \pm 0,07 \text{ nmol mg}^{-1}$). Quando comparamos, dentro do mesmo grupo IA, a atividade de enzimas antioxidantes como SOD, GST e GPx, elas mostraram diminuição significativa em relação aos pacientes não tratados em ambos os tratamentos, enquanto

a atividade da CAT foi maior no início com carvedilol e após manteve-se inalterada com a adição das vitaminas. A atividade da GR manteve-se inalterada com a terapia com carvedilol ($5,02 \pm 0,71 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1} - 4,78 \pm 1,26 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$, respectivamente) e diminuiu significativamente com a adição das vitaminas ($3,89 \pm 0,71 \mu\text{mol min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) - Tabela 3. Sobre os marcadores inflamatórios, após a terapia com carvedilol houve aumento significativo nos níveis de óxido nítrico (NO) em comparação aos pacientes não tratados ($10,93 \pm 3,19 \mu\text{M}$ e $17,96 \pm 3,24 \mu\text{M}$, respectivamente) seguido por diminuição após a adição de vitaminas ($9,09 \pm 1,00 \mu\text{M}$). Aumento significativo da atividade da ADA foi detectado em ambas as intervenções ($10,03 \pm 1,28 \text{ UI}^{-1}$, $17,17 \pm 2,49 \text{ UI}^{-1}$ e $17,58 \pm 2,21 \text{ UI}^{-1}$), enquanto a atividade da MPO permaneceu inalterada (Tabela 2).

Os pacientes do grupo IB tratados com carvedilol e a adição de vitaminas mostraram resposta muito semelhante em relação aos pacientes do grupo IA. Níveis de GSH ($0,16 \pm 0,13 \mu\text{mol ml}^{-1} - 0,11 \pm 0,09 \mu\text{mol ml}^{-1}$, respectivamente) também foram significativamente menores quando comparados com pacientes não tratados ($0,22 \pm 0,17 \mu\text{mol ml}^{-1}$) em ambas as intervenções, enquanto os níveis de TBARS e vitamina E mantiveram-se inalterados quando comparados com o tratamento isolado com carvedilol; entretanto, com a adição das vitaminas, os níveis de TBARS diminuíram significativamente em comparação com os não tratados ($10,02 \pm 6,18 \text{ nmol ml}^{-1} - 6,52 \pm 2,92 \text{ nmol ml}^{-1}$, respectivamente), enquanto os níveis de vitamina E aumentaram em relação ao carvedilol ($15,70 \pm 4,68 \mu\text{mol L}^{-1} - 22,02 \pm 11,0 \mu\text{mol L}^{-1}$, respectivamente; Tabela 2). Além disso, como encontrado nos pacientes do grupo IA, os conteúdos de PC também diminuíram significativamente em pacientes tratados somente com carvedilol ($0,05 \pm 0,02 \text{ nmol mg}^{-1}$) e com a combinação das vitaminas ($0,09 \pm 0,08 \text{ nmol mg}^{-1}$) comparados aos pacientes não tratados ($0,6 \pm 0,19 \text{ nmol mg}^{-1}$). O perfil da atividade das enzimas antioxidantes nesse grupo também foi muito semelhante ao do grupo IA, enquanto os marcadores inflamatórios permaneceram inalterados, exceto a atividade da MPO, que aumentou significativamente em relação aos tratados com carvedilol adicionado à terapia das vitaminas antioxidantes ($420,70 \pm 27,88 \mu\text{M} - 531,54 \pm 25,84 \mu\text{M}$, respectivamente) - Tabela 2.

Nos pacientes do grupo II, o comportamento dos parâmetros aqui analisados foram também muito semelhantes aos encontrados nos pacientes menos acometidos (grupos IA e IB) - Tabela 2. Os níveis de GSH foram significativamente menores comparando os tratados com carvedilol e a combinação com as vitaminas em relação aos indivíduos não tratados ($0,18 \pm 0,11 - 0,16 \pm 0,06$ e $0,29 \pm 0,10 \mu\text{mol ml}^{-1}$, respectivamente), enquanto não se verificou qualquer diferença significativa nos níveis de TBARS e aumento significativo nos níveis de vitamina E, quando comparados ao tratamento da combinação com as vitaminas ($29,40 \pm 15,08 \mu\text{mol L}^{-1}$) e os não tratados ($19,64 \pm 9,25 \mu\text{mol L}^{-1}$). Os valores de PC foram outra vez significativamente diminuídos após a terapia com carvedilol ($0,05 \pm 0,01 \text{ nmol mg}^{-1}$) e também após a combinação com as vitaminas ($0,10 \pm 0,03 \text{ nmol mg}^{-1}$), comparativamente

aos indivíduos não tratados ($0,17 \pm 0,07 \text{ nmol mg}^{-1}$). Após o tratamento com carvedilol e a combinação de vitaminas, os marcadores inflamatórios permaneceram inalterados, exceto a MPO, a qual aumentou significativamente ($707,42 \pm 104,83 \mu\text{M}$) em comparação aos valores dos pacientes não tratados ($409,54 \pm 80,95 \mu\text{M}$) e os tratados com carvedilol ($352,13 \pm 50,3 \mu\text{M}$) -Tabela 2. As atividades de SOD e GST mostraram diminuições significativas em ambos os tratamentos, enquanto as atividades de CAT, GR e GPx não foram significativamente diferentes em comparação com pacientes não tratados (Tabela 3).

Como encontrado nos outros grupos, os níveis de GSH dos pacientes classificados como grupo III diminuíram significativamente quando comparados aos pacientes tratados com carvedilol ($0,16 \pm 0,09 \mu\text{mol ml}^{-1}$), a combinação com as vitaminas ($0,18 \pm 0,10 \mu\text{mol ml}^{-1}$) e os não tratados ($0,38 \pm 0,15 \mu\text{mol ml}^{-1}$) -Tabela 2. Também, de forma semelhante aos valores encontrados nos grupos IA, IB e II, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de TBARS no tratamento com carvedilol e após adicionadas as vitaminas. Houve aumento dos níveis de vitamina E em pacientes tratados com vitaminas, quando comparados com pacientes não tratados ($11,72 \pm 3,40 \mu\text{mol ml}^{-1}$ – $20,76 \pm 3,38 \mu\text{mol ml}^{-1}$), enquanto os conteúdos de PC novamente apresentaram valores diminuídos, tanto em pacientes tratados com carvedilol ($0,05 \pm 0,01 \text{ nmol mg}^{-1}$) como na combinação das vitaminas ($0,09 \pm 0,12 \text{ nmol mg}^{-1}$), quando comparados aos não tratados ($0,15 \pm 0,06 \text{ nmol mg}^{-1}$) - Tabela 2. As atividades de CAT, GR, GST e GPx não foram significativamente diferentes em relação ao tratamento aplicado, no entanto a atividade da SOD foi novamente diminuída entre os indivíduos tratados com carvedilol ($69,20 \pm 6,54 \text{ ml}^{-1}$) e com a combinação das vitaminas ($68,91 \pm 5,01 \text{ ml}^{-1}$) quando comparados aos não tratados ($145,44 \pm 44,12 \text{ USOD ml}^{-1}$). Da mesma forma que os resultados obtidos em outros grupos, os marcadores inflamatórios permaneceram inalterados após o tratamento com carvedilol e a combinação com as vitaminas (Tabela 2).

Discussão

Neste estudo, previamente à terapia antioxidante, os pacientes mostraram dano oxidativo aumentado nos lipídios e proteínas em comparação com o período pós-tratamento. Também se observou aumento generalizado nas atividades da maioria das enzimas antioxidantes previamente ao tratamento.

Em modelo animal de infecção por *Trypanosoma cruzi*, foi detectado aumento da modificação oxidativa de proteínas celulares^{12,13} e também níveis aumentados de malondialdeído (MDA, produto majoritário da lipoperoxidação), resultados que coincidem com os do presente trabalho. Os primeiros estudos com o carvedilol revelaram que esse fármaco é muito mais potente em inibir a produção de radicais hidroxila ($\cdot\text{OH}$) quando comparado a outros beta-bloqueadores, sendo capaz de inibir a peroxidação lipídica¹⁴. Observamos diminuição significativa no marcador de dano às proteínas em todos os grupos com CCC e também diminuição nos níveis de TBARS, o que poderia ser atribuído às potentes propriedades antioxidantes do carvedilol¹¹. Em outro estudo similar, o carvedilol também impediu a peroxidação lipídica nas membranas das células do miocárdio, iniciada por radicais de oxigênio gerados por sistemas químicos, enzimáticos ou celulares, tanto *in vitro* como *in vivo*¹⁵.

O processo inflamatório que caracteriza a doença de Chagas é mais pronunciado na fase aguda e parece se correlacionar com a gravidade da insuficiência cardíaca¹⁶. Neste estudo observou-se que o tratamento com carvedilol manteve a maioria dos marcadores inflamatórios inalterados (NO, ADA e MPO), sugerindo um efeito adicional desse fármaco sobre o processo inflamatório. A atividade anti-inflamatória do carvedilol tem sido mostrada em estudos com a redução da proteína C reativa, da proteína amiloide e da proteína quimiotática de monócitos¹⁷. Esse efeito poderia estar relacionado à sua capacidade antioxidante em diminuir a geração de EROs e à capacidade de impedir a infiltração de células inflamatórias no miocárdio^{18,19}. Os aumentos de ADA e NO foram verificados apenas em pacientes

Tabela 1 - Dados referentes à radiologia, eletrocardiografia e ecocardiograma dos pacientes chagásicos

Variável	IA (n = 10)	IB (n = 20)	II (n = 8)	III (n = 4)	ANOVA p
Radiografia de tórax					
Índice cardiotorácico (m $\pm$ dp)	0,45 $\pm$ 0,02	0,45 $\pm$ 0,02	0,48 $\pm$ 0,04	0,52 $\pm$ 0,02	0,0001*
Compatível com ICC (%)	0	0	20	100	0,001†
Eletrocardiograma					
BCRD (%)	0	55,7	62,3	97,8	0,001‡
BCRD + HBAE (%)	0	68,9	72,1	99,1	0,003‡
Área inativa (%)	0	2	55	89,3	0,001‡
Ecocardiograma					
FEVE (%)	65,2	61,6	42,4	37,6	0,0001§
IDdVE (mm/m ²)	28,3 $\pm$ 1,8	29,2 $\pm$ 1,2	32,3 $\pm$ 4,8	35,9 $\pm$ 1,9	0,001§
Hipertensão pulmonar (%)	0	0	25	44	0,001§

BCRD: bloqueio completo do ramo direito; FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo; HBAE: hemibloqueio anterior esquerdo; IDdVE: índice diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo; Tukey (IA ' III) *; (IA ' III) †; (IB ' III) ‡; (IA ' III) §

Tabela 2 - Comparação dentro do mesmo grupo dos níveis de GSH, TBARS, PC, vitamina E e NO e atividades da MPO e ADA, no sangue de pacientes chagásicos em três tempos diferentes de tratamento

	Grupo IA (n=10)				Grupo IB (n=20)				Grupo II (n=8)				Grupo III (n=4)			
	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com Carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com Carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com Carvedilol	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com Carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com Carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento combinado
TBARS	13,11 ± 9,98	9,5 ± 4,28	6,10 ± 3,02β*	10,02 ± 6,18	7,71 ± 1,17	6,52 ± 2,92β*	11,34 ± 4,60	8,33 ± 1,55	11,34 ± 4,60	8,33 ± 1,55	7,13 ± 3,40	15,19 ± 5,04	9,50 ± 2,22	7,25 ± 4,06		
PC	0,15 ± 0,07	0,04 ± 0,01α**	0,09 ± 0,03β**γ**	0,16 ± 0,19	0,05 ± 0,02α*	0,09 ± 0,18**γ**	0,17 ± 0,07	0,05 ± 0,01α***	0,17 ± 0,07	0,05 ± 0,01α***	0,10 ± 0,03β**γ**	0,15 ± 0,10	0,05 ± 0,01α*	0,09 ± 0,12β*γ*		
GSH	0,31 ± 0,17	0,18 ± 0,12α*	0,14 ± 0,10β**	0,22 ± 0,17	0,16 ± 0,13α**	0,11 ± 0,09β**	0,29 ± 0,10	0,18 ± 0,11α*	0,29 ± 0,10	0,18 ± 0,11α*	0,16 ± 0,06β*	0,38 ± 0,15	0,16 ± 0,09α	0,18 ± 0,10β*		
Vit. E	17,36 ± 8,11	12,44 ± 2,85	16,18 ± 3,45γ*	17,12 ± 8,93	15,70 ± 4,68	22,02 ± 11,0γ*	19,64 ± 9,25	12,24 ± 2,18	19,64 ± 9,25	12,24 ± 2,18	29,40 ± 15,08γ*	11,72 ± 3,40	11,18 ± 3,83	20,76 ± 3,38β*γ*		
ADA	10,03 ± 1,28	17,17 ± 2,5α*	17,58 ± 2,21β*	10,67 ± 1,08	15,36 ± 2,29	16,01 ± 0,92	14,02 ± 2,27	12,90 ± 2,14	14,02 ± 2,27	12,90 ± 2,14	14,94 ± 1,41	10,63 ± 3,52	9,05 ± 4,06	16,01 ± 0,59		
NO	10,93 ± 3,19	17,96 ± 3,2 α*	9,09 ± 1,00γ*	11,18 ± 1,38	16,07 ± 1,50	13,70 ± 1,53	15,49 ± 3,42	18,86 ± 2,60	15,49 ± 3,42	18,86 ± 2,60	17,17 ± 1,89	13,17 ± 4,62	12,10 ± 1,00	10,92 ± 1,98		
MPO	417,3 ± 40,1	544,18 ± 70,05	553,96 ± 39,21	430,97 ± 31,53	420,70 ± 27,9	531,54 ± 25,84γ*	409,54 ± 80,95	352,13 ± 50,36	409,54 ± 80,95	352,13 ± 50,36	707,42 ± 104,83β**γ***	440,92 ± 68,15	395,08 ± 60,10	559,04 ± 66,62		

ADA: adenosina deaminase (U l⁻¹); GSH: glutatona reduzida (μmol ml⁻¹); PC: proteína carbônica (nmol mg⁻¹); NO: óxido nítrico (μM); MPO: mieloperoxidase (mU ml⁻¹); TBARS: espécies reativas do ácido tiobarbitúrico (nmol ml⁻¹); vitamina E (μmol ml⁻¹). Os valores representam média ± desvio-padrão *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 representam diferenças significativas dentro do mesmo grupo chagásico.

Tabela 3 - Comparação dentro do mesmo grupo das enzimas antioxidantes no sangue de pacientes chagásicos em três tempos diferentes de tratamento

	Grupo IA (n = 10)				Grupo IB (n = 20)				Grupo II (n = 8)				Grupo III (n = 4)			
	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com carvedilol	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento com carvedilol	Após 6 meses de tratamento combinado	Sem tratamento	Após 6 meses de tratamento combinado
SOD	144,99 ± 29,0	64,04 ± 6,05α***γ*	59,44 ± 3,76β***	171,52 ± 41,16	66,37 ± 8,56α***	59,89 ± 4,36β***γ**	141,26 ± 46,6	70,9 ± 11,2 α**	145,4 ± 44,1	69,20 ± 6,54α*	68,91 ± 5,01β**	145,4 ± 44,1	69,20 ± 6,54α*	68,91 ± 5,01β**		
GPx	2,35 ± 0,22	1,48 ± 0,54α***	1,19 ± 0,60β***	2,32 ± 0,35	1,49 ± 0,39α***	1,05 ± 0,47β***γ**	2,75 ± 0,73	2,36 ± 0,35	2,48 ± 0,17	2,14 ± 0,40	2,13 ± 0,33	2,48 ± 0,17	2,14 ± 0,40	2,13 ± 0,33		
CAT	8,87 ± 2,55	13,27 ± 3,88α*	10,25 ± 5,06	9,21 ± 2,01	11,62 ± 4,10α*	10,67 ± 2,07	8,43 ± 3,14	9,50 ± 4,06	7,54 ± 3,93	12,51 ± 6,43	12,56 ± 3,89	7,54 ± 3,93	12,51 ± 6,43	12,56 ± 3,89		
GST	30,61 ± 2,58	24,0717 ± 3,68*	17,68 ± 3,52β**γ*	35,41 ± 9,42	24,58 ± 9,64α***	17,63 ± 4,70β***γ**	34,10 ± 5,64	20,81 ± 2,9α**	26,66 ± 7,51	23,28 ± 5,33	21,93 ± 2,58	26,66 ± 7,51	23,28 ± 5,33	21,93 ± 2,58		
GR	5,02 ± 0,71	4,78 ± 1,26	3,89 ± 7,1β*	4,94 ± 1,43	4,86 ± 1,70	4,11 ± 0,79β*	4,76 ± 1,16	4,00 ± 1,09	4,69 ± 0,81	4,73 ± 1,52	4,67 ± 0,27	4,69 ± 0,81	4,73 ± 1,52	4,67 ± 0,27		

CAT: catalase (mmol min⁻¹ ml⁻¹); GPx: glutatona peroxidase (μmol min⁻¹ ml⁻¹); GST: glutatona S-transferase (μmol min⁻¹ ml⁻¹); SOD: superóxido dismutase (U SOD ml⁻¹). Os valores representam média ± desvio-padrão. *p < 0,05, **p < 0,01, ***p < 0,001 representam diferenças significativas dentro do mesmo grupo chagásico.

pertencentes ao grupo IA, classificados como o grupo menos severamente afetado da CCC. Achados histopatológicos em pessoas com doença cardíaca mostraram aumento de células mononucleares com produção de TNF- α por macrófagos ativados e linfócitos T²⁰. Esse resultado poderia justificar esse aumento de ADA, que é uma enzima liberada por células mononucleares. O aumento dos níveis de NO nesse grupo de pacientes poderia indicar uma resposta contra a infecção por *T. cruzi*, uma vez que esses pacientes apresentam um grau de comprometimento menor, comparativamente aos demais grupos. Com a adição das vitaminas antioxidantes à terapia com o carvedilol, é possível sugerir uma associação sinérgica na combinação dos três antioxidantes não enzimáticos. Essa sinergia poderia estar refletida na diminuição acentuada dos marcadores de danos, tanto lipídicos como proteicos, em comparação com pacientes não tratados.

Foi observado aumento significativo nos níveis plasmáticos de vitamina E em todos os grupos, indicando que a vitamina E foi adequadamente absorvida pelos pacientes. Esses resultados estão de acordo com um estudo realizado por Bhogade e cols.²¹, em que, após a suplementação com vitamina E, houve aumento em seus níveis plasmáticos, com a concomitante diminuição dos níveis de MDA.

A atividade da maioria das enzimas antioxidantes diminuiu significativamente ou permaneceu inalterada, o que poderia ser explicado pelo sinergismo entre os três antioxidantes usados na prevenção da agressão oxidativa.

O marcador inflamatório NO diminuiu somente no grupo IA após adição das vitaminas ao carvedilol, um efeito que poderia ser atribuído à capacidade da vitamina E em prevenir a toxicidade do NO via formação de peroxinitrito²².

O aumento da atividade da MPO verificado no grupo II após adição de vitaminas ao carvedilol poderia ser justificado pela relação que essa enzima possui com a progressão e a gravidade da doença cardíaca. Lobbes e cols.²³ mostraram que os níveis séricos aumentados de MPO foram significativamente associados a doença arterial coronariana em pacientes com infarto agudo do miocárdio, em comparação com controles saudáveis. Bellotti e cols.²⁴ procuraram investigar a presença de parasitos no coração de chagásicos crônicos, encontrando-os com frequência e relacionando-os com a gravidade do processo inflamatório miocárdico, assim fortalecendo a ideia do importante papel do parasito na fisiopatologia da fase crônica²⁵.

Conclusão

Com os resultados deste estudo, é possível concluir que tanto o tratamento isolado com o carvedilol como a associação com as vitaminas antioxidantes foram eficazes na atenuação do estresse oxidativo sistêmico no sangue de pacientes com cardiopatia chagásica crônica (CCC), evidenciado pela diminuição dos níveis de TBARS e PC, e pela diminuição da maioria das atividades de enzimas antioxidantes. A combinação de carvedilol e vitaminas E e C indica a possibilidade de sinergismo entre os três antioxidantes não enzimáticos na atenuação do dano oxidativo associado com a CCC. Fica claro que a queda dos níveis de estresse oxidativo, verificada pelos marcadores testados, foi mais acentuada quando da associação do fármaco com as vitaminas antioxidantes. Por outro lado, tanto o uso do carvedilol isoladamente como a sua combinação com as vitaminas antioxidantes foram aparentemente incapazes de conter a evolução do processo inflamatório, indicado pelo aumento da ADA e MPO nos dois momentos de intervenção.

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Budni P, Pedrosa RC, Wilhelm Filho D; Obtenção de dados, Análise e interpretação dos dados e Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual: Budni P, Pedrosa RC, Dalmarco EM, Dalmarco JB, Frode TS, Wilhelm Filho D; Análise estatística e Redação do manuscrito: Budni P, Wilhelm Filho D.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

Fontes de Financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Patrícia Budni pela Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC.

Referências

1. Rassi Jr A, Rassi A, Little WC. Chagas' heart disease. Clin Cardiol. 2000;23(12):883-9.
2. Marin-Neto JA, Cunha-Neto E, Maciel BC, Simões MV. Pathogenesis of chronic Chagas heart disease. Circulation. 2007;115(9):1109-23.
3. Carrasco Guerra HA, Palacios-Prü E, Dagert de Scorza C, Molina C, Inglessis G, Mendoza RV. Clinical, histochemical, and ultrastructural correlation in septal endomyocardial biopsies from chronic chagasic patients: detection of early myocardial damage. Am Heart J. 1987;113(3):716-24.
4. Dávila DF, Angel F, Arata de Bellabarba G, Donis JH. Effects of metoprolol in chagasic patients with severe congestive heart failure. Int J Cardiol. 2002;85(2-3):255-60.
5. Botoni FA, Poole-Wilson PA, Ribeiro AL, Okonko DO, Oliveira BM, Pinto AS, et al. A randomized trial of carvedilol after renin-angiotensin system inhibition in chronic Chagas cardiomyopathy. Am Heart J. 2007;153(4):544.e1-8.
6. Dandona P, Ghanim H, Brooks DP. Antioxidant activity of carvedilol in cardiovascular disease. J Hypertens. 2007;25(4):731-41.

Artigo Original

7. de Oliveira TB, Pedrosa RC, Filho DW. Oxidative stress in chronic cardiopathy associated with Chagas disease. *Int J Cardiol.* 2007;116(3):357-63.
8. Maçao LB, Wilhelm-Filho D, Pedrosa RC, Pereira A, Backes P, Torres MA, et al. Antioxidant therapy attenuates oxidative stress in chronic cardiopathy associated with Chagas' disease. *Int J Cardiol.* 2007;123(1):43-9.
9. Ribeiro CM, Budni P, Pedrosa RC, Farias MS, Parisotto EB, Dalmarco EM, et al. Antioxidant therapy attenuates oxidative insult caused by benzonidazole in chronic Chagas' heart disease. *Int J Cardiol.* 2010;145(1):27-33.
10. Budni P, Pedrosa RC, Garlet TR, Dalmarco EM, Dalmarco JB, Lino MR, et al. Carvedilol attenuates oxidative stress in chronic Chagasic cardiomyopathy. *Arq Bras Cardiol.* 2012;98(3):218-24.
11. Feuerstein GZ, Yue TL, Cheng HY, Ruffolo RR Jr. Myocardial protection by the novel vasodilating beta-blocker, carvedilol: potential relevance of antioxidant activity. *J Hypertens Suppl.* 1993;11(4):S41-8.
12. Wen JJ, Vyatkina G, Garg N. Oxidative damage during chagasic cardiomyopathy: role of mitochondrial oxidant release and inefficient antioxidant defense. *Free Radic Biol Med.* 2004;37(11):1821-33.
13. Wen JJ, Dhiman M, Whorton EB, Garg NJ. Tissue-specific oxidative imbalance and mitochondrial dysfunction during *Trypanosoma cruzi* infection in mice. *Microbes Infect.* 2008;10(10-11):1201-9.
14. Yue TL, Cheng HY, Lysko PG, McKenna PJ, Feuerstein R, Gu JL, et al. Carvedilol, a new vasodilator and beta adrenoceptor antagonist, is an antioxidant and free radical scavenger. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;263(1):92-8.
15. Nohl H, Koltover V, Stolze K. Ischemia/reperfusion impairs mitochondrial energy conservation and triggers O_2^- release as a byproduct of respiration. *Free Radic Res Commun.* 1993;18(3):127-37.
16. Higuchi ML, De Moraes CF, Pereira Barreto AC, Lopes EA, Stolf N, Bellotti G, et al. The role of active myocarditis in the development of heart failure in chronic Chagas' disease: a study based on endomyocardial biopsies. *Clin Cardiol.* 1987;10(11):665-70.
17. Dandona P, Ghanim H, Sia CL, Visuwanathan B, Chaudhuri A, Mohanty P. Carvedilol exerts a potent anti-inflammatory effect. [Abstract]. 66th Annual Scientific Sessions of the American Diabetes Association. Washington; 2005 9-13 June. *J Hypertens.* 2007;25(4):731-41.
18. Feuerstein GZ, Ruffolo RR Jr. Carvedilol, a novel multiple action antihypertensive agent with antioxidant activity and the potential for myocardial and vascular protection. *Eur Heart J.* 1995;16 Suppl F:38-42.
19. Li D, Saldeen T, Romeo F, Mehta JL. Different isoforms of tocopherols enhance nitric oxide synthase phosphorylation and inhibit human platelet aggregation and lipid peroxidation: implications in therapy with vitamin E. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2001;6(2):155-61.
20. Reis DD, Jones EM, Tostes S Jr, Lopes ER, Gazzinelli G, Colley DG, et al. Characterization of inflammatory infiltrates in chronic chagasic myocardial lesions: presence of tumor necrosis factor- α + cells and dominance of granzyme A+, CD8+ lymphocytes. *Am J Trop Med Hyg.* 1993;48(5):637-44.
21. Bhogade B, Suryakar AN, Joshi N, Patil RY. Effect of vitamin E supplementation on oxidative stress in hemodialysis patients. *Indian J Clin Biochem.* 2008;23(3):233-7.
22. Botti H, Batthyany C, Trostchansky A, Radi R, Freeman BA, Rubbo H. Peroxynitrite-mediated alpha-tocopherol oxidation in low-density lipoprotein: a mechanistic approach. *Free Radic Biol Med.* 2004;36(2):152-62.
23. Lobb MB, Koo ME, Lutgens E, Ruiters AW, Lima Passos V, Braat SH, et al. Leukocyte counts, myeloperoxidase, and pregnancy-associated plasma protein A as biomarkers for cardiovascular disease: towards a multi-biomarker approach. *Int J Vasc Med.* 2010;2010:726207.
24. Bellotti G, Bocchi EA, Moraes AV, Higuchi ML, Barbero-Marcial, Sosa E, et al. In vivo detection of *Trypanosoma cruzi* antigens in hearts of patients with chronic Chagas' heart disease. *Am Heart J.* 1996;131(2):301-7.
25. da Cunha AB. A doença de Chagas e o envolvimento do sistema nervoso autônomo. *Rev Port Cardiol.* 2003;22(6):813-24.