

## Papel da Lipoperoxidação na Intensificação da Remodelação Causada pelo Betacaroteno após o Infarto

*Role of Lipoperoxidation in the Remodeling Intensification Induced by Beta-Carotene after Infarction*

Paula S. Azevedo<sup>1</sup>, Daniella R. Duarte<sup>1</sup>, Marcos F. Minicucci<sup>1</sup>, Beatriz B. Matsubara<sup>1</sup>, Luiz S. Matsubara<sup>1</sup>, Rosângela Novo<sup>1</sup>, Ethel L. Novelli<sup>2</sup>, Álvaro O. Campana<sup>1</sup>, Sergio A. R. Paiva<sup>1</sup>, Leonardo A. M. Zornoff<sup>1</sup>

Departamento de Clínica Médica - Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP<sup>1</sup>; Departamento de Bioquímica - Instituto de Biociências - UNESP<sup>2</sup>, Botucatu, SP - Brasil

### Resumo

**Fundamento:** Os mecanismos envolvidos na maior remodelação causada pelo betacaroteno após o infarto são desconhecidos.

**Objetivo:** Analisar o papel da lipoperoxidação na remodelação ventricular após o infarto do miocárdio, em ratos suplementados com betacaroteno.

**Métodos:** Ratos foram infartados e distribuídos em dois grupos: C (controle) e BC (500mg/kg/dieta). Após seis meses, foram realizados ecocardiograma e avaliação bioquímica. Utilizamos o teste t, com significância de 5%.

**Resultados:** Os animais do grupo BC apresentaram maiores médias das áreas diastólicas (C = 1,57 ± 0,4 mm<sup>2</sup>/g, BC = 2,09 ± 0,3 mm<sup>2</sup>/g; p < 0,001) e sistólicas (C = 1,05 ± 0,3 mm<sup>2</sup>/g, BC = 1,61 ± 0,3 mm<sup>2</sup>/g; p < 0,001) do VE, ajustadas ao peso corporal do rato. A função sistólica do VE, avaliada pela fração de variação de área, foi menor nos animais suplementados com betacaroteno (C = 31,9 ± 9,3 %, BC = 23,6 ± 5,1 %; p = 0,006). Os animais suplementados com betacaroteno apresentaram valores maiores da relação E/A (C = 2,7 ± 2,5, BC = 5,1 ± 2,8; p = 0,036). Não foram encontradas diferenças entre os grupos em relação aos níveis cardíacos de GSH (C = 21 ± 8 nmol/mg de proteína, BC = 37 ± 15 nmol/mg de proteína; p = 0,086), GSSG (C = 0,4 (0,3-0,5) nmol/g de proteína, BC = 0,8 (0,4-1,0); p = 0,19) de proteína; p = 0,246) e lipoperoxídeos (C = 0,4 ± 0,2 nmol/mg de tecido, BC = 0,2 ± 0,1 nmol/mg de tecido; p = 0,086).

**Conclusão:** A maior remodelação em animais infartados e suplementados com betacaroteno não depende da lipoperoxidação. (Arq Bras Cardiol 2009;93(1):34-38)

**Palavras-chave:** Função ventricular, estresse oxidativo, disfunção ventricular esquerda, remodelação ventricular, betacaroteno.

### Summary

**Background:** The mechanisms involved in the biggest remodeling caused by the post-infarct beta-carotene are unknown.

**Objective:** To analyze the role of lipoperoxidation in the ventricular remodeling after infarct of the myocardium in rats supplemented with beta-carotene.

**Methods:** Rats were infarcted and divided into two groups: C (control) and BC (500mg/kg/regimen). After six months, echocardiogram and biochemical evaluation were performed. The t test was used, with 5% significance.

**Results:** The animals from BC group presented highest means of the diastolic (C = 1.57 ± 0.4 mm<sup>2</sup>/g, BC = 2.09 ± 0.3 mm<sup>2</sup>/g; p < 0.001) and systolic (C = 1.05 ± 0.3 mm<sup>2</sup>/g, BC = 1.61 ± 0.3 mm<sup>2</sup>/g; p < 0.001) areas of LV, which were adapted according to the rat's body weight. The systolic function of LV, evaluated by the area variation fraction, was lower in the animals supplemented with beta-carotene (C = 31.9 ± 9.3%, BC = 23.6 ± 5.1%; p = 0.006). The animals supplemented with beta-carotene presented higher values of the E/A relation (C = 2.7 ± 2.5, BC = 5.1 ± 2.8; p = 0.036). No differences were found between the groups concerning the cardiac levels of the GSH (C = 21 ± 8 nmol/mg of protein, BC = 37 ± 15 nmol/mg of protein; p = 0.086), GSSG (C = 0.4 (0.3-0.5) nmol/g of protein, BC = 0.8 (0.4-1.0); p = 0.19) of protein; p = 0.246) and lipoperoxides (C = 0.4 ± 0.2 nmol/mg of tissue, BC = 0.2 ± 0.1 nmol/mg of tissue; p = 0.086).

**Conclusion:** The highest remodeling in infarcted rats supplemented with beta-carotene does not depend on the lipoperoxidation. (Arq Bras Cardiol 2009;93(1):31-35)

**Key words:** Ventricular function; oxidative stress; ventricular dilatation; ventricular dysfunction, left; ventricular remodeling; beta-carotene.

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

**Correspondência:** Leonardo A. M. Zornoff •

Faculdade de Medicina de Botucatu - Distrito de Rubião Jr., s/n - 18618-000 - Botucatu, SP - Brasil

E-mail: lzornoff@cardiol.br, lzornoff@fmb.unesp.br

Artigo recebido em 01/08/07; revisado recebido em 01/10/07; aceito em 10/10/07.

## Introdução

Após o infarto agudo do miocárdio (IAM), podem ocorrer alterações da arquitetura ventricular, envolvendo tanto a região infartada como a não infartada. É aceito que as alterações morfológicas sejam o reflexo de alterações celulares, moleculares e intersticiais cardíacas, que ocorrem em resposta à determinada agressão. O conjunto dessas adaptações - que são detectadas clinicamente por alterações na composição, massa, volume e geometria cardíaca -, é chamado de remodelação miocárdica<sup>1-4</sup>.

A intensidade do processo de remodelação ventricular está diretamente associada a um pior prognóstico, principalmente porque a remodelação está relacionada ao aparecimento e à progressão da disfunção ventricular. Assim, inúmeras estratégias vêm sendo utilizadas para prevenir ou atenuar o processo de remodelação ventricular após o IAM<sup>5-7</sup>.

Um dos principais moduladores do processo de remodelação é o estresse oxidativo. Entre outros mecanismos fisiopatológicos, uma das principais consequências do estresse oxidativo é a lipoperoxidação. Assim, se aceita que o estresse oxidativo possa ser um indutor de danos celulares que alteram variáveis funcionais e estruturais cardíacas, participando da fisiopatologia da insuficiência cardíaca secundária a vários estímulos, inclusive o IAM<sup>8-11</sup>.

Considerando que o betacaroteno, por possuir habilidade de inativar as espécies reativas de oxigênio, é considerado um antioxidante<sup>12,13</sup>, a suplementação de betacaroteno poderia ser benéfica após o IAM. Assim, em um trabalho anterior de nosso laboratório, foram avaliados os efeitos da suplementação de betacaroteno no processo de remodelação ventricular após o IAM. Contrariamente ao esperado, entretanto, a suplementação com betacaroteno resultou em intensificação da remodelação, acompanhada por piora da função cardíaca<sup>14</sup>. Os mecanismos responsáveis por esse fenômeno, no entanto, ainda não estão esclarecidos. Uma das possibilidades seria que o betacaroteno, em situação de grande estímulo oxidativo, deixaria de exercer atividade antioxidante e passaria a apresentar atividade pró-oxidante<sup>15</sup>.

Pelo exposto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a participação da lipoperoxidação nas alterações morfológicas e funcionais cardíacas, induzidas pela suplementação de betacaroteno em ratos infartados.

## Material e Métodos

### Grupos experimentais

O protocolo experimental do presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal de nossa instituição, estando em conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal.

Foram utilizados ratos Wistar machos, pesando entre 200 e 250 gramas. O infarto agudo foi produzido de acordo com o método previamente descrito<sup>16</sup>. Em resumo, os ratos (n = 120) foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50mg/kg) e cloridrato de xilidino (1mg/kg), e então submetidos à toracotomia lateral esquerda. Durante o experimento, os

animais respiraram espontaneamente, com suplementação de oxigênio a 100%, ofertado por cateter. Após a exteriorização do coração, o átrio esquerdo foi afastado e a artéria coronária esquerda ligada com fio mononáilon 5.00, entre a saída da artéria pulmonar e o átrio esquerdo. A seguir, o coração retornou ao tórax, os pulmões foram inflados com pressão positiva e o tórax foi fechado por suturas com algodão 10.

Os animais foram mantidos em gaiolas para recuperação; alimentados com ração comercial padrão e livre acesso a água; com controle de luz, ciclos de 12 horas; temperatura de aproximadamente 25°C e umidade controlada.

Após 48 horas do infarto, os animais foram aleatoriamente divididos em dois grupos: grupo C (n = 25), formado pelos animais infartados alimentados com ração comercial padrão; e grupo BC (n = 27), formado pelos animais infartados que receberam dieta suplementada com betacaroteno na dose de 500mg/kg/dieta. Todas as análises foram feitas por examinadores sem conhecimento dos grupos dos animais.

### Avaliação morfológica e funcional pelo ecocardiograma

Após seis meses de tratamento, os animais sobreviventes foram anestesiados com cloridrato de cetamina (50mg/kg) e cloridrato de xilidino (1mg/kg), para o estudo ecocardiográfico. Após a tricotomia da região anterior do tórax, os animais foram posicionados em decúbito dorsal em canaleta especialmente projetada, que permite a leve rotação lateral esquerda para realização do exame, utilizando-se equipamento da Philips (modelo TDI 5500) dotado de transdutor eletrônico multifrequencial até 12 MHz. A avaliação dos fluxos transvalvares mitral e aórtico foi realizada com o mesmo transdutor operando em 5,0 MHz. As medidas das estruturas cardíacas foram efetuadas nas imagens monodimensionais, obtidas com o feixe de ultrassom orientado pela imagem bidimensional, na posição paraesternal eixo menor. A imagem da cavidade ventricular esquerda foi obtida posicionando o cursor do modo-M entre os músculos papilares, logo abaixo do plano da valva mitral. As imagens da aorta e do átrio esquerdo foram obtidas na posição paraesternal eixo menor, com o cursor do modo-M posicionado ao nível da valva aórtica. O registro da imagem monodimensional (velocidade: 100 mm/s) foi realizado por meio da impressora modelo UP-890MD da Sony Co. Todas as medidas foram efetuadas de acordo com as recomendações da *American Society of Echocardiography*<sup>17</sup>, já validadas no modelo de ratos infartados<sup>18</sup>. O diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo (DDVE) e a espessura da parede posterior do VE (HDVE) foram medidos no momento correspondente ao diâmetro máximo da cavidade. O diâmetro sistólico do VE (DSVE) foi medido no momento da excursão sistólica máxima da parede posterior da cavidade. As áreas diastólicas (AD) e sistólicas (AS) do VE foram medidas no modo bidimensional, por meio de planimetria, em dois planos paraesternais: eixo longo e eixo menor. A função sistólica do VE foi avaliada calculando-se a fração de variação de área (FVA = AD-AS/AD x 100)<sup>18</sup>, obtida pela média dos valores dos dois eixos. O fluxo diastólico transmitral (ondas E e A) foi obtido com o transdutor na posição apical de quatro câmaras. As medidas referentes aos fluxos foram realizadas diretamente no monitor do ecocardiógrafo.

### Estudo morfométrico

Após o estudo ecocardiográfico, os animais foram sacrificados com pentobarbital; os corações dos animais foram retirados, dissecados e os ventrículos direito e esquerdo, incluindo o septo interventricular, foram separados e pesados.

Amostras de tecido cardíaco foram fixadas em solução de formol a 10% por período de 48 horas, segundo método já descrito<sup>19,20</sup>. Os cortes histológicos foram corados em lâmina com solução de Hematoxilina-Eosina (HE) para aferição de áreas da secção transversa dos miócitos, empregando-se microscópio LEICA DM LS acoplado a uma câmera de vídeo, que envia imagens digitais a um computador dotado do programa de análise de imagens Image Pro-plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA). Foram mensuradas de 50 a 70 células por ventrículo analisado. Os miócitos selecionados estavam seccionados transversalmente, apresentavam forma redonda e núcleo visível no centro da célula. Esse cuidado visou uniformizar ao máximo o conjunto de miócitos dos diferentes grupos. As áreas seccionais médias obtidas para cada grupo foram utilizadas como indicador do tamanho celular.

Lâminas com cortes histológicos coronais de 6 micras - corados pela técnica de Picro Sirius red, específicos para visualização de colágeno -, foram feitas para avaliação do interstício do miocárdio do VE. A leitura foi feita utilizando-se microscópio LEICA DM LS acoplado a uma câmera de vídeo, que envia imagens digitais a um computador dotado do programa de análise de imagens Image Pró-plus (Media Cybernetics, Silver Spring, Maryland, USA).

### Lipoperoxidação

Para avaliação bioquímica, foram realizadas dosagens dos níveis de glutatona reduzida (GSH), glutatona oxidada (GSSH), relação GSH/GSSG e lipoperoxídidos, segundo técnica já padronizada<sup>21</sup>. As dosagens foram realizadas no fígado e no coração.

### Análise estatística

Considerando que os dados apresentaram distribuição normal, as comparações foram feitas pelo teste t de Student. Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Para a relação GSH/GSSG, os dados estão expressos em mediana e intervalo interquartil e foram analisados pelo teste de Mann-Whitney. O nível de significância foi de 5%. As análises estatísticas foram feitas com o programa SigmaStat for Windows v2.03 (SPSS Inc, Chicago, IL).

### Resultados

Ao final do estudo, 13 animais controle e 15 animais suplementados com betacaroteno sobreviveram ao período de seis meses ( $p > 0,05$ ).

Os resultados do estudo ecocardiográfico estão na tabela 1. A frequência cardíaca foi estatisticamente maior nos animais suplementados com betacaroteno ( $C = 248 \pm 31$  bpm,  $BC = 281 \pm 40$  bpm;  $p = 0,025$ ). Os animais BC apresentaram valores maiores do DDVE, ajustados ao peso corporal do rato ( $C = 20,5 \pm 3,4$  mm/kg,  $BC = 23,8 \pm 3,8$  mm/kg;  $p = 0,025$ ), e valores menores de HDPP ( $C = 1,4 \pm 0,2$  mm,  $BC = 1,2$

$\pm 0,2$  mm;  $p = 0,041$ ), em relação aos animais controle. Os animais do grupo BC apresentaram maiores médias das áreas diastólicas ( $C = 1,57 \pm 0,4$  mm<sup>2</sup>/g,  $BC = 2,09 \pm 0,3$  mm<sup>2</sup>/g;  $p < 0,001$ ) e sistólicas ( $C = 1,05 \pm 0,3$  mm<sup>2</sup>/g,  $BC = 1,61 \pm 0,3$  mm<sup>2</sup>/g;  $p < 0,001$ ) do VE, ajustadas ao peso corporal do rato, em relação aos animais controle. A função sistólica do VE, avaliada pela fração de variação de área, foi menor nos animais suplementados com betacaroteno ( $C = 31,9 \pm 9,3\%$ ,  $BC = 23,6 \pm 5,1\%$ ;  $p = 0,006$ ). Em relação à função diastólica, os animais suplementados com betacaroteno apresentaram valores maiores da relação E/A que os animais controle ( $C = 2,7 \pm 2,5$ ,  $BC = 5,1 \pm 2,8$ ;  $p = 0,036$ ). Considerando as outras variáveis morfométricas, não foram observadas diferenças entre os dois grupos.

Os resultados do estudo morfométrico estão na tabela 2. A suplementação com betacaroteno resultou em maior peso do VD, ajustado ao peso corporal ( $C = 0,7 \pm 0,4$  mg/g,  $BC = 1,1 \pm 0,3$  mg/g;  $p = 0,034$ ). Não foram observadas diferenças em relação às outras variáveis analisadas ( $p > 0,05$ ).

Tabela 1 - Estudo ecocardiográfico

Variáveis	Controle (n=13)	BC (n=15)	P
FC (bpm)	248 $\pm$ 31	281 $\pm$ 40	0,025
AE/PC (mm/kg)	12,2 $\pm$ 3,6	15,1 $\pm$ 4,2	0,076
DDVE/PC (mm/kg)	20,5 $\pm$ 3,4	23,8 $\pm$ 3,8	0,025
HDPP (mm)	1,4 $\pm$ 0,2	1,2 $\pm$ 0,2	0,041
E (cm/s)	75,3 $\pm$ 24,3	69,4 $\pm$ 20,9	0,504
A (cm/s)	44,4 $\pm$ 26,8	19,7 $\pm$ 11,9	0,004
E/A	2,7 $\pm$ 2,5	5,1 $\pm$ 2,8	0,036
AD/PC (cm <sup>2</sup> /g)	1,57 $\pm$ 0,4	2,09 $\pm$ 0,3	<0,001
AS/PC (cm <sup>2</sup> /g)	1,05 $\pm$ 0,3	1,61 $\pm$ 0,3	<0,001
FVA (%)	31,9 $\pm$ 9,3	23,6 $\pm$ 5,1	0,006

Controle - animais infartados; BC - animais infartados e suplementados com betacaroteno; PC - peso corporal do rato; AE - diâmetro do átrio esquerdo; DDVE - diâmetro diastólico do ventrículo esquerdo; HDPP - espessura diastólica da parede posterior; E/A - relação entre as ondas E e A avaliadas do fluxo transmitral; AD - área diastólica; AS - área sistólica; FVA - fração de variação de área. Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

Tabela 2 - Dados morfométricos

Variáveis	Controle (n=13)	BC (n=15)	P
PC (g)	548 $\pm$ 68	466 $\pm$ 40	<0,001
VE/PC (mg/g)	2,7 $\pm$ 0,6	2,6 $\pm$ 1,2	0,776
VD/PC (mg/g)	0,7 $\pm$ 0,4	1,1 $\pm$ 0,3	0,034
AS ( $\mu$ m <sup>2</sup> )	236 $\pm$ 7,6	236 $\pm$ 8,6	0,812
IC (%)	3,5 $\pm$ 1,2	3,1 $\pm$ 1,6	0,482
% IAM	46,3 $\pm$ 4,2	48,8 $\pm$ 7,8	0,311

Controle - animais infartados; BC - animais infartados e suplementados com betacaroteno; PC - peso corporal do rato; VE - peso do ventrículo esquerdo; VD - peso do ventrículo direito; AS - área seccional do miócito; IC - fração de colágeno intersticial. % IAM - tamanho do infarto. Os dados foram expressos em média  $\pm$  desvio padrão.

Em relação às dosagens bioquímicas, não foram encontradas diferenças entre os grupos quanto aos níveis hepáticos de GSH (C =  $17 \pm 7$  nmol/mg de proteína, BC =  $27 \pm 14$  nmol/mg de proteína;  $p = 0,250$ ); GSSG (C =  $0,3 \pm 0,1$  nmol/g de proteína, BC =  $0,4 \pm 0,2$  nmol/g de proteína;  $p = 0,246$ ); GSH/GSSG (C = 4377 (2738-8249), BC = 2012 (1116-4488);  $p = 0,286$ ) e lipoperóxidos (C =  $0,3 \pm 0,1$  nmol/mg de tecido, BC =  $0,2 \pm 0,1$  nmol/mg de tecido;  $p = 0,159$ ). Do mesmo modo, não foram encontradas diferenças entre os grupos em relação aos níveis cardíacos de GSH (C =  $21 \pm 8$  nmol/mg de proteína, BC =  $37 \pm 15$  nmol/mg de proteína;  $p = 0,086$ ); GSSG (C =  $0,4 (0,3-0,5)$  nmol/g de proteína, BC =  $0,8 (0,4-1,0)$ ;  $p = 0,19$ ) de proteína;  $p = 0,246$ ); GSH/GSSG (C =  $56 \pm 7$ , BC =  $53 \pm 14$ ;  $p = 0,709$ ) e lipoperóxidos (C =  $0,4 \pm 0,2$  nmol/mg de tecido, BC =  $0,2 \pm 0,1$  nmol/mg de tecido;  $p = 0,086$ ).

## Discussão

O objetivo deste trabalho foi analisar a participação da lipoperoxidação no processo de remodelação ventricular, após o infarto agudo do miocárdio, em ratos suplementados com betacaroteno. Nosso trabalho confirmou que a suplementação de betacaroteno intensifica a remodelação cardíaca pós-IAM. No entanto, contrariamente ao esperado, a piora da remodelação não parece ser dependente da lipoperoxidação.

O primeiro aspecto a ser considerado refere-se ao fato de que nosso trabalho confirmou os achados relatados previamente em relação aos efeitos da suplementação do betacaroteno no processo de remodelação ventricular após o IAM<sup>14</sup>. De fato, a suplementação do betacaroteno resultou em aumento dos diâmetros ventriculares, tanto sistólico como diastólico, indicando piora do processo de remodelação ventricular esquerda. O aumento da cavidade ventricular foi acompanhado pela diminuição da espessura da parede posterior do VE. Esse fato, associado ao não aumento da área seccional do miócito, pode sugerir que a suplementação de betacaroteno resulta em crescimento celular de padrão excêntrico.

O segundo aspecto relevante de nosso trabalho está associado ao conceito de que a remodelação cardíaca resulta, invariavelmente, em uma queda progressiva da função sistólica ventricular. Inicialmente, em consequência do crescimento celular, a remodelação pode contribuir para manter ou restaurar a função cardíaca. Cronicamente, entretanto, ocorrem alterações bioquímicas, genéticas e estruturais que vão resultar em disfunção sistólica ventricular progressiva<sup>2-4</sup>. Em consonância com esse conceito, nos ratos suplementados com betacaroteno, o processo de remodelação foi acompanhado pela queda da fração de variação de área. Outros sinais indiretos de disfunção ventricular foram encontrados nos animais suplementados com betacaroteno, como, por exemplo, aumento da frequência cardíaca e hipertrofia do ventrículo direito. É interessante notar que, em nosso trabalho, identificamos também alterações na função diastólica. O aumento da relação E/A foi interpretado como padrão restritivo do enchimento ventricular, caracterizando disfunção diastólica grave. O fato de que os animais suplementados apresentaram

tendência a maiores valores de átrio esquerdo reforçam essa interpretação. Outro fato interessante foi que não identificamos diferenças em relação ao conteúdo de colágeno intersticial. Levando-se em conta que o colágeno é um importante modulador da função diastólica<sup>22</sup>, nossos resultados sugerem que outros fatores moduladores da função diastólica podem ter sido afetados pelo tratamento com betacaroteno.

O terceiro aspecto a ser considerado é que os mecanismos responsáveis pela intensificação do processo de remodelação cardíaca com a suplementação de betacaroteno não são conhecidos. Um dos possíveis mecanismos está relacionado com a lipoperoxidação, já que, como dito anteriormente, o betacaroteno, em situação de grande estímulo oxidativo, pode deixar de exercer atividade antioxidante e poderia passar a apresentar atividade pró-oxidante<sup>15</sup>. Outro mecanismo proposto é que o betacaroteno pode induzir a expressão do citocromo P450 e, com isso, aumentar o catabolismo do ácido retinóico, importante modulador da remodelação cardíaca<sup>23</sup>.

Em relação ao estresse oxidativo, sabe-se que as espécies reativas de oxigênio são constantemente produzidas no organismo. Os potenciais danos gerados por essa produção são contrabalanceados pela ação dos sistemas de defesa antioxidantes. Entre as defesas antioxidantes, destacam-se os sistemas enzimáticos, com a participação, por exemplo, do GSH e GSSG; e os sistemas não enzimáticos, com a participação de vitaminas, entre outros. Quando o equilíbrio entre o estímulo oxidante e as defesas antioxidantes é rompido, estabelece-se a condição denominada estresse oxidativo<sup>8-11</sup>. Uma das principais consequências do estresse oxidativo seria a lipoperoxidação. Assim, tanto a relação GSH/GSSG, como os níveis de lipoperóxidos, poderiam avaliar a presença/intensidade do estresse oxidativo<sup>24,25</sup>.

Contrariamente à nossa hipótese original, a suplementação de betacaroteno não modificou as variáveis que procuraram avaliar a lipoperoxidação. De fato, a relação GSH/GSSG, e os níveis de GSH, GSSG e lipoperóxidos do grupo suplementado com betacaroteno não foram diferentes dos animais infartados sem suplementação. Devemos considerar que as concentrações de GSH e GSSG, bem como a relação entre elas, indicam o quanto da GSH foi utilizada para manter o equilíbrio antioxidante/oxidante. Ou seja, a GSH é convertida em GSSG para impedir a ação de espécies reativas no organismo. Considerando que não houve diferença nas concentrações de GSH, GSSG e em sua relação, nossos resultados não confirmam a possível atividade pró-oxidante do betacaroteno. Pelo contrário, desde que o betacaroteno por si só pode apresentar efeito antioxidante, não haveria necessidade de consumir GSH, formando GSSG, para manter o equilíbrio redox. Portanto, se considerarmos que, apesar desses fatores, houve uma consistente intensificação da remodelação cardíaca com o betacaroteno, podemos sugerir que a lipoperoxidação provavelmente não teve participação na intensificação da remodelação ventricular.

É importante ressaltar que nosso estudo, por características de metodologia disponível no momento, avaliou somente a participação da lipoperoxidação e dos sistemas relacionados diretamente com ela. Devemos considerar, entretanto, que

a participação do estresse oxidativo na intensificação da remodelação não pode ser descartada apenas pela ausência de aumento na lipoperoxidação, já que outros sistemas produtores de radicais livres de oxigênio podem estar atuando, como por exemplo, os sistemas NADPH-oxidase e tioredoxina. Desse modo, os mecanismos responsáveis pela ação deletéria do betacaroteno, nesse modelo, permanecem por ser determinados.

Em conclusão, o conjunto de nossos dados sugere que a maior remodelação em animais infartados e suplementados com betacaroteno não depende da lipoperoxidação.

## Referências

1. Matsubara BB, Zornoff LAM. Matriz colágena intersticial e sua relação com a expansão miocárdica no infarto agudo. *Arq Bras Cardiol.* 1995; 64: 559-63.
2. Pfeffer MA, Braunwald E. Ventricular remodeling after myocardial infarction: experimental observations and clinical implications. *Circulation.* 1990; 81: 1161-72.
3. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Braunwald E. Influence of chronic captopril therapy on the infarcted left ventricle of the rat. *Circ Res.* 1985; 57: 84-95.
4. Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling- concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling: behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol.* 2000; 35 (3): 569-82.
5. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ Jr, Cuddy TE, et al. Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after acute myocardial infarction: results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators. *N Engl J Med.* 1992; 327: 669-77.
6. Oie E, Bjonerheim R, Groggaard HK, Kongshaug H, Smiseth OA, Attramadal H. ET-receptor antagonism, myocardial gene expression, and ventricular remodeling during CHF in rats. *Am J Physiol.* 1998; 275: H868-77.
7. Bristow MR. Beta-adrenergic blockade in chronic heart failure. *Circulation.* 2000; 101: 558-69.
8. Ide T, Tsutsui H, Kinugawa S, Utsumi H, Kang D, Hattori N, et al. Mitochondrial electron transport complex I is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium. *Circ Res.* 1999; 85: 357-63.
9. Grieve DJ, Byrne JA, Cave AC, Shah AM. Role of oxidative stress in cardiac remodeling after myocardial infarction. *Heart Lung Circ.* 2004; 13: 132-8.
10. Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest.* 2005; 115: 500-8.
11. Sawyer DB, Siwik DA, Xiao L, Pimentel DR, Singh K, Colucci WS. Role of oxidative stress in myocardial hypertrophy and failure. *J Mol Cell Cardiol.* 2002; 34: 379-88.
12. Zornoff LAM, Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Okoshi K, Dal Pai-Silva M, et al. Beta-carotene supplementation attenuates cardiac remodeling induced by one-month tobacco-exposure in rats. *Toxicol Sci.* 2006; 90: 259-66.
13. Palozza P, Krinsky NI. Antioxidant effects of carotenoids in vivo and in vitro: an overview. *Methods Enzymol.* 1992; 213: 403-20.
14. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Azevedo PS, Minicucci MF, Campana AO, et al. Beta-carotene supplementation results in adverse ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *Nutrition.* 2006; 22: 146-51.
15. Paiva SAR, Russell RM. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants. *J Am Coll Nutr.* 1999; 18: 426-33.
16. Zornoff LAM, Matsubara BB, Matsubara LS, Paiva SAR, Spadaro J. Early rather than delayed administration of lisinopril protects the heart after myocardial infarction in rats. *Basic Res Cardiol.* 2000; 95: 208-14.
17. Sahn DJ, DeMaria A, Kisslo J, Weyman AE. The Committee on M-mode standardization of the American Society of Echocardiography. Recommendations regarding quantitation in M-mode echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements. *Circulation.* 1978; 58: 1072-83.
18. Solomon SD, Greaves SC, Ryan M, Finn P, Pfeffer MA, Pfeffer JM. Temporal dissociation of left ventricular function and remodeling following experimental myocardial infarction in rats. *J Card Fail.* 1999; 5: 213-23.
19. Zornoff LAM, Paiva SAR, Matsubara BB, Matsubara LS, Spadaro J. Combination therapy with angiotensin converting enzyme inhibition and AT1 receptor inhibitor on ventricular remodeling after myocardial infarction in rats. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2000; 5: 203-9.
20. Matsubara LS, Matsubara BB, Okoshi MP, Cicogna AC, Janicki JS. Alterations in myocardial collagen content affect rat papillary muscle function. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2000; 279: H1534-9.
21. Diniz YS, Rocha KK, Souza GA, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, et al. Effects of N-acetylcysteine on sucrose-rich diet-induced hyperglycaemia, dyslipidemia and oxidative stress in rats. *Eur J Pharmacol.* 2006; 543: 151-7.
22. Janicki JS, Matsubara BB. Myocardial collagen and left ventricular diastolic dysfunction. In: Gaash W, LeWinter M. (eds.). *Left ventricular diastolic dysfunction and heart failure.* Philadelphia: Lea & Febiger; 1994. p. 125-40.
23. Nagao A. Oxidative conversion of carotenoids to retinoids and other products. *J Nutr.* 2004; 2: 375-40.
24. Hill MF, Singal PK. Right and left myocardial antioxidant responses during heart failure subsequent to myocardial infarction. *Circulation.* 1997; 96: 2414-20.
25. Bauer SF, Schwarz K, Ruegg JC. Glutathione alters calcium responsiveness of cardiac skinned fibers. *Basic Res Cardiol.* 1989; 84: 591-6.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo foi parcialmente financiado por FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo.

## Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.