

## ATIVIDADE COLINESTERÁSICA NO PLASMA E EM ERITRÓCITOS DE PACIENTES COM AS FORMAS CARDÍACA E INDETERMINADA DA DOENÇA DE CHAGAS

Roseli A.S. Gomes, Lineu J. Miziara, José Geraldo F. Gonçalves,  
Kleber G. Franchini e Valdemar Hial.

*A atividade colinesterásica foi determinada no plasma e em eritrócitos de 10 indivíduos normais e em 26 pacientes chagásicos crônicos, sendo 6 com insuficiência cardíaca congestiva compensada, 10 com cardiopatia sem insuficiência cardíaca congestiva e 10 com a forma indeterminada. Os valores enzimáticos encontrados foram (média  $\pm$  sd): 2196  $\pm$  442 UI/L no plasma e 19,4  $\pm$  3,3 UI/g Hb em eritrócitos do grupo controle; 2291  $\pm$  317 UI/L no plasma e 19,2  $\pm$  3,7 UI/g Hb em eritrócitos dos chagásicos com insuficiência cardíaca congestiva compensada; 2445  $\pm$  357 UI/L no plasma e 18,3  $\pm$  3,0 UI/g Hb em eritrócitos dos cardiopatas chagásicos sem insuficiência cardíaca congestiva; 2006  $\pm$  327 UI/L no plasma e 17,8  $\pm$  3,1 UI/g Hb em eritrócitos de chagásicos com a forma indeterminada.*

*Nossos dados mostram que o comprometimento neuronal que ocorre nos cardiopatas chagásicos crônicos não é suficiente para levar a alterações significativas ( $p > 0,05$ ) das atividades colinesterásicas no plasma e em eritrócitos.*

Palavras chaves: Atividade colinesterásica. Doença de Chagas. Cardiopatia chagásica. Forma indeterminada.

A atividade colinesterásica, tanto no plasma (E.C. 3.1.1.8.) como em eritrócitos (E.C. 3.1.1.7.), tem sido utilizada como parâmetro para se determinar o grau de exposição a inseticidas organofosforados<sup>5</sup>, assim como no auxílio diagnóstico da doença de Hirschsprung<sup>3,4</sup>.

A determinação da colinesterase no plasma tem servido ainda como indicador da capacidade de síntese da célula hepática. A atividade colinesterásica diminuída foi encontrada em hepatite aguda e cirrose hepática, ou seja, naquelas condições onde a síntese hepática de proteínas e em particular da albumina está comprometida<sup>5,11,13,14</sup>.

Hial e cols<sup>8</sup> mostraram significativa redução na atividade colinesterásica no plasma e em eritrócitos de indivíduos com megacolo chagásico, estando em concordância com os achados de comprometimento causado pelo *Trypanosoma cruzi*, da inervação intrínseca do colo, expresso pela lesão neuronal<sup>19,15</sup>, e das células de Schwann<sup>15</sup>.

Na forma crônica cardíaca da doença de Chagas não existe uma precisa correlação entre o grau de

desnervação e a forma de expressão clínica da cardiopatia<sup>1,2,9,12,15</sup>, sugerindo que esta desnervação cardíaca não é o único fator responsável pela progressiva deterioração contrátil do coração até a insuficiência cardíaca congestiva e que a miocardite crônica deve exercer importante papel na fisiopatologia desta doença<sup>1,2</sup>.

Assim sendo, a exemplo do que foi feito para o megacolo chagásico<sup>8</sup>, resolvemos verificar o comportamento da atividade colinesterásica eritrocitária e plasmática de pacientes com as formas crônicas cardíaca e indeterminada da doença de Chagas.

### MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 10 indivíduos clinicamente normais e com reações de Guerreiro-Machado e imunofluorescência indireta para *Trypanosoma cruzi* negativas.

Os pacientes chagásicos, em número de 26, todos com sorologia positiva para a doença, foram distribuídos em 3 grupos, segundo dados clínicos, radiológicos e eletrocardiográficos: 6 cardiopatas com insuficiência cardíaca congestiva compensada, 10 chagásicos cardiopatas sem evidência de insuficiência cardíaca e 10 chagásicos com a forma indeterminada da doença. Nenhum dos pacientes chagásicos apresentava manifestações clínicas e radiológicas de megacolo e/ou megaesôfago.

As amostras de sangue foram obtidas após 12 horas de jejum, em 2 frascos, um contendo EDTA e

Trabalho realizado no Departamento de Bioquímica e Biofísica e no Departamento de Medicina da Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, 38100 Uberaba, MG. Este trabalho foi realizado com auxílio financeiro do CNPq. Endereço para correspondência: Prof. Valdemar Hial, Departamento de Bioquímica e Biofísica, Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, 38100 Uberaba, MG, Brasil. Recebido para publicação em 18/9/1985.

outro sem anticoagulante. A seguir fez-se a determinação da hemoglobina e da atividade colinesterásica no sangue total e no plasma obtido por centrifugação a 3000 rpm durante 10 minutos. No soro fez-se a determinação dos níveis de albumina e em alguns casos a eletroforese de proteínas com o objetivo de afastar tanto o comprometimento da síntese hepática de proteínas como hipoproteinemia carencial nos grupos estudados.

#### *Determinação da atividade colinesterásica*

A determinação da atividade colinesterásica baseou-se no método de Ellman e cols<sup>7</sup>. Os reagentes, com exceção do sulfato de quinidina, foram de procedência Boehringer GMBD Diagnóstica (Cat. nº 15.984). As absorvâncias foram medidas com espectrofotômetro Bausch-Lomb, modelo Spectronic 88.

#### *Método para dosagem de colinesterase em eritrócitos*

Em 3,0 ml de tampão fosfato 50 mM, pH = 7,2, contendo ácido 5,5'-ditiobis-nitrobenzóico 0,25 mM, adicionou-se 10 µl de sangue total e 10 µl de sulfato de quinidina 0,1% (inibidor da colinesterase plasmática). Após agitação cuidadosa, adicionou-se 100 µl de iodeto de acetilcolina 5 mM, misturou-se por agitação e mediu-se a absorvância em 412 nm, a 25°C em intervalos de 1 minuto. Realizou-se 4 leituras em 4 intervalos consecutivos.

A atividade da enzima foi calculada de acordo com a equação:

$$a = \Delta A \times 22,94 \times 10^3 \text{ } \mu\text{moles}/(\text{min} \times \text{Hb})$$

onde:  $\Delta A$  = variação de absorvância e Hb = hemoglobina em g/L. Os resultados foram expressos em UI/g Hb.

#### *Método para dosagem de colinesterase no plasma*

Em 3,0 ml de tampão fosfato 50 mM, pH = 7,2, contendo ácido 5,5'-ditiobis-nitrobenzóico 0,25 mM, adicionou-se 20 µl de plasma. A seguir adicionou-se 100 µl de iodeto de acetilcolina 5 mM, misturou-se por agitação cuidadosa e mediu-se a absorvância em 412 nm, a 25°C em intervalos de 1 minuto. Realizou-se 4 leituras em 4 intervalos consecutivos.

A atividade da enzima foi calculada de acordo com a equação:

$$a = \Delta A \times 11,47 \times 10^3 \text{ } \mu\text{moles}/(\text{min} \times \text{L})$$

onde:  $\Delta A$  = variação de absorvância. Os resultados foram expressos em UI/L.

#### *Análise estatística*

Os resultados observados nos grupos de pacientes chagásicos foram analisados em relação ao grupo

controle, pelo teste t de Student ao nível de 5% de significância.

## RESULTADOS

Os valores da atividade colinesterásica no plasma e em eritrócitos de indivíduos controles e dos pacientes chagásicos são mostrados na Figura 1 e Tabela 1.

As médias e os desvios padrões das atividades colinesterásicas no plasma e em eritrócitos do grupo controle foram: 2196 ± 442 UI/L e 19,4 ± 3,3 UI/g Hb respectivamente. Os valores encontrados para os grupos de chagásicos foram: 2291 ± 317 UI/L no plasma e 19,2 ± 3,7 UI/g Hb em eritrócitos de portadores de cardiopatia chagásica com insuficiência cardíaca congestiva compensada; 2445 ± 357 UI/L no plasma e 18,3 ± 3,0 UI/g Hb em eritrócitos de portadores de cardiopatia chagásica sem insuficiência cardíaca congestiva e 2006 ± 327 UI/L no plasma e 17,8 ± 3,1 UI/g Hb em eritrócitos de chagásicos com a forma indeterminada.

A análise estatística não mostrou diferença entre os grupos de chagásicos crônicos e o grupo controle

## DISCUSSÃO

Os achados de comprometimento de neurônios e das células de Schwann do colo observados por Tafuri<sup>15</sup> estão em concordância com os resultados obtidos por Hial e cols<sup>8</sup>, que mostraram significativa redução da atividade colinesterásica no plasma e em eritrócitos de indivíduos com megacolo chagásico.

Por outro lado, como mostra o presente trabalho, nas formas crônicas cardíaca e indeterminada da doença de Chagas, as atividades colinesterásicas plasmática e eritrocitária não se mostraram alteradas quando comparadas com aquelas do grupo controle normal.

Segundo Köberle<sup>10</sup>, a principal causa das alterações cardíacas na doença de Chagas crônica é a destruição de neurônios parassimpáticos intracardíacos. Lopes<sup>12</sup> observou que chagásicos que tiveram vida aparentemente normal e que morreram por acidente (atropelamento, homicídio, etc.) apresentavam despopulação neuronal cardíaca importante. Para Almeida e cols<sup>12</sup> a insuficiência cardíaca congestiva no chagásico crônico depende basicamente da miocardite crônica e não da deservação.

Nossos dados mostram que o comprometimento neuronal que ocorre nos cardiopatas chagásicos crônicos não leva a alterações significativas das atividades colinesterásicas no plasma e em eritrócitos. Provavelmente, este comprometimento não é suficientemente intenso a fim de levar a alterações enzimáticas

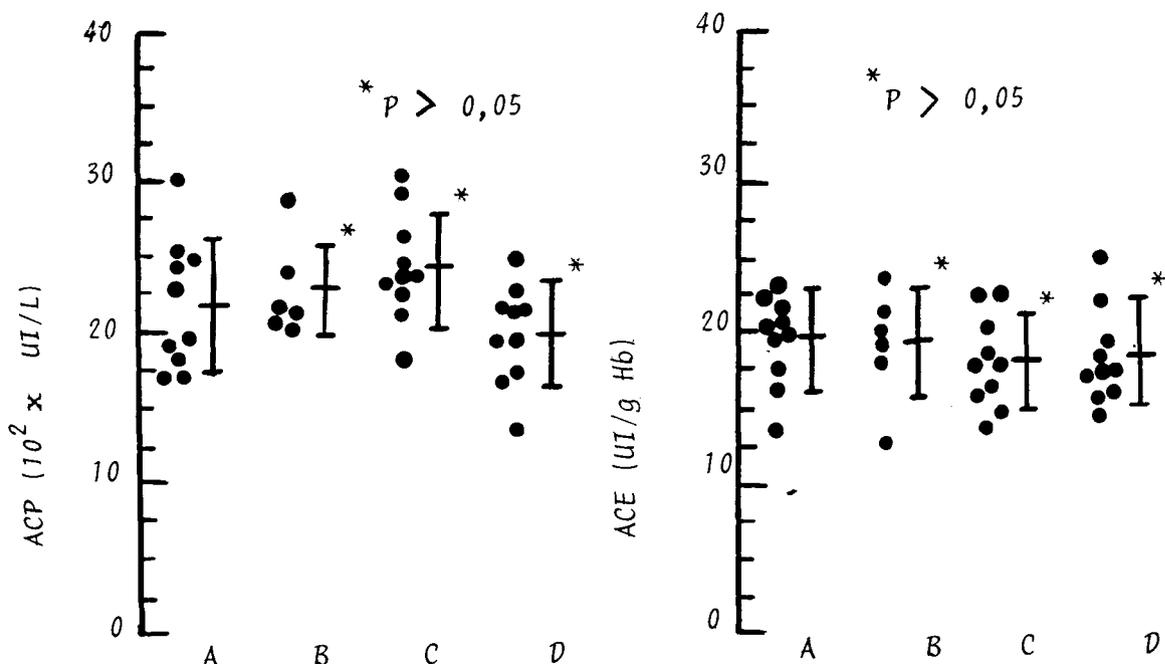


Figura 1 – Valores individuais da atividade colinesterásica plasmática e eritrocitária em indivíduos controles (A); em pacientes cardiopatas chagásicos com insuficiência cardíaca congestiva compensada (B); em pacientes cardiopatas sem insuficiência cardíaca congestiva (C); e em pacientes chagásicos com a forma indeterminada (D). ACP = atividade colinesterásica plasmática; ACE = atividade colinesterásica eritrocitária; UI/L = unidade internacional por litro; UI/g Hb = unidade internacional por grama de hemoglobina.

Tabela 1 – Atividade colinesterásica no plasma e em eritrócitos de indivíduos controles normais e de pacientes chagásicos crônicos.

Grupo	Atividade Colinesterásica	
	Plasmática (UI/L)	Eritrocitária (UI/g Hb)
Controles normais (N = 10)	2196 ± 442	19,4 ± 3,3
Chagásicos com ICC compensada (N = 6)	2291 ± 317*	19,2 ± 3,7*
Chagásicos cardiopatas sem ICC (N = 10)	2445 ± 357*	18,3 ± 3,0*
Chagásicos com a forma indeterminada (N = 10)	2006 ± 327*	17,8 ± 3,1*

UI/L = Unidade internacional por litro.

UI/g Hb = Unidade internacional por grama de hemoglobina.

ICC = Insuficiência cardíaca congestiva.

\* p > 0,05 (chagásicos x controles normais).

detectáveis pelo método bioquímico empregado neste trabalho.

Entretanto, usando metodologias semelhantes na dosagem enzimática, os resultados quando comparados aos de Boston e cols<sup>3 4</sup> e Hial e cols<sup>8</sup> permitem estabelecer diferenças entre megacolo chagásico, megacolo congênito e chagásicos crônicos não portadores de "megas".

Assim sendo, a atividade colinesterásica no plasma e em eritrócitos está diminuída em pacientes com megacolo chagásico, aumentada em pacientes com doença de Hirschsprung e inalterada em pacientes com formas cardíaca e indeterminada da doença de Chagas.

### SUMMARY

*Cholinesterase activity was measured in the plasma and erythrocytes from 10 healthy individuals and 26 chronic chagasic patients. The chronic chagasic patients were distributed in 3 groups: 6 chagasic patients with compensated heart failure; 10 chagasic patients with cardiopathy but without heart failure; and 10 chagasic patients with the indeterminate form. The enzymatic levels achieved in plasma and erythrocytes were, respectively:  $2,196 \pm 442$  UI/L and  $19.4 \pm 3.3$  UI/g Hb from controls;  $2,291 \pm 317$  UI/L and  $19.2 \pm 3.7$  UI/g Hb from chagasic patients with compensated heart failure;  $2,445 \pm 357$  UI/L and  $18.3 \pm 3.0$  UI/g Hb from chagasic patients with cardiopathy but without heart failure and  $2,006 \pm 327$  UI/L and  $17.8 \pm 3.1$  UI/g Hb from chagasic patients with the indeterminate form.*

*Our data show that neuronal injury in the chronic cardiopathy is not sufficient to promote significant alterations ( $p > 0,05$ ) in the cholinesterase activity in the plasma and erythrocytes.*

*Key words: Cholinesterase activity. Chagas' disease. Chagasic cardiopathy. Indeterminate form.*

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Almeida HO. A cardiopatia em chagásicos crônicos com e sem "megas". Tese para Professor Titular, Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 1982.
2. Almeida HO, Teixeira VPA, Gobbi H, Rocha A, Brandão MC. Inflamação associada a células musculares cardíacas parasitadas pelo *Trypanosoma cruzi* em chagásicos crônicos. Arquivos Brasileiros de Cardiologia 42: 183-186, 1984.
3. Boston VE, Dale G, Riley KWA. Diagnosis of Hirschsprung's disease by quantitative biochemical assay of acetylcholinesterase in rectal tissue. Lancet 2: 951-953, 1975.
4. Boston VE, Cywes S, Davies MRQ. Serum and erythrocyte acetylcholinesterase activity in Hirschsprung's disease. Journal of Pediatric Surgery 13: 407-410, 1978.
5. Brown SS, Kalow W, Whittaker M, Woronick CL. The plasma cholinesterases: a new perspective. Advances in Clinical Chemistry 22: 1-123, 1981.
6. Siqueira ME, Fernicola NAGG, Borges EL. Determinação de níveis normais de colinesterase plasmática e eritrocitária. Revista de Saúde Pública da Faculdade de Saúde Pública Universidade de São Paulo 12: 340-344, 1978.
7. Ellman GL, Courtney KD, Andres JRV, Featherstone RM. A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochemical Pharmacology 7: 88-95, 1961.
8. Hial V, Ulhôa JP, Reis VF, Gomes RAS, Perez AC. Atividade colinesterásica no plasma e em eritrócitos de portadores de megacolo chagásico. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 16: 41-45, 1983.
9. Junqueira Jr LF, Gallo Jr L, Manço JC, Marin Neto, JA, Amorim DS. Subtle cardiac autonomic impairment in Chagas' disease detected by baroreflex sensitivity testing. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 18: 171-178, 1985.
10. Köberle F. Die Chagaskrankheit: eine erkrankung der neurovegetativen peripherie. Wiener Klinische Wochenschrift 68: 333-339, 1956.
11. Lemberg A, Macchi MC. Usefulness of serum pseudo-cholinesterase isoenzymes in acute and chronic liver diseases and neoplasms (experimental and clinical study). Acta Gastroenterológica Latinoamericana 11: 125-132, 1981.
12. Lopes ER. Estudo comparativo dos gânglios subepicárdicos nas cardiopatias chagásica crônica, reumática e hipertensiva. Tese para Docência-Livre de Patologia, Faculdade de Medicina do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG, 1969.
13. Magris D, Mottola A, Mian G, Minutillo S, Trolo L, D'Agnolo N. Diagnostic and prognostic significance of cholinesterase (CHE) in chronic liver disease. Minerva Medica 70: 483-487, 1979.
14. Sportiello V, Pace M, Fernandes D, Stefan C. Serum levels of CHE (Pseudo-cholinesterase) in alcoholic cirrhosis patients. Correlation with the extent of anatomofunctional damage: unfavourable prognosis. Archivio per le Scienze Mediche 138: 307-313, 1981.
15. Tafuri WL. Alterações ultra-estruturais dos componentes muscular, intersticial e nervoso do coração e intestinos, na doença de Chagas experimental e humana. Tese para Professor Titular, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 1974.