

LOURDES ZÉLIA ZANONI CONSOLO

**ALTERAÇÕES PLASMÁTICAS DO COBRE E DO
ZINCO EM CRIANÇAS SUBMETIDAS À CIRURGIA
CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CAMPO GRANDE - 2008

LOURDES ZÉLIA ZANONI CONSOLO

**ALTERAÇÕES PLASMÁTICAS DO COBRE E DO
ZINCO EM CRIANÇAS SUBMETIDAS À CIRURGIA
CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA**

Tese apresentada ao Programa Multi-institucional de Pós-graduação em Ciências da Saúde - Rede Centro-Oeste - convênio Universidade de Brasília, Universidade Federal de Goiás e Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador – Professor Doutor Petr Melnikov

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
CAMPO GRANDE - 2008

BANCA EXAMINADORA

Campo Grande, 7 de Abril de 2008

Lourdes Zélia Zanoni Consolo

Título: ALTERAÇÕES PLASMÁTICAS DO COBRE E DO ZINCO EM CRIANÇAS SUBMETIDAS À CIRURGIA CARDÍACA COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA.

Examinadores:

Presidente: Professor Doutor Petr Melnikov
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Membros:

Professora Doutora Gesmar Volga Haddad Herdy – Titular
Universidade Federal Fluminense

Professor Doutor Isaías Pereira da Costa – titular
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Professora Doutora Yvone Maia Brustoloni - titular
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Professora Doutora Anamaria Mello M. Paniago - titular
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Professora Doutora. Ana Lúcia Lyrio de Oliveira - suplente
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

ESTE TRABALHO É DEDICADO

*Aos meus pais, **João e Izabel**, que um dia acreditaram e me apoiaram na carreira escolhida, e de quem provém todo conceito de amor, família e trabalho,*

*Ao meu esposo, **Luiz Carlos**, muito amado, companheiro de todos os momentos, pelo apoio e compreensão pelas horas que deixamos de conviver,*

*Aos meus filhos, **Fernanda e Eduardo**, partes do meu próprio ser, com imenso amor, pelo apoio e incentivo,*

*Às **crianças participantes do estudo**, sem as quais este trabalho seria impossível.*

AGRADECIMENTOS

Em especial, ao Professor Dr. Petr Melnikov, incansável e vibrante, exemplo de perseverança, inteligência, rigor científico, pela sua dedicação, oportunidade de crescimento acadêmico, por ter acreditado em mim e orientado este estudo.

À equipe de Cirurgia Cardíaca Pediátrica do Hospital Santa Casa, em especial à Médica Aparecida Afif el Ossais e ao Médico Marcus Vinícius Reggiori Pereira Caldas, pela permissão e inestimável colaboração.

Ao Professor Luiz Carlos Tesini Consolo por ter me substituído nas atividades docentes do Departamento de Pediatria durante meu afastamento.

À Professora Dra. Nilva Ré Poppi pelo grande apoio, disponibilidade para realização das dosagens laboratoriais, apesar de todas as dificuldades encontradas.

À química Josiana Cavalcante de Souza, por ter demonstrado sempre disposição, boa vontade e pela grande ajuda nas dosagens laboratoriais.

À bioquímica Isa K. Hirai Akamine pela colaboração, disposição e boa vontade nas dosagens laboratoriais.

À bióloga Isabela Furtado pelo seu auxílio no preparo dos materiais.

À Diretoria Clínica do Hospital Santa Casa pela oportunidade para a coleta de dados dos pacientes internados.

RESUMO

A cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea desencadeia importante estresse oxidativo devido à formação de espécies reativas de oxigênio e radicais livres produzidos durante o período de isquemia e reperfusão. Estes elementos são danosos para as células cardíacas e responsáveis pelo atordoamento miocárdico. Esse processo está intimamente associado com o metabolismo do cobre e do zinco. O cobre, na forma de íons livres participa na produção e transformação dos radicais livres, com conseqüente peroxidação lipídica e dano ao DNA. O zinco atua como antioxidante, por competição com o cobre, deslocando esse metal do sítio de ligação na proteína. O objetivo deste estudo foi analisar, na criança, a dinâmica das concentrações plasmáticas desses metais durante e após a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Vinte e uma crianças de 2 a 14 anos foram incluídas no estudo. Amostras de sangue para dosagem de cobre, ceruloplasmina e zinco foram colhidas dos seguintes locais: cateter venoso central antes da cirurgia; do átrio direito; do oxigenador do circuito de circulação extracorpórea no 5º e 10º minutos após o início da CEC; do seio coronário e do oxigenador do circuito de CEC, concomitantemente, no 3º minuto após remoção da pinça da aorta e ao final do procedimento. Uma última amostra de sangue foi colhida após 24 horas. Os principais parâmetros hemodinâmicos, como a pressão arterial, frequência cardíaca, bem como o ECG não tiveram alterações inesperadas. A concentração plasmática de cobre antes do procedimento cirúrgico foi mais alta do que a média da população pediátrica. Durante a CEC foi observada uma diminuição nas concentrações do cobre além daquela prevista para a hemodiluição, que retornou ao normal ao final da intervenção cirúrgica. As alterações da ceruloplasmina foram similares às do cobre. No grupo estudado, a concentração plasmática inicial do zinco foi menor do que a média na população pediátrica e não houve alterações significativas durante a CEC, confirmando que esse elemento não foi envolvido nas alterações metabólicas devidas a ela e sim ressaltou o papel chave do cobre nesses processos. As alterações do cobre e do zinco não foram correlacionadas. O estudo concluiu que as alterações do cobre e do zinco evidenciaram menor estresse oxidativo e conseqüentemente menor lesão celular.

Palavras-chaves – Cobre, Zinco, Circulação Extracorpórea, Cardiologia Pediátrica

ABSTRACT

The cardiac surgery, comprising extracorporeal circulation, is known to trigger oxidative stress due to the formation of reactive oxygen species and free radicals during the periods of ischemia and reperfusion. They are hazardous to the heart cell components and regarded as responsible for the myocardial stunned. These processes are intricately associated with the metabolism of the most important trace elements, copper and zinc. The former, in the form of weakly bonded or free ions, can easily provoke a massive sprout of free radicals, thus contributing to lipid peroxidation, DNA damage and other undesirable consequences. The latter acts as natural antioxidant, substitutes for copper in the active catalyst centers of major enzymes and carriers, and plays a significant role in the processes of cell and tissue proliferation. The purpose of the present work was to evaluate the alterations observed in the trace elements levels in children, which undergo cardiac surgery with cardiopulmonary bypass. Twenty one children of the age between 2 and 14 years took part in the study. The following blood samples were collected for copper, ceruloplasmin and zinc analysis: from venous line before the operation; from right atrium; from oxygenator of the extracorporeal circuit, on 5th and 10th minutes of bypass; from coronary sinus and oxygenator, simultaneously, on 3^d minutes after the removal of aortic cross-clamp; at the end of the procedure and 24 hours after, that is in post-operative period. The main haemodynamic parameters, such as blood pressure, heart rate and ECG showed neither unexpected alterations, nor correlations with copper and zinc levels. Plasma concentration of copper before the operation in the group studied was higher than average in the children population. Its decrease was deeper than predicted by haemodilution and the values returned to normal and at the end of the surgical intervention. The changes in ceruloplasmin concentrations were similar to those of total copper, but showed lesser deviations. Its values returned to normal after 24 hours. Zinc concentrations before the operation in the group studied were lower than average for normal children, and there were no significant changes during the bypass, confirming that this element was not involved in the metabolic alterations, but corroborate the key role of copper in these processes. The variations in copper and zinc concentrations were not correlated. The study concluded that the changes of copper and zinc showed less oxidative stress and consequently less damage cell.

Key words – Copper, Zinc, Cardiopulmonary Bypass, Pediatric Cardiology

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Exemplo dos resultados obtidos e dos resultados esperados para a hemodiluição para o 16º paciente.....	66
Tabela 2	Frequência cardíaca em crianças normais de acordo com a faixa etária.....	67
Tabela 3	Pressão arterial em mmHg para meninos de acordo com o percentil idade / estatura.....	110
Tabela 4	Pressão arterial em mmHg para meninas de acordo com o percentil idade / estatura.....	111
Tabela 5	Anomalias cardíacas congênitas de 21 crianças submetidas à cirurgia cardíaca com CEC.....	74
Tabela 6	Correlação linear entre a concentração plasmática de zinco, cobre e ceruloplasmina mensurada no momento A com a idade e peso dos pacientes.....	74
Tabela 7	Correlação linear entre a concentração plasmática de cobre, ceruloplasmina e zinco nos momentos M e N versus o tempo de CEC, tempo de anóxia, temperatura, intervalo QTc e o percentil do peso dos pacientes.....	77
Tabela 8	Correlação linear entre a concentração plasmática de zinco em relação à pressão arterial e à frequência cardíaca nos momentos M e N de mensuração	78
Tabela 9	Correlação linear entre a concentração plasmática de zinco, em relação à pressão arterial e à frequência cardíaca nos momentos M e N de mensuração	78
Tabela 10	Características demográficas dos pacientes e informações cirúrgicas	79

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Metabolismo reativo do oxigênio. Produção de superóxido (O_2^*) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2)	21
Figura 2	Coordenação tetraédrica com o átomo de zinco na posição central	44
Figura 3	Mecanismo proposto para geração de radicais livres de oxigênio após períodos de isquemia e reperfusão.....	52
Figura 4	Interação entre o neutrófilo e a célula endotelial com liberação dos radicais livres de oxigênio	53
Figura 5	Gráfico ilustrando a pressão arterial sistólica, diastólica e média nas primeiras 24 horas após a CEC.....	75
Figura 6	Gráfico ilustrando a frequência cardíaca nas primeiras 24 horas após a CEC.....	76
Figura 7	Gráfico ilustrando a concentração de cobre, zinco e a razão Cu/Zn, nos diversos momentos de análise em relação à CEC	80
Figura 8	Gráfico ilustrando a concentração de cobre, zinco e a razão Cu/Zn, tanto a calculada como a esperada na hemodiluição nos diversos momentos de análise em relação à CEC.....	81
Figura 9	Gráfico ilustrando a concentração de ceruloplasmina nos diversos momentos de análise em relação à CEC.....	82
Figura 10	Gráfico ilustrando a concentração de ceruloplasmina, tanto a calculada como a esperada na hemodiluição nos diversos momentos de análise em relação à CEC.....	83
Figura 11	Gráfico de dispersão ilustrando a correlação linear entre a concentração plasmática de cobre e aquela de ceruloplasmina nos diversos momentos de análise	84

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ADP – adenosina difosfato
AGPI – ácido graxo poliinsaturado
AMP – adenosina monofosfato
ATP – adenosina trifosfato
bpm – batimentos por minuto
CEC – circulação extracorpórea
Cu – cobre
Cu-ZnSOD – cobre-zinco superóxido dismutase
DMT – transportador de metais divalentes (divalent metal transporter)
DNA – ácido desoxirribonucléico
ERO – espécie reativa do oxigênio
FAE – fosfato de alta energia
Fe – ferro
H₂O₂ – peróxido de hidrogênio
iNOs – óxido nítrico sintetase indutível
L[•] - radical livre de ácido graxo
LDL – lipoproteína de baixa densidade
LOO[•] – radical peroxil
μl – micro litro
μmol – micro mol
mg – miligrama
mmHg – milímetros de mercúrio
ml – mililitro
Mn – manganês
MT – metalotioneína
mV – milivolt
NAC – N-acetilcisteína
NADH – nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato
nm – nanômetro

NO – óxido nítrico

NOs – óxido nítrico sintetase

NO_3^- – nitrato

O_2 – oxigênio molecular

O_2^\bullet – radical superóxido

OONO^\bullet – peroxinitrito

ONOOH – ácido peroxinitroso

OH^\bullet – radical hidroxila

RL – radical livre

s – segundo

Se – selênio

Zn – zinco

SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	iii
AGRADECIMENTOS	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE TABELAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS	ix
1 INTRODUÇÃO	13
2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	17
2.1 RADICAIS LIVRES E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO	17
2.1.1 <i>Definição</i>	17
2.1.2 <i>Tipos de Radicais Livres e Espécies Reativas de Oxigênio</i>	18
2.1.3 <i>Fontes de Radicais Livres e Espécies Reativas de Oxigênio</i>	19
2.1.4 <i>Propriedades dos Radicais Livres e Espécies Reativas de Oxigênio</i>	20
2.1.5 <i>Espécies Reativas do Nitrogênio</i>	23
2.2 ESTRESSE OXIDATIVO E CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA.....	25
2.3 DEFESAS ANTIOXIDANTES.....	28
2.3.1 <i>Antioxidantes Não Enzimáticos</i>	28
2.3.2 <i>Antioxidantes Enzimáticos</i>	29
2.4 COBRE.....	32
2.4.1 <i>Metabolismo</i>	32
2.4.2 <i>Principais Enzimas que Contêm Cobre</i>	33
2.4.3 <i>Proteínas Ligadoras de Cobre</i>	38
2.4.4 <i>Deficiência do Cobre</i>	38
2.4.5 <i>Desordens Genéticas</i>	39
2.5 ZINCO	41

2.5.1	Metabolismo e Funções Fisiológicas.....	41
2.5.2	Propriedades Antioxidantes do Zinco.....	45
2.6	ISQUEMIA E REPERFUSÃO DO MIOCÁRDIO.....	48
2.6.1	Isquemia.....	48
2.6.2	Reperusão.....	49
2.6.3	Mecanismos do Atordoamento Miocárdico.....	49
2.7	COBRE E ZINCO DURANTE A CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA....	50
3	OBJETIVOS.....	56
3.1	OBJETIVO GERAL.....	59
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	59
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	59
4.1	ASPECTOS GRÁFICOS DO TRABALHO.....	60
4.2	POPULAÇÃO.....	60
4.2.1	Crítérios de Exclusão.....	61
4.3	EQUIPE.....	61
4.4	ANESTESIA.....	61
4.5	CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA.....	62
4.6	AMOSTRAS DE SANGUE.....	63
4.7	ANÁLISE LABORATORIAL DAS AMOSTRAS.....	64
4.8	CÁLCULO DAS CONCENTRAÇÕES PARA A HEMODILUIÇÃO.....	65
4.9	PARÂMETROS CLÍNICOS.....	66
4.10	ELETROCARDIOGRAMA.....	63
4.11	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	63
5	RESULTADOS.....	69
6	DISCUSSÃO.....	85
7	CONCLUSÕES.....	97
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	99
9	APÊNDICE A.....	110
	APÊNDICE B.....	111
10	ANEXOS.....	112
10.1	TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.....	112
10.2	PROTOCOLO DE COLETA.....	114
10.3	APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA DA UFMS.....	116

1 INTRODUÇÃO

A cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea representou um dos grandes avanços da medicina no século XX. A possibilidade de corrigir defeitos cardíacos sob visão direta foi um sonho antigo, perseguido por muitos com insistência, apesar dos sucessivos fracassos que frustravam tantos quantos se aventurassem a substituir a função de bomba do coração e a função ventilatória dos pulmões. O desenvolvimento da circulação extracorpórea criou novas possibilidades para a cura de doenças cardíacas jamais imaginadas na primeira metade do século passado. Acompanhando essa nova tecnologia, muitos conhecimentos vieram, em relação à fisiologia da circulação, às reações do organismo frente às agressões cirúrgicas, à manutenção do equilíbrio eletrolítico e ácido-básico e melhor compreensão do metabolismo. Esses conhecimentos beneficiaram não só a cirurgia cardiovascular, mas todas as outras especialidades médicas.

A prática da circulação extracorpórea (CEC) consiste na simulação mecânica dos princípios fisiológicos da circulação sanguínea, da respiração e dos balanços hídrico, eletrolítico e ácido-básico. Basicamente compreende um conjunto de máquinas, aparelhos, circuitos e técnicas que substituem temporariamente as funções do coração e dos pulmões, enquanto esses órgãos ficam excluídos da circulação. A função de bombeamento do coração é substituída por uma bomba mecânica e a função dos pulmões por um aparelho capaz de realizar as trocas gasosas. Tubos de plástico conectam as partes desse sistema entre si e com o paciente.

Apesar de a cirurgia cardíaca ter se tornado um procedimento rotineiro em muitos centros por todo o mundo, as complicações pós-operatórias ainda são significativas, com alta morbidade e mortalidade.

A injúria endotelial e/ou disfunção cardíaca, renal, hepática ou pulmonar decorrentes da cirurgia com CEC têm sido associadas com resposta inflamatória (WAN, LECLERC, VINCENT, 1997; CHRISTEN et al., 2005; GOUDEAU et al., 2007)

e estresse oxidativo sistêmicos (MOLICKI et al., 2001; CLERMONT et al., 2002; LUYTEN et al., 2005; CHRISTEN et al., 2005).

Quando comparadas, as cirurgias cardíacas realizadas com CEC apresentam inflamação sistêmica mais acentuada do que aquelas realizadas sem esse procedimento (RASTAN et al., 2005). Além do trauma cirúrgico, essas alterações são decorrentes do contato do sangue com as superfícies não fisiológicas dos materiais que compõem os equipamentos, fenômenos decorrentes da isquemia e reperfusão do miocárdio e as alterações na temperatura corporal, principalmente a hipotermia (WAN, LECLERC, VINCENT, 1997).

Além das condições hemodinâmicas não fisiológicas durante a CEC, as alterações relacionadas ao fenômeno isquemia-reperfusão do miocárdio são bastante significativas. Uma grande quantidade de radicais livres (RL) é liberada devido ao metabolismo da xantina oxidase, ativação dos neutrófilos e oxidação das catecolaminas. Esses radicais livres são responsáveis pela inflamação sistêmica e considerável lesão celular, tanto estrutural quanto funcional, envolvendo danos à membrana lipídica, desnaturação de proteínas, inativação de enzimas e alterações na fita do DNA.

A injúria de reperfusão aumenta a peroxidação lipídica e a concentração de peroxidases provocando danos na parede celular. Estudos realizados por Bolli et al. (1989) demonstraram que 50% a 70% da disfunção miocárdica após a circulação extracorpórea foram devidos ao surgimento dos radicais livres, liberados durante os primeiros minutos de reperfusão.

O estresse oxidativo, com a formação das espécies reativas do oxigênio, está intimamente relacionado com o comprometimento da função cardíaca e com as complicações pós-operatórias (CHRISTEN et al., 2005; KUNT et al., 2006).

Os metais de transição como o cobre, o ferro, manganês e outros são considerados fatores importante no estresse oxidativo, pois participam ativamente nas reações de óxido-redução, doando ou recebendo elétrons, com conseqüente formação dos radicais livres.

O cobre é o principal catalisador da formação do radical hidroxila (OH^\bullet) a partir de H_2O_2 . Os sítios de ligação do cobre e do ferro nas macromoléculas servem como centros para a produção de radicais hidroxil, gerados via reação de Fenton (*vide infra*). A formação desses radicais livres causa desnaturação de proteínas, modificações do DNA, peroxidação lipídica, inativação de enzimas e efeitos carcinogênicos (CLERMONT et al. 2002; OCHOA et al., 2003; VALKO, MORRIS, CRONIN, 2005). Como mecanismo de defesa antioxidante o organismo procura manter esse elemento ligado às proteínas e indisponível para atuar como catalisador (GOLDSTEIN, CZAPSKI, 1986; STOHS, BAGCHI, 1995; VALKO, MORRIS, CRONIN, 2005).

O zinco, importante elemento traço, não participa das reações de óxido-redução como o cobre. Sua função bioquímica essencial é atuar como antioxidante (BRAY, BETTGER, 1990). Está envolvido na estabilização de membranas estruturais, na proteção celular, prevenindo a lipoperoxidação e a desnaturação de proteínas (POWELL, 2000). Estudos experimentais indicam que ele exerce um papel protetor para a célula cardíaca, diminuindo a formação do radical hidroxila (OH^\bullet), um dos radicais mais lesivos para as estruturas celulares (POWELL et al., 1994).

Além disso, é um componente essencial da enzima superóxido dismutase, presente no citoplasma de todas as células, cuja ação é reduzir a toxicidade dos radicais superóxido, transformando-os em formas menos danosas para as células.

No paciente pediátrico são pouco conhecidas as alterações nas concentrações do cobre e outros metais de transição, que poderiam atuar como mediadores das reações de óxido-redução e conseqüente formação de radicais livres, mesmo considerando que esse grupo de pacientes está mais sujeito às complicações pós-operatórias do que os adultos.

A literatura realmente não permite uma visão completa e convincente no que diz respeito ao estresse oxidativo nas crianças, que poderia ser indiretamente avaliado, determinando as concentrações dos metais de transição, que de certo modo poderiam ser chamados de marcadores desse estresse.

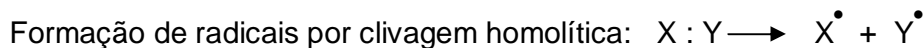
Diante disso, o presente estudo teve como principal objetivo analisar as alterações plasmáticas do cobre e do zinco na criança submetida à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, e compará-las com parâmetros clínicos.

2 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

2.1 RADICAIS LIVRES E ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO

2.1.1 Definição

Um radical livre (RL) pode ser definido como uma espécie química que possui um elétron não emparelhado no último orbital e é capaz de existência independente. Os radicais livres são formados de três maneiras: 1 – pela clivagem homolítica de uma ligação covalente de uma molécula, com cada fragmento conservando um dos elétrons emparelhados; 2 – pela perda de um único elétron de uma molécula; 3 – pela adição de um único elétron a uma molécula, sendo esse último o processo mais comum nos sistemas biológicos. O elétron não emparelhado é convencionalmente indicado como um ponto. Esses processos pelos quais os radicais livres são formados estão ilustrados abaixo:



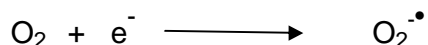
A produção de RL é um processo fisiológico e que, em algumas situações, tem finalidade positiva. Esses radicais são constantemente formados no organismo humano, tal como ocorre durante a fagocitose realizada pelos neutrófilos, monócitos e macrófagos no combate a microrganismos invasores. Essas células, quando ativadas, geram os radicais superóxido e peróxido de hidrogênio que têm papel bactericida. As ações deletérias são decorrentes da produção excessiva desses radicais.

A denominação espécie reativa de oxigênio (ERO) é mais abrangente, pois inclui não só os radicais livres de oxigênio, mas também os derivados de oxigênio não radicais que estão envolvidos na produção de radicais de oxigênio. Essas substâncias são caracterizadas por grande instabilidade e por isso elevada reatividade, e tendem a produzir o elétron não emparelhado ligando-o com outros,

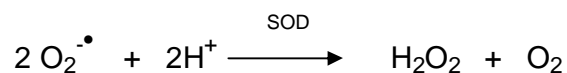
presentes em estruturas próximas de sua formação. Desse modo, comportam-se como receptores (oxidantes) ou como doadores (redutores) de elétrons (CHEESEMAN, SLATER, 1996). Um exemplo típico é o peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

2.1.2 Tipos de Radicais Livres e Espécies Reativas de Oxigênio

Os radicais livres mais importantes dos sistemas biológicos são os derivados do oxigênio. A redução do oxigênio pelo recebimento de um único elétron irá produzir o ânion superóxido.

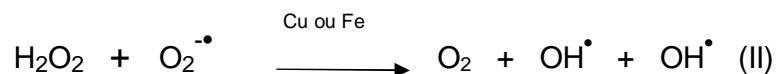


Nos sistemas biológicos duas moléculas de superóxido podem reagir com o próton H^+ para formar o peróxido de hidrogênio e oxigênio livre.



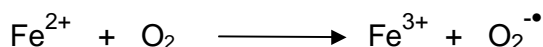
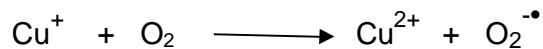
Nesse processo, dois radicais livres reagem, um atuando como oxidante e o outro como redutor, para formar produtos não radicais, numa reação conhecida como dismutação.

O peróxido de hidrogênio não é um radical livre, porém está na categoria das espécies reativas de oxigênio. Ele atua como um agente oxidante e representa a principal fonte para a formação do radical hidroxila (OH^{\bullet}) na presença de metais de transição (cobre, ferro, manganês, cromo, etc). Dentre os RL formados pelo organismo, o radical hidroxila é o mais reativo e lesivo (CHEESEMAN, SLATER, 1993). Esse processo ocorre pela reação de Fenton (I) e pela reação de Haber-Weiss (II) (FENTON, 1894 apud KEHRER, 2000, p. 44; HABER-WEISS, 1934 apud KEHRER, 2000, p.44).



O catalisador da reação acima pode ser tanto o cobre como o ferro ou manganês.

A auto-oxidação dos metais de transição reduzidos pode também gerar superóxido:



Conseqüentemente, as reações dos íons de metais de transição com oxigênio podem ser consideradas reações redox reversíveis e são extremamente importantes na promoção das reações que envolvem os radicais livres. Para que não possam desencadear a produção dos radicais, o organismo mantém os íons livres de metais ligados às proteínas. Isso representa um importante mecanismo de defesa antioxidante (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990). Esse seqüestro de íons livres é reversível e, caso a homeostase precise, eles voltam a ficar disponíveis para as funções fisiológicas.

2.1.3 Fontes de Radicais Livres e Espécies Reativas de Oxigênio

2.1.3.1 Fontes Endógenas

Nas condições fisiológicas do metabolismo celular aeróbico, o transporte mitocondrial de elétrons reduz 95% do oxigênio à água, sem gerar nenhum intermediário. Entretanto, os 5% remanescentes são reduzidos e transformados em radicais livres. Humanos e outros organismos aeróbicos só podem tolerar o oxigênio devido às defesas antioxidantes que se desenvolveram paralelamente aos aeróbicos

multicelulares. O oxigênio tanto é um agente tóxico como necessário na cadeia transportadora de elétrons e sistemas enzimáticos celulares. Na cadeia respiratória, atua como receptor de elétrons, sendo consumido ao longo do processo metabólico gerando ATP, água e dióxido de carbono. Enquanto o saldo desse processo (38 moles de ATP por mol de glicose) é vital para a existência da maioria dos organismos multicelulares vivos, os consumidores de oxigênio necessitam se adaptar à produção paralela das espécies reativas de oxigênio (DROGE, 2002).

Gershman et al. (1954) foram os primeiros a propor que a maior parte do dano causado aos organismos vivos pelas concentrações elevadas de oxigênio poderia ser devida à formação de radicais livres. Desde 1969, essa idéia pioneira permeia a imaginação de biólogos e clínicos, pois foi nesse ano que, pela primeira vez, uma proteína específica removedora dos radicais livres, foi descrita em células de mamíferos e denominada por McCord e Fridovich (1969) de superóxido dismutase (SOD). Após a descoberta da SOD muitas pesquisas continuaram sobre os mecanismos de geração e os danos causados pelo radical O_2^{\bullet} .

2.1.3.2. Fontes Exógenas

As fontes exógenas são representadas pelo fumo, metais livres no ar, como ferro, cromo, manganês, produtos contaminados com pesticidas, álcool, radiação gama e ultravioleta, entre outros.

2.1.4 Propriedades dos Radicais Livres e Espécies Reativas de Oxigênio

O elétron livre, que caracteriza o radical livre, pode estar localizado em um átomo de hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, carbono ou em átomo de metal de transição, sendo o fator chave na estrutura dessas espécies e a razão pela qual são altamente reativas (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1984). Na tentativa de adquirir estabilidade pela captura de um elétron, os radicais livres não sobrevivem por muito tempo no seu estado original, reagindo indiscriminadamente com a maioria das moléculas presentes ao seu redor. Esses compostos orgânicos, essenciais à

integridade e função dos organismos vivos, incluem proteínas, lipídeos, carboidratos e DNA (Fig. 1).

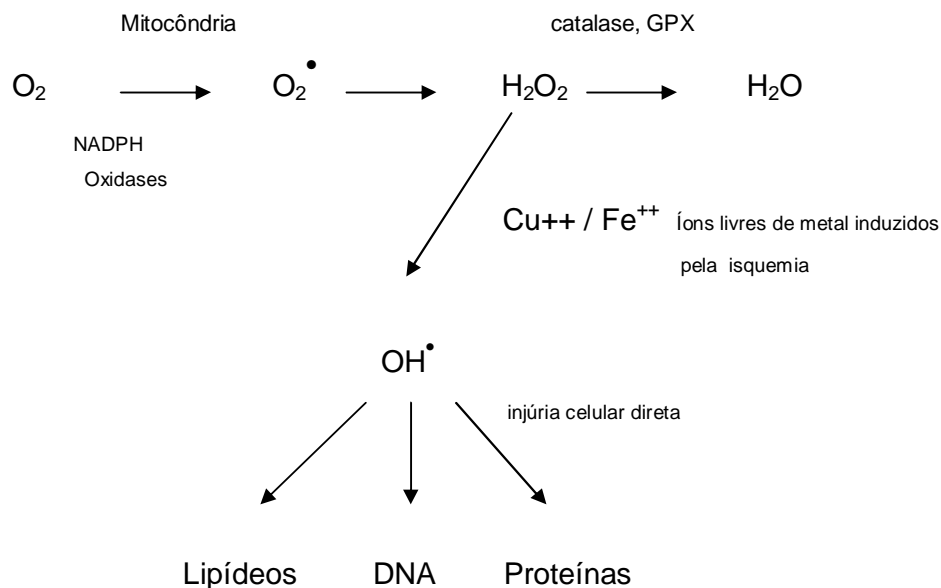
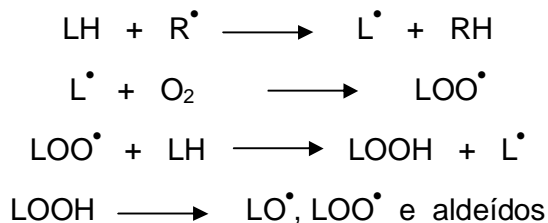


Figura 1 – Metabolismo reativo do oxigênio. Produção de superóxido (O_2^\bullet) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

Uma vez que os radicais livres “atacam” as moléculas próximas, “roubando” seu elétron, essa se torna, por sua vez, um radical livre, iniciando uma reação em cadeia, resultando no rompimento da célula (HALLIWELL, CROSS, 1994; BECKER, 2004).

Todas as classes principais de biomoléculas podem ser atacadas pelos RL, porém os lipídeos são os mais suscetíveis. As membranas celulares são fontes ricas de ácidos graxos poliinsaturados (AGPI), que são prontamente atacados. A destruição oxidativa dos AGPI, conhecida como peroxidação lipídica, é particularmente lesiva porque se processa como uma reação em cadeia autopropagadora. A oxidação do AGPI gera um radical de ácido graxo (L^\bullet) que adiciona rapidamente o oxigênio para formar o radical peroxila ácido graxo (LOO^\bullet). Esses radicais peroxila são os carreadores da reação em cadeia, podem oxidar mais moléculas de AGPI, formando hidroxiperóxidos lipídicos ($LOOH$) que são desmembrados em diferentes radicais e outros compostos.



Os metais de transição frequentemente estão envolvidos na quebra dos hidroperóxidos lipídicos. A peroxidação lipídica está intimamente relacionada com a patogênese da aterosclerose (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990; AMBROSIO et al., 1991; DIXIT, MUKHTAR, BICKERS, 1983).

As proteínas e os ácidos nucleicos são menos susceptíveis do que os ácidos graxos poliinsaturados ao ataque dos radicais livres, a menos que se concentrem nos sítios específicos de proteínas particulares. Um modo pelo qual a lesão pode se concentrar em locais específicos da proteína é encontrado quando ela está ligada a um íon de metal de transição, por exemplo, a ligação do cobre por um resíduo de histidina. Nesse caso, a reação do metal de transição com o peróxido de hidrogênio pode gerar radicais hidroxila que irão agir no ou perto do sítio de ligação do metal, “explodindo” a molécula hospedeira (MARX, CHEVION, 1986).

Outro alvo vulnerável e importante é o DNA que pode ser prontamente atacado por radicais oxidantes quando formados em sua vizinhança. Assim como as proteínas, a lesão deve ser “sítio específica”, de modo que seja concentrada e de alta intensidade. Essas lesões desencadeiam a quebra do filamento ou alteram o sistema de reparação das bases antes que ocorra a replicação, levando às mutações (EPE, HEGLER, WILD, 1990; BREIMER, 1991). Estudos demonstram que a dupla hélice do DNA pode ser modificada para a forma linear quando em contato com peróxido de hidrogênio na presença de cobre (STOHS, BAGCHI, 1995).

A capacidade do íon cobre de causar danos ao DNA e induzir mutações foi demonstrada por Tkeshelashvili et al. (1991) num estudo realizado com *Escherichia coli* onde observaram que, dentre os íons testados, o cobre foi o mais mutagênico e a frequência de mutações foi maior que aquelas produzidas pelo ferro.

Em outro estudo com o objetivo de avaliar o papel dos íons cobre e ferro em promover dano ao DNA pelo peróxido de hidrogênio (H_2O_2), Aruoma et al. (1991) observaram que esse isoladamente não tinha efeito, mas que a adição de íons cobre aumentou significativamente sua capacidade lesiva sobre a cadeia de DNA. Baseados na biologia molecular, os autores confirmaram nesse estudo que as concentrações dos íons livres de cobre e ferro no organismo humano deveriam ser cuidadosamente controlados.

2.1.5 Espécies Reativas do Nitrogênio

O óxido nítrico (NO) é considerado um segundo mensageiro intracelular com inúmeras funções biológicas, incluindo as funções neurotransmissora, vasodilatadora, imunológica e metabólica. É gerado a partir do substrato arginina e O_2 .

O óxido nítrico é uma molécula neutra, que apresenta um elétron desemparelhado na última camada. Esta propriedade é de grande relevância, uma vez que a maioria das interações químicas do óxido nítrico em sistemas biológicos é caracterizada pela estabilização do elétron desemparelhado. Em geral isto acontece através da reação do óxido nítrico com outra espécie reativa ou pela sua complexação a um metal. Sendo uma espécie radicalar, o óxido nítrico é capaz de reagir rapidamente com outros radicais importantes do ponto de vista biológico, tais como oxigênio molecular e superóxido. Uma das mais significantes reações do óxido nítrico é com o O_2^{\bullet} , sendo o peróxinitrito ($OONO^{\bullet}$) o produto desta reação. Tais espécies são oxidantes potentes, capazes de oxidar tióis e bases do DNA.

Sob condições fisiológicas o ácido peroxinitroso ($ONOOH$), conjugado do peróxinitrito, possui a reatividade do radical hidroxila. A meia-vida do peróxinitrito é muito longa, aproximadamente 1 segundo, decompondo-se espontaneamente para produzir nitrato (NO_3^-), conforme ilustra a equação abaixo : (BREDT, 1999; DRÖGE, 2002).



As considerações referentes aos radicais de nitrogênio fogem dos objetivos deste estudo, mas sem dúvida serão levadas em conta como uma possível causa para explicar algumas das alterações observadas nas situações clínicas dos pacientes do estudo. Já são conhecidos os aspectos clínicos da aplicação de fármacos que liberam o óxido nítrico. O exemplo mais antigo é a amilnitrita e a nitroglicerina, que são doadores do óxido nítrico no tecido endotelial. Dentre as gerações mais recentes de fármacos fornecedores de NO está o sildenafil citrato, que demonstra afinidade para os tecidos dos corpos cavernosos penianos e também para os tecidos pulmonares. Isto permite, com êxito, usar o sildenafil citrato nos casos de hipertensão pulmonar.

2.2 ESTRESSE OXIDATIVO E CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

O termo estresse oxidativo denota um desequilíbrio entre a produção de oxidantes e o sistema de defesa antioxidante (SIES, 1997). A existência do desequilíbrio pode ser em favor da geração ou em detrimento da velocidade de remoção dessas espécies. Embora uma razoável quantidade de radicais livres seja necessária para a manutenção da vida, sua produção excessiva pode conduzir a dano celular.

A determinação direta das concentrações de RL é praticamente impossível devido à sua existência extremamente curta. A presença e concentrações dessas espécies são geralmente avaliadas por efeitos químicos ou fisiológicos que desencadeiam.

A circulação extracorpórea, necessária e parte integral da cirurgia cardíaca, pode por si só induzir efeitos deletérios, dano difuso a vários tecidos, resultando em disfunção dos rins, fígado, pulmão, cérebro, sistema cardiovascular e outros órgãos.

A gênese da disfunção orgânica é multifatorial, sendo desencadeada em parte pela resposta inflamatória sistêmica à CEC, induzida pela exposição dos elementos sangüíneos ao traumatismo mecânico e às superfícies não fisiológicas. A maior resposta inflamatória sistêmica, potencialmente responsável pela ativação dos neutrófilos (MORSE, ADAMS, 1998) e a alta tensão de oxigênio usada durante a CEC representam fontes importantes de produção de radicais livres responsáveis pelo estresse oxidativo (IHNKEN et al., 1998; BRUECKL et al., 2006).

Em relação ao dano miocárdico local, esse estaria associado mais especificamente com o fenômeno isquemia e reperfusão, mediado pelos radicais livres, costumeiramente removidos pelos “varredores” especializados e antioxidantes presentes nas células (MEZZETTI et al., 1993; INAL et al., 1999).

Clinicamente a disfunção miocárdica após a circulação extracorpórea é expressa por arritmias cardíacas, depressão da contratilidade e baixo débito

cardíaco, sendo todos esses fatores complicadores do período pós-operatório imediato.

Num estudo realizado em adultos e conduzido por Clermont et al. (2002), durante a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, o estresse oxidativo sistêmico ocorreu durante todo período de CEC, mas não no período compreendido entre a anestesia e a esternotomia. A maior produção de RL ocorreu nos primeiros 3 minutos de reperfusão.

Com o objetivo de analisar o estresse oxidativo e sua evolução durante a cirurgia cardíaca com CEC, Ochoa et al. (2003) conduziram um estudo com 22 pacientes adultos. Observaram que a concentração tanto do alfa-tocoferol (vitamina E) como do retinol (vitamina A) diminuíram após o início da CEC em relação aos valores iniciais. Portanto, um aumento do estresse oxidativo foi demonstrado durante a CEC, e concluído que, apesar do organismo ser capaz de utilizar várias defesas antioxidantes, existe maior possibilidade de complicações após esse procedimento.

Estudando a injúria oxidativa e as enzimas antioxidantes em pacientes adultos submetidos à cirurgia cardíaca com e sem CEC, Akila et al. (2007) observaram que a peroxidação lipídica aumentou significativamente, atingindo o pico na primeira hora de reperfusão. Tal fato não ocorreu no grupo de pacientes submetidos à cirurgia sem CEC. Também, em relação às enzimas antioxidantes, os autores concluíram que a concentração mais baixa da glutathione foi aos 5 minutos, e a atividade da catalase foi máxima após 1 hora da reperfusão. Assim sendo, o estresse oxidativo foi mais evidente nos pacientes submetidos à cirurgia cardíaca com CEC, quando comparados àqueles sem CEC. Resultados semelhantes também foram observados no estudo de Gönenç et al. (2006) com pacientes adultos.

Além das alterações citadas, a apoptose tem sido demonstrada nos episódios de isquemia – reperfusão. Apoptose é o processo de morte celular geneticamente programado, com subsequente remoção das células. Esse processo inicia pela ativação das caspases 3 e 7, clivagem do DNA genômico e subsequente morte celular. Vários estímulos extracelulares e intracelulares, que ocorrem durante a cirurgia cardíaca com CEC, incluindo a liberação de citocinas, estiramento mecânico

da fibra miocárdica e o estresse oxidativo, podem representar os gatilhos para desencadear a cascata da apoptose. Citocinas liberadas dos macrófagos e miócitos bem como as espécies reativas do oxigênio também podem induzir a apoptose em miócitos submetidos à isquemia e reperfusão.

Fischer et al. (2004) conduziram um estudo com biópsias do miocárdio, coletadas antes e ao final da CEC, de 40 pacientes adultos. O objetivo desse estudo foi investigar se a parada cardíaca durante a cirurgia cardíaca com CEC era responsável por iniciar a apoptose, e se o uso de varredores de espécies reativas do oxigênio como a N-acetilcisteína (NAC), atenuava a iniciação desse processo. Os autores observaram que a atividade das caspases 3 e 7 foi significativamente menor no grupo de pacientes que recebeu NAC quando comparada com o grupo placebo. Concluíram que a parada cardíaca iniciou a cascata da apoptose e que a N-acetilcisteína, por atuar como “varredora” de espécies reativas do oxigênio, inibiu a ativação das caspases 3 e 7, prevenindo o processo de apoptose celular. Portanto, a apoptose das células cardíacas é um dos fatores envolvidos no aturdimiento miocárdico e medidas preventivas desse processo são coadjuvantes atrativos nas técnicas de proteção miocárdica durante a cirurgia cardíaca.

Assim como no adulto o estresse oxidativo ocorre também na criança. Calza et al. (2002) num estudo com 18 crianças submetidas à cirurgia cardíaca com CEC, observaram aumento da glutathione, enzima “varredora” de radicais livres, e aumento da taurina miocárdica, demonstrando assim que esses pacientes apresentaram estresse oxidativo e dano miocárdico como resultado do procedimento.

O estresse oxidativo também foi avaliado num estudo conduzido por Christen et al. (2005) em pacientes pediátricos submetidos à cirurgia cardíaca com CEC. Nesse estudo, os autores fizeram uma análise da magnitude da inflamação e das alterações do ferro em relação ao estresse oxidativo e às variáveis clínicas. Os resultados evidenciaram que a CEC na criança foi acompanhada de grave estresse oxidativo, confirmado pelos marcadores plasmáticos (ascorbato, α -tocoferol, glutathione). A hemólise e a inflamação desencadeadas pela CEC foram consideradas como causas do estresse oxidativo.

2.3 DEFESAS ANTIOXIDANTES

O excesso de radicais livres é prejudicial ao organismo. Os sistemas naturais de eliminação, chamados “varredores” ou “seqüestradores” de RL, atuam produzindo sua neutralização ou impedindo sua transformação em produtos mais tóxicos para as células. Esses sistemas de defesa são compostos pelas seguintes enzimas: glutathiona peroxidase (que necessita do selênio), catalase, metionina redutase, manganês superóxido dismutase e a cobre-zinco superóxido dismutase. Os RL neutralizados por essas enzimas são o superóxido, oxigênio singlet, radical hidroxila, peróxido lipídico, óxido nítrico e óxido nitroso.

Os antioxidantes não enzimáticos são em sua maioria provenientes de uma alimentação apropriada. Os principais são as vitaminas lipossolúveis, E e A, vitaminas hidrossolúveis, C e do complexo B, os oligoelementos zinco, cobre, selênio, magnésio e também os bioflavonóides, entre outros. O quadro abaixo relaciona as espécies reativas de oxigênio e seus respectivos antioxidantes.

QUADRO 1 – Espécies reativas de oxigênio e seus respectivos antioxidantes.

ERO	Antioxidantes	
	Endógenos	Exógenos
Superóxido	Superóxido dismutase Cu-ZnSOD, MnSOD	Vitaminas, zinco, cobre, manganês, EDTA
Peróxido lipídico	Glutathiona peroxidase, cisteína	Vitamina E, selênio
Radical Hidroxila		Vitamina C, dimetil sulfóxido, EDTA e manitol
Oxigênio Singlet		Betacaroteno
Peróxido de hidrogênio	Catalase	

2.3.1 Antioxidantes Não Enzimáticos

Alguns nutrientes essenciais podem atacar diretamente os radicais de oxigênio. A vitamina E (alfa-tocoferol) é o maior antioxidante lipossolúvel presente em todas as membranas celulares, atua na proteção contra a lipoperoxidação,

devido a sua alta reatividade com radicais peroxil (LOO^\bullet) (KAY et al., 1986; REITER, MAESTRONI, 1999).

Os carotenóides, principalmente o beta-caroteno, podem funcionar como precursores da vitamina A. Têm papel duplo, diminuem a formação de oxigênio singlet e ajudam a remover aqueles já formados. O beta-caroteno, um pigmento presente em todas as plantas, pode ser encontrado em membranas celulares, inclusive nos lipossomos.

A vitamina C (ácido ascórbico) é hidrossolúvel e também age contra os radicais livres. Uma importante propriedade química do ascorbato é sua habilidade para reagir como agente redutor.

A melatonina é um antioxidante produzido pela glândula pineal e atua na peroxidação lipídica diminuindo o dano protéico causado pelos radicais livres, e protegendo o DNA contra os efeitos da radiação. Quando encontra o radical hidroxila, altamente reativo, doa seu elétron e se transforma em radical melatonil, muito menos reativo (REITER, MAESTRONI, 1999).

2.3.2 Antioxidantes Enzimáticos

As enzimas superóxido dismutase juntamente com a catalase e glutathione peroxidase constituem as principais defesas antioxidantes que atuam nos organismos superiores. A capacidade antioxidante da superóxido dismutase foi inicialmente descrita por McCord e Fridovich (1969) e tem importante função na dismutação dos radicais superóxidos. A forma dependente de cobre e zinco, denominada Cu-Zn superóxido dismutase, é muito estável e está presente no citosol de praticamente todas as células eucarióticas. A forma contendo manganês no seu sítio ativo, denominada manganês superóxido dismutase (Mn-SOD), está presente na mitocôndria. Essas enzimas atuam removendo o O_2^\bullet acelerando sua conversão em H_2O_2 .

As catalases contidas nos peroxissomos convertem a H_2O_2 em água e O_2 e são encontradas principalmente no fígado, rim e eritrócitos. As células do coração, cérebro e músculo contêm pequenas quantidades dessas enzimas (CHANCE, SIES, BOVERIS, 1979).

A glutathiona peroxidase, contida apenas nas células animais, possui um átomo de selênio, e atua reduzindo os radicais hidroperóxidos.

A natureza dos eventos relacionados ao estresse oxidativo leva à depleção dos antioxidantes plasmáticos, evidenciada pela diminuição da capacidade antioxidante total do plasma, bem como aumento da peroxidação lipídica (HADJINIKOLAOU et al., 2003, PECHAN et al., 2004). Com o objetivo de estudar essa questão, Luyten et al. (2005) conduziram um estudo em 10 pacientes submetidos à cirurgia das artérias coronárias com CEC, onde analisaram as enzimas antioxidantes e a capacidade antioxidante global do plasma, correlacionando com a atividade inflamatória. A atividade das enzimas glutathiona peroxidase e a superóxido dismutase aumentou significativamente durante a CEC, sendo esta a primeira linha de defesa contra as espécies reativas de oxigênio. Os autores observaram ainda uma diminuição das concentrações do alfa-tocoferol, somente após a cirurgia. Resultados semelhantes foram observados por Ulus et al. (2004), quando demonstraram que a concentração de alfa tocoferol aumentou após 20 minutos de CEC e assim se manteve por 6 horas consecutivas.

Os estudos com relação ao alfa-tocoferol são contraditórios. Alguns relataram que a suplementação dessa vitamina durante a cirurgia (CANBAZ, et al., 2003) ou no pré-operatório foi benéfica (YAU et al., 1994), porém outro grande estudo demonstrou claramente que sua suplementação não teve efeito aparente nos eventos cardiovasculares: estudo HOPE - Heart Outcome Prevention Evaluation (YUSUF et al., 2000). Assim, o consumo do alfa-tocoferol durante e após a cirurgia cardíaca continua matéria de discussão.

A diminuição da concentração da vitamina C, antioxidante hidrossolúvel também foi demonstrada no estudo de Luyten et al. em 2005. Esses autores concluíram que a resposta antioxidante, sob condições de estresse oxidativo agudo,

ocorreu durante a cirurgia cardíaca com CEC, mas não foi suficiente para compensar a intensa produção de oxidantes desencadeada pelo procedimento.

Uma terceira categoria de defesa antioxidante natural são os processos de reparação, que removem as biomoléculas lesadas. As proteínas oxidadas são removidas por sistemas proteolíticos; os lipídeos oxidados das membranas são removidos pelas lípases e peroxidases, e os ácidos nucléicos lesados oxidativamente são reparados por enzimas específicas.

2.4 COBRE

2.4.1 *Metabolismo*

O cobre (Cu) é um elemento traço cuja essencialidade foi primeiramente reconhecida em 1928, onde experimentos em animais evidenciaram que juntamente com o ferro tinha uma função importante na prevenção da anemia ferropriva (HART et al., 2002). É um metal de transição com uma massa atômica de 63,54 e três estados de oxidação, Cu, Cu²⁺ e Cu³⁺, podendo mudar entre um e outro estado durante reações enzimáticas. Estas características conferem ao elemento uma grande instabilidade, sendo que a estabilização só é alcançada nas reações químicas.

Os valores analíticos do conteúdo total de cobre no corpo humano variam de 50 a 120 mg, teor médio considerado para um indivíduo adulto de 70 kg. A concentração plasmática de referência do cobre, publicada num estudo global conduzido entre 1982 e 1988 é de 0,8 a 1,2 mg/l (IYENGAR, WOITTIEZ, 1988; IYENGAR, 1987 apud in OMS, 1998). No leite humano a concentração cobre é de 0,14 ± 0,10 mg/l (MELNIKOV et al., 2007). Apresentam maiores concentrações desses íons os tecidos do fígado, cérebro, baço, osso e músculo esquelético (WILLIAMS, 1983).

Esse metal está contido nos alimentos como carne, ovo, queijo, marisco e em bebidas como café, vinho e está presente em grande quantidade na Coca-Cola. As fontes de cobre no meio ambiente são resíduos industriais como os provenientes da queima de carvão e os domésticos como as panelas de cobre.

Do cobre ingerido, 35% a 70% são absorvidos no duodeno e jejuno por transporte ativo dentro de epitélio intestinal. Durante a absorção e o transporte o cobre compete com outros íons metálicos bivalentes que favorecem ou inibem sua absorção. Pode ser absorvido pela pele e mucosas de fontes como os braceletes de cobre ou ligas de próteses (OMS, 1998).

O citrato e a histidina, por atuarem como quelantes formando complexos intermediários estáveis, favorecem a absorção. Entre os fatores que inibem a absorção estão o cádmio e o zinco, que atuam por competição pela metaloproteína, as fibras, que atuam por estimulação do intestino, o ferro, que atua competindo ao nível das células transportadoras, os fitatos contidos nos cereais e vegetais, vitamina C, por inibir a atividade plasmática das enzimas de cobre, o molibdênio e os carboidratos refinados (FESTA et al., 1985; TORRE et al., 1991).

Uma vez absorvido, o cobre é transportado na forma de complexos com a albumina e transcupreína. O cobre livre recém absorvido desaparece rapidamente do plasma. A maior parte é captada pelo fígado, através do sistema porta sendo aí incorporado por numerosas enzimas dentre elas a ceruloplasmina. Esse cobre é liberado do fígado para a circulação sanguínea e distribuído entre as células que têm receptores específicos para as enzimas especializadas na sua superfície (HARRIS, PERCIVAL, 1990 apud in SHILS et al., 2003).

O caminho principal de excreção do cobre é a via biliar para dentro do trato intestinal, junto com pequenas quantidades de cobre das células intestinais e com o cobre dietético não absorvido. É então eliminado nas fezes. Pela urina, os seres humanos sadios excretam apenas 10 a 30 μg de cobre, podendo aumentar acentuadamente nos casos de defeitos tubulares renais (DANKS, 1988 apud in SHILS et al., 2003).

A importância biológica, funcional e estrutural do cobre em animais e humanos está relacionada com as funções metabólicas das enzimas cobre - dependentes.

2.4.2 Principais Enzimas que Contêm Cobre

2.4.2.1 Ceruloplasmina

A ceruloplasmina é uma proteína plasmática de cor azul, também chamada ferroxidase I. É uma α_2 - glicoproteína que contém 7 átomos de cobre em sua

molécula. Devido aos deslocamentos da carga entre os íons Cu e Cu²⁺, a enzima está envolvida nas reações de oxido-redução. Existem evidências que a ligação dos átomos de cobre à ceruloplasmina é um pré-requisito para sua utilização na síntese da citocromo C oxidase e outras proteínas desse elemento (FRIEDEN, HSIEH, 1976).

Uma importante função da ceruloplasmina, após sua síntese no fígado, é transportar cobre. No ser humano adulto saudável aproximadamente 90% a 95% do total do cobre circulante está ligado a ela. É uma proteína reativa da fase aguda, sendo que, após infarto agudo do miocárdio ou outras desordens acompanhadas por inflamação, a ceruloplasmina e também o conteúdo plasmático de cobre mudam em paralelo indicando um processo fortemente acoplado (ADELSTEIN, COOMBS, VALEE, 1956 apud in FOX et al., 2000).

Quanto ao metabolismo do ferro, a ceruloplasmina e a ferrosidade II oxidam o ferro ferroso de modo que ele possa ser transportado do lúmen intestinal e dos locais de armazenamento para os locais de eritropoiese. Isso explica por que a anemia desenvolve-se na deficiência de cobre.

Estudos demonstram que a atividade da ceruloplasmina como agente oxidante é determinada pela estrutura da proteína, que permite remover um dos átomos de cobre ligados a ela. A ceruloplasmina pode estimular a oxidação da lipoproteína de baixa densidade (LDL) na presença de radicais O₂[•], que reduz um dos átomos de cobre ligados à ela (MUKHOPADHYAY, EHRENWALD, FOX, 1996; MUKHOPADHYAY, FOX, 1998).

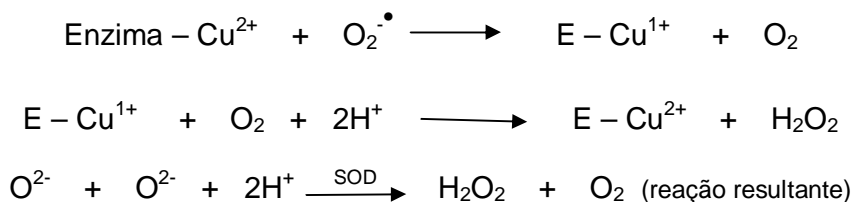
2.4.2.2 Cobre - Zinco Superóxido Dismutase

Em 1939, uma proteína contendo 0,34% de cobre, foi isolada de eritrócitos bovinos por Mann e Keilin e denominada de hemocupreína. Posteriormente, uma proteína também contendo cobre, foi isolada de eritrócitos humanos e denominada eritrocupreína. Aparentemente, como ambas não evidenciaram atividade enzimática, foi então sugerido que elas serviriam como depósitos de metais. Contudo, em 1969,

McCord e Fridovich demonstraram que a “proteína do eritrócito”! catalisava a dismutação dos radicais superóxido ($O_2^{\cdot-} + O_2^{\cdot-} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$), identificando assim a sua função. Essa enzima foi denominada superóxido dismutase (SOD) e altas concentrações são encontradas no cérebro, tireóide, fígado, hipófise, eritrócitos e no rim dos seres humanos. Estudos realizados em ratos submetidos a dietas deficientes em cobre evidenciaram um decréscimo nas concentrações da SOD em pulmão, fígado, aorta e eritrócitos (DAMERON, HARRIS, 1987). É uma enzima que acompanha a evolução estando presente já nas bactérias.

A superóxido dismutase contém dois átomos de cobre por molécula e está presente dentro da maioria das células do organismo humano, principalmente no interior do citosol. Protege os componentes celulares da lesão oxidativa, convertendo os íons superóxido em peróxido de hidrogênio. Para sua ação catalítica, além dos íons de cobre, exige também a presença do zinco. Suas propriedades têm sido marcadamente resistentes às modificações evolutivas (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1985).

O cobre contido na Cu-ZnSOD participa das reações de dismutação, passando alternadamente por oxidação e redução, conforme abaixo:



A atividade da Cu-ZnSOD está bastante diminuída em animais submetidos à dietas deficientes em cobre (PROHASKA, BROKATE, 2001).

Existem ainda dois outros tipos de superóxido dismutase, aquela dependente do manganês e a superóxido dismutase extracelular, sendo essa última de atividade pouco expressiva quando comparada com as outras.

2.4.2.3 *Citocromo C Oxidase*

A enzima citocromo C oxidase, presente nas mitocôndrias das células, é o elemento terminal na cadeia de transporte de elétrons. Reduz O₂ para formar água e ATP para produção de energia. A citocromo C oxidase é considerada a enzima mais importante isolada da célula de mamífero. Ela contém dois a três átomos de cobre por molécula. A atividade dessa enzima é máxima no coração e alta no cérebro, fígado e rins (FRIEDEN, 1986).

A síntese de fosfolípidos para a formação da mielina no sistema nervoso central depende da atividade da citocromo C oxidase. Em experimentos com animais a deficiência desse metal leva à alteração na mielinização, necrose do tecido nervoso e ataxia.

2.4.2.4 *Dopamina β-Hidroxilase*

A dopamina, adrenalina e noradrenalina são catecolaminas que partilham a mesma via biossintética, que inicia com o aminoácido tirosina. A tirosina é convertida em dopamina pela enzima tirosina hidroxilase. A dopamina, por sua vez, é convertida em noradrenalina pela dopamina β-hidroxilase. Na medula da supra-renal a noradrenalina recebe um radical metil e é convertida então em adrenalina.

Seidel, Failla e Rosebrough (1991) estudaram o metabolismo das catecolaminas cardíacas em ratos recém nascidos, submetidos à dieta deficiente em cobre e observaram que ocorreu, após a 4^a semana, um aumento do coração e da concentração de dopamina e diminuição da concentração de norepinefrina, resultado da diminuição da atividade da dopamina β-hidroxilase. No grupo controle, a síntese da norepinefrina cardíaca a partir da dopamina foi significativamente maior. Em outro estudo igualmente conduzido em animais, Pyatskowit e Prohaska (2007) confirmaram essas mesmas observações.

2.4.2.5 *Monoamino Oxidase*

A monoamino oxidase (MAO) é uma enzima envolvida no metabolismo da serotonina e dos neurotransmissores catecolaminérgicos, tais como adrenalina, noradrenalina e dopamina. Havendo uma redução na atividade da MAO, produz-se um aumento da concentração desses neurotransmissores nos locais de armazenamento, em todo o sistema nervoso central ou no sistema nervoso simpático. Os antidepressivos clássicos, inibidores da monoamina oxidase (IMAO), promovem o aumento da disponibilidade da serotonina através da inibição dessa enzima responsável pela degradação intracelular do neurotransmissor.

2.4.2.6 *Diamina Oxidase*

Essa enzima atua no tubo digestivo onde a histamina estimula a secreção ácida e em reações alérgicas em todo corpo, onde a histamina é liberada em resposta à exposição de antígenos. Também inativa poliaminas envolvidas na proliferação celular, o que sugere que essa enzima pode desempenhar um papel inibidor do crescimento.

2.4.2.7 *Lisil Oxidase*

Na formação do tecido conjuntivo o cobre atua como integrante da enzima lisil oxidase, que é essencial para a ligação cruzada do colágeno e da elastina, necessário para a formação de tecido conjuntivo forte e flexível. É uma enzima importante na formação de tecido morfológicamente normal. Sua deficiência leva à formação defeituosa do colágeno, com diminuição da resistência mecânica dos ossos e do tecido conjuntivo cardiovascular, predispondo assim a instalação de osteoporose e aneurismas. A concentração dessa enzima é máxima durante o desenvolvimento do indivíduo. Assim o cobre desempenha um papel na formação do osso, mineralização esquelética e integridade do tecido conjuntivo do coração e do sistema vascular.

2.4.3 Proteínas Ligadoras de Cobre

2.4.3.1 Metalotioneínas

As metalotioneínas são pequenas proteínas não enzimáticas, ricas em cisteína, sendo que cada molécula é capaz de se ligar a 11 ou 12 átomos de cobre e atuam seqüestrando o excesso de íons metálicos, impedindo a intoxicação. Também estão relacionadas com o armazenamento e transporte do metal através do enterócito e no plasma desempenhando um papel regulador nos processos de reparo, crescimento e diferenciação celular. Têm ação antioxidante diminuindo a produção de radicais hidroxil e protegendo a célula da apoptose induzida pelo estresse oxidativo (THIRUMOORTHY et al., 2007).

2.4.3.2 Albuminas

As albuminas são as proteínas mais prevalentes no plasma sangüíneo e nos líquidos intersticiais. Transporta os íons metálicos desempenhando também um papel de se ligar ao excesso de cobre circulante, que de outro modo seria tóxico. As estimativas da fração de cobre plasmático ligada à albumina variam de 5 a 18% (SHILS et al., 2003).

2.4.4 Deficiência do Cobre

Em relação ao coração, o eletrocardiograma de ratos alimentados com dieta deficiente em cobre mostrou aumento significativo da amplitude dos complexos QRS e do intervalo QT, arritmias cardíacas, como batimentos ventriculares e supraventriculares prematuros, alterações do segmento S-T, bloqueio de ramo e bloqueio átrio-ventricular de segundo e terceiro grau quando comparados com grupos controle (VIESTENZ, KLEVAY, 1982; SHIRY et al., 1999).

Cardiomiopatia hipertrófica com alteração da função sistólica e diastólica, insuficiência cardíaca congestiva (ELSHERIF et al., 2003) e regurgitação das valvas cardíacas foram observadas, decorrentes das alterações do colágeno, elastina e da deficiência de atividade da lisil-oxidase (SHIRY et al., 1999).

As anormalidades cardíacas observadas nos modelos animais foram similares em humanos quando submetidos a uma dieta deficiente em cobre, segundo um estudo realizado com 24 voluntários portadores de doença cardíaca isquêmica, que foram submetidos a 15 semanas de dieta deficiente em cobre. Ocorreu infarto miocárdico e taquicardia em 2 dos 24 participantes (NATH, 1997). Ao nosso parecer, esses achados são pouco informativos já que 24 casos não são suficientes para afirmar que a incidência de infarto agudo do miocárdio seja maior do que na população geral.

2.4.5 Desordens Genéticas

Doença de Wilson é uma doença recessiva autossômica do armazenamento do cobre, onde o gene afetado localiza-se no cromossomo 13 e que codifica o aminoácido ATP 7B. O cobre absorvido no intestino ao alcançar os hepatócitos liga-se à apotioneína para formar a Cu-metalotioneína ou é incorporado à ceruloplasmina, retornando à circulação, ou é excretado na bile. Os dois últimos passos estão alterados na doença de Wilson. A excreção biliar de cobre está marcadamente diminuída e o metal não pode ser incorporado adequadamente à ceruloplasmina. Conseqüentemente, o cobre em excesso distribui-se inicialmente no citoplasma, provavelmente ligado a uma forma não-tóxica de metalotioneína e posteriormente aparece em densos grânulos nos lisossomos. O cobre livre (não ligado à ceruloplasmina), liberado na circulação a partir de hepatócitos lesados, passa então a se acumular em diversos órgãos, como no fígado, cérebro e córnea (anéis de Kayser-Fleischer), resultando em lesão neurológica e cirrose hepática (SHILS et al., 2003).

Doença de Menkes é um distúrbio fatal ligado ao cromossomo X, caracterizada por um defeito na codificação da proteína ATPase tipo P

transportadora de cobre (ATP 7A). Ocorre defeito no influxo celular de Cu, por desativação de sistemas enzimáticos com conseqüente inversão na distribuição do metal pelo organismo. Ocorre aprisionamento do Cu no intestino delgado e no rim e, ao mesmo tempo, deficiência em outros órgãos, principalmente no cérebro e fígado. Essa condição é caracterizada por retardo mental e do crescimento, hipopigmentação do cabelo, defeitos esqueléticos e aneurismas. Convulsões também são descritas, provavelmente decorrentes da degeneração do sistema nervoso central (SHILS et al., 2003; NATH, 1997).

2.5 ZINCO

2.5.1 *Metabolismo e Funções Fisiológicas*

O zinco (Zn) foi reconhecido como um elemento distinto em 1509. Evidências de sua essencialidade foram demonstradas em plantas em 1869 e em animais em 1934. Em virtude da sua ampla concentração nos alimentos, a deficiência de zinco foi considerada improvável até 1955, quando foi então demonstrado que a paraceratose suína era uma doença causada por deficiência desse metal. O significado clínico da deficiência de Zn no homem adquiriu magnitude de saúde pública após 1961, quando foi observado que o hipogonadismo e o nanismo endêmicos no Irã eram devidos à deficiência desse elemento (SHILS, 2003).

O conteúdo total de zinco no organismo varia de 1,5 a 2,5 g, estando presente em praticamente todos os órgãos. A maior parte está concentrado nos ossos, músculos esqueléticos, fígado e pele. Também está presente no pâncreas, rins e fluidos corporais como próstata, espermatozóides, em diversas partes dos olhos, cabelos, unhas e saliva. A concentração na massa corpórea magra é de aproximadamente 30 µg/g. As concentrações mais altas estão na coróide do olho (274 mg/g) e no líquido prostático (300 a 500 mg/ml) (MILLS, 1989, apud in OMS, 1998). No sangue, cerca de 80% do zinco é encontrado nos eritrócitos e 16% no plasma. No leite humano a concentração deste elemento é de 0,48 ± 0,24 mg/l (MELNIKOV et al., 2007).

No soro humano a principal proteína transportadora de zinco é a albumina. De forma semelhante ao cobre, em torno de 98% do zinco plasmático está ligado às proteínas, sendo 14% ligado à α_2 - macroglobulina e em torno de 86% à albumina. Porém, apenas 1,1% a 2,6% da albumina presentes no soro estão ligadas ao transporte de zinco (FOOTE, DELVES, 1984).

A concentração plasmática de referência de zinco, derivado de um estudo global conduzido entre 1982 e 1987 é de 0,8 a 1,1 mg/l (IYENGAR, 1987 apud in OMS, 1998). Um estudo nacional realizado por Fávoro e Vannucchi (1990) em 126

crianças de 2 a 7 anos de idade, na cidade de Ribeirão Preto, demonstrou que 13% delas apresentaram concentrações plasmáticas de zinco inferiores a 0,7 mg/l. Em outro estudo em 86 crianças da periferia da cidade de São Paulo, com idade entre 7 a 15 anos, 6,9 % delas apresentaram concentração plasmática de zinco abaixo de 0,6 mg/l (SANTOS, OLIVA, AMÂNCIO, 2003). Em ambos os estudos acima não houve correlação entre os valores plasmáticos das concentrações de Zn e o sexo, a idade e os parâmetros antropométricos, quais sejam, a prega tricipital, circunferência braquial e peso.

Ao contrário do cobre, não existem compostos que formam estoques corporais de zinco. Sob condições de reabsorção óssea e catabolismo tecidual ele pode ser liberado e reutilizado. Na presença de dietas com baixo teor desse metal, o conteúdo plasmático e a atividade enzimática podem ser mantidos normais por vários meses, indicando que há mobilização de zinco a partir de tecidos e diminuição da excreção nas fezes e urina (OMS, 1998).

Os alimentos diferem amplamente no seu conteúdo de Zn. Crustáceos, carne bovina e outras carnes vermelhas, grãos integrais, nozes e legumes são boas fontes desse metal (SHILS et al., 2003).

A absorção do zinco é uma função de múltiplas variáveis, incluindo a solubilidade dos compostos no local de absorção, presença de enzimas transportadoras e, principalmente, as necessidades do organismo. É absorvido em toda extensão do intestino delgado e pequenas quantidades são absorvidas no estômago. Estas pequenas quantidades sinalizam ao fígado a necessidade de produzir enzimas transportadoras teciduais e intracelulares. É um elemento de fácil extração em pH gástrico.

Na célula, o zinco se une às metaloenzimas entre as quais as mais importantes são metalotioneínas e proteínas contendo enxofre, como a cisteína (OMS, 1998).

Fatores que favorecem a absorção deste metal incluem o meio ácido do estômago, a mastigação dos alimentos e o consumo de cereais cozidos. Entre os

que dificultam a absorção está a presença de elementos bivalentes como o cobre, ferro, cádmio e chumbo, devido a competição pela metalotioneína, o fitato e hexafosfato de inositol, medicamentos como a cimetidina e antibióticos (TURNLUND et al., 1986).

O zinco é eliminado do organismo através dos rins, da pele e do intestino. As perdas endógenas intestinais podem variar de 0,5 a 3 mg/dia; a perda pela perspiração e células epidérmicas descamadas é estimada em 0,5 mg/dia, mas essas perdas dependem da quantidade da ingestão do metal. A perda diária pela urina é aproximadamente 0,7 mg/dia (MILLS, 1989).

Zinco, o mais abundante elemento-traço intracelular, está envolvido em várias funções catalíticas, estruturais e reguladoras. É encontrado em numerosas enzimas e é um componente das biomembranas.

Esse elemento desempenha funções cruciais em diversos processos biológicos do organismo, incluindo a síntese protéica, o metabolismo de DNA e RNA, metabolismo de carboidratos e lipídeos, metabolismo energético, entre outras. Uma das principais funções do zinco é sua atuação enzimática, seja na estrutura da enzima ou em sua ação reguladora ou catalítica. Dentre as aproximadamente 300 enzimas das quais o zinco faz parte estão a anidrase carbônica, fosfatase alcalina, carboxipeptidases, álcool desidrogenase, superóxido dismutase, proteína C quinase, ácido ribonucléico polimerase e transcriptase reversa (SANDSTEAD, 1994; McCALL, HUANG, FIERKE, 2000).

O zinco exerce função fundamental na proliferação celular, cujos constituintes indispensáveis durante a síntese protéica são o DNA e RNA. Ele está presente no núcleo, nucléolo e nos cromossomos. Várias enzimas que participam da síntese de DNA e RNA são metaloenzimas que contêm zinco, incluindo a DNA-polimerase e RNA-transcriptase (MILLS, 1989),

O zinco forma um complexo funcional característico chamado “dedos de zinco,” que desempenha muitas funções em vários processos celulares como

replicação, reparo, proliferação e apoptose. Os “dedos de zinco” agem como moldes e se ligam a uma variedade de moléculas como ácidos nucleicos e proteínas.

Esses complexos têm coordenação tetraédrica típica, com o Zn no centro do tetraedro formado por 4 cisteínas ou 3 cisteínas e 1 histidina ou 2 cisteínas e 2 histidinas. Dependendo da natureza dos aminoácidos ligados ao tetraedro as arestas podem ser eqüidistantes, caso seus vértices correspondam a um mesmo aminoácido. Nesse caso o tetraedro seria um poliedro regular (Fig. 2). Se diferentes aminoácidos se coordenarem as arestas deixam de ser iguais e o poliedro ficará distorcido. Durante os processos de proliferação celular a síntese protéica necessita da informação estrutural para proporcionar a colocação adequada dos aminoácidos na cadeia peptídica. Nesse caso o tamanho das arestas serve de compasso para produzir uma determinada seqüência de aminoácidos. Esse é o ponto central do controle da atividade enzimática e também dos processos de proliferação e crescimento celular (MILLS, 1989).

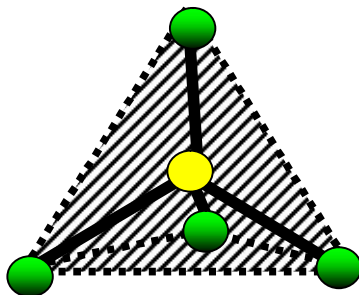


Figura 2 – Coordenação tetraédrica com o átomo de zinco na posição central.

O Zn está relacionado com as células do sistema imune, e os efeitos da sua deficiência no sistema imunológico incluem os fatores que afetam a produção de linfócitos: menor produção de timulina e maior produção de glicocorticóide. A timulina é um hormônio importante para a maturação e diferenciação de linfócitos T e produção de células CD4+, cuja atividade biológica depende do zinco. A diminuída produção de citocinas e de interferon- α pelos leucócitos também está relacionada à deficiência de zinco. Esse elemento também induz os monócitos a produzirem interleucina-1, interleucina-6 e inibe a produção do fator de necrose tumoral, que está implicado na fisiopatologia da caquexia na síndrome da imunodeficiência adquirida (BAUM, SHOR-POSNER, CAMPA, 2000).

O zinco tem ação direta como regulador da apoptose celular, inibindo a atividade da endonuclease. Essa enzima destrói o DNA desencadeando a morte celular. Normalmente as células envelhecidas e anormais enviam um sinal que ativa uma série de eventos intracelulares eliminando as mesmas. Na deficiência deste metal há uma maior atividade da endonuclease e as células relativamente são também sofrem apoptose (KEEN, GERSHWIN, 1990).

Os estados crônicos de deficiência de zinco levam ao aparecimento de diarreia, alterações do crescimento, lesões de pele, infecções de repetição e comprometimento do desempenho neuropsicológico (HAMBIDGE, 2003).

2.5.2 Propriedades Antioxidantes do Zinco

O zinco está envolvido na estabilização de membranas estruturais e na proteção celular, prevenindo a oxidação de lipídeos e de proteínas. Difere dos outros metais de transição, pois contém a camada eletrônica "d" completa e assim não participa de reações redox, mas age como ácido de Lewis para aceitar um par de elétrons, fazendo com que seja um íon estável.

Os mecanismos pelos quais o Zn atua como antioxidante incluem a regulação da expressão da metalotioneína, a atividade da superóxido dismutase e a proteção de grupos sulfidrilas das proteínas das membranas celulares, por antagonismo com os metais pró-oxidantes como o cobre e ferro (POWELL, 2000; MARET, 2000).

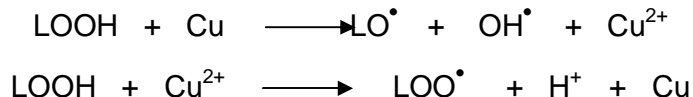
Diferentemente do Cu, a metalotioneína (MT) é uma proteína com capacidade para ligações apenas com 5 a 7 átomos de Zn por molécula, apresenta propriedades antioxidantes em diversas condições, tais como: exposição à radiação, drogas e metais pesados. A MT inibe a formação dos radicais livres pela ligação seletiva com íons cobre e ferro.

Sob condições de elevado estresse oxidativo, o zinco ligado à MT é liberado, resultando em maior disponibilidade de agrupamentos sulfidrilas reduzidos na MT prontos para atuar na proteção antioxidante. Por sua vez, o Zn liberado seria

redistribuído na célula, podendo ser utilizado em outros mecanismos antioxidantes. A capacidade de regulação da metalotioneína depende de um estado nutricional adequado de zinco (BRAY, BETTGER, 1990; MARET, 2000)

O zinco é componente estrutural e catalítico da enzima superóxido dismutase, presente no citoplasma de todas as células, e também compõe a enzima superóxido dismutase extracelular (EC-SOD), presente no plasma, na linfa e no líquido sinovial. A ação da SOD reduz a toxicidade dos radicais superóxido, transformando-os em peróxido de hidrogênio. A atividade da EC-SOD está reduzida nas deficiências de zinco (BRAY, BETTGER, 1990; POWELL, 2000).

Conforme citado anteriormente, o cobre e o ferro desempenham um papel importante na iniciação e propagação da peroxidação lipídica, pela conversão de hidroperóxidos lipídicos (LOOH) em radicais altamente reativos (alcoxila, LO^\bullet e peroxila, LOO^\bullet), conforme as reações abaixo:



Esses radicais, por sua vez, iniciam nova cadeia de reações com conseqüente destruição da camada lipídica da membrana celular. Nessas situações, o zinco também pode atuar como antioxidante por competição com o cobre ou ferro, deslocando esses metais do sítio de ligação no lipídeo, tornando-os mais disponíveis para se ligarem às metalotioneínas ou ferritina (CHEVION, 1988; STADTMAN, OLIVER, 1991).

No estudo de Powell et al. (1994) realizado em ratos, foi examinado o mecanismo potencial da cardioproteção mediado pelo zinco. Os autores demonstraram que durante a perfusão do coração isolado com solução contendo zinco a concentração de cobre e a formação do radical OH^\bullet diminuíram de modo significativo. Resultados semelhantes foram obtidos pelos mesmos autores em estudo posterior. Além da constatação da redução do cobre miocárdico, esse estudo demonstrou um decréscimo da oxidação da proteína, devido ao deslocamento do

cobre para fora da célula, e conseqüente redução da sua disponibilidade para a formação de radicais OH^{\bullet} (POWELL et al., 1999). Essas observações provêm bases para a teoria que o zinco atua como protetor cardíaco devido à inibição do estresse oxidativo mediado por metais, atuando de forma a inibir a apoptose.

2.6 ISQUEMIA E REPERFUSÃO DO MIOCÁRDIO

2.6.1 *Isquemia*

A isquemia miocárdica no ser humano pode ser decorrente não só de processos como a aterosclerose, tromboembolismo, angioplastia coronariana transluminal percutânea como também pode ser produzida durante as intervenções cirúrgicas cardíacas com circulação extracorpórea.

Qualquer que seja a origem da isquemia, as conseqüências são sempre as mesmas: falta de oxigênio e substrato ao miocárdio para manutenção do seu metabolismo.

Quando o miocárdio é submetido a um processo de isquemia, no primeiro minuto a via glicolítica é estimulada, mas é inibida finalmente pelo desenvolvimento de acidose tecidual. O oxigênio disponível é insuficiente para suprir a fosforilação oxidativa, e o piruvato, que deveria passar para o ciclo de Krebs, é convertido em ácido láctico. Em torno de dez minutos de isquemia o pH intracelular atinge 5,8 a 6,0 e a quantidade de partículas osmoticamente ativas como lactato, fosfato inorgânico e creatina aumenta (FLEET et al., 1985; JENNINGS, REIMER, STEENBERGEN, 1986).

Durante o período de isquemia as reservas de ATP são rapidamente depletadas, há acúmulo de ácido láctico, e são ativadas proteases intracelulares. A produção anaeróbica da ATP é insuficiente para suprir as necessidades teciduais e a refosforilação da ADP em ATP está muito lentificada pelo acúmulo de ácido láctico. Com isso, tem início uma série de eventos deletérios para a célula. Desses o mais importante é a inabilidade da célula para manter o balanço iônico da membrana devido a diminuição da atividade da $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase, acarretando acúmulo de sódio que é acompanhado por aumento na concentração do cálcio intracelular, devido à diminuição da troca $\text{Na}^+ / \text{Ca}^+$ (JENNINGS et al., 1985).

2.6.2 Reperusão

Em modelos animais experimentais a oclusão da artéria coronária por um tempo menor que 20 minutos não resulta em necrose muscular, mas a reperusão, embora necessária para reverter o estado isquêmico, desencadeia uma série de eventos responsáveis pela disfunção contrátil do miocárdio, que pode demorar várias horas para a completa recuperação.

Há mais de 30 anos, a disfunção pós-isquêmica do miocárdio foi descrita por Heyndrickx et al. (1975) em cães submetidos a breves episódios de oclusão coronariana seguidos de reperusão. Nessa época tal fenômeno recebeu pouca atenção. A partir de 1980 esse tema se tornou foco de crescente interesse, uma vez que a reperusão coronariana, através da terapia trombolítica, angioplastia percutânea ou cirurgias com pontes aorto-coronárias, é o tratamento indicado para os pacientes portadores de doenças das artérias coronárias.

Se o coração está globalmente isquêmico, como ocorre durante a circulação extracorpórea, a disfunção contrátil que se instala é global e mesmo após a restauração do fluxo sanguíneo, o miocárdio irá requerer horas ou dias antes que ocorra completa restauração da sua função. Portanto, a disfunção miocárdica pós-isquêmica é parte da história natural tanto das doenças das artérias coronárias, como também está presente após a circulação extracorpórea e contribui significativamente para a morbidade e mortalidade dessas situações clínicas.

A disfunção mecânica pós-isquêmica que persiste após a reperusão, isto é, após o restabelecimento do fluxo coronariano, apesar da ausência de dano irreversível, é denominada de aturdimento ou atordoamento cardíaco (BRAUNWALD, KLONER, 1985). Tanto a função sistólica quanto a função diastólica estão deprimidas nessa situação decorrente do desarranjo global das propriedades mecânicas do coração.

A injúria responsável pelo aturdimento miocárdico é composta pelos eventos que se desenvolveram durante a isquemia, denominado injúria isquêmica, e pelos

eventos ocorridos durante o período de reperfusão são mais representativos do que aqueles ocorridos durante o período de isquemia. No entanto, deve ser ressaltado que não representam eventos independentes. Por isso, atualmente, o termo mais apropriado para denominação é injúria de isquemia-reperfusão.

2.6.3 Mecanismos do Atordoamento Miocárdico

Até o presente as duas teorias que explicam o atordoamento miocárdico são as hipóteses do cálcio e dos oxirradicais.

2.6.3.1 Efeito do Cálcio

Os distúrbios da homeostase do cálcio podem ser explicados por 3 mecanismos: sobrecarga de cálcio, diminuição da responsividade das proteínas contráteis e desacoplamento excitação-contração. Estudos demonstram que o miocárdio aturdido mantém a responsividade às alterações do cálcio, porém a lesão é evidenciada pela incapacidade dos miofilamentos miocárdicos gerarem força máxima de contração. Dentre suas múltiplas ações, os radicais livres afetam as proteínas miofibrilares, pela oxidação do grupo thiol, sendo a injúria às proteínas contráteis a causa da depressão contrátil (KUSUOKA et al., 1990).

2.6.3.2 Hipótese dos Radicais Livres

No início da década de 80, vários autores postularam que o atordoamento miocárdico era causado em parte pela geração de espécies reativas de oxigênio, principalmente o anion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radical hidroxil (OH^{\bullet}) (BOLLI et al., 1989).

Entre as numerosas fontes potenciais para produção de espécies reativas de oxigênio no miocárdio pós-isquêmico estão: a cadeia mitocondrial de transporte de

elétrons na célula endotelial, o complexo NADPH-oxidase ligado à membrana dos neutrófilos, a oxidação das catecolaminas e os subprodutos do ácido araquidônico (ASHRAF, ZHAI, 1995; TAYLOR, SHAPPELL, apud MOSLEN, SMITH, 1996).

Cadeia Mitocondrial de Transporte de Elétrons

As mitocôndrias são as principais organelas envolvidas nas reações de oxidação celular e também a fonte principal de espécies reativas de oxigênio. O transporte de elétrons pela mitocôndria normalmente é um processo fortemente acoplado, resultando em uma redução eficiente de quatro elétrons de oxigênio molecular em duas moléculas de água. Sob condições normóxicas, cerca de apenas 2% do consumo de oxigênio mitocondrial resulta na produção de ânion superóxido (TAYLOR, SHAPPELL, apud MOSLEN, SMITH, 1996). Entretanto, sob condições de isquemia, à medida que o *pool* de adenina nucleotídeo diminui os centros mitocondriais de transporte de elétrons tornam-se cada vez mais reduzidos, deixando assim pouco ADP para ser utilizado como substrato. Resulta daí um aumento na produção mitocondrial de superóxido, que dismuta para produzir peróxido de hidrogênio. Quanto mais durar a fase isquêmica, mais tempo a mitocôndria permanecerá com a cadeia respiratória em estado reduzido e mais propensa a produzir superóxido e, conseqüentemente, o peróxido de hidrogênio aumenta. Na reintrodução do oxigênio, o substrato ADP é sempre limitante, e a produção mitocondrial de superóxido continuará. Portanto, o processo isquemia-reperfusão desencadeia um aumento na produção de radicais livres mitocondriais que podem levar à depleção das defesas antioxidantes e, assim, à lesão mitocondrial (VANDEPLASSCHE et al., 1989).

Produção de Superóxido pela Xantina Oxidase

A xantina desidrogenase é uma enzima presente em várias células, inclusive nas endoteliais capilares, e está envolvida na transferência de elétrons para o NAD^+ durante a oxidação da xantina ou da hipoxantina até a formação do ácido úrico sob condições normóxicas. Contudo, a maior disponibilidade de cálcio intracelular, decorrente do processo isquêmico, é capaz de converter a xantina desidrogenase

em xantina oxidase. Na restituição do oxigênio molecular para as células isquêmicas, a xantina oxidase metaboliza a hipoxantina acumulada com formação de ânions superóxido (Fig. 3).

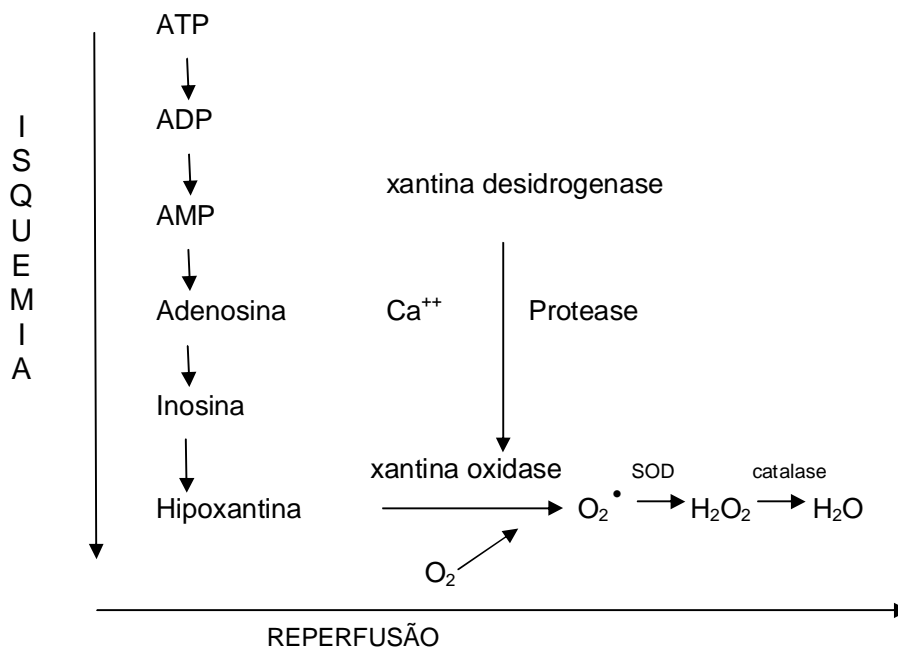


Figura 3 – Mecanismo proposto para geração de radicais livres de oxigênio após períodos de isquemia e reperfusão (adaptado de Granger, Hollwarth and Parks, 1986).

Formação de Espécies Reativas do Oxigênio pelos Neutrófilos

Associado à reperfusão do tecido miocárdico previamente isquêmico, neutrófilos ativados invadem o tecido reperfundido, como parte do processo inflamatório. Os neutrófilos determinam a produção de O₂⁻ via NADPH-oxidase. As mieloperoxidases liberadas das vesículas lisossomais reagem com o cloro na presença do H₂O₂ formando ácido hipocloroso, também extremamente tóxico para os tecidos (Fig. 4) (ZIMMERMAN, GRANGER, 1994).

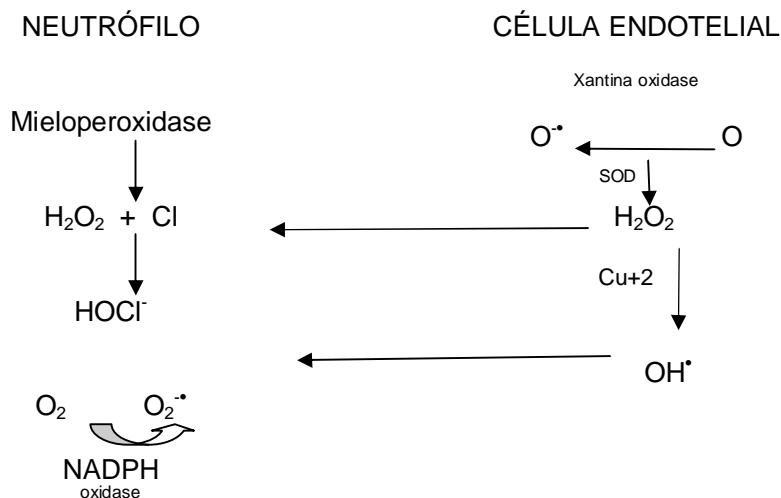


Figura 4 – Interação entre o neutrófilo e a célula endotelial com liberação dos radicais livres de oxigênio (adaptado de Ashraf and Zhai, 1995)

Esses neutrófilos ficam aderidos ao endotélio, liberam enzimas proteolíticas, citocinas, fator de necrose tumoral e metabólitos do ácido araquidônico, amplificando a resposta inflamatória e recrutando outras células, principalmente os mastócitos.

Oxidação das Catecolaminas

Infusão de altas doses de catecolaminas – adrenalina e noradrenalina – em animais de experimentação produz edema mitocondrial, ruptura miofibrilar da membrana plasmática e necrose miocárdica. As catecolaminas liberadas durante os períodos de isquemia-reperusão podem sofrer auto-oxidação, tornando-se capazes de doar elétrons para a formação de radicais livres (SINGAL, BEAMISH, DHALLA, 1983). *In vitro*, estudos demonstram que a oxidação da epinefrina, com produção de radicais hidroxila, em presença de íons de cobre é acentuada em situações de isquemia (ROBERTS et al., 2003).

Metabolismo do Ácido Araquidônico

O cálcio ativa tanto enzimas lisossômicas, responsáveis pela lesão de organelas celulares, como a enzima fosfolipase A₂, que induz a liberação do ácido araquidônico. Esse ácido ao ser metabolizado durante a reperfusão pela enzima cicloxigenase, origina os mediadores da inflamação como as prostaglandinas, tromboxanos e prostaciclina. Também dá origem aos leucotrienos pela ação da enzima lipoxigenase. Esses eicosanóides produzem efeitos vasoativos com aumento da permeabilidade vascular, agregação plaquetária e quimiotaxia dos neutrófilos (BRAUNWALD, KLONER, 1985).

O aumento da produção dos radicais livres foi confirmado em estudos conduzidos com modelos animais, onde a infusão de “varredores de radicais livres” como a catalase, superóxido dismutase, dimetiltiourea produziam significativa e sustentada melhora da função do miocárdio aturdido (BOLLI et al., 1989; JENNINGS et al., 1985; GRANGER et al., 1986).

A validação da hipótese dos oxiradicais foi realizada pela demonstração e quantificação dos radicais livres no miocárdio aturdido utilizando as “armadilhas químicas” de spin (α -fenil-N-butilnitrona – PBN) e a ressonância magnética.

Os radicais livres são elementos muito reativos e que podem atacar inespecificamente qualquer componente celular. Pelo menos dois componentes-chaves, as proteínas e os lipídeos, são os alvos das reações envolvendo radicais livres, com conseqüente desnaturação da proteína, inativação enzimática e peroxidação dos ácidos graxos poliinsaturados que constituem parte das membranas celulares. As conseqüências são a perda da permeabilidade seletiva da membrana e interferência na função de várias organelas celulares (BOLLI, 1990).

Concluindo, os tecidos que foram submetidos à isquemia seguidos de reperfusão apresentam uma série de lesões e perturbações, que são devidas à falência energética da célula, à produção de radicais livres e à reação inflamatória sistêmica, com a participação de mediadores teciduais.

2.7 COBRE E ZINCO DURANTE A CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Os elementos traço têm papel relevante na fisiopatologia do miocárdio, mas as diversas metodologias utilizadas nos estudos para avaliar suas alterações durante e após a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea não permitem uma conclusão definitiva.

O estudo de Meltzer et al. (1980) realizado em 12 pacientes adultos, demonstrou diminuição na concentração de cobre e zinco durante a circulação extracorpórea, que foi atribuída à hemodiluição. Com 10 minutos de reperfusão a concentração de zinco aumentou, mas diminuiu novamente no primeiro dia de pós-operatório. A concentração de cobre continuou baixa até o sétimo dia de pós-operatório. As concentrações miocárdicas de Cu e Zn permaneceram inalteradas. Resultados semelhantes foram obtidos em outros estudos com pacientes adultos (SJÖGREN, LÜHRS, ABDULLA, 1986; ZHAO, 1989).

No estudo de Zamparelli et al. (1986), realizado em pacientes adultos, as concentrações intramiocárdica de cobre e zinco aumentaram durante o período de oclusão da aorta quando comparadas com o período pós-operatório. No entanto, as concentrações plasmáticas de cobre e zinco diminuíram significativamente durante a CEC, aumentando ao final do procedimento e diminuindo novamente no período pós-operatório. Os autores atribuíram a diminuição da concentração dos elementos traço à hemodiluição e também como parte da resposta do organismo ao trauma cirúrgico.

Um estudo publicado por Fraser et al. (1989) para verificar as alterações das concentrações de zinco e das proteínas transportadoras evidenciou que após o início da cirurgia ocorreu um aumento da concentração do zinco plasmático, seguido por uma diminuição. Os autores correlacionaram essa diminuição com o trauma desencadeado pela cirurgia, como já previamente relatado, e que a liberação de zinco a partir dos estoques intracelulares, resultado do dano tecidual, explicaria o aumento observado inicialmente.

Estudando os efeitos do zinco no músculo esquelético submetido à isquemia e reperfusão, Atahan et al. (2007) observaram que no grupo de animais que receberam aspartato de zinco e que foram submetidos à isquemia muscular as concentrações de superóxido dismutase, catalase e glutathione peroxidase foram menores do que nos outros grupos que não receberam suplementação de zinco. Concluíram que o aspartato de zinco é um tratamento efetivo contra as injúrias causadas pela isquemia e reperfusão.

O estudo conduzido por Fuhrer et al. (1986) em pacientes adultos, demonstrou que as concentrações de cobre aumentaram significativamente após o início da CEC, com diminuição após 40 minutos. As concentrações de zinco também aumentaram significativamente durante a cirurgia, para então diminuir atingindo novamente a concentração normal apenas no quinto dia de pós-operatório.

No estudo de DEMENTEVA et al. (1993) em 10 pacientes adultos as concentrações dos elementos traço no sangue diminuíram consideravelmente durante a cirurgia, e a hemodiluição causada pela solução cristalóide usada para o preenchimento dos circuitos da máquina de assistência cardiocirculatória, não foi o único fator causal, pois apesar da normalização do hematócrito as concentrações de Cu e Zn não atingiram os valores pré-perfusão. Os autores também relataram que as concentrações desses elementos foram menores nos pacientes que desenvolveram insuficiência cardíaca no pós-operatório imediato.

O estudo de Al-Bader et al. (1998), em 67 adultos, demonstrou que após 30 minutos de CEC a concentração plasmática de Zn diminuiu em torno de 50% dos valores pré-operatórios. O consumo ou redistribuição do Zn foi atribuído à intensa resposta inflamatória que ocorre durante a CEC, pois o zinco é importante para a função normal do sistema imune, devido ao seu envolvimento nas enzimas e também pelos seus efeitos mitogênicos. Por outro lado, o cobre aumentou durante a CEC, seguido de redução gradual, até alcançar os valores normais no 5º dia após a cirurgia. Os autores sugerem que essa diminuição ocorreu em função da participação do Cu na enzima superóxido-dismutase, potente “varredora” dos radicais livres. Nesse estudo, os autores correlacionaram a relação Cu/Zn com a

gravidade do processo inflamatório e observaram que quanto maior a relação Cu/Zn, tanto maior o processo inflamatório.

Dessa forma, a literatura disponível mostra resultados contraditórios. No que diz respeito aos estudos na população pediátrica, esses são praticamente inexistentes.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Verificar as alterações plasmáticas do cobre e do zinco em crianças submetidas à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Analisar a dinâmica da frequência cardíaca e da pressão arterial nas primeiras 24 horas de pós-operatório.
2. Correlacionar as variações da frequência cardíaca e pressão arterial com as variações do cobre e zinco durante as primeiras 24 horas após a cirurgia.
3. Correlacionar tempo de CEC, tempo de anóxia, temperatura e intervalo QTc com as variações do cobre, ceruloplasmina e zinco.
4. Analisar a dinâmica das concentrações plasmáticas do cobre durante e após a cirurgia.
5. Determinar as concentrações plasmáticas da ceruloplasmina durante e após a cirurgia cardíaca e correlacionar com as concentrações de cobre.
6. Analisar a dinâmica das concentrações plasmáticas do zinco durante e após a cirurgia.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 ASPECTOS GRÁFICOS DO TRABALHO

A estruturação do estudo, em linhas gerais, seguiu as normas elaboradas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), atualizada até a emenda 1 da NBR 14724, válida a partir de 30/01/2006 (SANTOS, 2006), adotando-se também o sistema autor – data para as citações no texto.

4.2 POPULAÇÃO

Este estudo prospectivo, observacional foi conduzido no Hospital Sociedade Beneficente Santa Casa de Campo Grande-MS, centro de referência terciário para cirurgia cardíaca pediátrica.

Vinte e uma crianças de ambos os sexos, com doença cardíaca congênita sem cianose clínica, com idade entre 2 e 14 anos, com peso maior ou igual a 10 kg, submetidas à cirurgia cardíaca eletiva com circulação extracorpórea para correção da malformação cardíaca foram incluídas no estudo entre Maio de 2005 a Dezembro de 2006.

O protocolo para a investigação foi devidamente aprovado pela Comissão de Ética Médica do Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Anexo 1). O consentimento expresso para realização do estudo também foi obtido da diretoria clínica do Hospital Santa Casa. O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido previamente de um dos pais de cada participante do estudo (Anexo 2).

Os pacientes pediátricos que fizeram parte do estudo foram internados na enfermaria de cardiologia pediátrica no dia anterior à cirurgia. Os exames

laboratoriais foram realizados previamente à internação, durante a semana que precedeu a intervenção cirúrgica.

4.2.1 Critérios de Exclusão

Não foram incluídas no estudo crianças portadoras de cardiopatia congênita cianogênica, ou submetidas à cirurgia cardíaca de urgência ou emergência. Também não foram incluídas crianças com doença inflamatória crônica, patologias em outros órgãos ou sistemas, doenças do metabolismo do cobre, em uso de suplementação de cobre ou zinco. Foram excluídas do estudo as amostras de sangue que apresentaram hemólise.

4.3 EQUIPE

A equipe responsável pelo Serviço de Cirurgia Cardíaca Pediátrica da Santa Casa é composta pelos médicos cirurgiões cardíacos Aparecida Afif el Ossais e Marcus Vinícius Reggiori Pereira Caldas, médico anestesiológico Ivoney Assad Villa Maior, instrumentadora Elaide Maria Follman, perfusionista Lindaura da Silva Rodrigues e duas auxiliares de enfermagem. Durante este estudo não houve mudança de nenhum dos membros da equipe de cirurgia cardíaca, do protocolo da circulação extracorpórea, dos procedimentos operacionais ou da técnica analítica.

4.4 ANESTESIA

A anestesia foi induzida com citrato de fentanila (Fentanil[®] Cristália), na dose de 3 µg/kg, midazolam (Dormonid[®], Roche) na dose de 0,2 mg/kg, propofol (Propofol[®], Cristália), na dose de 1 mg/kg e cloridrato de cetamina (Ketamin[®], Cristália), na dose de 0,5 mg/kg e oxigênio inalatório a 100%. A anestesia foi mantida com infusão contínua de propofol, 1,2 µg/kg/min e cloridrato de alfentanila (Alfenta[®], Cristália), na dose de 0,5 µg/kg/min. Nos casos de hipertensão pulmonar o

propofol foi substituído por bomba de cetamina, 30 µg/kg/min e fentanil, 0,05 µg/kg/min.

Relaxamento muscular foi realizado com brometo de pancurônio (Pancuron[®], Cristália), na dose de 0,1 mg/kg e repetido no início da circulação extracorpórea, na dose de 0,05 mg/kg.

Nos casos de hipertensão arterial o gás isoflurane (Isoforine[®], Cristália) foi introduzido por via inalatória, na concentração alveolar mínima de 0,5% a 1%.

Durante a cirurgia todos os pacientes foram monitorizados com monitor multicanal incluindo frequência cardíaca, frequência respiratória, eletrocardiograma nas derivações D₂ e V₅ e oximetria de pulso (Dixtal[®]). A pressão arterial foi monitorizada continuamente pela leitura em coluna de mercúrio através de um sistema acoplado em cateter colocado, por punção na artéria radial. A temperatura retal foi continuamente monitorizada por um eletrodo introduzido no reto previamente ao procedimento.

4.5 CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

O circuito de circulação extracorpórea infantil consistiu de uma bomba de rolete (Macchi BM6), circuitos, reservatório de sangue venoso e oxigenador de membrana capilar (Edwards Lifesciences OXIM II-06 Plus). O circuito foi preenchido com uma mistura de concentrado de hemáceas, plasma, ou solução de Ringer lactato (Biosintética[®]), no volume de 600 ml, para crianças com peso até 20 kg e 1200 ml para crianças entre 20 a 40 kg.

Albumina humana (Sanofi Aventis[®]), 20 a 40 ml, gluconato de cálcio, 10 a 30 ml e hidrocortisona, 10 mg/kg foram adicionados ao perfusato. Bicarbonato de sódio, sulfato de magnésio e cloreto de potássio foram utilizados de acordo com as dosagens bioquímicas realizadas durante o procedimento.

Todos os pacientes foram submetidos à hipotermia moderada, até 26 °C.

O fluxo de perfusão foi de 80 a 100 ml/kg/min para pacientes entre 11 e 20 kg e de 60 a 80 ml/kg/min para pacientes entre 21 e 40 kg.

Cardioplegia foi realizada com a solução cardioplégica HC (Divisão de Farmácia ICHCFM-USP), na dose de 20 a 30 ml/kg. Heparina (Heparin[®], Cristália) foi infundida na dose de 4 mg/kg, imediatamente antes do início da circulação extracorpórea. O efeito anticoagulante da heparina na circulação sistêmica foi monitorizado pelo tempo de coagulação ativado (TCA). A heparinização sistêmica foi considerada adequada quando o TCA alcançou um mínimo de 480 segundos. No final da CEC a heparina foi neutralizada com sulfato de protamina (Protamina[®], ICN) na dose de 1 mg para cada 100 UI de heparina.

4.6 AMOSTRAS DE SANGUE

As amostras de sangue foram coletadas pessoalmente pela autora deste estudo em seringas de polipropileno. O material foi imediatamente transferido para tubos a vácuo, próprios para coleta de elementos traço (BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions[®] - Becton, Dickinson and Company), e centrifugado durante 15 minutos com uma força relativa de centrifugação de 3000 g. Os soros foram distribuídos em tubos eppendorf de polipropileno e imediatamente congelados a -18°C.

A primeira amostra (A) foi coletada através do cateter venoso central, logo após a anestesia, antes do início da cirurgia, e foi utilizada para estabelecer os parâmetros basais. A segunda amostra (B) foi colhida do átrio direito, antes da colocação das cânulas de perfusão nas veias cavas. Após o início da CEC foram colhidas amostras de sangue através do oxigenador do circuito da CEC, no 5º minuto (C) e no 10º minuto (D). No período de reperfusão foram coletadas amostras do seio coronário (I) e do oxigenador do circuito da CEC (J), concomitantemente, no 3º minuto após a remoção da pinça da aorta. A amostra M foi colhida após a retirada do paciente da CEC, durante o fechamento do tórax, através do cateter da artéria radial. Uma última amostra (N) foi colhida do cateter arterial, 24 horas após o procedimento cirúrgico.

A amostra de sangue do seio coronário foi colhida através de um cateter de polietileno previamente instalado para esta finalidade, antes do fechamento do átrio direito.

4.7 ANÁLISE LABORATORIAL DAS AMOSTRAS

Todos os materiais de plástico ou de vidro utilizados no estudo ficaram previamente imersos por um período mínimo de 24 horas em solução de Extran (Merck) a 5%, enxaguados abundantemente em água corrente e novamente imersos por, pelo menos, 24 horas em solução de ácido nítrico (Merck) a 10%, para descontaminação de qualquer resíduo de metal. Em seguida, foram lavados copiosamente com água ultrapura do tipo Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos) e secados em estufa a 40°C.

Um espectrômetro de absorção atômica (Varian modelo SpectrAA 220 FS) equipado com lâmpada de deutério como corretor de fundo, foi utilizado nesse estudo nas seguintes condições: lâmpadas de cátodo oco (Varian Techtron) e comprimento de onda de 324,7 nm para leitura do Cu, e 213,9 nm para leitura do Zn. A chama oxidante de acetileno/ar foi utilizada para a determinação de ambos os metais. Corrente de lâmpada e largura de fenda foram utilizadas conforme recomendações do catálogo do fabricante. O fluxo de entrada das amostras e padrões no nebulizador do espectrômetro foi de 1,3 ml/min e a leitura de absorbância foi de 10 segundos cada, sendo expresso o valor médio de três leituras. Cada amostra foi lida em duplicata. O resultado final considerado foi a média das leituras das amostras.

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico (Merck). As soluções utilizadas foram preparadas com água purificada por um sistema Milli-Q (resistência 18,2 mW/cm) e armazenadas em recipientes plásticos previamente descontaminados.

Soluções padrão contendo 1000 mg/l de metal foram adquiridas da Aldrich (Milwaukee, WI, USA). As soluções de referência para a curva analítica foram

preparadas por diluição da solução padrão estoque. As curvas analíticas foram construídas com no mínimo 5 concentrações com valores entre 0,03 e 0,80 mg /l. A equação da reta foi obtida pelo método dos mínimos quadrados e apresentou coeficiente de correlação superior a 0,997.

Para a realização das leituras as amostras de soro foram descongeladas e homogeneizadas. O procedimento consistiu na diluição de 500 µl de soro em 2000 µl de água ultrapura. Para a análise a solução foi aspirada através de um capilar de plástico diretamente para dentro da chama do espectrômetro de absorção atômica (SUBRAMANIAN, 1996; TERRÉS-MARTOS et al., 1997).

A ceruloplasmina foi dosada pelo método nefelométrico utilizando um Nefelômetro N-100 (Dade Behring, Roche®). Essa técnica emprega um instrumento especializado que permite medir a concentração de partículas (grau de turbidez) em um solvente formada pela interação das imunoglobulinas com a antiimunoglobulina adicionada ao soro.

Curvas de referência foram obtidas por calibração de pontos múltiplos com os controles N/T Protein SL/L, M e H (Dade Behring, Roche®). As amostras foram descongeladas até a temperatura ambiente e 200 µl foram automaticamente diluídas pelo aparelho na proporção de 1: 20 com N diluente, e lidos. Os valores considerados normais para a concentração sérica da ceruloplasmina estão no intervalo 0,2 a 0,6 g/l (DATI et al., 1996).

4.8 CÁLCULO DAS CONCENTRAÇÕES PARA A HEMODILUIÇÃO

A seguinte fórmula para diluição de soluções foi utilizada:

Volume inicial x Concentração inicial = Volume final x Concentração final

O cálculo da volemia foi realizado usando o hematócrito como marcador da hemodiluição, pela utilização da fórmula acima (SOUZA, ELIAS, 2006):

$$\text{Volemia final} = \frac{\text{Hematócrito inicial} \times \text{Volemia inicial}}{\text{Hematócrito final}}$$

Uma vez calculada a nova situação volêmica do paciente após o início da circulação extracorpórea, foram então calculadas as concentrações de cobre, zinco e ceruloplasmina para os diversos momentos do estudo.

Exemplificando o uso da fórmula para os cálculos do Zn, para os momentos A, B, C, D, I, J, M e N foram obtidos os seguintes valores:

Tabela 1 – Exemplo dos resultados obtidos e dos resultados esperados para a hemodiluição para o 16º paciente.

Caso clínico	Amostras						
Nº 16	A	C	D	I	J	M	N
Zn dosado	1,05	0,68	0,59	0,37	0,46	0,66	0,06
Zn esperado		0,85	0,85	0,85	0,85	1,03	1,06

Conforme observado acima, os valores encontrados foram ainda menores do que aqueles que seriam esperados para a situação de hemodiluição.

4.9 PARÂMETROS CLÍNICOS

A frequência cardíaca foi obtida nos momentos da coleta de sangue, antes do início da CEC, após o seu término e durante as primeiras 24 horas de pós-operatório. A frequência cardíaca normal para a faixa etária pediátrica foi considerada conforme Tabela 2.

A pressão arterial foi obtida nos momentos da coleta de sangue e durante as primeiras 24 horas de pós-operatório. A pressão arterial normal para a faixa etária pediátrica foi considerada conforme Tabelas 3 e 4 (National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents, 1996) (Apêndices A e B).

Tabela 2 – Frequência cardíaca em crianças normais de acordo com a faixa etária.

Idade	Condição de medida em batimentos por minuto		
	Em repouso, acordado	Dormindo	Exercício
3 meses a 2 anos	80 - 150	70 - 120	200
2 anos a 10 anos	70 - 110	60 - 90	200
Acima de 10 anos	55 - 90	50 - 90	200

Fonte: GILLETTE et al., 1983.

4.10 ELETROCARDIOGRAMA

Para o eletrocardiograma registrado em 12 derivações foi utilizado um eletrocardiógrafo da marca Ecafiz, numa velocidade de 25 mm/s e ganho de 10 mV/cm. Este exame foi feito juntamente com os exames pré-operatórios. Também foi repetido após a cirurgia, na chegada do paciente na Unidade de Terapia Intensiva. Foram analisadas as frequências, ritmo cardíaco, presença de arritmias cardíacas, o comportamento da onda T e intervalo QTc.

4.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A comparação entre os momentos de análise, em relação à concentração plasmática de cobre, ceruloplasmina, zinco e a razão cobre/zinco, foi realizada por meio do teste não paramétrico de Friedman, seguido pelo pós-teste de Dunn, para múltiplas comparações com o momento B. O mesmo teste e pós-teste foram utilizados para a comparação dos 4 períodos de tempo (de 6 em 6 horas), após a CEC, em relação à frequência cardíaca, e em relação à pressão arterial sistólica, diastólica e média. A comparação entre sexos, em relação à concentração plasmática de zinco e cobre, no momento A de mensuração, foi realizada por meio do teste de Mann-Whitney. O nível de correlação linear entre a concentração plasmática de zinco, cobre e ceruloplasmina, em relação à idade, a massa corporal, ao tempo de CEC, ao tempo de anoxia, à temperatura corporal e percentil peso para a idade, foi analisado por meio do teste de correlação linear de Spearman. O mesmo teste foi utilizado para analisar o nível de correlação linear entre a concentração de

cobre e a concentração de ceruloplasmina. A comparação entre o tempo antes e o tempo após, em relação à variável QTc, no eletrocardiograma, foi realizada por meio do teste não-paramétrico de Wilcoxon. Os demais resultados das variáveis avaliadas neste estudo foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de tabelas e gráficos. A análise estatística foi realizada utilizando-se o “Software” SigmaStat, versão 2.0, considerando diferenças e correlações significativas quando o valor de “ p ” foi menor que 0,05.

5 RESULTADOS

5.1 Neste estudo foram avaliados 21 pacientes, com idade variando entre 27 e 170 meses, com idade média de $80,14 \pm 9,27$ meses (média \pm erro padrão da média). Destes, 66,67 % (n= 14) eram do sexo feminino e 33,33 % (n=7) eram do sexo masculino. O peso médio dos pacientes foi de $24,82 \pm 2,94$ kg. Já o percentil peso para a idade dos pacientes variou de 3 a acima de 97, sendo o percentil médio de $42,14 \pm 6,18$. As anomalias cardíacas congênitas dos pacientes estão apresentadas na Tabela 5. Os dados demográficos dos pacientes e as informações cirúrgicas estão expressos na Tabela 10.

5.2 A concentração plasmática de cobre entre as crianças do sexo feminino, no momento A de mensuração, foi de $1,29 \pm 0,14$ mg/l, enquanto que para as do sexo masculino ela foi de $1,37 \pm 0,22$ mg/l. Não houve diferença significativa entre sexos, em relação à concentração plasmática de cobre (teste de Mann-Whitney, $p= 0,22$). A concentração plasmática de zinco entre as crianças do sexo feminino, no momento A de mensuração, foi de $0,72 \pm 0,10$ mg/l, enquanto que para as do sexo masculino ela foi de $0,85 \pm 0,13$ mg/l. Não houve diferença significativa entre sexos, em relação à concentração plasmática de zinco (teste de Mann-Whitney, $p= 0,43$).

5.3 Não houve correlação linear entre a concentração de cobre, ceruloplasmina e zinco, mensurada no momento A, e a idade/peso dos pacientes. Estes resultados estão apresentados na Tabela 6.

5.4 A pressão arterial sistólica, diastólica e média dos pacientes, nas primeiras 24 horas após a CEC, estão apresentadas na Figura 5. Agrupando-se os valores relativos à pressão arterial, de 6 em 6 horas, obteve-se a média da pressão em 4 períodos (1-6h; 7-12h; 13-18h; 19-24h). A pressão arterial sistólica nos 4 períodos foi respectivamente: $89,07 \pm 2,36$ mmHg; $104,45 \pm 2,29$ mmHg; $109,05 \pm 2,26$ mmHg e $112,25 \pm 1,93$ mmHg. Na comparação entre os períodos, houve uma diferença significativa entre eles (teste de Friedman, $p < 0,001$), sendo que a pressão arterial

sistólica observada no segundo, terceiro e quarto períodos foi maior do que aquela observada no primeiro período de tempo (pós-teste de Dunn, $p < 0,05$). A pressão arterial diastólica nos 4 períodos foi respectivamente: $50,19 \pm 1,08$ mmHg; $58,29 \pm 1,39$ mmHg; $59,84 \pm 1,59$ mmHg e $62,95 \pm 1,50$ mmHg. Na comparação entre os períodos, houve uma diferença significativa entre eles (teste de Friedman, $p < 0,001$), sendo que a pressão arterial diastólica observada no segundo, terceiro e quarto períodos foi maior do que aquela observada no primeiro período de tempo (pós-teste de Dunn, $p < 0,05$). O mesmo foi observado em relação à pressão arterial média, sendo os valores em cada período: $62,76 \pm 1,53$ mmHg; $71,22 \pm 1,65$ mmHg; $74,71 \pm 1,52$ mmHg e $75,60 \pm 1,39$ mmHg.

5.5 A frequência cardíaca nas primeiras 24 horas após a CEC, está apresentada na Figura 6. Da mesma forma que para a pressão arterial, agrupando-se os valores de 6 em 6 horas, obteve-se a média da frequência cardíaca em 4 períodos. A frequência cardíaca nos 4 períodos foi respectivamente: $146,00 \pm 4,13$ bpm; $131,89 \pm 3,39$ bpm; $125,04 \pm 3,40$ bpm e $126,98 \pm 3,02$ bpm. Na comparação entre os períodos, houve uma diferença significativa entre eles (teste de Friedman, $p < 0,001$), sendo que a frequência cardíaca observada no terceiro e quarto períodos foi menor do que aquela observada no primeiro período de tempo. Além disso, a frequência cardíaca observada no terceiro período foi menor do que aquela observada no segundo período de tempo (pós-teste de Dunn, $p < 0,05$).

5.6 O intervalo QTc no eletrocardiograma antes da CEC foi de $0,41 \pm 0,01$ ms, enquanto que após a CEC o intervalo QTc foi de $0,43 \pm 0,01$ ms. Após a CEC o intervalo QTc foi significativamente maior do que aquele observado antes da CEC (teste de Wilcoxon, $p = 0,008$). Achatamento da onda T foi observada em oito crianças representando 38% dos casos.

5.7 Em relação às arritmias cardíacas, uma criança apresentou taquicardia juncional nas primeiras 24 horas de pós-operatório, representando 4,8 %.

5.8 Não houve correlação linear entre a concentração de cobre, mensurada nos momentos M ou N e o tempo de CEC, tempo de anóxia, temperatura dos pacientes, intervalo QTc do eletrocardiograma e percentil peso. O mesmo foi observado em

relação à concentração de zinco. Para a ceruloplasmina, houve uma correlação linear positiva significativa entre a enzima e o intervalo QTc no eletrocardiograma, no momento N de mensuração. As demais variáveis não foram correlacionadas linearmente com a ceruloplasmina (teste de correlação linear de Spearman). Estes resultados estão apresentados na Tabela 7.

5.9 Não houve correlação linear entre as concentrações de cobre e zinco, mensuradas nos momentos M ou N e a pressão arterial, tanto sistólica, como diastólica e média. Nos mesmos momentos (M e N) também não houve correlação linear entre a concentração de cobre e zinco com a frequência cardíaca dos pacientes (teste de correlação linear de Spearman). Estes resultados estão apresentados nas Tabelas 8 e 9 respectivamente.

5.10 A concentração plasmática de cobre nos momentos A, B, C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $1,32 \pm 0,12$ mg/l, $1,21 \pm 0,10$ mg/l, $0,87 \pm 0,09$ mg/l, $0,91 \pm 0,10$ mg/l, $0,77 \pm 0,07$ mg/l, $0,74 \pm 0,07$ mg/l, $0,93 \pm 0,08$ mg/l e $1,21 \pm 0,09$ mg/l, respectivamente. Na comparação entre os momentos, houve diferença significativa entre eles (teste de Friedman, $p < 0,001$), sendo a concentração plasmática de cobre observada no momento B significativamente maior do que aquela observada nos momentos C, D, J e M (pós-teste de Dunn, $p < 0,05$) (Fig. 7). Já a concentração plasmática de cobre esperada na hemodiluição nos momentos C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $0,98 \pm 0,11$ mg/l, $0,98 \pm 0,11$ mg/l, $0,98 \pm 0,11$ mg/l, $0,98 \pm 0,11$ mg/l, $1,37 \pm 0,16$ mg/l e $1,48 \pm 0,15$ mg/l, respectivamente. Na comparação entre os momentos, houve diferença significativa entre eles, em relação à concentração plasmática de cobre esperada na hemodiluição (teste de Friedman, $p < 0,001$), porém no pós-teste de Dunn não foram observadas diferenças entre o momento B e os demais ($p > 0,05$). Na comparação entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição, houve diferença entre elas nos momentos I, J, M e N (teste de Wilcoxon, I: $p = 0,007$; J: $p < 0,001$; M: $p < 0,001$; N: $p = 0,048$). Nos demais momentos não houve diferença entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição (teste de Wilcoxon, A: $p = 1,00$; B: $p = 1,00$; C: $p = 0,08$; D: $p = 0,31$). Estes resultados estão apresentados na Figura 8.

5.11 A concentração plasmática de zinco calculada nos momentos A, B, C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $0,76 \pm 0,08$ mg/l, $0,66 \pm 0,05$ mg/l, $0,46 \pm 0,03$ mg/l, $0,45 \pm 0,04$ mg/l, $0,46 \pm 0,04$ mg/l, $0,41 \pm 0,03$ mg/l, $0,59 \pm 0,04$ mg/l e $0,41 \pm 0,05$ mg/l, respectivamente. Na comparação entre os momentos, houve diferença significativa entre eles (teste de Friedman, $p < 0,001$), sendo a concentração plasmática de zinco observada no momento B significativamente maior do que aquela observada para os momentos C, D, J, I e N (pós-teste de Dunn, $p < 0,05$) (Fig. 7). Já a concentração plasmática de zinco esperada na hemodiluição nos momentos C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $0,57 \pm 0,07$ mg/l, $0,57 \pm 0,07$ mg/l, $0,57 \pm 0,07$ mg/l, $0,57 \pm 0,07$ mg/l, $0,77 \pm 0,09$ mg/l e $0,85 \pm 0,10$ mg/l, respectivamente. Na comparação entre os momentos, houve diferença significativa entre eles, em relação à concentração plasmática de zinco esperada na hemodiluição (teste de Friedman $p < 0,001$), porém no pós-teste de Dunn não foram observadas diferenças entre o momento B e os demais ($p > 0,05$). Na comparação entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição, houve diferença entre elas nos momentos J e N (teste de Wilcoxon, J: $p = 0,048$; N: $p = 0,003$). Nos demais momentos não houve diferença entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição (teste de Wilcoxon, A: $p = 1,00$; B: $p = 1,00$; C: $p = 0,20$; D: $p = 0,09$; I: $p = 0,42$; M: $p = 0,09$). Estes resultados estão apresentados na Figura 8.

5.12 A razão entre a concentração plasmática de cobre e a concentração plasmática de zinco (Cu/Zn), nos momentos A, B, C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $2,13 \pm 0,32$, $1,97 \pm 0,17$, $2,01 \pm 0,22$, $2,16 \pm 0,31$, $2,08 \pm 0,35$, $2,84 \pm 0,93$, $1,64 \pm 0,16$ e $3,76 \pm 0,51$, respectivamente. Na comparação entre os momentos, houve diferença significativa entre eles (teste de Friedman, $p < 0,001$), sendo a razão Cu/Zn observada no momento B significativamente menor do que aquela observada no momento N (pós-teste de Dunn, $p < 0,05$) (Fig. 7). Já a razão entre concentração plasmática de cobre e zinco (Cu/Zn) esperada na hemodiluição, nos momentos C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $2,13 \pm 0,32$ mg/l, $2,13 \pm 0,32$ mg/l, $2,13 \pm 0,32$ mg/l, $2,13 \pm 0,32$ mg/l, $2,14 \pm 0,32$ mg/l e $2,14 \pm 0,32$ mg/l, respectivamente. Na comparação entre os momentos, não houve diferença significativa entre eles, em relação à concentração plasmática esperada na hemodiluição de cobre sobre a de zinco (teste de Friedman, $p = 0,97$). Na comparação entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição, houve diferença entre elas apenas no momento

N (teste de Wilcoxon, $p= 0,01$). Nos demais momentos não houve diferença entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição (teste de Wilcoxon, A: $p= 1,00$; B: $p= 1,00$; C: $p= 0,89$; D: $p= 0,38$; I: $p= 0,60$; J: $p= 0,89$; M: $p= 0,08$). Estes resultados estão apresentados na Figura 8.

5.13 A concentração plasmática de ceruloplasmina nos momentos A, B, C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $0,35\pm 0,02$ mg/l, $0,36\pm 0,02$ mg/l, $0,21\pm 0,01$ mg/l, $0,23\pm 0,01$ mg/l, $0,20\pm 0,01$ mg/l, $0,21\pm 0,01$ mg/l, $0,23\pm 0,01$ mg/l e $0,37\pm 0,01$ mg/l, respectivamente. Na comparação entre os momentos, houve diferença significativa entre eles (teste de Friedman, $p < 0,001$), sendo a concentração plasmática de ceruloplasmina observada no momento B significativamente maior do que aquela observada nos momentos C, D, I, J e M (pós-teste de Dunn, $p < 0,05$). Já a concentração plasmática de ceruloplasmina esperada na hemodiluição nos momentos A, B, C, D, I, J, M e N, em relação à CEC, foi de $0,35\pm 0,02$ mg/l, $0,36\pm 0,02$ mg/l, $0,26\pm 0,02$ mg/l, $0,26\pm 0,02$ mg/l, $0,26\pm 0,02$ mg/l, $0,26\pm 0,02$ mg/l, $0,35\pm 0,02$ mg/l e $0,39\pm 0,02$ mg/l, respectivamente. Na comparação entre os momentos, houve diferença significativa entre eles, em relação à concentração plasmática esperada na hemodiluição de ceruloplasmina (teste de Friedman, $p < 0,001$), porém no pós-teste de Dunn não foram observadas diferenças entre o momento B e os demais ($p > 0,05$). Na comparação entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição, houve diferença entre elas nos momentos C, I, J e M (teste de Wilcoxon, C: $p < 0,001$; I: $p < 0,001$; J: $p = 0,002$; M: $p < 0,001$). Nos demais momentos não houve diferença entre a concentração calculada e aquela esperada na hemodiluição (teste de Wilcoxon, A: $p = 1,00$; B: $p = 1,00$; D: $p = 0,07$; N: $p = 0,38$). Estes resultados estão apresentados na Figura 9. Os resultados referentes às concentrações de ceruloplasmina calculadas e aquelas esperadas para a hemodiluição estão ilustradas na Figura 10.

5.14 Houve uma correlação linear positiva significativa entre a concentração plasmática de cobre e aquela de ceruloplasmina, utilizando os valores médios destas variáveis, nos momentos de mensuração A, B, C, D, I, J, M e N (teste de correlação linear de Spearman, $p < 0,001$, $r = 0,87$). Estes resultados estão apresentados na Figura 11.

Tabela 5 – Anomalias cardíacas congênitas de 21 crianças submetidas à cirurgia cardíaca com CEC.

Cardiopatía congênita	Número
Comunicação interatrial	9
Comunicação interventricular	7
Comunicação interventricular e Estenose pulmonar	2
Comunicação interventricular e Hipertensão pulmonar	1
Cor triatriatum	1
Comunicação interatrial e Drenagem venosa anômala pulmonar	1

Tabela 6: Correlação linear entre a concentração plasmática de cobre, zinco e ceruloplasmina mensurada no momento A com a idade e peso dos pacientes.

Correlação	Valor de p^*	Valor de r
Zinco (A) X idade	0,53 NS	0,14
Zinco (A) X peso	0,65 NS	0,10
Cobre (A) X idade	0,98 NS	0,01
Cobre (A) X peso	0,86 NS	0,04
Ceruloplasmina (A) X idade	0,63 NS	0,11
Ceruloplasmina (A) X peso	0,44 NS	0,18

Valor de " p " no teste de correlação linear de Spearman;
NS=correlação não significativa.

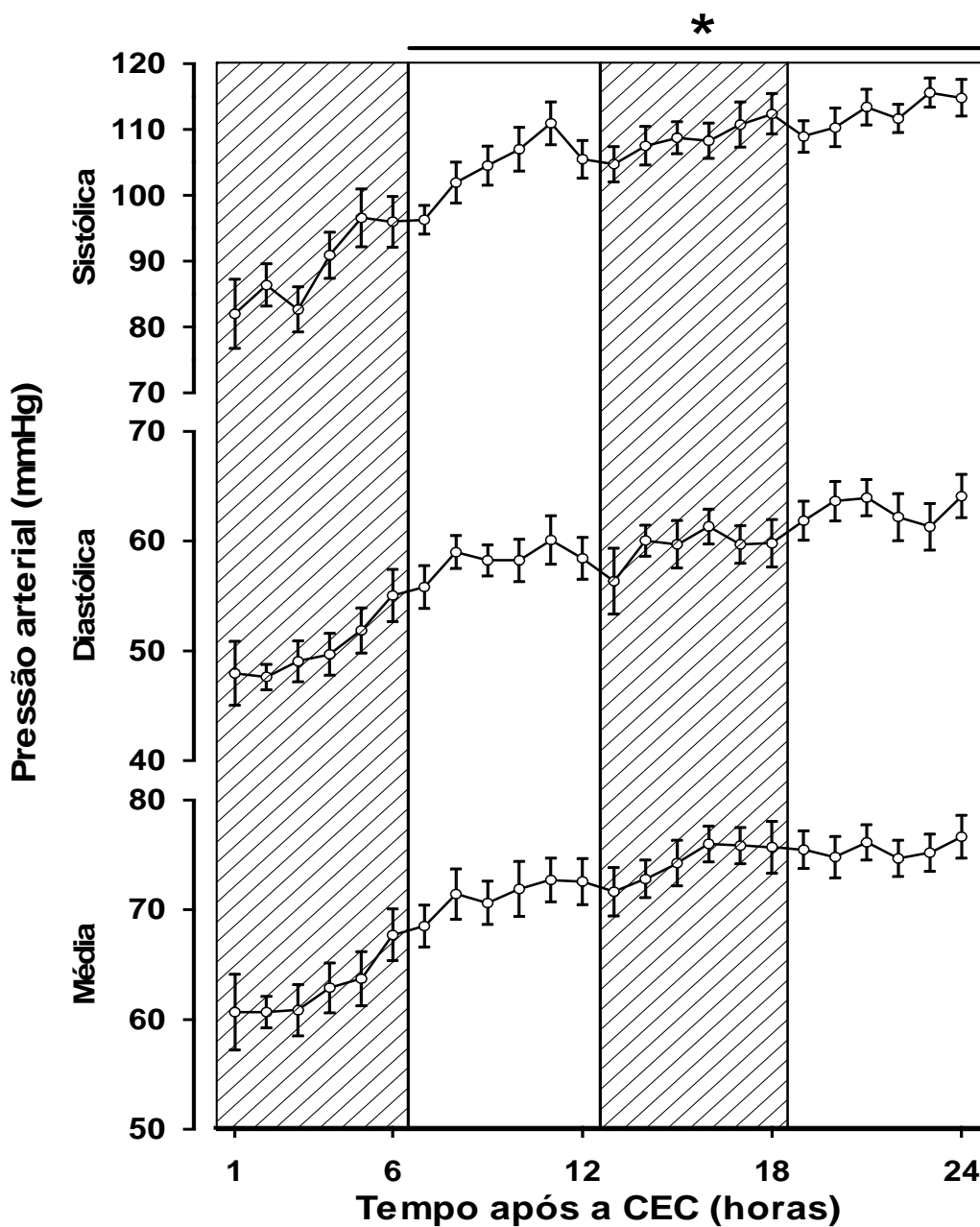


Figura 5: Gráfico ilustrando a pressão arterial sistólica, diastólica e média, nas primeiras 24 horas após a CEC. Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. As colunas representam 4 períodos de 6 horas.

* Diferença significativa em relação ao primeiro período de tempo, compreendido entre 1 e 6 horas após a CEC (teste de Friedman, $p < 0,001$, e pós-teste de Dunn, $p < 0,05$).

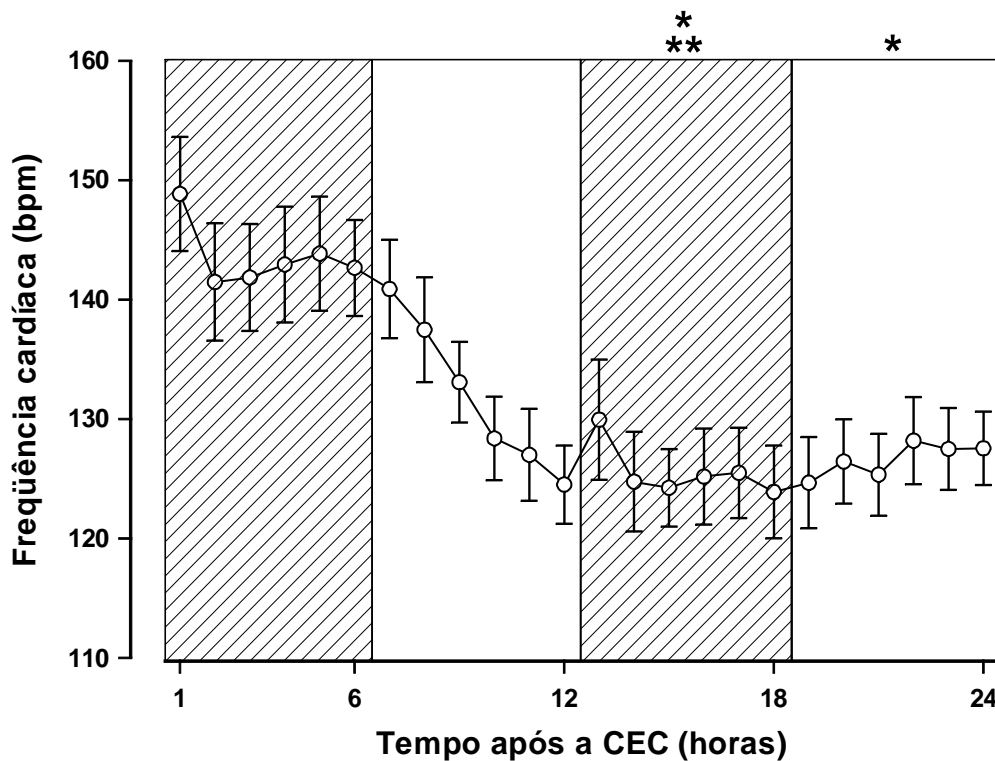


Figura 6: Gráfico ilustrando a frequência cardíaca nas primeiras 24 horas após a CEC. Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média. As colunas representam 4 períodos de 6 horas.

* Diferença significativa em relação ao primeiro período de tempo, compreendido entre 1 e 6 horas após a CEC;

** Diferença significativa em relação ao segundo período de tempo, compreendido entre 7 e 12 horas após a CEC (teste de Friedman, $p < 0,001$, seguido pelo pós-teste de Dunn, $p < 0,05$).

Tabela 7: Correlação linear entre a concentração plasmática de cobre, ceruloplasmina e zinco nos momentos M e N versus pressão arterial, frequência cardíaca, tempo de CEC, tempo de anóxia, temperatura, intervalo QTc e percentil do peso.

Correlação	Valor de p^*	Valor de r^2
Cobre (M) x tempo de CEC	0,81 NS	0,05
Cobre (M) x tempo de anóxia	0,70 NS	0,09
Cobre (M) x temperatura	0,93 NS	0,02
Cobre (M) x intervalo QTc	0,10 NS	0,37
Cobre (M) x percentil peso	0,06 NS	-0,41
Cobre (N) x tempo de CEC	0,99 NS	0,001
Cobre (N) x tempo de anóxia	0,50 NS	-0,15
Cobre (N) x temperatura	0,93 NS	0,02
Cobre (N) x intervalo QTc	0,15 NS	0,32
Cobre (N) x percentil peso	0,63 NS	-0,11
Ceruloplasmina (M) x tempo de CEC	0,25 NS	0,26
Ceruloplasmina (M) x tempo de anóxia	0,41 NS	0,19
Ceruloplasmina (M) x temperatura	0,28 NS	-0,24
Ceruloplasmina (M) x intervalo QTc	0,15 NS	0,33
Ceruloplasmina (M) x percentil peso	0,24 NS	-0,26
Ceruloplasmina (N) x tempo de CEC	0,30 NS	0,23
Ceruloplasmina (N) x tempo de anóxia	0,47 NS	0,17
Ceruloplasmina (N) x temperatura	0,10 NS	-0,36
Ceruloplasmina (N) x intervalo QTc	0,02 S	0,51
Ceruloplasmina (N) x percentil peso	0,76 NS	-0,07
Zinco (M) x tempo de CEC	0,28 NS	-0,25
Zinco (M) x tempo de anóxia	0,27 NS	-0,25
Zinco (M) x temperatura	0,15 NS	0,33
Zinco (M) x intervalo QTc	0,48 NS	-0,16
Zinco (M) x percentil peso	0,36 NS	-0,21
Zinco (N) x tempo de CEC	0,26 NS	-0,26
Zinco (N) x tempo de anóxia	0,35 NS	-0,21
Zinco (N) x temperatura	0,48 NS	0,16
Zinco (N) x intervalo QTc	0,84 NS	-0,05
Zinco (N) x percentil peso	0,74 NS	-0,07

* Valor de " p " no teste de correlação linear de Spearman

NS=correlação não significativa

S = correlação linear significativa

Tabela 8: Correlação linear entre a concentração plasmática de cobre em relação à pressão arterial e à frequência cardíaca nos momentos M e N de mensuração.

Momento	Correlação	Valor de p*	Valor de r
Momento M	Cobre X PA sistólica	0,44 NS	0,17
	Cobre X PA diastólica	0,96 NS	-0,01
	Cobre X PA média	0,77 NS	-0,07
	Cobre X FC	0,10 NS	0,37
Momento N	Cobre X PA sistólica	0,94 NS	0,02
	Cobre X PA diastólica	0,49 NS	-0,16
	Cobre X PA média	0,15 NS	-0,32
	Cobre X FC	0,70 NS	0,09

* Valor de "p" no teste de correlação linear de Spearman; NS=correlação linear não significativa.

Tabela 9: Correlação linear entre a concentração plasmática de zinco, em relação à pressão arterial e à frequência cardíaca nos momentos M e N de mensuração.

Momento	Correlação	Valor de p*	Valor de r
Momento M	Zinco X PA sistólica	0,24 NS	0,27
	Zinco X PA diastólica	0,63 NS	-0,11
	Zinco X PA média	0,78 NS	0,06
	Zinco X FC	0,38 NS	0,20
Momento N	Zinco X PA sistólica	0,82 NS	0,05
	Zinco X PA diastólica	0,97 NS	0,01
	Zinco X PA média	0,46 NS	-0,17
	Zinco X FC	0,15 NS	0,33

* Valor de "p" no teste de correlação linear de Spearman;
NS=correlação linear não significativa;

Tabela 10 – Características demográficas dos pacientes e informações cirúrgicas.

Paciente	Idade	Sexo	Peso	Tempo de CEC em min	Tempo de Anóxia	Temperatura Retal - °C
1	130	M	32,5	25	5	26
2	132	M	42	80	60	26
3	48	m	14	55	35	26
4	35	f	12,5	55	30	26,2
5	34	f	12	35	13	28,7
6	27	f	27	45	30	27
7	136	M	58,6	50	20	28
8	74	F	18	50	18	26
9	53	F	16	55	40	28
10	108	F	28,7	45	20	28
11	61	F	16	45	30	27
12	99	F	43	45	20	26,7
13	89	F	26	45	30	26
14	36	F	15	35	16	28
15	170	F	45	32	22	28
16	52	F	13	45	25	27
17	33	M	12	35	16	27,6
18	48	M	16	100	65	26
19	103	M	34	45	25	28,6
20	124	F	30	35	16	28
21	81	F	23	47	27	27

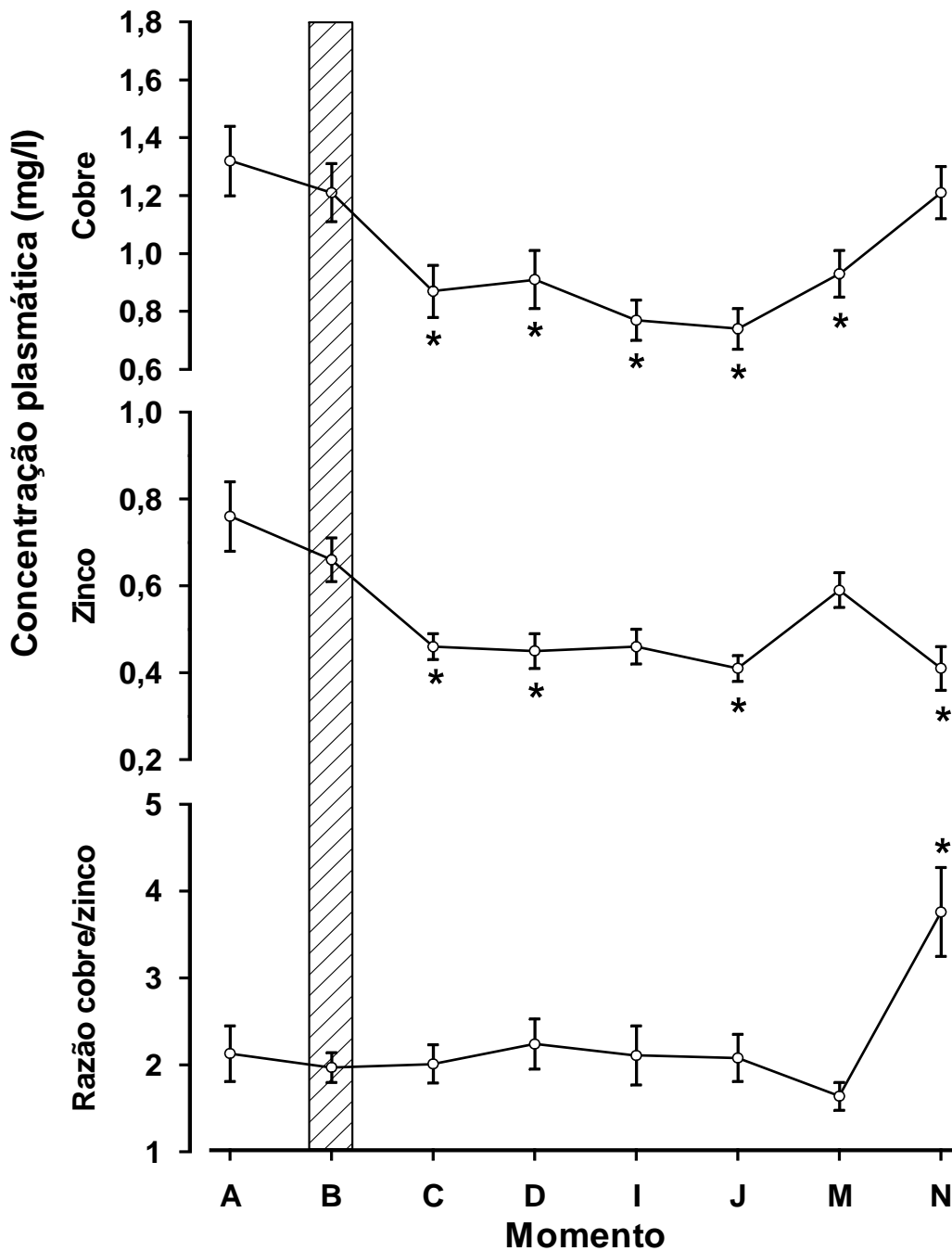


Figura 7: Gráfico ilustrando as concentrações de cobre, zinco e a razão Cu/Zn nos diversos momentos de análise em relação à CEC. Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média.

* Diferença significativa em relação ao momento B, em cada uma das variáveis dependentes avaliadas (teste de Friedman, $p < 0,001$, e pós-teste de Dunn $p < 0,05$).

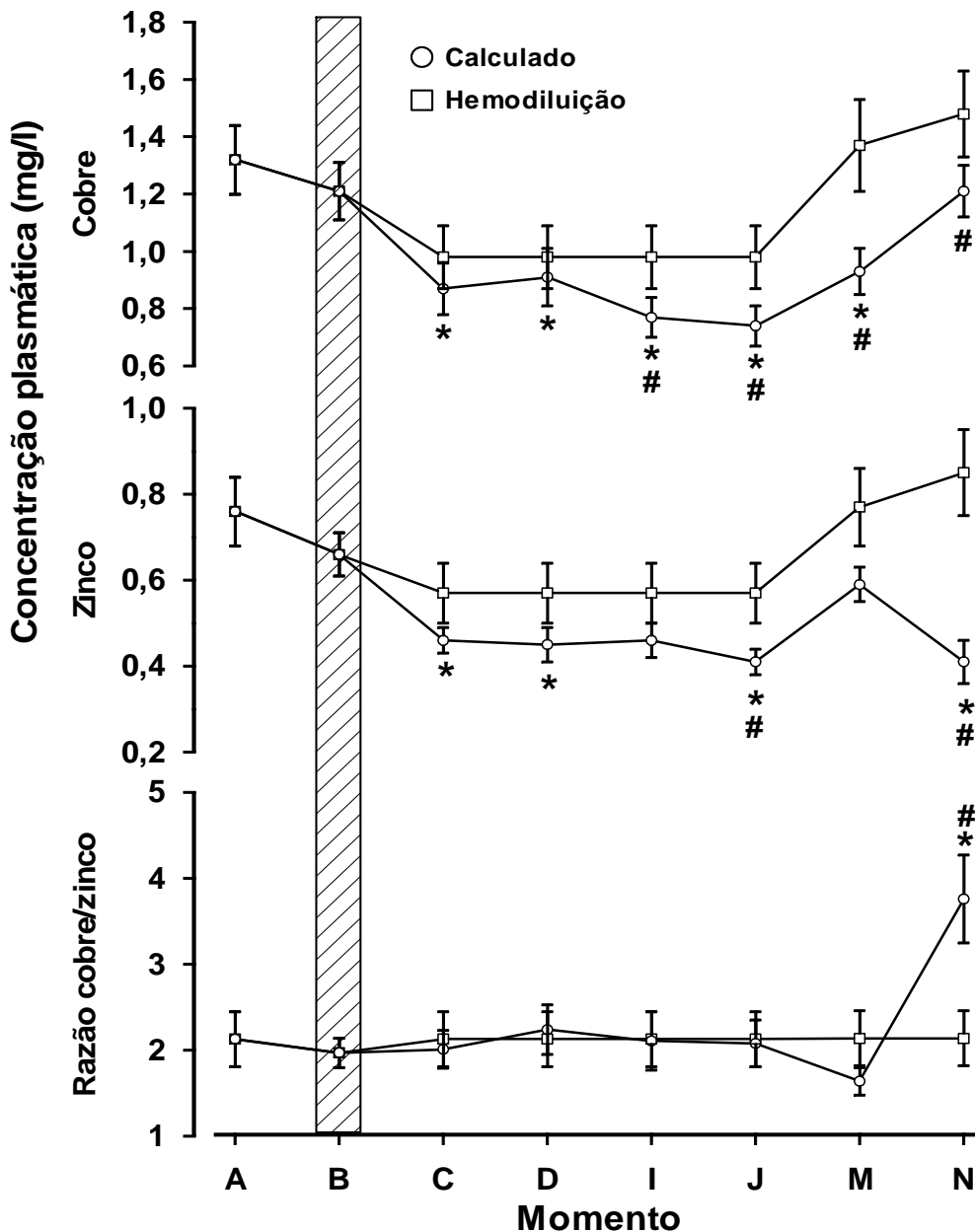


Figura 8: Gráfico ilustrando a concentração de cobre, zinco e a razão Cu/Zn, tanto a calculada como a esperada na hemodiluição nos diversos momentos de análise em relação à CEC. Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média.

* Diferença significativa em relação ao momento B, em cada uma das variáveis dependentes avaliadas (teste de Friedman, $p < 0,001$, seguido pelo pós-teste de Dunn, $p < 0,05$).

Diferença significativa em relação ao esperado na hemodiluição, no mesmo momento (teste de Wilcoxon, $p < 0,05$).

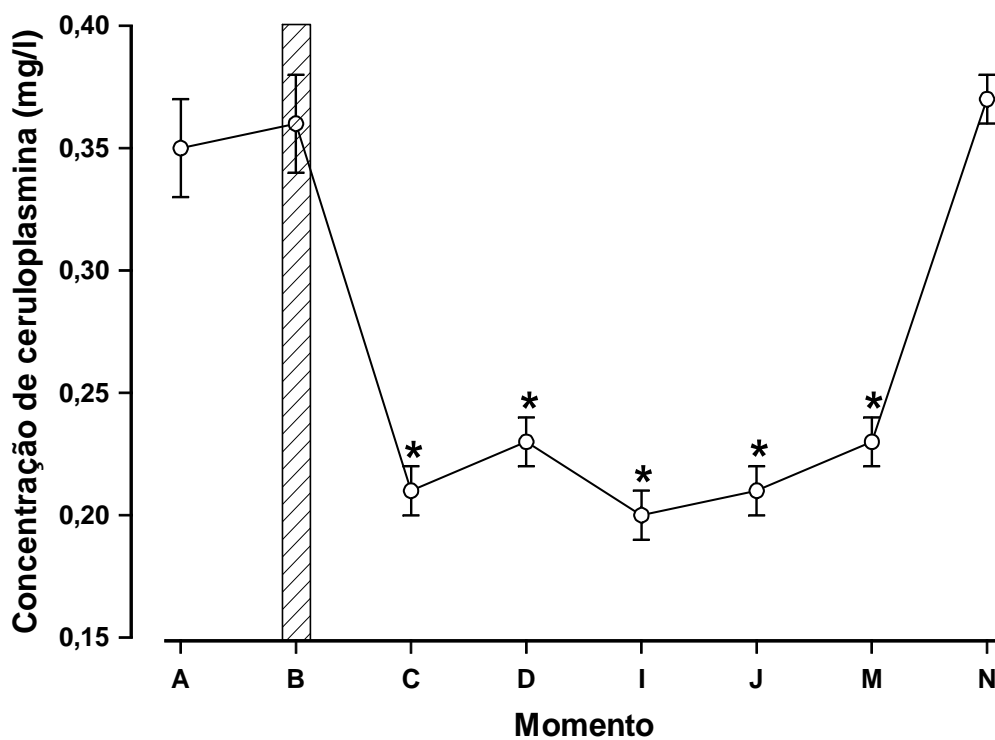


Figura 9: Gráfico ilustrando a concentração de ceruloplasmina nos diversos momentos de análise, em relação à CEC. Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média.

* Diferença significativa em relação ao momento B (teste de Friedman, $p < 0,001$, seguido pelo pós-teste de Dunn, $p < 0,05$).

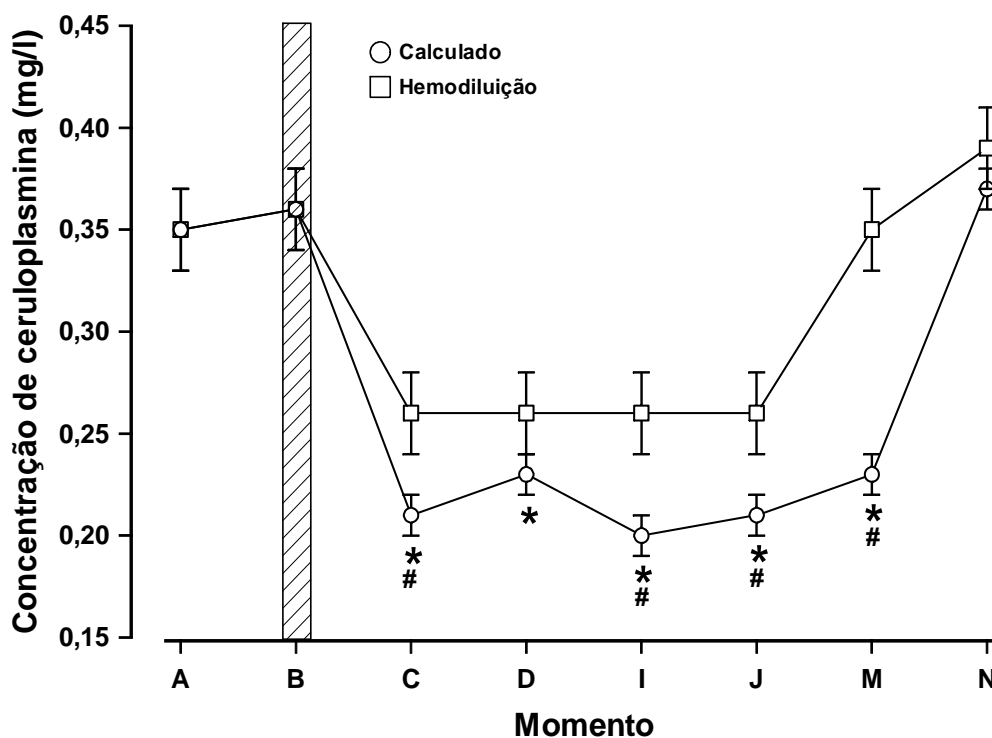


Figura 10: Gráfico ilustrando a concentração de ceruloplasmina, tanto a calculada como a esperada na hemodiluição, nos diversos momentos de análise, em relação à CEC. Os símbolos representam os valores médios e as barras o erro padrão da média.

* Diferença significativa em relação ao momento B, em cada uma das variáveis dependentes avaliadas (teste de Friedman, $p < 0,001$, seguido pelo pós-teste de Dunn, $p < 0,05$).

Diferença significativa em relação ao esperado na hemodiluição, no mesmo momento (teste de Wilcoxon, $p < 0,05$).

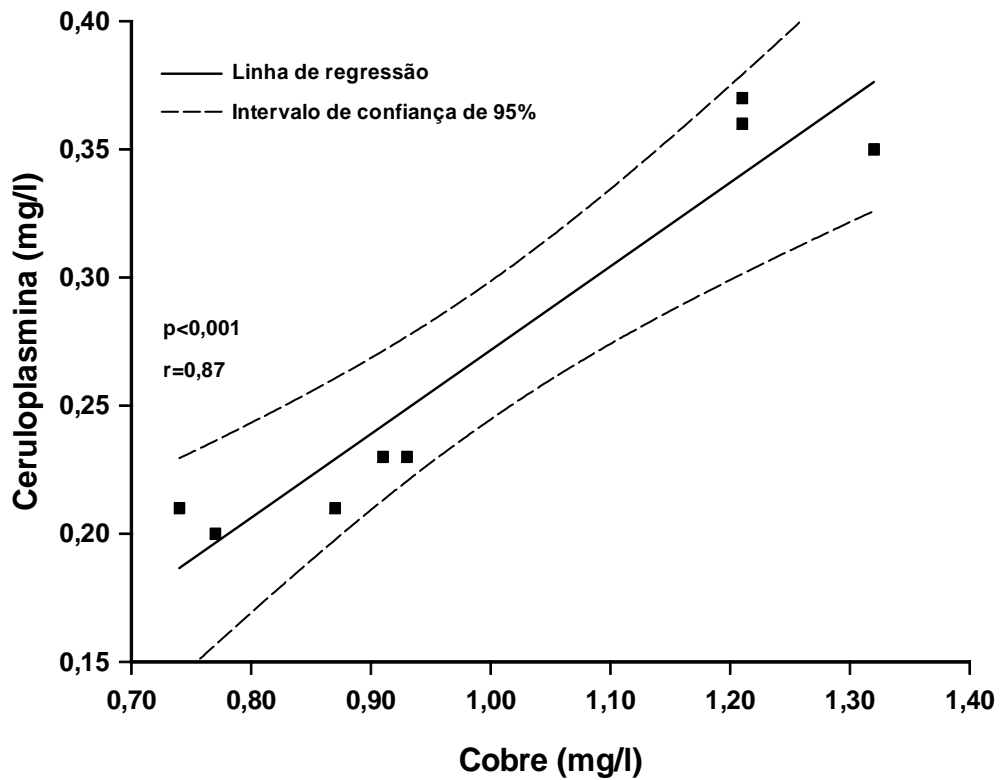


Figura 11: Gráfico de dispersão ilustrando a correlação linear entre a concentração plasmática de cobre e aquela de ceruloplasmina nos diversos momentos de análise. Cada ponto representa o valor médio para ambas as variáveis em um único momento. A correlação entre as variáveis foi avaliada por meio do teste de correlação linear de Spearman ($p < 0,001$).

6 DISCUSSÃO

De acordo com os fundamentos teóricos, o aumento do estresse oxidativo durante a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea é bem documentado e está ligado à grande produção de espécies reativas de oxigênio decorrente o processo de isquemia e reperfusão desencadeando resposta inflamatória sistêmica.

À primeira vista o grupo de pacientes que participou deste estudo pode parecer não uniforme em relação ao peso e à idade. Realmente, a idade variou de 27 a 170 meses e o peso de 12 a 58,6 kg. Assim a idade aumentou aproximadamente 6 vezes e o peso 5 vezes. Portanto, antes de utilizar as médias na avaliação estatística é necessário estar seguro que os valores obtidos para as concentrações de cobre, zinco e ceruloplasmina, de fato não sejam distorcidas por estes dois fatores. Mas os resultados da Tabela 6 evidenciam a ausência de qualquer correlação entre as concentrações de Cu, Zn e ceruloplasmina mensuradas no momento A com a idade e peso dos pacientes. Assim sendo, a amostra pode ser considerada uniforme e livre de perturbações estatísticas intrínsecas.

Em relação ao sexo, os resultados são limítrofes, ou seja, vislumbra-se uma tendência das concentrações de Cu e Zn serem algo maiores nas crianças do sexo masculino. Neste estudo, o número da amostra pode ter sido o fator limitante para a conclusão definitiva desta observação. Mencionamos esta particularidade apenas pelo fato de também ter sido relatada na literatura (GIBSON, 1990 apud in SANTOS, OLIVA, AMÂNCIO, 2003). Outras publicações não confirmam essa diferença mesmo tendo amostras comparáveis (IYENGAR, WOITTIEZ, 1988; OMS, 1998). É possível também que os valores maiores para o sexo masculino sejam característicos apenas das amostras de adultos, de onde foram citados os valores de referência. Para maiores esclarecimentos, outros estudos com enfoque epidemiológico devem ser realizados no futuro.

A Figura 5 apresenta os valores da pressão arterial sistólica, diastólica e média. O tratamento estatístico evidencia que os valores nas primeiras 6 horas, são estatisticamente diferentes dos 3 períodos seguintes, até completar as 24 horas de

pós-operatório. Nos três últimos períodos não existem diferenças significativas entre os valores encontrados, sendo o aumento da pressão estatisticamente linear. Como pode ser observado na Figura 5, a amostra é altamente homogênea, portanto não houve necessidade de classificá-la em subgrupos de acordo com a faixa etária e peso.

Na recuperação pós-operatória não complicada a progressiva liberação da vasoconstricção periférica ocorre após a 4ª hora de pós-operatório e a perfusão tecidual normaliza após a 6ª hora (MATTHEWS, MEADE, EVANS, 1974). Segundo Kirklin et al. (1981) o desempenho cardiovascular estará adequado geralmente entre a 4ª e 7ª hora de pós-operatório. Assim, o primeiro período corresponde às alterações decorrentes do aturdimiento miocárdico, que geralmente se resolve em 8 a 24 horas de pós-operatório (KLONER, JENNINGS, 2001).

No presente estudo, esta estabilização foi atingida num período fisiologicamente razoável de 6 horas. Os dados obtidos neste estudo podem ser propostos como referenciais para avaliar o desempenho cardiocirculatório do paciente pediátrico no pós-operatório de cirurgia cardíaca com CEC. Este tempo curto para a recuperação da pressão arterial mostra um desempenho adequado do organismo na situação de estresse. Realmente, uma perturbação metabólica com uma forte diluição plasmática relativa ao sistema hormonal como um todo é equilibrada em poucas horas.

A dinâmica da frequência cardíaca está apresentada na Figura 6. Pela forma da curva, o gráfico pode ser dividido em três partes, quais sejam: o período de taquicardia (1 a 6 horas), período de transição (6 a 12 horas) e período de valores estáveis (12 a 24 horas). Conforme a tabela de normalidade (Tab. 2), a frequência cardíaca deveria estar entre 70 e 110 bpm (GILLETTE et al., 1983). O gráfico mostra que as crianças em pós-operatório de cirurgia cardíaca não conseguem alcançar o valor de referência padrão. Esta taquicardia leve evidencia que o sistema cardiocirculatório ainda não atingiu seu estado basal fisiológico. No caso da frequência cardíaca não há estabilização nas primeiras seis horas, como no caso da pressão arterial. Mas em 8 horas ela já foi alcançada, o que pode ser confirmado pela linearidade do gráfico.

O prolongamento do intervalo Qtc observado no eletrocardiograma, após o procedimento cirúrgico, é equivalente ao alongamento do período refratário do ventrículo que fica, então, predisposto ao aparecimento de alterações do ritmo cardíaco. Apesar do valor do intervalo Qtc médio estar dentro do padrão de referência, na avaliação individual dos casos o valor variou de 0,32 a 0,48s, sendo que 6 pacientes apresentaram o intervalo QTc acima de 0,44s. Isto mais uma vez mostra que as médias devem ser consideradas no contexto das suas variações, onde, de outro modo, se correria o risco de subvalorizar os riscos. Não foram observadas correlações entre intervalo QTc nos momentos M e N com o Cu e Zn (Tab. 7). Apenas no momento N foi observada correlação com a ceruloplasmina, mas nenhuma explicação simples parece cabível, pois mesmo sendo alterações concordantes não são necessariamente dependentes.

Do ponto de vista molecular, corresponde à alteração da relação Na/K frente à diminuição do potássio corporal total devido à elevação do hormônio antidiurético e da aldosterona, apesar da liberação em massa do potássio no plasma, decorrente da lesão das hemáceas induzida pela CEC. Indiretamente essa suposição é confirmada pelo achatamento da onda T do eletrocardiograma, que reflete as alterações deste eletrólito. Outro fator relacionado com o exposto anteriormente, é a diminuição da atividade da Na/K ATPase das membranas.

Episódios de arritmia cardíaca hemodinamicamente significativas no pós-operatório de cirurgia cardíaca com CEC são complicações freqüentes, ocorrendo em torno de 15% dos pacientes (DELANEY et al., 2006). Os fatores predisponentes são o baixo peso e menor idade do paciente, presença de cardiopatia complexa, tempo prolongado de CEC, de oclusão da aorta e hipotermia profunda (VALSANGIACOMO et al., 2002; PFAMMATTER et al., 2002; REKAWEK et al., 2007).

No presente estudo uma única criança apresentou arritmia cardíaca nas primeiras 24 horas de pós-operatório, mas o grupo estudado é bem diferente daqueles relatados na literatura.

No que se refere ao Cu, não houve correlação entre as manifestações eletrocardiográficas e suas concentrações. Neste contexto, não se deve esquecer que nos dados da literatura as alterações eletrocardiográficas estão descritas para situações onde a deficiência de Cu é prolongada (VIESTENZ, KLEVAY, 1982; SHIRY et al., 1999) . Para os casos de diminuição aguda da concentração de Cu, o que ocorre raramente, a literatura disponível não permite formular uma conclusão definitiva. Isto pode ser devido, justamente, à não existência de qualquer correlação.

Uma das características da CEC é a presença de um *pool* adicional de líquidos acarretando obrigatoriamente hemodiluição. Em vista disto, existem dois caminhos para o tratamento estatístico dos resultados. O primeiro seria usar os dados corrigidos para a hemodiluição, e o segundo, usar os valores de fato mensurados. No primeiro caso seriam recalculados os valores levando-se em conta a nova situação hemodinâmica imposta pela mudança da volemia. Era de se esperar que o efeito da hemodiluição produzisse valores proporcionais ao volume de líquido recebido pelo paciente.

Mas de fato, já á primeira vista, as concentrações obtidas dos 3 parâmetros analisados não mostraram função linear com o volume adicionado. Isto não permitiu calcular coeficientes de correção únicos, uma vez que os coeficientes de correção eram diferentes quando aplicados para a hemodiluição.

A análise individual das concentrações plasmáticas de Cu no momento A, considerado como valores basais, evidencia que 1 criança (4,7%) apresentou concentração plasmática abaixo dos valores de referência considerados normais e 7 crianças (33,3%) apresentaram concentrações acima deste valor (VR= 0,8 a 1,2 mg/l). A média das concentrações obtidas neste estudo foi de $1,32 \pm 0,12$ mg/l. Na literatura referente aos pacientes adultos, os valores publicados são de 0,8 a 1,2 mg/l (IYENGAR, 1987; IYENGAR, WOITTIEZ, 1988; OMS, 1998). Os poucos dados existentes para crianças citam valores entre 0,70 a 1,40 mg/l para meninos e 0,80 a 1,55 mg/l para meninas (GIBSON, 1990 apud in SANTOS, OLIVA, AMÂNCIO, 2003).

A principal via de ingresso de Cu no organismo humano é a via oral (OMS,1998). A variação da ingestão depende dos hábitos alimentares e da

concentração de Cu na água consumida. Contudo num recente estudo em Campo Grande, referente ao conteúdo de Cu na água dos domicílios, foi mostrado que as quantidades do metal são praticamente insignificantes, ficando as diferenças na margem de erro da medição (MELNIKOV et al., 2007). Portanto esta via pode ser descartada para Campo Grande, ficando a única possibilidade de advir através dos alimentos que, quando armazenados ou cozidos em recipientes de cobre ou latão, podem estar contaminados com quantidades significativas deste metal.

Poderia se pensar em outras vias, como a pulmonar e a dérmica. Mas neste caso, levando em consideração que Campo Grande não possui nenhuma indústria siderúrgica ou química, estas vias tampouco devem ser consideradas. Tal sugestão é ainda mais contundente quando se observam os relatos conhecidos da literatura, onde estas vias também são consideradas insignificantes (OMS, 1998). Por outro lado, o relato das conseqüências da ingestão de grandes quantidades de cobre em humanos é muito raro devido ao efeito irritante dos seus íons sobre as membranas mucosas, causando vômito imediato, diarréia e eliminando assim a possibilidade de excesso do metal no organismo.

Os valores obtidos no momento A não dependem de modo algum da intervenção cirúrgica, nem do tipo de malformação cardíaca envolvida, quando consideramos o grupo das malformações acianogênicas. Estes casos foram eliminados pelo critério de seleção da amostra. Portanto podem ser considerados como valores normais na criança.

Assim sendo, os valores obtidos no presente estudo são maiores do que em crianças de outras localidades e até em adultos. Uma explicação razoável seria que esta elevação seja devida aos hábitos alimentares locais. Isto é indiretamente confirmado pelo fato que a quantidade de Cu em mães lactantes, em Campo Grande, no primeiro mês pós-parto, em comparação com outras amostras com as mesmas características, porém geograficamente distintas (Denver, Colorado, USA), foi quase 4 vezes maior (MELNIKOV et al., 2007). A procedência desse cobre é incerta, porém pode estar ligado com o consumo de bebidas locais contendo cobre, parte dos hábitos alimentares específicos de Mato Grosso do Sul.

A possibilidade de doença de Wilson nestes pacientes não pode ser considerada, uma vez que a concentração plasmática da ceruloplasmina está dentro dos valores de referência e também não existiam quaisquer outros sinais clínicos compatíveis com a doença. Outra situação clínica que poderia explicar as concentrações maiores, como disfunção hepática, tampouco estava presente.

No momento B, não houve diferença significativa em relação ao momento A, que corresponde ao período entre a anestesia e o início da circulação extracorpórea. Esta observação indica que a anestesia e o trauma cirúrgico causados pela esternotomia e a abertura do pericárdio não desencadearam alterações nas concentrações de Cu.

Após o momento B, ocorreu diminuição significativa das concentrações plasmáticas. Nos momentos C, D, I e J se mantiveram as mesmas concentrações. No momento M, já fora da CEC, o conteúdo de Cu aumenta até atingir no momento N os valores normais.

No tecido, durante e após períodos de isquemia (C,D,I e J), o Cu pode ser mobilizado, tornando-se disponível para catalisar reações de óxido redução com progressão do estresse oxidativo (CHEVION et al., 1993). Um estudo em coração isolado de ratos evidenciou que a perfusão com solução contendo cobre resultou em maior injúria pós-isquêmica na reperfusão, sugerindo o importante papel catalítico desse metal (POWELL, HALL, SHIH, 1991). Em pacientes com infarto agudo do miocárdio, a elevação das concentrações dos marcadores cardíacos de necrose mantém uma relação direta com a concentração de cobre plasmático, isto é, quanto maior a concentração do cobre plasmático, tanto maiores as concentrações da troponina e da CK-MB (ALTEKIN et al., 2005).

Caso ocorresse aumento do Cu plasmático isto poderia indicar um aumento da concentração de superóxido dismutase, importante “varredora de radicais livres”, que por sua vez, conforme os dados da literatura, estaria elevada frente a importante estresse oxidativo (AL-BADER, 1998).

A manutenção das baixas concentrações plasmática de Cu durante o período de isquemia e de reperfusão (C, D, I e J) é altamente desejável, pois o metal está indisponível para as reações de óxido-redução, minimizando a injúria tissular. Por outro lado, é razoável supor que a concentração baixa de Cu reflete a menor necessidade da SOD, em função do menor estresse oxidativo (LUYTEN et al., 2005).

Conforme a literatura, a maior produção miocárdica de radicais livres, detectadas em amostras coletadas do seio coronário, ocorre dentro de 3 a 5 minutos de reperfusão (TORTOLANI et al., 1993; CLERMONT et al., 2002). A maior concentração de Cu no tecido miocárdico durante o período de reperfusão está diretamente relacionado com aumento da concentração dos radicais OH^\bullet e maior injúria tecidual (POWELL, HALL, SHIH, 1991). Há de se considerar também que os radicais livres formados no circuito da circulação extracorpórea, ao passarem pelo miocárdio no período de reperfusão, podem se somar àqueles ali produzidos, exacerbando o dano celular relacionado à isquemia-reperfusão. Isso é demonstrado tanto *in vitro* quanto *in vivo* (BOLLI, 1990). Dessa forma, o coração reperfundido pode não ser apenas um sítio de produção de radicais livres, mas também representar um alvo daqueles produzidos na circulação sistêmica. Realmente, no nosso estudo não houve diferença entre as amostras coletadas concomitantemente no seio coronário (amostra I) e na bomba de circulação extracorpórea (amostra J). Portanto, este resultado reforça a opinião que a menor concentração de Cu no fluxo do seio coronário pode equivaler, de certa forma, à proteção do tecido miocárdico contra injúria oxidativa. Mas também é possível que o *pool* de radicais livres produzidos na circulação sistêmica, não contribua substancialmente no momento da reperfusão.

A diminuição da concentração plasmática de cobre, corroborada pela diminuição concomitante das concentrações da ceruloplasmina, demonstra uma atividade inflamatória menor, o que pode ser atribuída ao adequado planejamento e condução do procedimento cirúrgico.

Todo este raciocínio seria infundado sem ter segurança de que nos momentos C, D, I e J a diminuição estatisticamente confirmada não fosse devida simplesmente à hemodiluição.

Na Figura 8 se dá-se a comparação entre as curvas dos valores esperados para a hemodiluição e os valores reais anteriormente discutidos. Este gráfico mostra que o efeito da hemodiluição, apesar de presente, não é o responsável pela diminuição das concentrações no intervalo de C a J. Isto se faria mais evidente se os momentos A e B fossem considerados como um único momento, e os momentos C, D, I e J como um único ponto, e os momentos M e N como um ponto final. Neste caso, seria obtido um gráfico em forma de triângulo invertido, cujo ápice corresponderia à diminuição da concentração do cobre.

Sabe-se que o papel do cobre pode ser ambíguo, dependendo da forma como se apresenta. Neste caso, seja qual for sua forma, a concentração de Cu, tanto no final da CEC como após 24 horas retorna aos valores normais, sugerindo que o processo inflamatório agudo havia amenizado. O fato da concentração de Cu estar normal após 24 horas de pós-operatório, diferentemente do que é mencionado em alguns estudos (MELTZER et al., 1980; ZAMPARELLI et al. 1986; Al-BADER et al., 1998), indica que os processos metabólicos envolvendo a produção dos radicais livres já não são tão significativos.

Os dados da amostra A nos permitem supor que os valores iniciais da ceruloplasmina, levando e conta o desvio padrão, são muito menores do que os aceitos como valores de referência (0,2 a 0,6 g/l). Aliás, os valores aceitos como normais, talvez não sejam equivalentes aos valores observados na situação da inflamação aguda, onde um dos marcadores é a ceruloplasmina. Portanto seria adequado agir com cautela e considerar os valores da literatura para a ceruloplasmina apenas como indicativos, posto que, são costumeiramente observados em adultos.

Conforme os dados deste estudo, a concentração de ceruloplasmina é menor ($0,35 \pm 0,02$ g/l) do que os valores médios publicados. Este valor pode ser considerado seguro, devido à pequena magnitude do desvio padrão. Isto é corroborado pelos resultados idênticos obtidos no momento B ($0,36 \pm 0,02$ g/l), onde não era de se esperar nenhuma diferença. Baseados nas mesmas considerações

feitas para o cobre no momento A podemos propor os dados obtidos como valores de referência para faixa etária pediátrica.

Analisando a dinâmica da ceruloplasmina no transcurso da CEC, observa-se que, analogamente ao comportamento do Cu, existe uma diminuição drástica após o momento B. Uma leve elevação no momento D, que foge da linearidade do intervalo C-J, deve ser considerado um artefato experimental. Isto se faz em base de comparação com a curva calculada apenas para a hemodiluição, que mostra uma linearidade perfeita, no dito intervalo. A linearidade da curva, neste caso, como nos outros, no intervalo C-J é devido a manutenção do hematócrito constante, posto que não há mudança na volemia, garantido pela manutenção constante do nível de sangue do reservatório de sangue.

Ao término da circulação extracorpórea, o estado de hemodiluição tende a voltar ao normal com o uso dos diuréticos, reposição de eletrólitos, etc., e o nível da ceruloplasmina aumenta no momento M, embora em menor proporção do que no caso do Cu, voltando ao nível inicial após 24 horas. Esta demora no momento M, é provavelmente devido às mudanças da relação Cu/ceruloplasmina no período, quando ainda estão presentes indicadores clínicos da inflamação.

Assim sendo, a ceruloplasmina que migrou da circulação para os tecidos, deve participar nos processos redox teciduais que ainda não finalizaram.

Pode-se supor que a quantidade de Cu circulando livremente poderia ser relativamente maior para manter o balanço, porém esta conclusão precisa de estudos complementares, detectando as diferentes formas da presença de Cu na circulação.

Conforme a Figura 9 a anestesia não influi de modo algum nas concentrações da ceruloplasmina, o que indica que o conjunto das medidas pré-operatórias foi adequado.

Os valores de referência para as concentrações plasmáticas do Zn são quase que unânimes na literatura consultada, mesmo não existindo grandes estatísticas da concentração deste elemento.

Os valores de referência citados pelo fabricante do aparelho são de 0,5 a 1,2 mg/l. Ao mesmo tempo, o estudo de Iyengar e Woittiez (1998) cita como valores de referência 0,8 a 1,1 mg/l. Os dados obtidos por Gibson (1990) para crianças de faixa etária estreita, de 11 anos, são de 0,65 a 1,2 mg/l para meninos e de 0,6 a 1,2 mg/l para meninas. Esses últimos valores coincidem com os dados dos adultos anteriormente citados. As sutis divergências encontradas podem ser atribuídas às diferenças em relação à faixa etária, ao estado nutricional, variações da ingestão, como também da região estudada.

Os dados nacionais (*vide* resumo bibliográfico) mostram que a tendência para as concentrações de Zn em amostras estudadas encontra-se na faixa inferior aos dados internacionais, ou seja, abaixo de 0,6 mg/l.

No nosso estudo a média da concentração inicial do Zn, no momento A, tomado como parâmetro basal, foi de $0,76 \pm 0,08$ mg/l, dentro, portanto, dos limites considerados como valores de normalidade. No entanto, a avaliação individual dos resultados mostra que 6 crianças (28%) apresentaram concentrações abaixo de 0,5 mg/l, 9 crianças (42%) apresentaram concentrações abaixo de 0,6 mg/l, 10 crianças (47%) abaixo de 0,7 mg/l e 12 crianças (57%) apresentaram concentrações abaixo de 0,8 mg/l. Desse modo, a tendência nacional é confirmada, mostrando também que as concentrações pré-operatórias de Zn podem chegar até a metade do limite inferior (0,31 mg/l).

Neste contexto, é possível que a baixa ingestão de Zn seja a causa das concentrações plasmáticas diminuídas, uma vez que, os alimentos fontes desse mineral são os de origem animal e, portanto, de maior custo. Outras possibilidades são as dietas ricas em cálcio e fitato, presentes em farelos, cereais de grãos integrais e leguminosas, que dificultam a absorção de Zn (OMS, 1998).

A Figura 7 deixa em evidência que as concentrações de Zn não foram diferentes nos momentos A e B, que corresponde o período entre a anestesia e o início da circulação extracorpórea. Assim pode-se inferir que durante este intervalo de tempo o procedimento anestésico e o trauma cirúrgico não desencadearam atividade inflamatória considerável.

Dita figura também mostra que a diminuição do Zn nos momentos C e D foi provocada apenas pela hemodiluição. Este fenômeno também foi observado na amostra coletada no seio coronário. Mas no momento J, que equivale à coleta do circuito sistêmico da CEC, os valores de Zn diminuíram além daqueles esperados para a hemodiluição, evidenciando, mais provavelmente, seu efeito antioxidante. Isto estaria relacionado com a maior atividade inflamatória, o que era de se esperar, devido às particularidades da intervenção cirúrgica.

No momento M as concentrações de Zn comportam-se de modo semelhante ao Cu. Porém no ponto N a concentração do Zn diminui, voltando praticamente ao valor do momento J. É difícil dar uma explicação inequívoca para a diminuição do elemento, contudo, é possível supor que seja devida à redistribuição do Zn e sua captação pelo fígado, para sustentar a síntese acelerada de novas proteínas. Também há de se considerar a opção da migração deste íon para os locais que sofreram trauma cirúrgico e que o necessitam para os processos de epitelização e outros tipos de proliferação celular local. Na literatura já foram mencionadas as possibilidades acima sugeridas (FRASER et al., 1989).

É provável que o comprometimento das defesas antioxidantes dos pacientes portadores de déficit de zinco, antes do início da cirurgia, não tenham se refletido em maior dano tecidual, também devido a menor atividade inflamatória imposta pelo procedimento cirúrgico no grupo estudado. No entanto, isto poderia não se aplicar para crianças portadoras de cardiopatias complexas ou cianogênicas e para aquelas submetidas a CEC prolongada, mas, outros estudos são necessários para avaliar estas situações.

A dinâmica das concentrações de Zn indica que a inflamação causada pela CEC não foi de extrema duração nem de intensidade substancial.

Sendo o Zn um elemento reconhecidamente protetor da ultra-estrutura cardíaca após períodos de isquemia (POWELL et al., 1994) é razoável supor que sua reposição no período pós-operatório seria benéfica, como coadjuvante para a recuperação da injúria de reperfusão, mas esta suposição necessita confirmação com futuros estudos.

Também, a inclusão da dosagem do Zn como parte dos exames pré-operatórios seria de grande valia, pois o déficit deste metal com conseqüente comprometimento das defesas antioxidantes, poderia estar implicado numa evolução pós-operatória desfavorável nos casos de cardiopatias complexas onde o tempo de circulação extracorpórea é mais prolongado.

7 CONCLUSÕES

1. A pressão arterial e a frequência cardíaca não mostraram alterações inesperadas, nem correlações com as concentrações plasmáticas de cobre e zinco.
2. Não foi observada nenhuma correlação entre o tempo de circulação extracorpórea, tempo de anóxia, temperatura e intervalo QTc dos pacientes com as variações do cobre e do zinco.
3. As variações das concentrações de cobre e zinco não foram correlacionadas.
4. As concentrações plasmáticas de cobre no pré-operatório foram maiores do que as relatadas na literatura para a população pediátrica geral. Não foi observada correlação entre o peso e as concentrações de cobre e zinco.
5. A redução da concentração de cobre durante a circulação extracorpórea foi maior do que aquela previsto para a hemodiluição, indicando o envolvimento dos processos inflamatórios locais.
6. A concentração plasmática de cobre normalizou ao final do procedimento devido ao maior estresse oxidativo nesse período de pós-operatório.
7. Do ponto de vista fisiológico, a indisponibilidade dos íons cobre durante a circulação extracorpórea indicou menor formação dos radicais livres e conseqüentemente menor lesão celular.
8. A dinâmica do cobre durante a circulação extracorpórea confirmou seu efeito protetor, evidenciando, além disso, a forma correta e adequada da condução do procedimento cirúrgico.

9. A dinâmica da ceruloplasmina refletiu as alterações nas concentrações de cobre, indicando os mecanismos comuns de controle.
10. As concentrações plasmáticas de zinco no pré-operatório foram abaixo dos valores normais indicando deficiências no sistema antioxidante no grupo estudado.
11. O fato do zinco não ter exibido alterações significativas durante a circulação extracorpórea, confirmou que esse elemento não foi envolvido nas alterações metabólicas devidas a CEC e sim ressaltou o papel chave do cobre nesses processos.
12. A diminuição das concentrações de zinco com 24 horas de pós-operatório poderia refletir sua migração para os tecidos onde participaria da reparação local.

8 REFERÊNCIAS

ADELSTEIN, S.J.; COOMBS, T.L.; VALEE, B.L. Metalloenzymes and myocardial infarction. The relation between serum copper and ceruloplasmin and its catalytic activity. **N Engl J Med**, v. 255, p. 105-9, 1956 apud FOX, P.L.; MUKHOPADHYAY, C.; EHRENWALD, E. Structure, oxidant activity and cardiovascular mechanisms of human ceruloplasmin. **Life Sciences**, v. 56, p. 1749-58, 1995.

AKILA, A., D'SOUZA, B.; VISHWANATH, P.; D'SOUZA, V. Oxidative injury and antioxidants in coronary artery bypass graft surgery: off-pump CABG significantly reduces oxidative stress. **Clin Chim Acta**, v. 375, p.147-52, 2007.

AL-BADER, A.; CHRISTENSON, J.T.; SIMONET, F.; ABUL, H.; DASHTI, H.; SCHMUZIGER, M. Inflammatory response and oligo-elements alterations following cardiopulmonary bypass in patients undergoing coronary artery bypass grafting. **Cardiovasc Surg**, v. 6, p. 406 -14, 1998.

ALTEKIN, E.; COKER, C.; SISMAN, A.R.; ONVURAL, B.; KURALAY, F.; KIRIMLI, O. The relationship between trace elements and cardiac markers in acute coronary syndromes. **J Trace Elem Med Biol**, v. 8, p. 235-42, 2005.

AMBROSIO, G.; FLAHERTY, J.T.; DUILIO, C.; TRITTO, I.; SANTORO, G.; ELIA, P.P.; CONDORELLI, M.; CHIARIELLO, M. Oxygen radicals generated at reflow induce peroxidation of membrane lipids in reperfused hearts. **J Clin Invest**, v. 87, p. 2056-66, 1991.

ARUOMA, O.I.; HALLIEWELL, B.; GAJEWSKI, E.; DIZDAROGLU, M. Copper ion-dependent damage to the bases in DNA in the presence of hydrogen peroxide. **Biochem J**, v. 273, p. 601-04, 1991.

ASHRAF, M.; ZHAI, X. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: role of oxygen free radicals. **Transplant Proc**, v. 27, p. 2800-1, 1995.

ATAHAN, E.; ERGUN, Y.; BELGE, K.E.; CETINUS, E.; GUNEY, E.U. Ischemia-reperfusion injury in rat skeletal muscle is attenuated by zinc aspartate. **J Surg Res**, v. 137, p. 109-16, 2007.

BAUM, M.K.; SHOR-POSNER, G.; CAMPA, A. Supplement Zinc status in human immunodeficiency virus infection. **J of Nutrition**, v. 130, p. 130 -142, 2000.

BECKER, L.B. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. **Cardiovasc Res**, v. 61, p. 461-70, 2004.

BOLLI, R. Mechanism of myocardial "stunning". **Circulation**, v. 82, p. 723-38, 1990.

BOLLI, R.; JEROUDI, M.O.; PATEL, B.S.; ARUOMA, O.I.; HALLIWELL, B.; LAI, E.K.; McCAY, P.B. Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction

by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion. Evidence that myocardial "stunning" is a manifestation of reperfusion injury. **Circ Res**, v. 65, p. 607-22, 1989.

BRAUNWALD, E.; KLONER, R.A. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? **J Clin Invest**, v. 76, p. 1713-9, 1985.

BRAY, T.M.; BETTGER, W.J. The physiological role of zinc as an antioxidant. **Free Radic Biol Med**, v. 8, p. 281-91, 1990.

BRETT, D.S. Endogenous nitric oxide synthesis: biological functions and pathophysiology. **Free Radic Res**, v. 31, p. 577-96, 1999.

BREIMER, L.H. Repair of DNA damage induced by reactive oxygen species. **Free Radic Res Commun**, v. 14, p. 159-71, 1991.

BRUECKL, C.; KAESTLE, S.; KEREM, A.; HABAZETTL, H.; KROMBACH, F.; KUPPE, H.; KUEBLER, W.M. Hyperoxia-induced reactive oxygen species formation in pulmonary capillary endothelial cells in situ. **Am J Respir Cell Mol Biol**, v. 34, p. 453-63, 2006.

CALZA, G.; LERZO, F.; PERFUMO, F.; BORIN, I.I.; PANIZZON, G.; MORETTI, R.; GRASSO, P.; VIRGONE, A.; ZANNINI, L. Clinical evaluation of oxidative stress and myocardial reperfusion injury in pediatric cardiac surgery. **J Cardiovasc Surg**, v. 43, p. 441-7, 2002.

CANBAZ, S.; DURAN, E.; EGE, T.; SUNAR, H.; CIKIRIKCIOGLU, M.; ACIPAYAM, M. The effects of intracoronary administration of vitamin E on myocardial ischemia-reperfusion injury during coronary artery surgery. **Thorac Cardiovasc Surg**, v. 51, p. 57-61, 2003.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism mammalian organs. **Physiol Rev**, v. 59, p. 527-605, 1979.

CHEESEMAN, K.H.; SLATER, T.F. An introduction to free radical biochemistry. **British Medical Bulletin**, v. 49, p. 481-93, 1993.

CHEESEMAN, K.H.; SLATER, T.F. **Radicaux libres en Médecine**. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996.

CHEVION, M. A site-specific mechanism for free radical induced biological damage: the essential role of redox-active transition metals. **Free Radic Biol Med**, v. 5, p. 27-37, 1988.

CHEVION, M.; JIANG, Y.; HAR-EL, R.; BERENSHTEIN, E.; URETZKY, G.; KITROSSKY, N. Copper and iron are mobilized following myocardial ischemia: possible predictive criteria for tissue injury. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 90, p. 1102-6, 1993.

CHRISTEN, S.; FINCKH, B.; LYKKESFELD, J.; GESSLER, P.; FRESE-SCHAPER, M.; NIELSEN, P.; SCHIMID, E.R.; SCHIMITT, B. Oxidative stress precedes peak

systemic inflammatory response in pediatric patients undergoing cardiopulmonary bypass operation. **Free Radic Biol Méd**, v. 38, p. 1323-32, 2005.

CLERMONT, G.; VERGELY, C.; JAZAYERI, S.; LAHET, J.J.; GOUDEAU, J.J.; LECOUR, S.; DAVID, M.; ROCHETTE, L.; GIRARD, C. Systemic free radical activation is a major event involved in myocardial oxidative stress related to cardiopulmonary bypass. **Anesthesiology**, v. 96, p. 80-7, 2002.

DAMERON, C.T.; HARRIS, E.D. Regulation of aortic CuZn-superoxide dismutase with copper. Ceruloplasmin and albumin re-activate and transfer copper to the enzyme in culture. **Biochem J**, v. 248, p. 669-75, 1987.

DANKS, D.M. Copper deficiency in humans. **Annu Rev Nutr**, v. 8, p. 235-57, 1988, apud SHILS, M.E.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. 9.ed. São Paulo: Manole, 2003.

DATI, F.; SCHUMANN, G.; THOMAS, L.; AGUZZI, F.; BAUDNER, S.; BIENVENU, J.; BLAABJERG, O.; BLIRUP-JENSEN, S.; CARLSTRÖM, A.; PETERSEN, P.H.; JOHNSON, A.M.; MILFORD-WARD, A.; RITCHIE, R.; SVENDSEN, P.J.; WHICHER, J. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470). International Federation of Clinical Chemistry. Community Bureau of Reference of the Commission of the European Communities. College of American Pathologists. **Eur J Clin Chem Clin Biochem**, v. 34, p. 517-20, 1996.

DELANEY, J.W.; MOLTEDO, J.M.; DZIURA, J.D.; KOPF, G.S.; SNYDER, C.S. Early postoperative arrhythmias after pediatric cardiac surgery. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v.131, p. 1296-300, 2006.

DEMENTEVA, I.I.; ANDRIANOVA, M.I.U.; DZEMESHKEVICH, S.L.; IAVOROVSKII, A.G.; LOKSHIN, L.S. Changes in the content of microelements - copper, zinc and iron - in the blood of patients following cardiopulmonary bypass. **Anesteziol Reanimatol**. v. 4, p. 50-3, 1993.

DIXIT, R.; MUKHTAR, H.; BICKERS, D.R. Studies on the role of reactive oxygen species in mediating lipid peroxide formation in epidermal microsomes of rat skin. **J Invest Dermatol**, v. 81, p. 369-75, 1983.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol Rev**, v. 82, p. 47-95, 2002.

ELSHERIF, L.; ORTINES, R.V.; SAARI, J.T.; KANG, Y.J. Congestive heart failure in copper-deficient mice. **Exp Biol Med**, v. 228, p. 811-7, 2003.

EPE, B.; HEGLER, J.; WILD, D. Identification of ultimate DNA damaging oxygen species. **Environ Health Perspect**, v. 88, p. 111-5, 1990.

EVANS, P.J.; SMITH, C.; MITCHINSON, M.J.; HALLIWELL, B. Metal ion release from mechanically disrupted human arterial wall. Implications for the development of atherosclerosis. **Free Radic Res**, v. 23, p. 465-9, 1995.

FÁVARO, R.M.D.; VANNUCCHI, H. Níveis plasmáticos de zinco e antropometria de crianças da periferia de centro urbano no Brasil. **Rev Saúde Publ**, v. 24, p. 5-10, 1990.

FESTA, M.D.; ANDERSON, H.L.; DOWDY, R.P.; ELLERSIECK, M.R. Effect of zinc intake on copper excretion and retention in men. **Am J Clin Nutr**, v. 41, p. 285-92, 1985.

FISCHER, U.M.; TOSSIOS, P.; HUEBNER, A.; GEISLER, H.; BLOCH, W.; MEHLHORN, U. Myocardial apoptosis prevention by radical scavenging in patients undergoing cardiac surgery. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 128, p. 103-8, 2004.

FLEET, W.F.; JOHNSON, T.A.; GRAEBNER, C.A.; GETTES, L.S. Effect of serial brief ischemic episodes on extracellular K⁺, pH, and activation in the pig. **Circulation**, v. 72, p. 922-32, 1985.

FOOTE, J.W.; DELVES, H.T. Albumin bound and alpha 2-macroglobulin bound zinc concentrations in the sera of healthy adults. **J Clin Pathol**, v. 37, p. 1050-4, 1984.

FOX, P.L.; MAZUMDER, B.; EHRENWALD, E.; MUKHOPADHYAY, C.K. Ceruloplasmin and cardiovascular disease. **Free Radic Biol Med**, v. 28, p. 1735-44, 2000.

FRASER, W.D.; TAGGART, D.P.; FELL, G.S.; LYON, T.D.; WHEATLEY, D.; GARDEN, O.J.; SHENKIN, A. Changes in iron, zinc, and copper concentrations in serum and in their binding to transport proteins after cholecystectomy and cardiac surgery. **Clin Chem**, v. 35, p. 2243-7, 1989.

FRIEDEN, E. Perspectives on copper biochemistry. **Clin Physiol Biochem**, v. 4, p. 11-9, 1986.

FRIEDEN, E.; HSIEH, H.S. Ceruloplasmin: the copper transport protein with essential oxidase activity. **Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol**, v. 44, p. 187-236, 1976.

FUHRER, G.; HELLER, W.; HOFFMEISTER, H.E.; STERZING, T. Levels of trace elements during and after cardiopulmonary bypass operations. **Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)**, v. 59, Suppl 7, p. 352-7, 1986.

GERSHMAN, R.; GILBERT, D.L.; NYES, S.W.; DWYER, P.; FENN, W.O. Oxygen poisoning and x-irradiation: a mechanism in common. **Science**, v. 119, p. 623-6, 1954.

GILLETTE, P.C, PORTER, C.J.; McNAMARA, D.G.; BRICKER, J.T. Dysrhythmias, apud GARSON, A; BRICKER, J.T.; McNAMARA, D.G. **The Science and Practice of Pediatric Cardiology**, v II, Philadelphia: Lea & Febiger, 1990.

GOLDSTEIN, S.; CZAPSKI, G. The role and mechanism of metal ions and their complexes in enhancing damage in biological systems or in protecting these systems from the toxicity of O₂. **J Free Radic Biol Med**, v. 2, p. 3-11, 1986.

GÖNENÇ, A.; HACISEVKI, A.; BAKKALOGLU, B.; SOYAGIR, A.; TORUN, M.; KARAGÖZ, H.; SIMSEK, B. Oxidative stress is decreased in off-pump versus on-pump coronary artery surgery. **J Biochem Mol Biol**, v. 39, p. 377-82, 2006.

GOUDEAU, V.J.J.; CLERMONT, G.; GUILLERY, O.; LEMAIRE-EWING, S.; MUSAT, A.; VERNET, M.; VERGELY, C.; GUIGUET, M.; ROCHETTE, L.; GIRARD, C. In high-risk patients, combination of antiinflammatory procedures during cardiopulmonary bypass can reduce incidences of inflammation and oxidative stress. **J Cardiovasc Pharmacol**, v. 49, p. 39-45, 2007.

GRANGER, D.N.; HOLLWARTH, M.E.; PARKS, D.A. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. **Acta Physiol Scand Suppl**, v. 548, p. 47-63, 1986.

HABER, F.; WEISS, J. The catalytic decomposition of hydrogen peroxide by iron salts. **Proc R Soc London**, v. 147, p. 332-51, 1934, apud KEHRER, J.P. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. **Toxicology**, v. 149, p. 43-50, 2000.

HADJINIKOLAOU, L.; ALEXIOU, C.; COHEN, A.S.; STANDBRIDGE, R.L.; MCCOLL, A.J.; RICHMOND, W. Early changes in plasma antioxidant and lipid peroxidation levels following coronary artery bypass surgery: a complex response. **Eur J Cardiothorac Surg**, v. 23, p. 969-75, 2003.

HALLIWELL, B.; CROSS, C.E. Oxygen derived species: their relation to human disease and environmental stress. **Environ Health Perspect**, v. 102, Suppl 10, p. 5-12, 1994.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. **Biochem J**, v. 219, p. 1-14, 1984.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. **Mol Aspects Med**, v. 8, p. 189-193, 1985.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M. The antioxidants of human extracellular fluids. **Arch Biochem Biophys**, v. 280, p. 1-8, 1990.

HAMBIDGE, M. Human zinc deficiency. **J Nutr**, v. 130, (5S Suppl), p. 1344S-9S, 2003.

HARRIS, E.D.; PERCIVAL, S.S. Cooper transport: insights into a ceruloplasmin-based delivery system. **Adv Exp Med Biol**, v. 258, p. 95-102, 1990.

HART, E.B.; STEENBOCK, H.; WADDELL, J.; ELVEHJEM, C.A., and with the cooperation of EVELYN VAN DONK AND BLANCHE M. RIISING Iron in nutrition. VII. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. 1928, apud **J Biol Chem**, v. 277, p. 797 – 833, 2002.

HEYNDRICKX, G.R.; MILLARD, R.W.; McRITCHIE, R.J.; MAROKO, P.R.; VATNER, S.F. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. **J Clin Invest**, v. 56, p. 978-85, 1975.

IHNKEN, K.; WINKLER, A.; SCHLENSAK, C.; SARAI, K.; NEIDHART, G.; UNKELBACH, U.; MULSCH, A.; SEWELL, A. Normoxic cardiopulmonary bypass reduces oxidative myocardial damage and nitric oxide during cardiac operations in the adult. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 117, p. 630-2, 1998.

INAL, M.; ALATAS, O.; KANBAK, G.; AKYUZ, F.; SEVIN, B. Changes of antioxidant enzyme activities during cardiopulmonary bypass. **J Cardiovasc Surg**, v. 40, p. 373-6, 1999.

IYENGAR, G.V. Reference values for the concentrations of As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, I, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se and Zn in selected human tissues and body fluids. **Biological Trace Element Research**, v. 12, p. 263-95, 1987.

IYENGAR, V.; WOITTIEZ, J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. **Clin Chem**, v. 34, p. 474-81, 1988.

JENNINGS R.B.; REIMER, K.A.; STEENBERGEN, C. Jr. Myocardial ischemia revisited: the osmolar load, membrane damage, and reperfusion. **J Mol Cell Cardiol**, v. 18, p. 769-80, 1986.

JENNINGS, R.B.; SCHAPER, J.; HILL, M.L.; STEENBERGEN, C. JR.; REIMER, K.A. Effect of reperfusion late in the phase of reversible ischemic injury. Changes in cell volume, electrolytes, metabolites, and ultrastructure. **Circ Res**, v. 56, p. 262-78, 1985.

KAY, M.M.; BOSMAN, G.J.; SHAPIRO, S.S.; BENDICH, A.; BASSEL, P.S. Oxidation as a possible mechanism of cellular aging: vitamin E deficiency causes premature aging and IgG binding to erythrocytes. **Proc Natl Acad Sci USA**, v. 83, p. 2463-7, 1986.

KEEN, C.L.; GERSHWIN, M.E. Zinc deficiency and immune function. **Annu Rev Nutr**, v. 10, p. 415-31, 1990.

KEHRER J.P. The Haber-Weiss reaction and mechanisms of toxicity. **Toxicology**, v. 149, p. 43-50, 2000.

KIRKLIN, J.K.; BLACKSTONE, E.H.; KIRKLIN, J.W.; MCKAY, R.; PACIFICO, A.D.; BARGERON, L.M. Intracardiac surgery in infants under age 3 months: predictors of postoperative in-hospital cardiac death. **Am J Cardiol**, v. 48, p. 507-12, 1981.

KLONER, R.A.; JENNINGS, R.B. Consequences of brief ischemia: stunning, preconditioning, and their clinical implications: part 1. **Circulation**, v. 104, p. 2981-9, 2001.

KUNT, A.S.; SELEK, S.; CELIK, H.; DEMIR, D.; EREL, O.; ANDAC, M.H. Decrease of total antioxidant capacity during coronary artery bypass surgery. **Mt Sinai J Med**, v. 73, p. 777-83, 2006.

KUSUOKA, H.; KORETSUNE, Y.; CHACKO, V.P.; WEISFELDT, M.L.; MARBAN, E. Excitation-contraction coupling in postischemic myocardium. Does failure of activator Ca^{2+} transients underlie stunning? **Circ Res**, v. 66, p. 1268-76, 1990.

LUYTEN, C.R.; VAN OVERVELD, F.J.; DE BACKER, L.A.; SADOWSKA, A.M.; RODRIGUS, I.E.; DE HERT, S.G.; DE BACKER, W.A.. Antioxidant defence during cardiopulmonary bypass surgery. **Eur J Cardiothorac Surg**, v. 27, p. 611-6, 2005.

MARET, W. The function of zinc metallothionein: a link between cellular zinc and redox state. **J Nutr**, v. 130, p. 1455S-8S (5S Suppl) , 2000.

MARX, G.; CHEVION, M. Site-specific modification of albumin by free radicals. Reaction with copper(II) and ascorbate. **Biochem J**, v. 236, p. 397-400, 1986.

MATTHEWS, H.R.; MEADE, J.B., EVANS, C.C. Peripheral vasoconstriction after open-heart surgery. **Thorax**, v. 29, p. 338-42, 1974.

McCALL, K.A.; HUANG, C.; FIERKE, C.A. Function and mechanism of zinc metalloenzymes. **J Nutr**, v. 130, p. 1437S-46S (5S Suppl), 2000.

McCORD, J.M.; FRIDOVICH, I. Superoxido dismutase: an enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). **J Biol. Chem**, v. 224, p. 6049-55, 1969.

MELNIKOV, P.; MOURA, A.J.C.; PALHARES, D.B.; FIGUEIREDO, C.S.M. Zinc and Copper in Colostrum. **Indian Pediat**, v. 44, p. 355-7, 2007.

MELTZER, R.; CHIU, R.C.; MULDER, D.S.; SCOTT, H.J.; BROWN, R.A.; TANAKA, Y. Myocardial cations and trace metals in cardioplegia: a clinical study. **Can J Surg**, v. 23, p. 113-6, 1980.

MEZZETTI, A.; LAPENNA, D.; PIERDOMENICO, S.D.; DI GIAMMARCO, G.; BOSCO, G.; DI ILIO, C.; SANTARELLI, P.; CALAFIORE, A.M.; CUCCURULLO, F. Myocardial antioxidant defenses during cardiopulmonary bypass. **J Card Surg**, v. 8, p. 167-71, 1993.

MILLS, C.F. Zinc in human biology. **Hum Nutr Rev**, Berlin: Springer-Verlag, 1989.

MOLICKI, J.S.; DRAAISMA, A.M.; VERBEET, N.; MUNNEKE, R.; HUYSMANS, H.A.; HAZEKAMP, M.G.; BERGER, H.M. Prime solutions for cardiopulmonary bypass in neonates: antioxidant capacity of prime based on albumin or fresh frozen plasma. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 122, p. 449-56, 2001.

MOSLEN, M.T.; SMITH, C.V. Radicais livres: mecanismos de lesão tecidual. 1.ed. Rio de Janeiro: Interlivros, 1996.

MUKHOPADHYAY, C.K.; EHRENWALD, E.; FOX, P.L. Ceruloplasmin enhances smooth muscle cell- and endothelial cell-mediated low density lipoprotein oxidation by a superoxide-dependent mechanism. **J Biol Chem**, v. 271, p. 14773-8, 1996.

MUKHOPADHYAY, C.K.; FOX, P.L. Ceruloplasmin copper induces oxidant damage by a redox process utilizing cell-derived superoxide as reductant. **Biochemistry**, v. 37, p. 14222-9, 1998.

NATH, R. Copper deficiency and heart disease: molecular basis, recent advances and current concepts. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 29, p. 1245-54, 1997.

NATIONAL HIGH BLOOD PRESSURE EDUCATION PROGRAM WORKING GROUP ON HIGH BLOOD PRESSURE IN CHILDREN AND ADOLESCENTS. The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. **Pediatrics**, v. 114, p. 555-76, 2004.

OCHOA, J.J.; VILCHEZ, M.J.; IBANEZ, S.; HUERTAS, J.R.; PALACIO, M.A.; MUNOZ-HOYOS, A. Oxidative stress is evident in erythrocytes as well as plasma in patients undergoing heart surgery involving cardiopulmonary bypass. **Free Radic Res**, v. 37, p. 11-7, 2003.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE, GENEVRA. **Elementos traço na nutrição e saúde humanas**. São Paulo, Roca, 1998.

PECHAN, I.; OLEJAROVA, I.; DANOVA, K.; FISCHER, V.; MINAROVA, H.; DOBISOVA, A.; HALCAK, L.; RENDEKOVA, V.; GABAUER, I. Antioxidant status of patients after on-pump and off-pump coronary artery bypass grafting. **Bratisl Lek Listy**, v. 105, p. 45-50, 2004.

PFAMMATTER, J.P.; WAGNER, B.; BERDAT, P.; BACHMANN, D.C.; PAVLOVIC, M.; PFENNINGER, J.; CARREL, T. Procedural factors associated with early postoperative arrhythmias after repair of congenital heart defects, **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 123, p. 258-62, 2002.

POWELL, S.R. The antioxidant properties of zinc. **J Nutr**, v. 130, (5S Suppl), p. 1447S-54S, 2000.

POWELL, S.R.; GURZENDA, E.M.; WINGERTZAHN, M.A.; WAPNIR, R.A. Promotion of copper excretion from the isolated rat heart attenuates post ischemic cardiac oxidative injury. **Am J Physiol**, v. 277, p. 956-62, 1999.

POWELL, S.R.; HALL, D.; AIUTO, L.; WAPNIR, R.A.; TEICHBERG, S.; TORTOLANI, A.J. Zinc improves post ischemic recovery of isolated rat hearts through inhibition of oxidative stress. **Am J Physiol**, v. 266, p. 2497-507, 1994.

POWELL, S.R.; HALL, D.; SHIH, A. Copper loading of hearts increases postischemic reperfusion injury. **Circ Res**. v. 69, p. 881-5, 1991.

PROHASKA, J.R.; BROKATE, B. Dietary copper deficiency alters protein levels of rat dopamine beta-monooxygenase and tyrosine monooxygenase. **Exp Biol Med**, v. 226, p. 199-207, 2001.

PYATSKOWIT, J.W.; PROHASKA, J.R. Rodent brain and heart catecholamine levels are altered by different models of copper deficiency. **Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol**, v. 145, p. 275-81, 2007.

RASTAN, A.J.; BITTNER, H.B.; GUMMERT, J.F.; WALTHER, T.; SCHEWICK, C.V.; GIRDAUSKAS, E.; MOHR, F.W. On-pump beating heart versus off-pump coronary artery bypass surgery-evidence of pump-induced myocardial injury. **Eur J Cardiothorac Surg**, v. 27, p. 1057-64, 2005.

REITER, R.J.; MAESTRONI, G.J. Melatonin in relation to the antioxidative defense and immune systems: possible implications for cell and organ transplantation. **J Mol Med**, v. 77, p. 36-9, 1999.

REKAWEK, J.; KANSY, A.; MISZCZAK-KNECHT, M.; MANOWSKA, M.; BIEGANOWSKA, K.; BRZEZINSKA-PASZKE, M.; SZYMANIAK, E.; TURSKA-KMIEĆ, A.; MARUSZEWSKI, P.; BURCZYŃSKI, P.; KAWALEC, W. Risk factors for cardiac arrhythmias in children with congenital heart disease after surgical intervention in the early postoperative period. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 133, p. 900-4, 2007.

ROBERTS, A.; BAR-OR, D.; WINKLER, J.V.; RAEL, L.T. Copper-induced oxidation of epinephrine: protective effect of D-DAHK, a synthetic analogue of the high affinity copper binding site of human albumin. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 304, p. 755-7, 2003.

SANDSTEAD, H.H. Understanding zinc: recent observations and interpretations. **J Lab Clin Med**, v. 124, p. 322-7, 1994.

SANTOS, C.J.G. Manual de estruturação de trabalhos acadêmicos, p. 1-24, Faculdade de Minas – Belo Horizonte, 2006, disponível em <[www.faminasbh.edu.br/bh/download/Manual Normas 2006 2.pdf](http://www.faminasbh.edu.br/bh/download/Manual_Normas_2006_2.pdf)>, acessado em 01/09/2007.

SANTOS, E.B.; OLIVA, C.A.G.; AMÂNCIO, O.M. Antropometria, composição corporal e estado nutricional em ferro, cobre e zinco em crianças e adolescentes de duas favelas de São Paulo. **The Electronic Journal of Pediatric Gastroenterology, Nutrition and Liver Diseases**, v. 7, s/p., 2003., disponível em <<http://www.e-gastroped.com.br/sept03/artigo.htm>>, acessado em 20/05/2007.

SEIDEL, K.E.; FAILLA, M.L.; ROSEBROUGH, R.W. Cardiac catecholamine metabolism in copper-deficient rats. **J Nutr**, v. 121, p. 474-83, 1991.

SHILS, E.M.; OLSON, J.A.; SHIKE, M.; ROSS, A.C. **Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença**. V 1, 9. ed. São Paulo: Manole, 2003.

SHIRY, L.; MEDEIROS, D.M.; BONAGURA, J.D.; McCUNE, S.A. Heart murmurs, valvular regurgitation and electrical disturbances in copper-deficient genetically hypertensive, hypertrophic cardiomyopathic rats. **J Am Coll Nutr**, v.18, p. 51-60, 1999.

SHOTT, S. **Statistics for health professionals**. London: W.B. Saunders Company, 1990.

SIES, H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. **Exp Physiol**, v. 82, p. 291-5, 1997.

SINGAL, P.K.; BEAMISH, R.E.; DHALLA, N.S. Potential oxidative pathways of catecholamines in the formation of lipid peroxides and genesis of heart disease. **Adv Exp Med Biol**, v. 161, p.391-401, 1983.

SJÖGREN, A.; LÜHRS, C.; ABDULLA, M. Changed distribution of zinc and copper in body fluids in patients undergoing open-heart surgery. **Acta Pharmacol Toxicol (Copenh)**, v. 59 (Suppl 7), p. 348-51, 1986.

SOUZA, M.H.L.; ELIAS, D.O. **Fundamentos da circulação extracorpórea**. Hemodiluição e perfusato. 2.ed. Rio de Janeiro: Centro Editorial Alfa Rio, 2006.

STADTMAN, E.R.; OLIVER, C.N. Metal-catalyzed oxidation of proteins. Physiological consequences. **J Biol Chem**, v. 266, p. 2005-8, 1991.

STOHS, S.J.; BAGCHI, D. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. **Free Rad Biol & Med**, v. 18, p. 321-36, 1995.

SUBRAMANIAN, K.S. Determination of metals in biofluids and tissues: sample preparation methods for spectroscopic techniques. **Spectrochimica Acta**, Part B, v. 51, p. 291-319, 1996.

TERRES-MARTOS, C.; NAVARRO-ALARCON, M.; MARTIN-LAGOS, F.; LOPEZ-G, S.H.; LOPEZ-MARTINEZ, M.C. Determination of copper levels in serum of healthy subjects by atomic absorption spectrometry. **Sci Total Environ**, v. 198, p. 97-103, 1997.

THIRUMOORTHY, N.; KUMAR, K.T.M.; SUNDAR, S.A.; PANAYAPPAN, L.; CHATTERJEE, M. Metallothionein: An overview. **World J Gastroenterol**, v. 13, p. 993-6, 2007.

TKESHELASHVILI, L.K.; MCBRIDE, T.; SPENCE, K.; LOEB, L.A. Mutation spectrum of copper-induced DNA damage. **J Biol Chem**, v. 266, p. 6401-6, 1991.

TORRE, M.; RODRIGUEZ, A.R.; SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. **Crit Rev Food Sci Nutr**, v. 30, p. 1-22, 1991.

TORTOLANI, A.J.; POWELL, S.R.; MISÍK, V.; WEGLIKI, W.B.; POGO, G.J.; KRAMER, J.H. Detection of alkoxy and carbon-centered free radicals in coronary

sinus blood from patients undergoing elective cardioplegia. **Free Radic Biol Med**, v. 14, p. 421-6, 1993.

TURNLUND, J.R.; DURKIN, N.; COSTA, F.; MARGEN, S. Stable isotope studies of zinc absorption and retention in young and elderly men. **J Nutr**, v. 116, p. 239-47, 1986.

VALKO, M.; MORRIS, H.; CRONIN, M.T. Metals toxicity and oxidative stress. **Curr Med Chem**, v. 12, p. 1161-208, 2005.

VALSANGIACOMO, E.; SCHMID, E.R.; SCHÜPBACH, R.W.; SCHMIDLIN, D.; MOLINARI, L.; WALDVOGEL, K.; BAUERSFELD, U. Early postoperative arrhythmias after cardiac operation in children. **Ann Thorac Surg**, v. 74, p. 792-6, 2002.

VANDEPLASSCHE, G.; HERMANS, C.; THONÉ, F.; BORGERS, M. Mitochondrial hydrogen peroxide generation by NADH-oxidase activity following regional myocardial ischemia in the dog. **J Mol Cell Cardiol**, v. 21, p. 383-92, 1989.

VIESTENZ, K.E.; KLEVAY, L.M. A randomized trial of copper therapy in rats with electrocardiographic abnormalities due to copper deficiency. **Am J Clin Nutr**, v. 35, p. 258-66, 1982.

WAN, S.; LECLERC, J.L.; VINCENT, J.L. Inflammatory response to cardiopulmonary bypass: mechanisms involved and possible therapeutic strategies. **Chest**, v. 112, p. 676-92, 1997.

WILLIAMS, D.M. Copper deficiency in humans. **Semin Hematol**, v. 20, p. 118-28, 1983.

YAU, T.M.; WEISEL, R.D.; MICKLE, D.A.; BURTON, G.W.; INGOLD, K.U.; IVANOV, J.; MOHABEER, M.K.; TUMIATI, L.; CARSON, S. Vitamin E for coronary bypass operations. A prospective, double-blind, randomized trial. **J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 108, p. 302-10, 1994.

YUSUF, S.; DAGENAIS, G.; POGUE, J.; BOSCH, J.; SLEIGHT, P. Vitamin E ; supplementation and cardiovascular events in high-risk patients. The Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. **N Engl J Med**, v. 342, p. 154-60, 2000.

ZAMPARELLI, R.; CARELLI, G.; PENNISI, M.A.; BARUFFI, E.; SCHIAVELLO, R.; INTONTI, M.A.; INTONTI, F. Zinc and copper metabolism during open-heart surgery. **Scand J Thorac Cardiovasc Surg**, v. 20, p. 241-5, 1986.

ZHAO, L. Changes in blood zinc and copper and their clinical significance in patients undergoing open-heart surgery. **Zhonghua Yi Xue Za Zhi**, v. 69, p. 76-86, 1989. Chinese Abstract.

ZIMMERMAN, B.J.; GRANGER, D.N. Mechanisms of reperfusion injury. **Am J Med Sci**, v. 307, p. 284-92, 1994.

9 APÊNDICE A

TABELA 3 - Pressão arterial em mmHg para meninos de acordo com o percentil idade / estatura

Idade	Percentil PA	Pressão Arterial Sistólica Percentil da Estatura							Pressão Arterial Diastólica Percentil da Estatura						
		5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
1	50th	80	81	82	85	87	88	89	34	35	36	37	38	39	39
	90th	94	95	97	99	100	102	103	49	50	51	52	53	53	54
	95th	98	99	101	103	104	106	106	54	54	55	55	57	58	58
	99th	105	106	108	110	112	113	114	61	62	63	64	65	66	66
2	50th	84	85	87	88	90	92	92	39	40	41	42	43	44	44
	90th	97	99	100	102	104	106	106	54	55	56	57	58	58	59
	95th	101	102	104	106	108	109	110	59	59	60	61	62	63	63
	99th	109	110	111	113	115	117	117	66	67	68	69	70	71	71
3	50th	86	87	89	91	92	94	95	41	41	45	45	47	48	48
	90th	100	101	102	105	107	109	109	59	59	60	61	62	63	63
	95th	104	105	107	109	110	112	113	63	63	64	65	66	67	67
	99th	111	112	114	116	118	119	120	71	71	72	73	74	75	75
4	50th	88	89	91	93	95	96	97	47	48	49	50	51	51	52
	90th	102	103	105	107	109	110	111	62	63	64	65	66	66	67
	95th	106	107	109	111	112	114	115	66	67	68	69	70	71	71
	99th	113	114	116	118	120	121	122	74	75	76	77	78	78	79
5	50th	90	91	93	95	95	98	98	50	51	52	53	54	55	55
	90th	104	105	106	108	110	111	112	65	66	67	68	69	69	70
	95th	108	109	110	112	114	115	116	69	70	71	72	73	74	74
	99th	115	116	118	120	121	123	123	77	78	79	80	81	81	82
6	50th	91	92	94	96	98	99	100	53	53	54	55	56	57	57
	90th	105	106	108	110	111	113	113	68	68	69	70	71	72	72
	95th	109	110	112	114	115	117	117	72	72	73	74	75	76	76
	99th	116	117	119	121	123	124	125	80	80	81	82	83	84	84
7	50th	92	94	95	97	99	100	101	55	55	56	57	58	59	59
	90th	106	107	109	111	113	114	115	70	70	71	72	73	74	74
	95th	110	111	113	115	117	118	119	74	74	75	75	77	78	78
	99th	117	118	120	122	124	125	126	82	82	83	84	85	86	86
8	50th	94	95	97	99	100	102	102	56	57	58	59	60	60	61
	90th	107	109	110	112	114	115	116	71	72	72	73	74	75	76
	95th	111	112	114	116	118	119	120	75	76	77	78	79	79	80
	99th	119	120	122	123	125	127	127	83	84	85	85	87	87	88
9	50th	95	96	98	100	102	103	104	57	58	59	60	61	61	62
	90th	109	110	112	114	115	117	118	72	73	74	75	75	76	77
	95th	113	114	116	118	119	121	121	76	77	78	79	80	81	81
	99th	120	121	123	125	127	128	129	84	85	86	87	88	88	89
10	50th	97	98	100	102	103	105	106	58	59	60	61	61	62	63
	90th	111	112	114	115	117	119	119	73	73	74	75	75	77	78
	95th	115	116	117	119	121	122	123	77	78	79	80	81	81	82
	99th	122	123	125	127	128	130	130	85	86	86	88	88	89	90
11	50th	99	100	102	104	105	107	107	59	59	60	61	62	63	63
	90th	113	114	115	117	119	120	121	74	74	75	75	77	78	78
	95th	117	118	119	121	123	124	125	78	78	79	80	81	82	82
	99th	124	125	127	129	130	132	132	86	86	87	88	89	90	90
12	50th	101	102	104	106	108	109	110	60	61	61	62	63	63	64
	90th	115	116	118	120	121	123	123	74	75	75	75	77	78	79
	95th	119	120	122	123	125	127	127	78	79	80	81	82	82	83
	99th	126	127	129	131	133	134	135	86	87	88	89	90	90	91
13	50th	104	105	106	108	110	111	112	60	60	61	62	63	64	64
	90th	117	118	120	122	124	125	126	75	75	76	77	78	79	79
	95th	121	122	124	126	128	129	130	79	79	80	81	82	83	83
	99th	128	130	131	133	135	136	137	87	87	88	89	90	91	91
14	50th	106	107	109	111	113	114	115	60	61	62	63	64	65	65
	90th	120	121	123	125	126	128	128	75	76	77	78	79	79	80
	95th	124	125	127	128	130	132	132	80	80	81	82	83	84	84
	99th	131	132	134	136	138	139	140	87	88	89	90	91	92	92

Fonte - The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents., 2004.

APÊNDICE B

TABELA 4 - Pressão arterial em mmHg para meninas de acordo com o percentil idade / estatura

Idade	Percentil PA	Pressão Arterial Sistólica Percentil da Estatura							Pressão Arterial Diastólica Percentil da Estatura						
		5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th	5th	10th	25th	50th	75th	90th	95th
1	50th	83	84	85	86	88	89	90	38	39	39	40	41	41	42
	90th	97	97	98	100	101	102	103	52	53	53	54	55	55	56
	95th	100	101	102	104	105	106	107	56	57	57	58	59	59	60
	99th	108	108	109	111	112	113	114	64	64	65	65	66	67	67
2	50th	85	85	87	88	89	91	91	42	44	44	45	46	46	47
	90th	98	99	100	101	103	104	105	57	58	58	59	60	61	61
	95th	102	103	104	105	107	108	109	61	62	62	63	64	65	65
	99th	109	110	111	112	114	115	116	69	69	70	70	71	72	72
3	50th	86	87	88	89	91	92	93	47	48	48	49	50	50	51
	90th	100	100	102	103	104	106	106	61	62	62	63	64	64	65
	95th	104	104	105	107	108	109	110	65	66	66	67	68	68	69
	99th	111	111	113	114	115	116	117	73	73	74	74	75	76	76
4	50th	88	88	90	91	92	94	94	50	50	51	52	52	53	54
	90th	101	102	103	104	106	107	108	64	64	65	66	67	67	68
	95th	105	106	107	108	110	111	112	68	68	69	70	71	71	72
	99th	112	113	114	115	117	118	119	76	76	76	77	78	79	79
5	50th	89	90	91	93	94	95	96	52	53	53	54	55	55	56
	90th	103	103	105	106	107	109	109	66	67	67	68	69	69	70
	95th	107	107	108	110	111	112	113	70	71	71	72	73	73	74
	99th	114	114	116	117	118	120	120	78	78	79	79	80	81	81
6	50th	91	92	93	94	96	97	98	54	54	55	56	56	57	58
	90th	104	105	106	108	109	110	111	68	68	69	70	70	71	72
	95th	108	109	110	111	113	114	115	72	72	73	74	74	75	76
	99th	115	116	117	119	120	121	122	80	80	80	81	82	83	83
7	50th	93	93	95	96	97	99	99	55	56	56	57	58	58	59
	90th	106	107	108	109	111	112	113	69	70	70	71	72	72	73
	95th	110	111	112	113	115	116	116	73	74	74	75	76	76	77
	99th	117	118	119	120	122	123	124	81	81	82	82	83	84	84
8	50th	95	95	96	98	99	100	101	57	57	57	58	59	60	60
	90th	108	109	110	111	113	114	114	71	71	71	72	73	74	74
	95th	112	112	114	115	116	118	118	75	75	75	76	77	78	78
	99th	119	120	121	122	123	125	125	82	82	83	83	84	85	86
9	50th	96	97	98	100	101	102	103	58	58	58	59	60	61	61
	90th	110	110	112	113	114	116	116	72	72	72	73	74	75	75
	95th	114	114	115	117	118	119	120	76	76	76	77	78	79	79
	99th	121	121	123	124	125	127	127	83	83	84	84	85	86	87
10	50th	98	99	100	102	103	104	105	59	59	59	60	61	62	62
	90th	112	112	114	115	116	118	118	73	73	73	74	75	76	76
	95th	116	116	117	119	120	121	122	77	77	77	78	79	80	80
	99th	123	123	125	126	127	129	129	84	84	85	85	86	87	88
11	50th	100	101	102	103	105	106	107	60	60	60	61	62	63	63
	90th	114	114	116	117	118	119	120	74	74	74	75	76	77	77
	95th	118	118	119	121	122	123	124	78	78	78	79	80	81	81
	99th	125	125	126	128	129	130	131	85	85	86	86	87	88	89
12	50th	102	103	104	105	107	108	109	61	61	61	62	63	64	64
	90th	116	116	117	119	120	121	122	75	75	75	76	77	78	78
	95th	119	120	121	123	124	125	126	79	79	79	80	81	82	82
	99th	127	127	128	130	131	132	133	86	86	87	87	88	89	90
13	50th	104	105	106	107	109	110	110	62	62	62	63	64	65	65
	90th	117	118	119	121	122	123	124	76	76	76	77	78	79	79
	95th	121	122	123	124	126	127	128	80	80	80	81	82	83	83
	99th	128	129	130	132	133	134	135	87	87	88	88	89	90	91
14	50th	106	106	107	109	110	111	112	63	63	63	64	65	66	66
	90th	119	120	121	122	124	125	125	77	77	77	78	79	80	80
	95th	123	123	125	126	127	129	129	81	81	81	82	83	84	84
	99th	130	131	132	133	135	136	136	88	88	89	89	90	91	92

Fonte - The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents., 2004.

10 ANEXOS

10.1 TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Seu filho (a) foi convidado a participar em uma pesquisa e você vai decidir se quer que ele participe ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte todas as dúvidas que tiver. Este estudo está sendo conduzido por mim e pelo Professor Petr Melnikov. Eu sou a Professora Lourdes do departamento de Pediatria e o Professor Petr é do departamento de Clínica Cirúrgica da UFMS.

Porque o estudo esta sendo feito?

A finalidade deste estudo é dosar no sangue os elementos cobre, zinco e uma enzima chamada ceruloplasmina, que todos nós já temos no organismo, mas que podem se alterar quando o paciente faz cirurgia do coração. Estas substâncias já foram muitas vezes dosadas em adultos, mas nas crianças não. Este estudo tem a finalidade apenas de dosar, no sangue da criança estas substâncias antes e depois da cirurgia, e verificar se as alterações destas substâncias provocam algum sintoma no paciente.

Quem participará deste estudo?

Poderão participar deste estudo, após o consentimento dos pais, 30 crianças que fizerem cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea.

O que será feito para dosar estes elementos no sangue da criança?

Antes de começar a cirurgia, depois que a criança estiver anestesiada, será coletado sangue para dosar o cobre, zinco e a ceruloplasmina. Outras amostras também serão coletadas durante a cirurgia, e uma única vez no dia seguinte à cirurgia. Este será o único material a ser colhido para o estudo. Este material será desprezado depois do uso.

Que prejuízos podem acontecer comigo se eu participar deste estudo?

Não esperamos que tal fato ocorra, já que amostras de sangue são normalmente coletadas durante a cirurgia cardíaca.

Que benefício eu posso esperar?

O seu filho estará contribuindo para a realização de um estudo onde, a partir dos resultados, muitas conclusões poderão ser tiradas. Poderemos mantê-lo informado dos resultados se você desejar.

Quem poderá ver os meus registros e saber que eu estou participando do estudo?

Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei, somente o pesquisador (seu médico ou outro profissional) a equipe do estudo, terão acesso a suas informações.

Quem devo chamar se tiver qualquer dúvida ou algum problema?

Para perguntas ou problemas referentes ao estudo ligue para Dra. Lourdes Zanoni, telefone 99577979.

Eu posso recusar a participar ou pedir para sair do estudo?

Sua participação no estudo é voluntária. Você pode escolher não fazer parte do estudo, ou pode desistir a qualquer momento. Se você desistir do estudo, você vai receber o tratamento padrão para a sua condição. Você receberá uma via assinada deste termo de consentimento.

Declaro que li e entendi este formulário de consentimento e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas e que sou voluntário a tomar parte neste estudo.

Nome do paciente _____

Assinatura e nome do responsável _____

Assinatura do pesquisador _____ data _____

10.2 PROTOCOLO DE COLETA – nº _____

ALTERAÇÕES NO CONTEÚDO PLASMÁTICO DO COBRE E DO ZINCO

DATA ____/____/____
 Nome _____ Atendimento _____
 Idade _____ DN _____ Sexo _____ Cor _____
 Peso _____ Alt _____ Sup. Corpórea _____
 End _____
 Mãe _____ Tel _____

Cardiopatia _____
 ICC: dispnéia _____ ganho peso _____ BCP _____ Cianose _____
 Medicamentos atuais _____
 Doença prévia não cardíaca _____

Exames Pré-operatórios: Ht ____ Hb ____ Leuc ____ Bast ____ Neutrof ____ Eos ____
 Mono ____ Linfo ____ Glic ____ Na ____ K ____ Ca ____ Mg ____ P ____ Ur ____ Crea ____

ECG _____

Eco _____

Cat _____

Início da cirurgia _____ h

Amostra	Momento	Local	Hor a	Temp. Farin	Temp. Ret	PAM	F.Car d	Sat O ₂	FiO ₂
A	Anestesia	Cat. Venoso							
B	Antes CEC	Átrio Direito							
C	CEC 5'	Oxigenador							
D	CEC 10'	Oxigenador							
	Saída CEC	Ao s/ Clamp							
I	3'	Seio Coron.							
J	3'	Oxigenador							
M	Final	Cat. arterial							
N	24 horas	Cat. arterial							

Plaquetas _____ Plasma _____ Papa hem. _____

OBS _____

Desfibrilação – joules _____ nº de vezes _____

Ritmo se saída de CEC _____

Marca Passo _____

ANESTESIA: _____

CEC : início _____ fim _____ tempo de CEC _____ tempo de anóxia _____

Prime _____ Volemia _____

Hipotermia _____ °C

Fluxo max _____ l/min Fluxo med _____ Fluxo min _____

Solução Cardioplégica _____

Clampeamento Aorta _____

Medicações – Bic Aminofilina Ca Xylocaína manitol
 furosemide solucortef dopa dobuta nitro

CONSOLO, Lourdes Zélia Zanoni
Alterações Plasmáticas do Cobre e do Zinco em Crianças
Submetidas à Cirurgia Cardíaca com Circulação Extracorpórea / Lourdes
Zélia Zanoni Consolo. Campo Grande: UFMS, 2008.
xiii, 100 f:20 il;
Orientador: Petr Melnikov
Tese (Doutorado) – Programa Multi-Institucional de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde - Rede Centro-Oeste, convênio
Universidade de Brasília, Universidade Federal de Goiás e Universidade
Federal de Mato Grosso do Sul.
Referências Bibliográficas: 11 f.

1. Cobre. 2. Zinco. 3. Circulação Extracorpórea, 4.
Cardiologia Pediátrica. Tese.