

VANESSA CRISTINA SCHRODER ROSA

**CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE ZINCO E COBRE
EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES PORTADORES DE
DIABETES *MELLITUS* TIPO 1**

CAMPO GRANDE

2014

VANESSA CRISTINA SCHRODER ROSA

**CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE ZINCO E COBRE
EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES PORTADORES DE
DIABETES *MELLITUS* TIPO 1**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de mestre.

Orientadora Prof^a Dra. Lourdes Zélia Zanoni
Cônsole

CAMPO GRANDE

2014

FOLHA DE APROVAÇÃO

CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DO ZINCO E COBRE E SUAS RELAÇÕES COM O PERFIL LIPÍDICO EM PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 1.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de mestre.

Orientadora Prof^a Dra. Lourdes Zélia Zanoni
Cônsole

Resultado: Aprovada

Campo Grande, 05/11/2014

BANCA EXAMINADORA:

Prof^a Dra. Débora Marchetti Chaves Thomas

1º membro - Universidade Federal de Mato Grosso do sul

Prof^a Dra. Carmem Silvia Martimbianco Figueiredo

2º membro - Universidade Federal de Mato Grosso do sul

Prof^o Dr Petr Melnicov

Suplente - Universidade Federal de Mato Grosso do sul

Dedico este trabalho a minha mãe Vilma e ao meu pai Marcílio (in memoriam), sem os quais, obviamente, eu não teria chegado até aqui.

As minhas filhas Ynaê Paula e Giulia Cristina, cujo amor incondicional, é e sempre será, meu maior estímulo para ir sempre adiante.

Ao meu esposo Anderson que, pacientemente me acompanhou em todos os altos e baixos no decurso destes anos de mestrado, me apoiando em todas as minhas decisões, inclusive nas mais malucas.

Às crianças participantes e seus responsáveis, sem os quais a realização deste estudo seria impossível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora Prof.^a Dra. Lourdes Zélia Zanoni Cònsolo, pela liberdade e confiança referente ao presente trabalho, além do indiscutível apoio e compreensão em momentos difíceis.

Agradeço às seguintes instituições que foram essenciais para que o trabalho pudesse ser realizado:

Ao Programa de Pós Graduação em Saúde e Desenvolvimento do Centro Oeste;

Ao ambulatório de endocrinologia pediátrica do Hospital Universitário da UFMS, com destaque ao Dr Luis Felipe Antunes Ribeiro, Dra Adriana Resende Milagres Saab, Dra Gidinei Marial Alves e a Eurídes Vieira Pinho;

À equipe do Laboratório de Metabolismo mineral e biomateriais, em especial ao Me. Anderson Fernandes pela parceria nas leituras do material;

Ao Centro de Especialidades Médicas de Campo Grande – MS, especialmente para as queridas Vera e Josi, pelo apoio com as coletas e abordagem das crianças e responsáveis;

Às minhas amigas, parceiras, confidentes e colegas de trabalho, pertencentes à equipe da UTI Pediátrica do HU/UFMS, que sempre me impulsionaram em todos os meus projetos profissionais ou não - amo vocês!

A todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram com que este projeto fosse adiante.

“Lembre-se de que você mesmo é o melhor secretário de sua tarefa, o mais eficiente propagandista de seus ideais, a mais clara demonstração de seus princípios, o mais alto padrão do ensino superior que seu espírito abraça e a mensagem viva das elevadas noções que você transmite aos outros. Não se esqueça, igualmente, de que o maior inimigo de suas realizações mais nobres, a completa ou incompleta negação do idealismo sublime que você apregoa, a nota discordante da sinfonia do bem que pretende executar, o arquiteto de suas aflições e o destruidor de suas oportunidades de elevação - é você mesmo.”

Francisco Cândido Xavier

RESUMO

Rosa, V. C. S. Concentrações plasmáticas de zinco e cobre em crianças e adolescentes portadores de diabetes *mellitus* tipo 1, Campo Grande, 2014 (Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul).

A relação entre os elementos traço, como o zinco e o cobre, com vários processos metabólicos é bem conhecida. A manutenção das concentrações séricas desses metais é essencial não só para a atividade enzimática, mas também para o balanço do estresse oxidativo, que está presente no diabetes *mellitus* tipo 1. O zinco está envolvido diretamente tanto na síntese como no armazenamento e na secreção da insulina. A concentração plasmática de cobre mantém estreita relação com as complicações do diabetes *mellitus* tipo 1. O presente estudo avaliou a associação entre as concentrações plasmáticas de zinco e cobre com parâmetros clínicos e laboratoriais em pacientes com diabetes *mellitus* tipo 1. Entre o mês de setembro de 2012 a julho de 2013, 28 pacientes, de ambos os gêneros, média de idade de 11,8 anos, foram incluídos no estudo. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética local e o termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido. A concentração plasmática de zinco e cobre foi determinada por espectrometria de absorção atômica (PerkinElmer Analyst[®]). A hemoglobina glicada e o perfil lipídico também foram avaliados. Em 75% e 68% dos pacientes, os níveis de zinco e cobre, respectivamente, estavam dentro dos valores de referência. Não houve correlação dos níveis dos elementos traço com o índice de massa corporal, gênero, colesterol total e frações. A análise individual dos casos mostrou que 28% dos pacientes apresentavam alguma forma de dislipidemia. Uma correlação positiva entre os níveis de HDL e cobre foi observada. Os resultados do presente estudo sugerem o controle das concentrações plasmáticas de zinco e o cobre e o perfil lipídico nestes pacientes.

Palavras chave: diabetes mellitus tipo1, zinco, cobre, perfil lipídico

ABSTRACT

Rosa, VCS plasma Concentrations of zinc and copper in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus, Campo Grande, 2014 (Dissertation - Federal University of Mato Grosso do Sul).

The relationship of trace elements, such as zinc and copper, with various metabolic processes is well known. The maintenance of serum concentrations of these metals is not only essential for enzymatic activity, but also for the balance of oxidative stress, which is present in type 1 diabetes mellitus. Zinc is involved in the synthesis either directly, as in the storage and secretion of insulin. The plasma concentration of copper maintains a straight relationship with the complications of type 1 diabetes mellitus. The present study investigated the association of plasma zinc and copper levels with clinical and laboratorial parameters in type 1 diabetes patients. From September of 2012 to July of 2013, 28 patients, both gender, mean age 11,8 years were enrolled in the study. The study was approved by local Ethical Committee, and the written informed consent previously signed. Copper and zinc concentrations in plasma were determined by flame atomic absorption spectrometry (PerkinElmer Analyst[®]). The glycated hemoglobin, and lipid profile were also evaluated. In 75% and 68% of the patients, the levels of zinc and copper, respectively, remained within the normal range. There was no correlation between the levels of these trace elements with body mass index, gender, total cholesterol and fractions. The analysis of individual cases showed that 28% (n = 9) of patients had some form of dyslipidemia. A positive correlation between levels of HDL and copper was observed. These results of the present study suggest the relevance of controlling the zinc and copper concentration, and the lipid profile.

Keywords: type 1 diabetes mellitus, zinc, copper, lipid profile

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	Fisiologia do DM1	19
QUADRO 1	Quadro 1: Critérios para diagnóstico do diabetes mellitus	20
FIGURA 2	A estrutura insulina humana	24
FIGURA 3	Insulina humana – fitas hexaméricas 3D	26
QUADRO 2	Valores de referência para exames laboratoriais	37
FIGURA 4	Gráfico de dispersão mostrando a correlação linear negativa entre a idade dos pacientes e o nível plasmático de cobre	46
FIGURA 5	Gráfico de dispersão mostrando a correlação linear negativa entre o nível plasmático de colesterol HDL e o nível plasmático de cobre	46
FIGURA 6	Gráfico de dispersão mostrando a correlação linear positiva entre o tempo do diagnóstico e o nível plasmático de zinco dos pacientes	47

LISTA DE TABELAS

TABELA 1	Resultados referentes à idade, IMC, anos do diagnóstico entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total.	42
TABELA 2	Resultados referentes aos valores plasmáticos encontrados de zinco e cobre entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total.	43
TABELA 3	Resultados referentes aos parâmetros bioquímicos entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total.	44
TABELA 4	Resultados referentes à avaliação da correlação linear entre o nível de zinco ou cobre com as demais variáveis avaliadas neste estudo.	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

aC	Antes de Cristo
Ac1	Fração da hemoglobina A
ADA	American Diabetes Association
AGE´s	Advanced glycation end-products
ApoB	Alfalipoproteína
ATP	Adenosina trifosfato
CAAE	Certificado de apresentação para apreciação ética
dC	Depois de Cristo
DM	Diabetes <i>mellitus</i>
DM1	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1
DNA	Ácido desoxirribonucleico
GLUT	Glucose transporter
GLUT 4	Glucose transporter type 4
GLUT 8	Glucose transporter type 8
Hb	Hemoglobina
HbA	Hemoglobina A
HbAc1	Hemoglobina glicada
HDL	High density lipoproteins
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IMC	Índice de massa corporal
LADA	Latent autoimmune diabetes of the adult
LDL	Low density lipoproteins
NADPH	Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Pontes de hidrogênio
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SBP	Sociedade Brasileira de Pediatria
T3	Triiodotironina
T4	Tiroxina
VLDL	Very low-density lipoprotein
WHO	World Health Organization

LISTA DE SÍMBOLOS

β	beta
Cu	cobre
Fe ++	Ferro mais 2
Fe +++	Ferro mais 3
g	grama
$\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$	grama mol a menos 1 – unidade de massa molar
mg/dL	miligrama por decilitro
ppm	partes por milhão
Zn	zinco

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1	16
2.2 Insulina	22
2.3 Estresse oxidativo.....	26
2.4 Elementos traço	29
2.5 Zinco	30
2.6 Cobre	33
3 OBJETIVOS	35
4 CASUÍSTICA E MÉTODOS	36
4.1 Aspecto geral	36
4.2 Aspectos éticos	36
4.3 Participantes da pesquisa	36
4.4 Coleta de dados.....	37
4.5 Análise laboratorial das amostras.....	39
4.6 Análise estatística	40
5 RESULTADOS	41
6 DISCUSSÃO	48
7 CONCLUSÕES	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56
APÊNDICE 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido	67
APÊNDICE 2 – Protocolo de coleta de dados	68
ANEXO 1 – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa	69

1 INTRODUÇÃO

O termo diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) descreve uma doença metabólica crônica com etiologia heterogênea que se caracteriza por destruição autoimune das células beta pancreáticas produtoras de insulina, tendo como consequência a hiperglicemia. Anualmente, em torno de 60.000 crianças são diagnosticadas em todo o mundo com DM1 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

O controle adequado da glicemia, da hemoglobina glicada, a manutenção dos níveis normais de lipídeos plasmáticos bem como da pressão arterial diminui marcadamente o risco de complicações tanto microvasculares como neuropáticas. Segundo Voltarelli, 2004, o tratamento convencional do DM1 com insulina retarda mas não evita as complicações crônicas da doença. O controle rigoroso e repetido da glicemia ao longo do dia através da insulinoterapia intensiva é mais difícil de ser realizado na criança, o que sugere que alternativas para tratamento ou prevenção se fazem necessárias para uma melhor condução clínica da doença, minimizando as suas complicações.

No que se refere à nutrição humana, elementos traço são nutrientes essenciais para diferentes processos metabólicos, incluindo a síntese do DNA (ácido desoxirribonucleico), de proteínas, e a sinalização intracelular. Há tempo se conhece a relação dos elementos traço, como o zinco e o cobre, nestes processos, pois funcionam como centro ativo de várias enzimas.

O zinco é um micronutriente essencial envolvido na fisiologia pancreática da produção de insulina e possui uma estreita relação funcional regulando os mecanismos de síntese, armazenamento, secreção e transporte deste hormônio. A deficiência deste metal pode reduzir a atividade da insulina por alterações na estrutura ternária do hormônio e, por outro lado, a adição de zinco à insulina induz alterações conformacionais da molécula aumentando sua ligação ao seu receptor (SALGUEIRO, *et al.*, 2001; VIKTORINOVA *et al.*, 2009).

Outro elemento traço relevante é o cobre, cuja importância biológica, funcional e estrutural está relacionada com as funções metabólicas nas enzimas cobre-dependentes, que catalisam reações fisiológicas de fosforilação oxidativa, inativação de radicais livres, biossíntese de colágeno e elastina, formação de melanina, dentre outras. O papel do cobre na homeostase da glicose tem sido pouco estudado, no entanto, segundo Pedrosa, 1999, algumas pesquisas sugerem que a diminuição da

tolerância à glicose pode ser secundária à deficiência de cobre. Walter *et al*,1991 correlaciona o estatus elevado de cobre às complicações do diabetes *mellitus* (DM).

Assim, considerando a importância epidemiológica do DM1, a influência dos elementos traço no metabolismo da glicose e tendo-se em conta a escassez de estudos na área pediátrica, é que o presente estudo objetiva a avaliação destes minerais nesta patologia específica.

2.0 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Diabetes *mellitus* tipo 1

O termo diabetes *mellitus* descreve uma desordem crônica metabólica com etiologias heterogêneas que se caracteriza por hiperglicemia e distúrbios no metabolismo de carboidratos, gordura e das proteínas. Estas alterações são resultantes de defeitos na secreção ou ação da insulina (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

A história do diabetes é extremamente rica e plena de fatos históricos importantes e curiosos. O papiro Ebers, descoberto pelo alemão Gerg Ebers em 1872, no Egito, é o primeiro documento conhecido a fazer referência a uma doença que se caracterizava por emissão frequente e abundante de urina. Acredita-se que este documento tenha sido elaborado em torno de 1500 aC. Mas foi apenas no século II dC, na Grécia Antiga, que esta enfermidade recebeu o nome de diabetes. Este termo, que se atribui à Araeteus, discípulo de Hipócrates (TSCHIEDEL, 2014).

Expressões aparentemente desconhecidas como “madhumena”, “chan-thu-king”, poliúria, diarreia da urina, dentre outros, fazem referência ao diabetes. Apesar da origem do termo ainda ser obscura, a expressão “diabetes” ou “diabeinein” vem do grego e significa “fluir através de um sifão”, pois se acreditava que toda água ingerida pelo doente seria eliminada rapidamente como se estivesse passando por um sifão (LIMA, LIMA, 2014).

Em relação aos achados clínicos, papiros egípcios datados de 1150 aC, relatavam sintomas como “urinar demais” e “ter muita sede”. Na Índia, a doença era chamada de “Madhumena” cujo significado “urina de mel”, fazia menção do fato de a urina atrair moscas e formigas (LIMA, LIMA, 2014).

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), em 1985, estimava-se haver 30 milhões de adultos com DM no mundo. Esse número cresceu para 135 milhões em 1995, atingindo 173 milhões em 2002, com projeção para chegar a 300 milhões em 2030. Estima-se que neste período as mortes consequentes desta patologia deverão duplicar. Globalmente, de 10 a 20 milhões de pessoas estão afetadas pelo DM1 na atualidade, entretanto sua prevalência sofre variação

geográfica e étnica, desde 0,8/100.000 a 30-40/100.000 crianças ou adultos jovens, sendo maior no norte da Europa. A incidência de DM1 mostra acentuada variação geográfica, apresentando taxas por 100 mil indivíduos com menos de 15 anos de idade: 38,4 na Finlândia, 7,6 no Brasil e 0,5 na Coreia, por exemplo. A incidência do DM1 vem aumentando na população infantil com menos de 5 anos de idade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2013/14).

No Brasil, o DM1, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), está entre as doenças crônicas de maior prevalência que acometem a infância e o adulto jovem se tornando uma pandemia no início do século 21, atinge 12 milhões de pessoas, o que coloca o país em sexto lugar no mundo em casos da doença e é a sétima causa de morte no país (GIACOMINI, 2013).

Dados brasileiros de 2010 mostram que as taxas de mortalidade por DM apresentam acentuado aumento com o progredir da idade, variando de 0,50/100.000hab. para a faixa etária de 0 a 29 anos até 213,4/100.000 para a de 60 anos. Uma vez que, frequentemente, nos atestados de óbito são anotados como causa de morte as complicações do diabetes, os mesmos são subestimados (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2013/14).

De acordo com Sevim, 2014 *apud* Brunner & Suddart, o DM1 imunomediado comumente se desenvolve durante a infância e adolescência, sendo que usualmente inicia-se na idade de 4 anos ou mais, com pico de incidência aos 11-13 anos de idade. É mais comum no gênero masculino do que no feminino, apresentando uma relação aproximada de 1,5: 1

Diversos fatores de risco, tanto ambientais quanto genéticos podem contribuir para o desenvolvimento de diabetes na infância. É considerado um problema de saúde pública prevalente, em ascendência e oneroso do ponto vista social e econômico (MENDES, ZANETTI, 2000; CHUERI, 2012).

Em longo prazo, efeitos relativamente específicos do diabetes incluem o desenvolvimento de retinopatia, nefropatia, neuropatia e maior risco de doença cardíaca, arterial periférica e doença cerebrovascular (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2011).

Estudos histológicos do pâncreas de pessoas com diabetes insulino dependentes realizados na década de 60 forneceram a primeira prova clara

de um ataque autoimune sobre as células β . Posteriormente foram identificados os anticorpos que atacavam estas células confirmando a natureza autoimune do DM1. Estes anticorpos surgem muitos anos antes do início do quadro clínico do diabetes e formam a base para a classificação do DM 1 (SCHLOOT, 2014).

As últimas diretrizes nacionais e internacionais da American Diabetes Association (ADA) recomendam a classificação do DM em quatro categorias, abaixo discriminadas (MARASCHIN, *et al.*, 2010):

I – Diabetes *mellitus* tipo 1

- Mediado imunologicamente
- Idiopático

II – Diabetes *mellitus* tipo 2

III – Outros tipos específicos

- Defeitos genéticos da função das células β
- Defeitos genéticos da ação da insulina
- Outros

IV – Diabete *mellitus* gestacional

O DM1 é subdividido em tipo 1A, tipo 1B e *Latent Autoimmune Diabetes of the Adult* (LADA). No DM tipo 1A, a destruição das células β é de etiologia autoimune em 90% dos casos, no 1B a causa ainda não é conhecida e no tipo LADA também existe uma destruição autoimune das células β , porém sua instalação é muito mais lenta, acontecendo numa faixa etária mais elevada, geralmente acima de 30 anos (MARASCHIN, *et al.*, 2010).

De interesse do estudo, o tipo 1A ocorre em indivíduos geneticamente susceptíveis, é provavelmente desencadeado por um ou mais agentes ambientais, e geralmente progride ao longo de muitos meses ou anos de forma assintomática e euglicêmica. De forma resumida, a sucessão de eventos que ocorrem nesta doença pode ser visualizada conforme esquema a seguir (FIGURA 1):



FIGURA 1 – Fisiologia do DM1, adaptado pela autora, de MARQUES, 2008

Os marcadores genéticos para diabetes tipo 1A estão presentes desde o nascimento, os marcadores imunológicos são detectáveis após o início do processo autoimune, e marcadores metabólicos podem ser detectados com testes sensíveis já com a presença de danos nas células β , mesmo antes do aparecimento de hiperglicemia (PIETROPAOLO, 2014).

A combinação de eventos precipitantes como vírus e fatores ambientais que ocorrem no início da doença leva a uma perda silenciosa e progressiva das células beta em uma velocidade inversa com a idade (DIB, GOMES, 2009).

A apresentação clínica geralmente se caracteriza pela presença de poliúria, polidipsia, polifagia e emagrecimento (GUELHO, PAIVA, CARVALHEIRO, 2013).

De acordo com a ADA, 2014, o diabetes é geralmente diagnosticado com base nos valores de glicose plasmática, ou em jejum ou teste oral de tolerância à glicose e, hemoglobina glicada, como opção para complementação diagnóstica e acompanhamento.

A regulação da glicemia é resultante da ação dos dois hormônios produzidos pelo pâncreas que são a insulina e o glucagon. O estado de jejum caracteriza-se por níveis sanguíneos elevados de glucagon e baixos de insulina. No decorrer do dia, a

alimentação proporciona um aumento da glicemia, fazendo com que a produção de insulina aumente e conseqüentemente mantenha a homeostase da glicose (LOPES, *et al.*, 2011).

Segundo a SBD, 2013/14, e a ADA, os valores glicêmicos considerados para o diagnóstico de DM1 estão expressos no quadro 1.

A hemoglobina glicada é um grupo de substâncias formadas a partir da ligação da hemoglobina A (HbA) e um açúcar, e a parte mais relevante desse conjunto é a fração A1c, onde existe um resíduo de glicose ligado ao grupo terminal de uma ou ambas as cadeias β da hemoglobina A. Como a membrana da hemácia é muito permeável à glicose ela permite que a hemoglobina presente fique exposta, praticamente à mesma concentração da glicose plasmática, ocorrendo a reação que é denominada glicação. O fato dos eritrócitos terem uma vida média de 120 dias pode oferecer uma avaliação média da dosagem da glicemia dentro de um período anterior a 90-120 dias. Os valores de referência aplicados para a hemoglobina glicada são de 4% a 6%, níveis acima de 7% são geralmente associados às complicações do DM (LOPES, *et al.*, 2011).

Quadro 1: Critérios para diagnóstico do diabetes mellitus

Critérios para diagnóstico do diabetes <i>mellitus</i>			
Categoria	Glicemia de jejum (mg/dL)	Teste oral de tolerância à glicose (mg/dL)	HgAc1 (%)
Euglicêmico	< 100	< 140	4 a 6
Glicemia de jejum alterada	100-125	-	-
Tolerância à glicose diminuída	-	140-199	-
Diabetes Mellitus	>126	≥ 200	> 7

Fonte: Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2013/14

O DM envolve não só alterações do metabolismo de carboidratos como também dos lipídeos, podendo evoluir com quadro clínico e laboratorial de dislipidemia (GIACOMINI, HANS, SIQUEIRA, 2013).

Rubio-Guerra, *et al.*, 2014, relembra que o tecido adiposo desempenha uma atividade endócrina intensa, produzindo mediadores como a adipocitocina e as

resistinas. As adipocitocinas estão envolvidas em várias vias fisiopatológicas que promovem ou inibem a inflamação, resistência à insulina e disfunção endotelial, enquanto as resistinas são responsáveis pela resistência à insulina.

Peres *et al.*, 2000, Donlo, Donlo, 2013, reforçam que pacientes com DM1 têm o que é conhecido como a dislipidemia potencialmente aterogênica, mais especificamente, hipercolesterolemia, elevação do LDL (*Low density lipoproteins*) e hipertrigliceridemia.

A insulina tem vários efeitos que levam ao armazenamento de gordura no tecido adiposo, promovendo a síntese de ácidos graxos. Esta ação é observada particularmente quando são ingeridos carboidratos em maior quantidade do que a que pode ser utilizada para energia imediata, fornecendo, assim, o substrato para síntese de gordura. A síntese de ácidos graxos ocorre nas células hepáticas, que posteriormente são transportados pelas lipoproteínas sanguíneas até às células adipócitas para serem armazenadas. A glicose transportada para o interior da célula hepática é inicialmente desdobrada até piruvato, pela via glicolítica, e é convertido em acetil-coenzima A, que é o substrato a partir do qual são sintetizados os ácidos graxos (GUYTON, HALL, 2002).

Na deficiência de insulina ocorre forte ativação da enzima lipase, responsável pela hidrólise dos triglicerídeos armazenados, com a consequente liberação de grande quantidade para a corrente sanguínea. O excesso de ácidos graxos no plasma, associado à deficiência de insulina, também promove a conversão hepática dos ácidos graxos em fosfolípidos e colesterol. Essas duas substâncias, juntamente com o excesso de triglicerídeos, são liberados para o sangue circulante como lipoproteínas. Por vezes, as lipoproteínas plasmáticas aumentam em até 3 vezes na ausência de insulina, resultando em elevada concentração total de lipídeos plasmáticos (GUYTON, HALL, 2002).

É importante salientar que o aumento da prevalência da obesidade, que está ocorrendo nas últimas décadas, também em crianças e adolescentes tem tornado frequente os achados de componentes da síndrome de resistência insulínica ou síndrome metabólica, que é acompanhado de hipertensão arterial e a dislipidemia, outrora fato raro nesta faixa etária.

Esse quadro também tem sido demonstrado na população de pacientes com DM1, principalmente do sexo feminino (JR, CLEMENTE, GOMES, 2004).

Pacientes com DM1 têm risco duas a quatro vezes maior de desenvolver aterosclerose, em relação à população não diabética e, nestes pacientes, os eventos cardiovasculares são responsáveis por até 44% da mortalidade total. Em estudo realizado no Reino Unido, observou-se que esses pacientes apresentaram, em todas as faixas etárias, maior mortalidade por doença coronariana e cerebrovascular em relação à população geral (MATHEUS, COBAS, GOMES, 2008). Em um estudo observacional com pacientes com DM1 acompanhados até os 40 anos de idade, 25% deles entre 30 e 55 anos, apresentaram como causa de mortalidade, doença arterial coronariana, em comparação com 6% da população não diabética (MATHEUS, COBAS, GOMES, 2008).

Sabe-se que crianças e adolescentes com DM1 apresentam desenvolvimento precoce de doença aterosclerótica, caracterizada por maior rigidez e espessamento das paredes arteriais comparadas aos indivíduos não diabéticos. Estes achados estão presentes mesmo antes da detecção clínica de complicações micro ou macrovasculares. O perfil lipídico mais aterogênico no paciente portador de DM1 é caracterizado por elevação de triglicerídeos, LDL, apolipoproteína (ApoB) e diminuição de HDL. Estudos demonstraram HDL elevado em alguns pacientes pode ser protetor para o desenvolvimento das complicações naqueles com mais de 20 anos de evolução da doença (MATHEUS, COBAS, GOMES, 2008).

2.2 Insulina

A insulina é o principal hormônio responsável pelo controle do metabolismo da glicose e foi somente a partir da década de 70 que as vias bioquímicas e metabólicas de insulina passaram a ser conhecidas (CHAUSMER, 1998).

O controle metabólico da glicose é bem regulado, uma vez que as concentrações elevadas desse açúcar retornam ao normal de forma rápida. Em mamíferos, os carboidratos são estocados na forma de glicogênio, principalmente no fígado e nos músculos, que são disponibilizados quando necessário. Durante períodos de hipoglicemia as células alfa são estimuladas a produzir glucagon,

enquanto nas situações de aumento na concentração de glicose, as células β são estimuladas a produzir insulina (COZZOLINO, COMINETTI, 2013).

Para ocorrer a regulação do metabolismo basal se faz necessário o equilíbrio adequado entre insulina e glucagon. A insulina primariamente facilita o armazenamento de glicose como glicogênio, de ácidos graxos livres como triglicerídeos e de aminoácidos como proteínas, e inibe a glicogenólise, a lipólise, a cetogênese, a proteólise e a gliconeogênese. O glucagon estimula a mobilização de glicose, ácidos graxos livres e glicerol, bem como a captação hepática de aminoácidos e a conversão destes em glicose, estimulando também a cetogênese a partir de ácidos graxos livres. Os níveis normais em estado de equilíbrio de insulina e glucagon ajudam a manter o nível de glicose plasmática (GENUTH, 2008).

A insulina (FIGURA 2) é sintetizada nas células β das ilhotas de Langerhans, assim como o seu precursor a pró-insulina. A pró-insulina é então transportada para o complexo de Golgi, onde sofre ação enzimática formando o peptídeo C e a insulina, essas duas moléculas são carregadas juntas nos grânulos secretores. Quando a célula β é estimulada, esse conjunto é secretado em proporção equimolar. As células β são eletricamente excitáveis e o estímulo ou a inibição de secreção de insulina é dependente da variação de glicose que regula o potencial de excitação da membrana, assim sendo, a glicose plasmática está sob controle do *feedback* da insulina e dependente de situações, como alterações no metabolismo das células β , fechamento dos canais de potássio (ATP), da abertura dos canais de cálcio, da atividade elétrica e da secreção (SANAZZARO, 2001; COZZOLINO, COMINETTI, 2013).

A insulina é um polipeptídeo que contém duas cadeias ligadas por pontes dissulfeto. A cadeia A com 21 e a B com 30 aminoácidos. Na circulação humana, o tempo de meia-vida da insulina é de aproximadamente 3-5 minutos (SANAZZARO, 2001; COZZOLINO, COMINETTI, 2013).

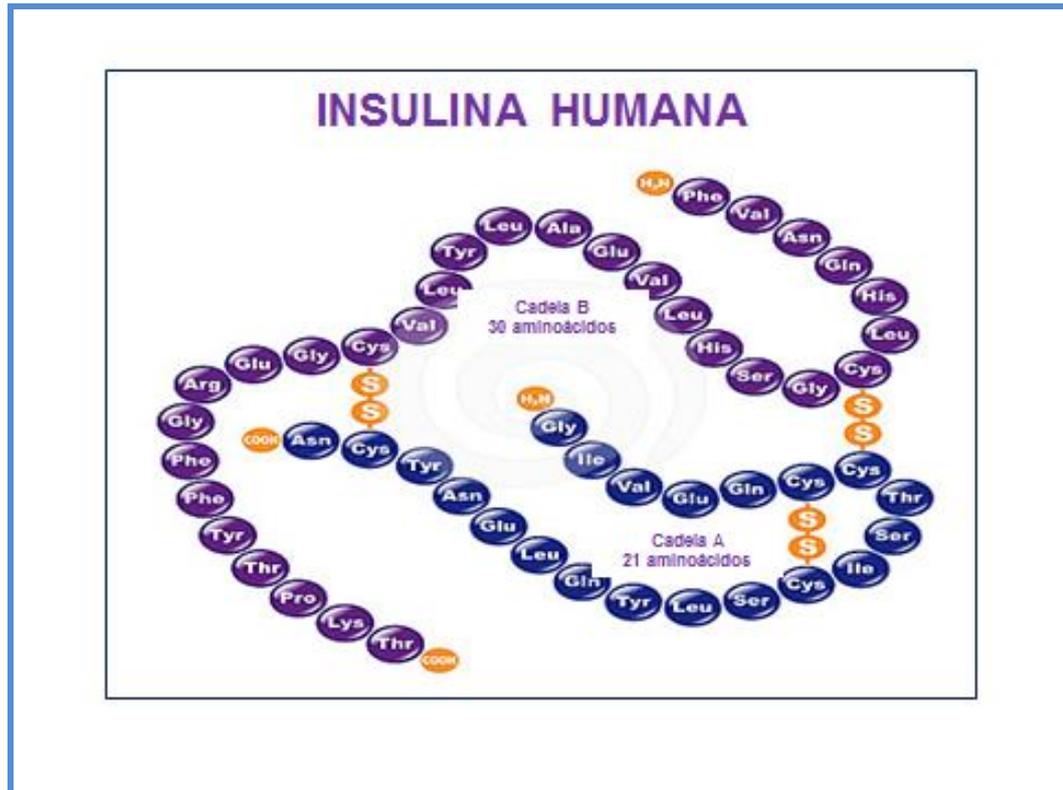


FIGURA 2 - A estrutura insulina humana. Fonte: <http://migre.me/mrO5M>

A ação da insulina se dá por meio de um receptor de insulina plasmática que leva à geração de múltiplos mediadores dos numerosos efeitos intracelulares citoplasmáticos e nucleares da insulina. A sensibilidade de tecidos-alvos à insulina é outro principal determinante desta ação. Existe uma alça de retroalimentação entre a responsividade à insulina em tecidos-alvos e a secreção de insulina nas células β . Essa relação trabalha para aumentar a secreção de insulina em indivíduos relativamente resistentes à ação da insulina e para diminuir sua liberação em indivíduos muito sensíveis a mesma. O resultado é um mecanismo fundamental para a manutenção dos níveis plasmáticos de glicose dentro de limites normais (GENUTH, 2008).

A glicose é a principal fonte de energia para todos os tipos celulares de mamíferos, nos quais é responsável pelo provimento de adenosina trifosfato (ATP) tanto em condições aeróbicas quanto anaeróbicas. É uma molécula polar, insolúvel na membrana plasmática, e o seu transporte é realizado através de difusão facilitada e dependente de proteínas transportadoras de glicose, chamados GLUT's (MACHADO, 1998).

O GLUT4 é o transportador de glicose sensível à insulina, e é encontrado em vesículas intracelulares de tecidos responsivos à insulina, que incluem músculo esquelético, células adiposas e coração. Existem atualmente evidências da presença de mais um transportador de glicose sensível à insulina, o GLUT8. A insulina tem por função sinalizar a permissão da passagem da glicose do sangue para o meio intracelular através do transportador GLUT-4 (WEIER, WEIER, SHARMA, 2014).

A sensibilidade do GLUT4 à insulina faz com que sua concentração no plasma aumente drasticamente em resposta ao hormônio. Este aumento é acompanhado por um aumento acelerado na absorção de glicose pelas células estimuladas pela insulina. Desta forma, a insulina desempenha um papel importante no controle do nível glicêmico durante os períodos de alimentação e jejum (GROPER, SMITH, GROFF, 2009).

Corroborando com Groper, Smith, Groff, 2009, Yang 2010 diz que a insulina estimula o transporte de glicose nas células dos músculos e tecido adiposo, estimulando a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática. Ao seguir à estimulação da insulina estes transportadores de glicose intracelular são depois translocados para membrana plasmática, conduzindo a um aumento de 10-20 vezes do número de transportadores de glicose na superfície da célula e consequente aumento de atividade da captação de glicose.

Ainda, Chausmer, 1998 através de estudos *in vitro*, demonstrou que na presença de zinco e com um pH neutro, a insulina dimérica monta mais um hexâmero constituído por três unidades diméricas. Esta forma de insulina é relativamente estável e é este cristal hexamérico (FIGURA 3), que é a forma farmacológica comumente usada. Os dados *in vitro* sugerem que a insulina se liga a membranas hepáticas isoladas e que há menos degradação quando o Zn é coadministrado com insulina.

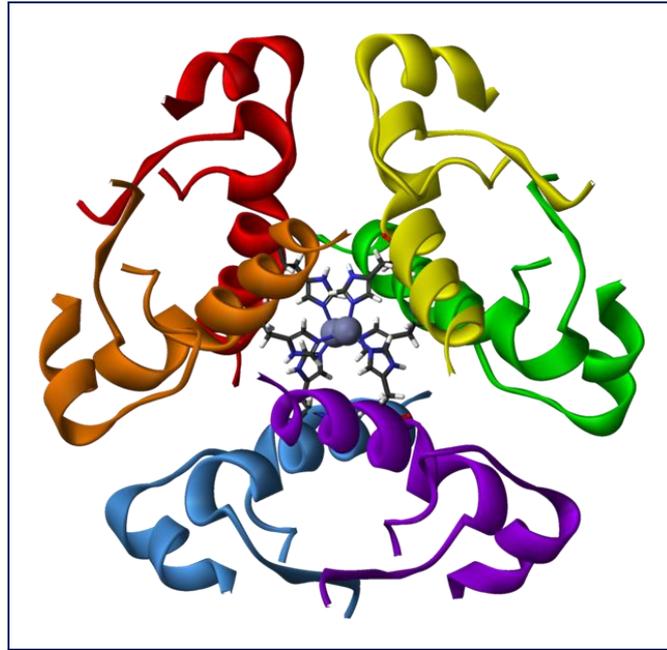


FIGURA 3 - Insulina humana – fitas hexaméricas 3D Fonte: <http://migre.me/m3v2Z>

O uso de insulina é imprescindível no tratamento do DM1. O clássico estudo prospectivo, Diabetes Control and Complications Trial (DCCT), demonstrou que o tratamento intensivo do DM1, com três ou mais doses diárias de insulina de ações diferentes, é eficaz em reduzir a frequência de complicações crônicas do DM1. A dose diária depende de vários fatores, como a idade, o peso corporal, o estágio puberal, o tempo de duração e da fase do diabetes, dentre outros. O objetivo deste tratamento é manter as glicemias ao longo do dia entre os limites da normalidade, evitando ao máximo a ampla variabilidade glicêmica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2013/14).

2.3 Estresse oxidativo

Nos seres aeróbios o oxigênio é essencial para gerar energia. Na cadeia respiratória mitocondrial a utilização do oxigênio leva a produção de radicais livres. Os radicais livres são espécies químicas que contém um ou mais elétrons não pareados em sua órbita externa, portanto são instáveis e muito reativos já que uma vez formados podem captar um elétron de outras moléculas próximas. Já é

estabelecido que os radicais livres podem reagir indiscriminadamente com a maioria das moléculas presentes ao seu redor. Todas as classes principais de biomoléculas podem ser “atacadas” pelos radicais livres, sendo os lipídeos os mais suscetíveis. Estas reações de lipoperoxidação ocorrem em nível de membrana celular e são particularmente lesivas para a célula. Além dos lipídeos, as proteínas e os ácidos nucléicos também são alvos destes ataques pelos radicais livres (CUERDA *et al.*, 2011; VIKTORINOVA *et al.*, 2009).

Nosso organismo dispõe de um sistema de defesa antioxidante capaz de eliminar esses radicais livres quando estes se formam. Neste sistema estão enzimas como a superóxido desmutase, glutadionaperoxidase, glutadionaredutase, catalase, dentre outras e também substâncias não enzimáticas como a taurina, coenzima Q, vitamina C e carotenóides (CUERDA *et al.*, 2011).

O zinco também atua como antioxidante, protegendo o grupo sulfidril da proteínas e enzimas contra o ataque dos radicais livres (VIKTORINOVA *et al.*, 2009).

Ainda de acordo com Cuerda, *et al.*, 2011 e Pereira, 2012, em condições fisiológicas há um equilíbrio entre a geração e a degradação dessas espécies químicas instáveis, porém quando este equilíbrio se rompe, há excesso de radicais livres e se instala o que é conhecido como estresse oxidativo. Em pacientes diabéticos há um desequilíbrio entre os mecanismos oxidantes e antioxidantes e, em consequência, um maior estresse oxidativo que tem sido implicado diretamente relacionado ao desenvolvimento das complicações crônicas.

Segundo Caballero, 2000, na presença de hiperglicemia os mecanismos bioquímicos de instalação do estresse oxidativo são vários, e envolvem a ativação da via de poliol e das hexosaminas, aumento da formação dos Advanced glycation end-products e o aumento da ativação da proteína quinase C.

O aumento do fluxo pela via dos polióis, induzido pelo aumento de radicais livres, determina maior conversão de glicose a sorbitol, reduzindo NADPH (Fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina) e glutationa, e aumentando o estresse oxidativo. A glicose em excesso é desviada para a via da hexosamina e convertida a frutose-6-fosfato e sequencialmente vai sendo modificada até chegar a uma enzima que funciona como fator de transcrição, alterando a expressão de várias proteínas.

Os AGEs, também chamados de produtos de Amadori, são formados a partir de uma reação não enzimática da glicose com uma proteína. Esses produtos se ligam permanentemente às proteínas, provocando alterações químicas e contribuem para a patogênese das complicações diabéticas, esse processo é a glicação. A ativação da proteína quinase C tem como consequência final, dentre outros, o aumento da atividade da endotelina 1 que, juntos, podem resultar em aumento da permeabilidade vascular e comprometimento do fluxo sanguíneo. (REIS *et al.*, 2008, CORREA-GIANELLA, VIEIRA, 2008).

Desta forma, o estresse oxidativo aumentado participa extensamente no desenvolvimento e na progressão do diabetes e das suas complicações. O DM é acompanhado geralmente da produção aumentada de radicais livres ou dano nas defesas antioxidantes. Os mecanismos pelos quais o aumento do estresse oxidativo está envolvido nas complicações do diabético ainda estão sendo explorados (KAZI, *et al.*, 2008).

Um número consistente de evidências sugere associação do estresse oxidativo a condições clínicas como doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, neoplasias, doenças respiratórias e distúrbios neurológicos. A hipótese mais aceita atualmente postula que essas doenças estejam agrupadas em duas categorias distintas. A primeira categoria estaria associada ao estresse oxidativo mitocondrial, onde se encontram o DM e as neoplasias, que apresentam comumente mudanças pró-oxidativas no estado redox sistêmico. E a segunda categoria estaria associada com condições inflamatórias onde o estado redox do organismo também está bastante alterado (GOTTLIEB *et al.*, 2010).

2.4 Elementos traço

Elementos traço, na geoquímica, são aqueles que possuem concentração menor que 1000ppm ou 0,1% da composição de uma rocha. Na área biológica, fazem parte de uma divisão que compreendem os elementos majoritários, como por exemplo, o cálcio, traços, como zinco e cobre e micro traços, como selênio e cobalto. Por definição, são elementos que estão presentes em pequenas quantidades, contribuindo com apenas 0,01% do peso corpóreo. Apesar de ocorrerem em pequenas quantidades, muitos desses elementos são importantes e essenciais para a saúde, participando como grupo prostético de enzimas e metaloenzimas, constituindo o sítio ativo e contribuindo para o funcionamento normal das vias metabólicas (SANTANA, 2008).

A importância dos elementos traço em relação à saúde humana tem sido cada vez mais reconhecida principalmente pelos benefícios nutricionais, uma vez que atuam como cofactores essenciais para vários processos fisiológicos. Evidências sugerem que a deficiência ou excesso de certos oligoelementos pode ser associado com maior risco de desenvolver doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (HE, 2010).

Os elementos traço participam de uma variedade de funções metabólicas, incluindo atividades catalíticas, estruturais e de regulação em que, interagem com macromoléculas como enzimas, hormônios de crescimento, grânulos pré-secretores e nas membranas biológicas, como receptores ou sinalizadores. A hiperglicemia crônica pode causar alterações significativas no status de alguns micronutrientes, e por outro lado, alguns desses nutrientes podem modular diretamente a homeostase da glicose. Há evidências de que o metabolismo de vários elementos traço está alterado no DM1 e que esses nutrientes podem ter funções específicas na patogênese e progressão desta doença (ZARGAR, *et al.*, 2002; KAZI, *et al.*, 2008).

Além disso, estão diretamente envolvidos nos processos inflamatórios e na peroxidação lipídica, sendo essenciais no desenvolvimento de complicações metabólicas tanto da obesidade como da hipertensão arterial, da dislipidemia, da resistência à insulina e do diabetes. É importante conhecer o estatus dos elementos traço em crianças porque as alterações em seus níveis podem desempenhar um

papel importante na patogênese da obesidade e nos fatores de risco metabólicos relacionados (AZAB, *et al.*, 2014).

Dentre os elementos traço, especialmente o cobre e o zinco desempenham um importante papel em numerosos processos biológicos agindo como centro ativo das enzimas ou com papel relevante na proteção antioxidante do organismo. Por conseguinte, estimativas das concentrações desses metais no soro dos pacientes diabéticos, podem melhorar a compreensão da relação do cobre e do zinco com esta doença crônica (FARID, MOHAMED, MOHAMED, 2005).

2.5 Zinco

O zinco, nome originado do alemão, *Zink*, é um elemento químico de símbolo Zn, com número atômico 30 e massa atômica $65,4 \text{ g.mol}^{-1}$. Apresenta sua forma sólida à temperatura ambiente. É um metal com distribuição mais abundante no corpo humano, correspondendo de 1,5 a 2,5g do peso ponderal. O zinco é um elemento químico do grupo 12 (metais de transição) que pertence ao quarto período da tabela periódica (MONTEIRO, 2013).

Os produtos animais são geralmente as fontes dietéticas mais importantes de zinco, em termos de conteúdo e biodisponibilidade (SENA, PEDROSA, 2005). Outras fontes de zinco: carnes, camarão, ostras, fígado, grãos integrais, castanhas, cereais e tubérculos (GIANNINI, 2007)

Não existem determinações das necessidades nutricionais específicas de crianças com DM1. As recomendações atualmente propostas derivam das necessidades de crianças e adolescentes em geral. Não há estudos específicos para pacientes diabéticos, mas o foco do planejamento alimentar é atingir os objetivos glicêmicos, evitando hipoglicemia. A recomendação dietética diária do zinco para crianças é de 10mg e de 8 a 15mg para o adulto (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2013/14).

Dentre as principais funções do zinco, destacam-se a participação na síntese e degradação dos carboidratos, lipídeos e proteínas, na manutenção do crescimento e do desenvolvimento normais, no funcionamento adequado do sistema imunológico,

na defesa antioxidante, na função neurossensorial, e, também, na transcrição e tradução de polinucleotídeos (TRIEBSEES, 2011).

Esse mineral também tem potencial efeito antioxidante e antiinflamatório, podendo limitar a extensão de danos induzidos por radicais livres. A geração de estresse oxidativo, apoptose e processos inflamatórios nos tecidos do sistema cardiovascular, podem ocorrer em consequência da deficiência de zinco (TOMAT, 2011).

O reconhecimento do zinco como mineral essencial para o organismo, cronologicamente coincidiu com a identificação deste elemento como componente estrutural da insulina, presente na fração microssomal das ilhotas de Langerhans. Posteriormente, sua função foi relacionada com o estímulo à secreção e estocagem de insulina (PEDROSA, COZZOLINO, 1998).

Sabe-se há décadas que existe uma relação físico química entre insulina e zinco. Porém, muito antes de haver qualquer evidência bioquímica para esta relação nas células beta, ficou claro que a adição de zinco à insulina mudaria o tempo e o efeito de uma dada dose de insulina (CHAUSMER, 1988).

Estudos demonstraram que o nível de zinco sérico é menor em pacientes com diabetes do que em indivíduos sem a doença. Há evidências experimentais e clínicas nos países desenvolvidos, apoiando uma alteração do metabolismo de Zn em pacientes diabéticos, no entanto poucos estudos examinaram esta relação nos países em desenvolvimento (GUNASEKARA, 2011).

O Zn desempenha um papel fundamental na síntese, armazenamento e secreção de insulina. A hiperglicemia no diabetes desencadeia um aumento das perdas urinária de zinco, diminuindo os níveis deste mineral no plasma, o que afeta a capacidade das células beta pancreáticas de produzir e secretar insulina (VIKITORINOVA *et al.*, 2009).

Estudos *in vitro* apontam que a insulina ligando-se ao zinco, melhora a solubilidade deste hormônio nas células β , e, ainda, pode aumentar a capacidade de ligação da insulina ao receptor tirosina quinase na membrana celular. Também foi demonstrado em camundongos obesos que o zinco aumenta a proporção de ligação da insulina a seus receptores. Ratos com deficiência de zinco apresentam redução da habilidade do pâncreas para secretar insulina em resposta ao aumento de glicose

e, ainda, diminuição da ação da insulina nos tecidos. Na obesidade e na resistência à insulina, têm sido detectadas alterações na concentração e distribuição de zinco nos tecidos, bem como melhora da sensibilidade à insulina após a suplementação com esse mineral (MARREIRO *et al.*, 2004).

O armazenamento de insulina ocorre na forma de cristais depositados nas células β pancreáticas sendo que o zinco participa com uma função estrutural na sua molécula. Além disso, a ação do zinco se relaciona com a modulação da ação da insulina. Baseados na capacidade do zinco de se complexar com a insulina, em estudos *in vitro*, sugere-se que este fenômeno seja responsável por sua ação na solubilidade e, portanto, na formação de estoques nas células β (NAME, 2007).

De acordo com Foster, Samman, 2010, mudanças nos níveis de zinco livre intracelular podem exacerbar o estresse oxidativo em DM, esse desequilíbrio induz à resistência a insulina e dislipidemia. Apesar das muitas interações entre o zinco e as respostas ao estresse oxidativo celular, os estudos para investigar o potencial benefício terapêutico da suplementação deste mineral na prevenção e tratamento de doenças relacionadas ao estresse oxidativo crônico em seres humanos são escassos e inconsistentes.

Vários mecanismos foram sugeridos para tentar explicar o papel do zinco e sua relação com a ação da insulina, incluindo a modulação do receptor de insulina, a atividade da tirosina-quinase e subseqüentes déficits na síntese de glicogênio estimulada pela insulina. Isso levanta a possibilidade de o Zn desempenhar a função de segundo mensageiro, uma relação que aumenta a atividade da insulina. No entanto, detalhes mecanicistas de como a insulina afeta o transporte celular de zinco, a homeostase da glicose e a resistência insulínica, ainda estão a ser definidos (MYERS, NIELD, MYERS, 2012).

2.6 Cobre

O cobre é um elemento representado pelo símbolo Cu, do latim *cuprum*, com número atômico 29 e massa atômica 63,6 g.mol⁻¹. É considerado um metal de transição pertencente ao grupo XI-B. À temperatura ambiente se encontra no estado sólido. O cobre também é coadjuvante na absorção do ferro, oxidando o Fe⁺⁺ em Fe⁺⁺⁺, que é a forma mais ativa deste elemento. Também é essencial para o aproveitamento da vitamina C. É importante na conversão da tirosina em melanina, agindo como fator de pigmentação do cabelo e da pele. Participa na síntese da elastina, do colágeno e dos hormônios T3, T4. Protege contra doenças cardiovasculares devido a sua participação na superóxido desmutase, importante enzima antioxidante. Atua também como anti-inflamatório, é útil no tratamento de artrite e estimula o sistema imunológico (MONTEIRO, 2013).

A importância biológica, funcional e estrutural do cobre em animais e humanos está relacionada com as funções metabólicas de enzimas cobre-dependentes, as cuproenzimas, como por exemplo: citocromo c oxidase, superóxido dismutase citosólica, lisil oxidase, tirosinase, ceruloplasmina e dopamina β-hidroxilase. Estas catalisam reações fisiológicas importantes relacionadas com fosforilação oxidativa, inativação de radicais livres, biossíntese de colágeno e elastina, formação de melanina, coagulação sanguínea, metabolismo de ferro e síntese de catecolaminas (PEDROSA, COZZOLINO, 1999).

Sitasawad, *et al.*, 2000, constatou que o tratamento com sulfato de cobre pode exercer efeitos benéficos em pacientes diabéticos preservando a função de células β, *in vivo*. O sulfato de cobre exerceria estes efeitos benéficos quer atuando diretamente por redução de radicais livres, ou por meio de redução dos níveis de glicose.

Ainda de acordo com Pedrosa, Cozzolino, 1999, a regulação homeostática de cobre se faz pelo fígado. Em diversas funções fisiológicas, a metalotioneína hepática participa ativamente dos processos reguladores da homeostase de cobre e zinco. A biossíntese de metalotioneína no fígado é controlada por fatores fisiológicos tais como o estado nutricional de oligoelementos, infecções e diabetes. Na regulação

hormonal desta biossíntese existem evidências da ação de glicocorticóides, glucagon e epinefrina, dentre outros.

A participação do cobre na enzima lisil-oxidase relaciona o cobre e as alterações de seu metabolismo no diabetes, às alterações microvasculares características desta enfermidade. As dosagens sanguíneas de cobre em pacientes com diabetes 1 e 2 se encontram frequentemente elevadas (NAME, 2007).

Name, 2007 *apud* Pedrosa e Cozzolino, afirma que há uma correlação positiva entre a concentração do cobre plasmático e a hemoglobina glicada com a glicemia e que todas as complicações do diabetes têm em comum a necessidade de um sistema nutricional antioxidante que permita um equilíbrio do estresse oxidativo concomitante. Assim, a função primordial do cobre, através da enzima superóxido dismutase é fundamental no controle dos processos degenerativos e inflamatórios que caracterizam o DM. Por outro lado, há um limite estreito entre as possibilidades de o cobre atuar como um antioxidante ou um pró-oxidante, dependendo das condições que lhe serão propiciadas por um estado metabólico em particular. Os estágios mais avançados das complicações renais no diabetes, por exemplo, mostram uma ação tóxica do cobre sobre os rins, pela razão de uma distribuição alterada do mineral no tecido renal. Nesta situação, sua adequação ou seu balanço nutricional pode ser negativo, propiciando uma ausência de proteção, em outros órgão e tecidos, contra as reações oxidativas, que, então, passam a agravar o quadro geral da doença.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Avaliar as concentrações plasmáticas do zinco e cobre em crianças e adolescentes portadores de diabetes *mellitus* tipo 1.

3.2 Objetivos específicos

1. Verificar o valor absoluto das concentrações plasmáticas de zinco e cobre
2. Verificar o perfil lipídico, a hemoglobina glicada e a glicemia dos participantes
3. Avaliar o estado nutricional dos indivíduos
4. Comparar as concentrações plasmáticas do zinco e cobre com o estado nutricional e tempo de evolução da doença
5. Correlacionar as concentrações plasmáticas de zinco, cobre com o perfil lipídico.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Aspectos gerais

Este é um estudo prospectivo, transversal e analítico, realizado no período entre setembro de 2012 e julho de 2013, nas unidades ambulatoriais de endocrinologia pediátrica do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (HU) e no Centro de Especialidades Médicas (CEM) da Secretaria de Saúde do Município de Campo Grande/MS.

4.2 Aspectos éticos

Em atendimento aos aspectos éticos e legais de pesquisa envolvendo seres humanos, o projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul sendo aprovado conforme **CAAE**: 06030212.3.0000.0021 (ANEXO 1).

O termo de consentimento livre e esclarecido foi obtido previamente de um dos pais ou do responsável legal de cada indivíduo participante (APÊNDICE 1).

Em atendimento à resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, foi assegurada a confidencialidade, a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos sujeitos da pesquisa. O protocolo de coleta de dados utilizado está apresentado no apêndice 2.

4.3 Participantes da pesquisa

Participaram da pesquisa vinte e oito crianças e adolescentes, com idade entre 4 e 17 anos, portadores de DM1, de ambos os gêneros, com diagnóstico da doença confirmado.

Não participaram do estudo:

- Indivíduos que faziam suplementação oral de zinco e/ou cobre.
- Portadores de doença do metabolismo lipídico ou proteico.
- Portadores de doenças renais, hepáticas ou inflamatórias.
- Indivíduos indígenas ou moradores da região de fronteira.

4.4 Coleta de dados

Para a dosagem de zinco e cobre foi coletado 3 ml de sangue por punção venosa periférica de todas as crianças participantes, uma única vez, no momento em que estas aguardavam consulta médica. As amostras de sangue foram coletadas pela autora deste estudo em seringas de polipropileno. O material foi imediatamente transferido para os 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 3000g. O soro foi distribuído em tubos Eppendorf de polipropileno e imediatamente resfriados a -18° C.

Os dados referentes aos resultados de exames laboratoriais de glicemia de jejum, HbAc1 e colesterol total e frações, foram disponibilizados pelos responsáveis e coletados de prontuário eletrônico. Também foram avaliados o peso, a estatura, o IMC e o tempo de evolução da doença. Os valores de referência para os exames laboratoriais considerados no estudo estão descritos na figura abaixo:

QUADRO 2 - Valores de referência para exames laboratoriais

Dado avaliado	Valor de referência
Zinco ***	0,8 a 1,2 mg/L
Cobre ***	0,8 a 1,4 mg/L
Colesterol total *	< 170 mg/dL
LDL*	< 100 mg/dL
HDL*	> 35 mg/dL
VLDL*	≤ 30 mg/dL
Triglicerídeos*	< 150 mg/dL
Glicemia **	< 100 mg/dL
Hemoglobina glicada **	4% a 6%

* Valores considerados para crianças com DM1, ARCANJO, *et al*, 2005; ** SBD, 2013/14; ***

Todos os indivíduos foram avaliados pelo pesquisador, na data da consulta médica, sendo aferido peso e estatura:

- Peso - Todos os sujeitos da pesquisa foram pesados em balança digital do tipo adulto com graduação de 50g, sendo que os mesmos mantiveram-se em pé, sem apoio, com os braços estendidos ao longo do corpo, descalços, despidas, posicionados no centro da plataforma e evitando movimentar-se.
- Estatura - Para verificar a estatura foi utilizado o estadiômetro vertical da balança, com escala de 100 a 200 cm, durante a pesagem, com o indivíduo de costas junto ao anteparo vertical do mesmo.
- Os dados de peso e estatura foram utilizados para o cálculo do IMC pela fórmula $IMC (kg/m^2) = \text{Peso (kg)} / \text{estatura}^2 (m)$ (PETROSKI, 2003)

A avaliação do estado nutricional foi feita segundo sexo e idade, utilizando-se o IMC com pontos de corte descritos abaixo, utilizando-se os gráficos da OMS em score-z (WHO, 2014):

- Magreza acentuada score z - 3
- Magreza score z - 2
- Adequado score z - 2 a + 1
- Risco de sobrepeso score z +1 a +2
- Sobrepeso score z \geq + 2
- Obeso score z \geq + 3

Para efeito de análise dos resultados, considerou-se os pacientes classificados como risco de sobrepeso e adequado como um único grupo.

Um instrumento de coleta de dados foi aplicado por meio do qual os responsáveis eram arguidos a respeito de dados relevantes ao trabalho, como tempo de diagnóstico da doença e uso de outros medicamentos, assim como se havia alguma outra patologia associada ao DM1 (APÊNDICE 2).

4.5 Análise laboratorial das amostras

O zinco e o cobre foram determinados por espectrometria de absorção atômica de chama. Todos os materiais de plástico ou de vidro utilizados foram 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, USA) e secados em estufa a 40°C.

Um espectrômetro de absorção atômica (modelo Perkin- Elmer A100) equipado com lâmpada de deutério como corretor de fundo, foi utilizado nesse estudo nas seguintes condições: lâmpadas de cátodo oco e comprimento de onda 213,9 nm para leitura do zinco e 324,7 nm para a leitura do cobre. A chama oxidante de acetileno/ar foi utilizada para determinação do metal. Corrente de lâmpada e largura de fenda foi utilizada conforme recomendações do catálogo do fabricante. O fluxo de entrada das amostras e padrões do nebulizador do espectrômetro foi de 1,3ml/min e a leitura de absorbância foram de 10 segundos cada, sendo expresso o valor médio de três leituras. Cada amostra foi lida em duplicata. O resultado final foi a média das leituras das amostras.

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 para evitar dosagem espúria.

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 cinco pontos de concentração com valores entre 0,25 e 2,0 mg/L.

O procedimento consistiu na diluição de 500 µL de plasma e 500 µL de água ultrapura, para determinação da concentração de cobre e diluição de 250 µL de plasma e 1000 µL de água ultrapura, para determinação de zinco. Para a análise a solução foi aspirada através de um capilar de plástico diretamente para dentro da chama do espectrômetro de absorção atômica (TERRÉS-MARTOS, *et al.*, 1997).

4.6 Análise estatística

A comparação entre os sexos, em relação às variáveis idades, IMC, anos de diagnóstico, nível plasmático de zinco, cobre e dos demais parâmetros bioquímicos avaliados neste estudo, foi realizada por meio do teste t-student. Já a comparação entre os pacientes com classificação de IMC “magreza”, “eutrofia” e “sobrepeso/obesidade”, em relação aos níveis plasmáticos de zinco e cobre, e na comparação entre pacientes magros, eutróficos e sobrepeso/obesos, em relação aos níveis plasmáticos de zinco e cobre, foi realizada por meio do teste ANOVA de uma via. A avaliação da associação entre o gênero e as variáveis classificações do IMC e classificação do nível plasmático de zinco e cobre, foi realizada por meio do teste do qui-quadrado. A avaliação da correlação linear entre os níveis plasmáticos de zinco e cobre com as variáveis quantitativas avaliadas neste estudo, como idade, IMC, anos de diagnóstico e nível plasmático dos demais parâmetros bioquímicos avaliados, foi realizada por meio do teste de correlação linear de Pearson. Os demais resultados das variáveis avaliadas foram apresentados na forma de estatística descritiva ou na forma de tabelas e gráficos. A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa estatístico SPSS, versão 22.0, considerando um nível de significância de 5% (SHOTT, 1990).

5 RESULTADOS

Neste estudo foram avaliados 28 pacientes, sendo destes 60,7% (n=17) do sexo masculino e 39,3% (n=11) do sexo feminino. Os resultados referentes à idade, IMC, anos do diagnóstico, entre os pacientes do gênero masculino, do gênero feminino e no total, estão apresentados na tabela 1. Os resultados referentes aos valores plasmáticos encontrados de zinco e cobre entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total estão apresentados na Tabela 2 e os resultados referentes aos parâmetros bioquímicos entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total estão descritos na tabela 3.

A idade dos pacientes avaliados neste estudo variou entre 4 e 17 anos, sendo a idade média de $11,86 \pm 0,66$ anos (média \pm erro padrão da média). Em relação ao IMC, ele foi de $19,32 \pm 1,23$, sendo que 7,14% (n=2) dos pacientes foram considerados magros, 78,57% (n=22) foram considerados adequados, não houve nenhum considerado com sobrepeso e 14,28% (n=2) apresentavam obesidade.

O tempo de diagnóstico da doença variou entre 1 e 13 anos, sendo o tempo médio de doença de $5,64 \pm 0,73$ anos. A maior parte dos pacientes apresentava nível plasmático normal de zinco, 75,0% (n=21) e cobre 67,9% (n=19).

A análise individual dos casos mostrou que, 17,9% do pacientes apresentaram zinco abaixo do limite inferior e 7,1% acima do valor de referência. A análise individual dos casos mostrou que, 3,6% do pacientes apresentaram cobre abaixo do limite inferior e 28,6% acima do valor de referência.

Os valores médios dos parâmetros bioquímicos avaliados neste estudo e apresentados nas Tabelas 2 e 3 estavam todos dentro dos padrões de normalidade para estes pacientes.

Não houve diferença entre os gêneros em relação às variáveis idades, IMC, anos de diagnóstico, nível plasmático de zinco, cobre e dos demais parâmetros bioquímicos avaliados neste estudo (teste t-student, valor de p variando entre 0,061 e 0,888).

Não houve diferença entre pacientes com diferentes classificações do IMC, em relação ao nível plasmático de zinco (teste ANOVA de uma via, $p=0,415$) e ao nível plasmático de cobre ($p=0,095$).

Também não houve associação significativa entre sexo dos pacientes e as variáveis classificação do IMC e classificação do nível plasmático de zinco e cobre (teste do qui-quadrado, valor de p variando entre 0,302 e 0,520).

Tabela 1: Resultados referentes à idade, IMC, anos do diagnóstico entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total.

Variável	Gênero		Valor de p	Total (n=28)
	Masculino (n=17)	Feminino (n=11)		
Idade (anos)	11,76±0,87	12,00±1,04	0,865	11,86±0,66
IMC (kg/m²)	19,81±1,01	20,40±2,14	0,490	19,32±1,23
Magreza	0,0 (0)	7,14 (2)	0,302	7,14 (2)
Adequado	25 (7)	53,5 (15)		78,57 (22)
Sobrepeso	0,0 (0)	0,0 (0)		0,0 (0)
Obesidade	7,14 (2)	7,14 (2)		14,28 (4)
Anos do diagnóstico	5,82±1,08	5,36±0,88	0,743	5,64±0,73

Tabela 2: Resultados referentes aos valores plasmáticos encontrados de zinco e cobre entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total.

Variável	Gênero		Valor de p	Total (n=28)
	Feminino (n=11)	Masculino (n=17)		
Zinco (0,8 a 1,2 mg/L)	1,06±0,06	1,08±0,10	0,860	1,07±0,05
Baixo (%)	11,8 (2)	27,3 (3)		17,9 (5)
Normal (%)	82,4 (14)	63,6 (7)	0,520	75,0 (21)
Alto (%)	5,9 (1)	9,1 (1)		7,1 (2)
Cobre (0,8 a 1,4 mg/L)	1,09±0,07	1,07±0,06	0,854	1,08±0,05
Baixo (%)	5,9 (1)	0,0 (0)		3,6 (1)
Normal (%)	58,8 (10)	81,8 (9)	0,396	67,9 (19)
Alto (%)	35,3 (6)	18,2 (2)		28,6 (8)

Tabela 3: Resultados referentes aos parâmetros bioquímicos entre os pacientes do gênero masculino, feminino e no total.

Variável	Gênero		Valor de p	Total (n=28)
	Feminino (n=11)	Masculino (n=17)		
Colesterol total (mg/dL) * (< 170 mg/dL)	146,72±7,08	155,98±10,54	0,455	150,36±5,91
LDL (mg/dL) * (<100 mg/dL)	84,30±5,04	85,82±8,88	0,874	84,90±4,54
HDL (mg/dL) * (> 35 mg/dL)	46,56±2,93	57,13±6,81	0,119	50,71±3,29
VLDL (mg/dL) * (< 30 mg/dL)	15,82±1,25	19,97±3,36	0,191	17,45±1,53
Triglicérides (mg/dL) *(< 150 mg/dL)	92,81±9,05	89,55±17,07	0,855	91,53±8,48
Hg glicosada (%) *(4% a 6%)	8,11±0,29	8,29±0,67	0,777	8,18±0,31
Glicemia (mg/dL) *(< 100 mg/dL)	182,94±23,70	221,18±56,52	0,484	197,96±26,07

* Valores de referência para normalidade

Na Tabela 4 estão apresentados os resultados referentes à avaliação da correlação linear entre o nível de zinco ou cobre com as demais variáveis avaliadas neste estudo

Tabela 4: Resultados referentes à avaliação da correlação linear entre o nível de zinco e cobre com as demais variáveis avaliadas neste estudo.

Variável	Zinco	Cobre
Idade	p=0,146; r=0,282	p=0,017; r=-0,446
IMC	p=0,819; r=0,045	p=0,396; r=-0,167
Anos do diagnóstico	p=0,044; r=0,384	p=0,192; r=-0,254
Colesterol total	p=0,774; r=-0,057	p=0,216; r=0,241
LDL	p=0,261; r=-0,220	p=0,454; r=0,147
HDL	p=0,321; r=-0,195	p=0,038; r=0,393
VLDL	p=0,391; r=0,169	p=0,857; r=-0,036
Triglicérides	p=0,971; r=0,007	p=0,173; r=-0,265
Hg glicosada	p=0,583; r=0,108	p=0,590; r=0,106
Glicemia	p=0,188; r=-0,256	p=0,905; r=-0,024

Valor de p no teste de correlação linear de Pearson. r=coeficiente de correlação linear.

Houve uma correlação significativa negativa, porém fraca, entre a idade dos pacientes e o nível de cobre dos mesmos (teste de correlação linear de Pearson, $p=0,017$; $r=-0,446$ – Figura 4).

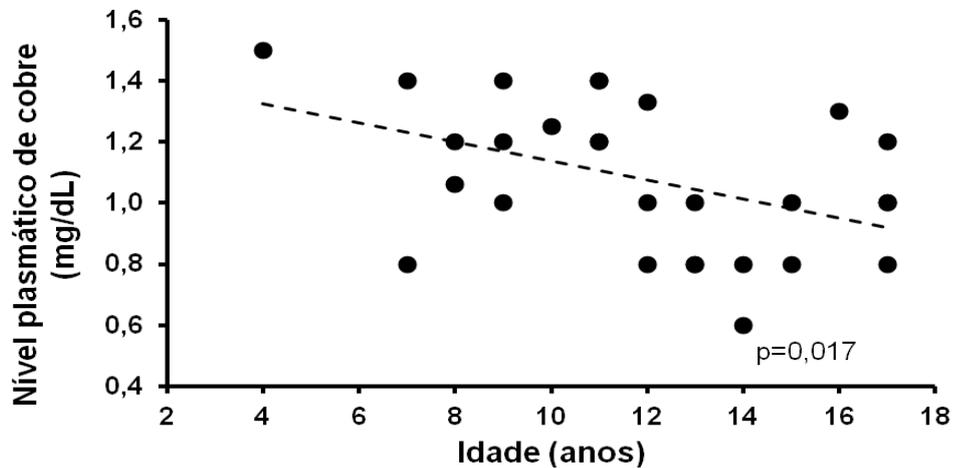


Figura 4: Gráfico de dispersão mostrando a correlação linear negativa entre a idade dos pacientes e o nível plasmático de cobre. Cada símbolo representa a idade e o nível plasmático de cobre para um único paciente. A linha tracejada representa a linha de regressão linear. Valor de p no teste de correlação linear de Pearson; r =coeficiente de correlação linear.

Houve ainda uma correlação linear significativa positiva, mas também fraca, entre o nível de colesterol HDL e o nível de cobre ($p=0,038$; $r=0,393$ – Figura 5).

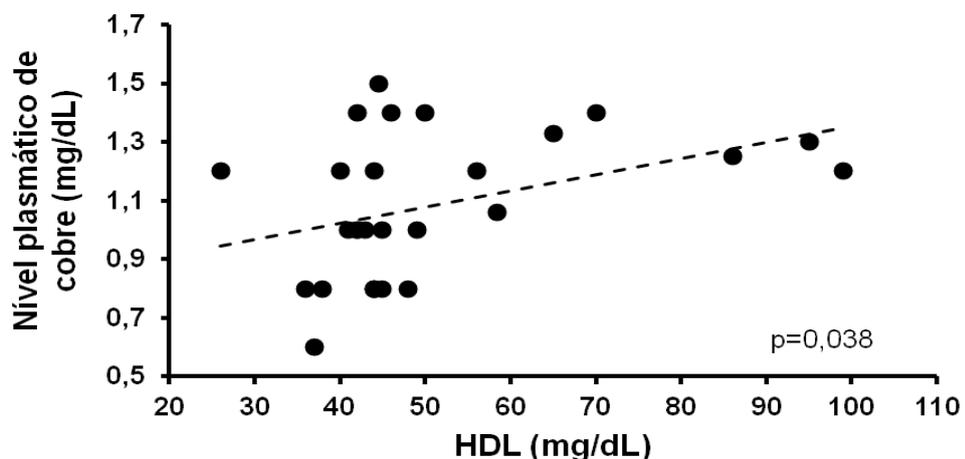


Figura 5: Gráfico de dispersão mostrando a correlação linear positiva entre o nível plasmático de colesterol HDL e o nível plasmático de cobre no sangue dos pacientes. Cada símbolo representa o nível plasmático de HDL e cobre para um único paciente. A linha tracejada representa a linha de regressão linear. Valor de p no teste de correlação linear de Pearson; r =coeficiente de correlação linear.

Também houve uma correlação significativa positiva, porém fraca, entre o tempo do diagnóstico e o nível plasmático de zinco dos pacientes ($p=0,044$; $r=0,384$ – Figura 6). As demais variáveis não se apresentaram correlacionadas com o nível de zinco ou o nível de cobre (valores de p variando entre 0,083 e 0,976).

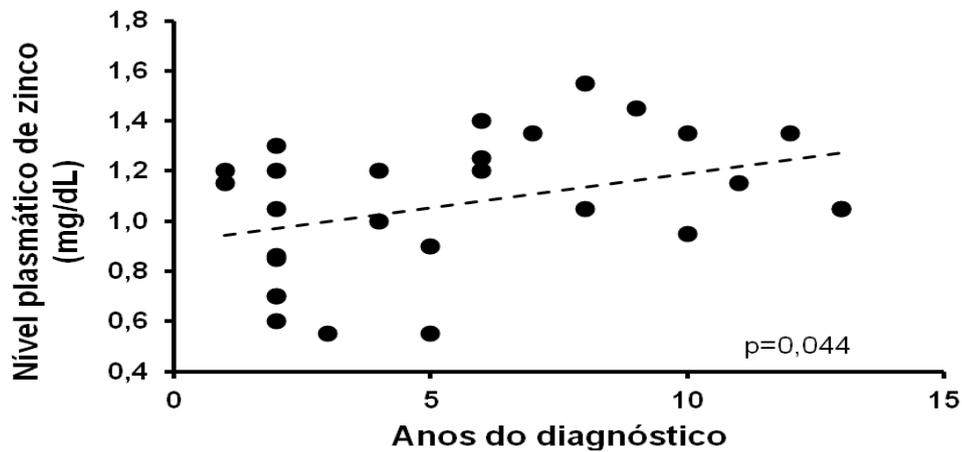


Figura 6: Gráfico de dispersão mostrando a correlação linear positiva entre o tempo do diagnóstico e o nível plasmático de zinco dos pacientes. Cada símbolo representa o tempo do diagnóstico e o nível plasmático de zinco para um único paciente. A linha tracejada representa a linha de regressão linear. Valor de p no teste de correlação linear de Pearson; r =coeficiente de correlação linear.

6 DISCUSSÃO

Nas últimas três décadas, o interesse pelas consequências clínicas e bioquímicas do metabolismo dos elementos traço tem aumentado progressivamente. Em relação ao DM1, maior atenção vem sendo dispensada ao estudo do papel que os elementos traço desempenham na patogênese e na progressão desta doença. Este estudo avaliou as concentrações do Zn e do Cu e suas relações com outros parâmetros clínicos e metabólicos em portadores de diabetes *mellitus* tipo 1.

Em estudo realizado na Espanha, Muiña *et al.*, 2012, constatou a prevalência de DM1 no gênero masculino em relação ao feminino, em uma proporção de 1,15:1. Por outro lado, Almeida *et al.*, 2002, não verificou diferenças significativas em relação ao gênero em seu estudo. No presente estudo, dos pacientes avaliados, a maioria também era do gênero masculino, com proporção de 1,54:1, semelhante a já relatada na literatura.

O DM1 geralmente surge aos 4 anos de idade, sendo a faixa etária de maior prevalência entre 11-13 anos de idade. Nesse estudo, esta proporção se manteve, sendo que 17,9% eram abaixo de 8 anos, 50% entre 9-13 anos e 32,1% acima de 14 anos.

A população brasileira está passando por um processo de transição nutricional onde se observa uma diminuição da prevalência de subnutrição e um evidente aumento do sobrepeso e da obesidade infantil (ABRANTES, *et al.*, 2002; GIGANTE, *et al.*, 2003; BARRETO, BRASIL e MARANHÃO, 2007). Segundo o último levantamento realizado pelo IBGE em 2009, em parceria com o Ministério da Saúde, referente ao estado nutricional da população brasileira, entre 6,3% a 7,2% das crianças nos primeiros anos de vida foram classificadas como desnutridas. Já para o excesso de peso e obesidade, foi relatada uma prevalência de 32% a 34 % para a faixa etária entre 5-9 anos e, 16% a 19% para a faixa etária entre 10-19 anos (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA, 2012).

Nas crianças e adolescentes portadores de DM1, a incidência de magreza, eutrofia, sobrepeso e obesidade são semelhantes à população pediátrica, seguindo a tendência atual de prevalência de sobrepeso e obesidade. O tratamento da doença com insulinização intensiva, pode estar relacionado com este fato (Reineh,

et al 2005). Em estudo realizado no estado de São Paulo com pacientes portadores de DM1, foram observados 15.6% de sobrepesos e obesos (JUNIOR, 2008).

No presente estudo, a prevalência de crianças com baixo peso foi semelhante à população geral pediátrica (FLORES, 2013). Quando comparado com outros estudos brasileiros, que mostraram prevalência de sobrepeso e obesidade em torno de 17% (JUNIOR, 2008, MORAES, *et al*, 2003), foi observado resultados semelhantes, de 14,2%.

O zinco está envolvido não só na biossíntese e na estocagem da insulina nas células beta pancreáticas, como também na atividade das enzimas antioxidantes, contribuindo para minimizar o dano tecidual observado na evolução clínica dos pacientes diabéticos.

Os estudos em relação às concentrações plasmáticas de zinco nos portadores de DM 1 têm mostrado resultados contraditórios. As alterações do metabolismo do zinco nestes pacientes geralmente manifestam-se por concentrações baixas ou altas, no plasma e nos eritrócitos, e zincúria elevada.

Devido ao fato de haver um rigor homeostático na manutenção dos níveis plasmáticos de zinco pelo organismo, sugere-se que o valor de corte seja considerado 0,81mg/L para avaliar a prevalência da deficiência do mineral. Esta opinião se respalda pela resposta clínica do organismo frente à suplementação de zinco, mesmo antes das alterações da sua concentração plasmática (COLE *et al.*, 2010).

Quanto à concentração sérica de zinco, Chanson 1999, mostrou em estudo que o Zn sérico foi aproximadamente 40% mais baixo no grupo de pacientes diabéticos do que no grupo controle. Para explicar estes achados tem sido considerado o comprometimento da reabsorção intestinal do zinco endógeno, bem como o aumento da sua excreção intestinal durante os processos digestivos, o que contribui para a diminuição plasmática do mineral (SALGUEIRO *et al.*, 2001).

Jansen, 2011, relata que vários estudos que analisam a homeostase de zinco em diabetes mellitus mais consistentemente mostram que a excreção urinária de zinco é aumentada em pacientes diabéticos, indicando perda do metal. A nefropatia diabética é uma das principais causas de mortalidade e morbidade em pacientes com DM1 e, a prevalência é em torno de 30% a 40% dos pacientes. Os valores de

excreção urinária de albumina de 20 a 200µg/min representam a faixa de microalbuminúria, sendo o primeiro estágio evolutivo da nefropatia diabética e tem correlação direta com o controle glicêmico do paciente. Esta é a manifestação mais precoce da nefropatia diabética, além de ser importante marcador de risco cardiovascular nestes pacientes. Após cerca de 10 anos de duração do DM1, em torno de 27% dos pacientes, sob tratamento convencional, desenvolvem microalbuminúria. A evolução para nefropatia diabética, caracterizada pela microalbuminúria ocorre geralmente após 10 a 15 anos de início da doença em 30% a 40% dos pacientes (GILBERT, *et al.*, 1994; PICCIRILLO, *et al.*, 2002). Sendo que o zinco circulante encontra-se na sua maior parte ligado à albumina, a presença de microalbuminúria nos pacientes diabéticos é tida como a causa principal da perda de zinco urinária, em que pese os resultados nos estudos onde esta correlação não é observada (CANFIELD, HAMBIDGE, JOHNSON, 1984; SENA, 2003).

Ainda, outro ponto que merece destaque, diz respeito à correlação entre excreção urinária de zinco e tempo de diagnóstico da doença. Há indícios que, à medida que aumenta o tempo de doença, o organismo perde os efeitos compensatórios e de homeostase da excreção de zinco, isto é, uma correlação negativa entre a duração do tempo de evolução do DM1 e concentração plasmática de zinco, bem como uma correlação positiva entre excreção urinária de zinco e tempo de diagnóstico da doença (SENA, *et al.*, 2003).

Neste estudo, de forma inesperada, foi observada uma correlação positiva entre o zinco sérico e o tempo de diagnóstico da doença. Este achado pode ser justificado pelo fato de que a maioria dos pacientes tem um tempo de doença abaixo de 10 anos. Deve ser considerado, em especial para a faixa etária pediátrica, que, no início da doença, o controle da glicemia é mais difícil, por fatores inerentes à própria doença, refletindo nas concentrações plasmáticas de zinco. Pode ser especulado que, com o maior tempo de doença, o controle metabólico se estabilize.

Em 2002, Zargar encontra níveis de zinco plasmático significativamente maiores em pacientes com DM1. Kruze-Jarre, Rokgauer 2000, apresentou um estudo onde encontrou valores significativamente mais elevados de zinco em pacientes diabéticos, nos eritrócitos, e também em pacientes com controle metabólico inadequado, caracterizado por HbAc1 acima de 9%. Estes autores concluíram que estes resultados talvez refletissem uma redistribuição celular do

zinco e as perdas urinárias estavam relacionadas com a hiperglicemia e glicosúria. Não houve alterações significativas no plasma em relação com o grupo controle.

Em que pese os diferentes resultados da literatura referentes ao zinco no paciente diabético, recentemente o estudo de Sakurai, *et al.*, 2010, relata a eficácia do controle glicêmico com utilização de compostos contendo zinco.

No presente estudo, a concentração média de zinco estava dentro dos valores de referência, não mostrando também correlação com o estado nutricional. Pode ser especulado que fatores locais e dietéticos possam explicar estes achados. Também devem ser considerados fatores relacionados com a própria doença, como a adequação do controle glicêmico, evidenciado pela manutenção da hemoglobina glicada em valores aceitáveis. Na análise individual dos casos, 17,9% apresentavam zinco abaixo do normal. A importância da manutenção da concentração plasmática de zinco normal reside no fato de este elemento exercer uma atividade antioxidante, estabilizando os grupos sulfidrilas das proteínas e no centro ativo das enzimas, protegendo os tecidos contra as reações de oxidação e consequente dano celular (KRETSINGER, UVERSKY, PERMYAKOV, 2013). No cenário dos portadores de DM, onde o estresse oxidativo está exacerbado (LIN *et al.*, 2014), especialmente naqueles com controle glicêmico inadequado, a manutenção da concentração plasmática de zinco dentro dos limites normais é fundamental, não podendo deixar de considerar, do ponto de vista clínico, uma alta porcentagem de déficit de zinco.

É importante ressaltar que a deficiência nutricional de zinco na população pediátrica em geral é prevalente, sendo superada apenas pela deficiência de ferro (PRASAD, 1996). Um recente estudo de metanálise mostra que a suplementação de zinco é benéfica para o melhor controle glicêmico e lipídico (JAYAWARDENA, 2012).

Considerando os benefícios da manutenção da concentração plasmática de zinco para o metabolismo da glicose, pode-se considerar que a análise bioquímica deste elemento deve fazer parte do controle dos portadores de DM1, visando a suplementação quando necessário.

As implicações patogênicas das alterações do estado nutricional do cobre no diabetes, ainda não estão totalmente esclarecidas, embora os resultados obtidos nas investigações sejam discutidos associando-se à avaliação do cobre com o estresse oxidativo e complicações da doença.

Da mesma forma, em relação ao cobre, os relatos da literatura não são unânimes em relação à dinâmica desse metal nos portadores de DM1. As complicações relacionadas a esta doença parecem se instalar tanto com níveis altos ou baixos de cobre, apesar de se ter conhecimento de que o acúmulo deste mineral está relacionado com microangiopatia e hipercolesterolemia (WALTER, *et al.*, 1991; FORTE, *et al.*, 2013). Já, a deficiência de cobre pode contribuir para a intolerância à glicose no paciente diabético.

Estudos em animais mostram que a perda urinária de cobre foi de até cinco vezes maior em ratos diabéticos do que nos controles, e que o tratamento com insulina reduziu significativamente as perdas deste mineral (LAU, FAILLA, 1984).

Em humanos, as concentrações plasmáticas de cobre podem estar aumentadas segundo Walter *et al.*, 1991, e Krueze-Jarre, Rokgauer, 2000; diminuídas segundo Carret *et al.*, 1992, ou não se alteraram segundo Pedrosa, Cozzolino, 1999 e Zargar *et al.*; 2002. De acordo com Sjogren *et al.*, 1985, o aumento da concentração plasmática de cobre estava relacionado com o controle inadequado da doença.

É conhecido que o aumento do cobre plasmático mantém uma correlação direta com o estresse oxidativo, diminuindo as defesas antioxidantes, resultando em dano progressivo à parede vascular, coração, rins, retina e nervos, contribuindo desta forma para a instalação das complicações do DM1. A utilização de quelantes do cobre, tanto em modelos animais como em humanos, resulta em redução das complicações cardíacas e renais, corroborando fortemente a importância do envolvimento do cobre na evolução do DM1 (COOPER, *et al.*; 2004; COOPER, 2012).

No presente estudo, a média da concentração plasmática de cobre estava dentro dos valores de referência. No entanto, merece destaque que 28,6% dos pacientes apresentaram cobre elevado. Em que pese às alterações metabólicas do DM1, responsáveis pelo aumento do cobre plasmático, há de se considerar fatores locais, ainda não totalmente esclarecidos, que contribuem para o aumento do cobre na população geral do município de Campo Grande (ZANONI, MELNIKOV, POPPI, 2009; MELNIKOV *et al.*, 2014).

Deve ser notado que no presente estudo, foi observada uma correlação negativa entre a idade dos pacientes e a concentração plasmática de cobre, porém não há uma explicação lógica para este achado.

A dosagem da HgAc1 é fundamental na monitorização do controle glicêmico dos pacientes diabéticos. Considera-se o controle glicêmico satisfatório quando os níveis médios de HgAc1 estão entre 6,5% a 7% (NETO, *et al.*, 2009). No presente estudo a média da HgAc1 foi de 8%. No entanto não houve correlação da HgAc1 com as concentrações de Cu e Zn, refletindo, provavelmente, o tempo de evolução da doença, que foi, em 78% dos casos, abaixo de 10 anos.

A real prevalência de dislipidemia em crianças e adolescentes com DM1 não é claramente estabelecida na literatura. Polak *et al.*, relataram prevalência de 16% de hipercolesterolemia em adolescentes com DM1.

As principais alterações lipoprotéicas no DM1 são hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e elevação do LDL (PERES, *et al.*, 2000). Entretanto, estas alterações estão presentes predominantemente nos indivíduos recém-diagnosticados, descompensados metabolicamente ou em cetoacidose diabética. Nos pacientes com controle glicêmico moderado ou ruim, existe a elevação do LDL, pois a maioria de suas partículas provém dos níveis elevados do VLDL. Já, no DM1 bem controlado, a produção de LDL é normal devido a insulino terapia, que promove a inibição da produção de VLDL (GOLDBERG, CAPUZZI, 2001).

O HDL poderá estar normal nos pacientes com controle glicêmico adequado, porém na deficiência grave de insulina os níveis de HDL estão diminuídos (WILTSHIRE, COUPER, 2003).

Também é possível, conforme alguns autores descrevem, maiores níveis de HDL entre os pacientes com DM1 bem controlados com insulinização intensiva, o que seria promovido pela maior atividade da enzima lipoproteína lipase, aumentando a produção de HDL a partir do VLDL e quilomícrons, a redução da atividade da lipase hepática e a redução do clearance do HDL (COLHOUN, *et al.*, 2002). Em estudo brasileiro com 49 crianças e adolescentes portadores de DM1, uma média de 32,6% apresentavam alguma forma de dislipidemia (ALVES, VEIGA, SOUZA, 2007)

No presente estudo foi constatado que a média dos valores do colesterol total, LDL, HDL, VLDL e triglicerídeos estavam dentro dos valores de referência. A análise individual dos casos mostrou que 28% (n=9) dos pacientes apresentavam alguma forma de dislipidemia. Destes 9 pacientes dislipidêmicos, 8 apresentavam elevação isolada do colesterol às custas da fração LDL, 1 com aumento combinado do colesterol-LDL e triglicerídeos e 1 com aumento isolado do triglicerídeo. Além dos fatores de risco próprios do DM1 estes pacientes apresentam um fator adicional que é a dislipidemia. Estes dados alertam para a necessidade de investigação rotineira da dislipidemia nestes pacientes, bem como o rigoroso controle glicêmico.

O presente estudo também constatou uma fraca correlação positiva entre os níveis de cobre e a fração HDL do colesterol. Sabe-se que os níveis de colesterol aumentam de modo inverso com a ingestão de cobre (KLEVAY, *et al.*, 1984), porém os mecanismos fisiopatológicos explicativos não são completamente esclarecidos. Estudos em animais mostram que quando a dieta era deficiente em cobre ocorria aumento do HDL (CARR, *et al.*, 1990).

No entanto, os mecanismos moleculares para as alterações lipídicas em função das concentrações de cobre em humanos ainda são insuficientemente caracterizados. Do ponto de vista clínico a correlação positiva entre a concentração de cobre e HDL, pode ser considerada benéfica, tendo em vista o risco de instalação de aterosclerose.

7 CONCLUSÕES

1. A maioria dos pacientes com DM1 apresenta concentrações plasmáticas de zinco dentro dos limites normais
2. Do ponto de vista clínico, a constatação da presença de quase 20% dos pacientes diabéticos apresentarem zinco baixo, remete à necessidade de controles periódicos dos níveis sanguíneos de zinco considerando a importância desse mineral no contexto da doença.
3. A maioria dos pacientes diabéticos apresenta concentração de cobre dentro dos valores de referência. Merece destaque o encontro de aproximadamente 29% de pacientes com o cobre elevado.
4. Neste estudo o diabetes *mellitus* tipo 1 atinge a mesma prevalência e distribuição por gênero e faixa etária daquela que é relatada na literatura.
5. A prevalência de obesidade nas crianças com DM1 é semelhante a da população geral.
6. A prevalência de dislipidemia no paciente diabético é alta, atingindo quase 30% da população estudada.
7. As concentrações plasmáticas de zinco não interferem no metabolismo lipídico.
8. Do ponto de vista clínico, a correlação positiva entre concentração de cobre e HDL, pode ser considerada positiva.
9. O estado nutricional dos pacientes diabéticos não afeta as concentrações plasmáticas de cobre e zinco.

8 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, M. M.; LAMOUNIER, J. A.; COLOSIMO, E. A. Sobrepeso e a prevalência de obesidade entre as crianças e adolescentes das regiões Nordeste e Sudeste do Brasil **J Pediatr**. 78(4):335-40, 2002

ALMEIDA. H. G. G.; CAMPOS, J. J. B.; KFOURI, C.; TANITA, M. T.; DIAS, A. E.; SOUZA, M. M. Perfil de pacientes diabéticos tipo 1: insulino-terapia e auto imunização **Rev Assoc Med Bras**. 48(2):151-5, 2002

ALVES, C.; VEIGA, S.; SOUZA, T. Dyslipidemia and risk of cardiovascular disease in children and adolescents with type 1 diabetes **Rev Paul Pediatría**. 25(1):82-9, 2007

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION Standards of Medical Care in Diabetes-2014 **Diab Care**. 37(1), 2014

AZAB, S. FA.; SALEH, S. H.; ELSAEED W. F.; ELSHAFIE, M. A.; SHERIEF, L. M.; ESH, A. MH. Serum trace elements in obese Egyptian children: a case-control study **Ital J Pediatr**. 40:20, 2014

BARRETO, A. C. N. G.; BRASIL, L. M. P.; MARANHÃO, H. S. Sobrepeso uma nova realidade no estado nutricional de pré pré-escolares de natal , RN **Rev Assoc Med Bras**. 53(4):311-6, 2007

BIDECI, A.; CAMURDAN, M. O.; CINAZ, P.; DURSUN, H.; DEMIREL, F. Serum zinc, insulin-like growth factor-I and insulin-like growth factor binding protein-3 levels in children with type 1 diabetes *mellitus* **J Pediatr Endocrinol Metab** 18 (10):1007-11, 2005

CABALLERO, L. V.; OCAMPO, A. A. N.; A.; MUNARI, A. C. F.; PONCE, M. H. El estrés oxidativo. ¿Es necesario medir lá em el paciente diabético? **Gac med. Mex**. 136(3):249-55, 2000

CARR, T.; LEI, K.; High-density lipoprotein cholesteryl ester and protein catabolism in hypercholesterolemic rats induced by copper deficiency **Metabolism**. 39(5):518-24, 1990

CARR, D. W.; SCOTT, J. D. Blotting and band-shifting: techniques for studying protein-protein interactions **Tendências Biochem Sci**. 17 (7):246-9, 1992

CANFIELD, W. K.; HAMBIDGE, K. M.; JOHNSON, L. K. Zinc nutriture in type I diabetes mellitus: relationship to growth measures and metabolic control **J Pediatr Gastroenterol Nutr.** (3):577-84, 1984

CHAUSMER, A.; B. Zinc, Insulin and Diabetes **J Am Coll Nutr.** 17(2):109–15, 1998

CHUEIRI, P. S. Diabetes *mellitus* no Brasil 17° Congresso Brasileiro Multidisciplinar em Diabetes Brasil, 2012

COLE C.R.; GRANT F. K.; SWABY-ELLIS E. D.; SMITH J. L.; JACQUES A.; NORTHROP-CLEWES C. A.; CALDWELL K. L.; PFEIFFER C. M.; ZIEGLER T. R. Zinc and iron deficiency and their interrelations in low-income African American and Hispanic children in Atlanta **Am J Clin Nutr.** 91:1027–34, 2010

COLHOUN, H. M.; TASKINEN, M. R.; OTVOS, J. D.; VAN DEN BERG, P.; O'CONNOR, J. D.; VAN TOL, A. Relationship of phospholipid transfer protein activity to HDL and apolipoprotein B- containin glipoproteins in subjects with and without type 1 diabetes **Diabetes** 51(11):3300-5, 2002

COOPER, G. J. Selective divalent copper chelation for the treatment of diabetes mellitus **Curr Med Chem.** 19(17):2828-60, 2012

COOPER M. E.; ZEEUW, D. REMUZZI, G.; PARVING, HH,; KEANI, W. F.; ZHANG, Z. Albuminuria, a Therapeutic Target for Cardiovascular Protection in Type 2 Diabetic Patients With Nephropathy **Circulation.** 110:921-27, 2004

CORREA-GIANNELLA, M. L.; VIEIRA, S. M. Genetic susceptibility to microangiopathy development in Type 1 diabetes mellitus: [review] **Arq Bras Endocrinol Metab.** 52(2):375-86, 2008

COZZOLINO, S. M. F.; COMINETTI, C. **Bases bioquímicas e fisiológicas da nutrição: Nas diferentes fases da vida, na saúde e na doença** Manole, 882-883, 2013

CUERDA, C.; LUENGO, L. M.; VALERO, M. A.; VIDAL, A.; BURGOS, R.; CALVO, F. L.; MARTÍNEZ, C. Antioxidantes y diabetes mellitus: revisión de la evidencia **Nutr Hosp.** 26(1):68-78, 2011

DIB, S. A.; GOMES, M.A Etiopatogenia do diabetes mellitus tipo 1: fatores prognósticos para a evolução da função das células β residual **Diabetes Metab Syndr.** 1:25, 2009 disponível em: <http://www.dmsjournal.com/content/1/1/25>

DONLO, C.; DONLO, M. G.; Enfermedad cardiovascular en la diabetes mellitus tipo 1. Más que mera coincidência **Med Clin (Barc).** 2013 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2013.04.024>

FARID, Y. Y. Z.; MOHAMMED, A. K.; MOHAMED, I. S. Serum copper and zinc levels and copper/zinc ratio en patients with rheumatoid arthritis **Iraqi J Med Sci.** 4(1):49-56, 2005

FLORES, L. S.; GAYA, A. R.; PETERSEN, R. D.; GAYA, A. Trends of underweight, overweight, and obesity in Brazilian children and adolescents. **J Pediatr.** 89(5):456-61, 2013

FORTE, G.; BOCCA, B.; PERUZZU, A.; TOLU, F.; ASARA, Y.; FARACE, C.; OGGIANO, R.; MADEDDU, R. Blood metals concentration in type 1 and type 2 diabetics **Biol Trace Elem Res.** 156(1-3): 79-90, 2013

FOSTER, M.; SAMMAN, S. Zinc and Redox Signaling: Perturbations associated with Cardiovascular Disease and Diabetes Mellitus **Antioxid Redox Signal.** 13(10):1549-73, 2010

GUYTON, A. C.; HALL J. E. **Tratado de fisiologia médica.** ed 10 p 83-2 Guanabara Koogan. Rio de Janeiro, 2002

GENUTH, S. Type1 diabetes mellitus. **ACP Medicine.** 1-19, 2008 Disponível em: http://www.medicinanet.com.br/m/conteudos/acp-medicine/4497/diabetes_melito_tipo_1.html

GIACOMINI, M. M.; HAHN, S.; SIQUEIRA, L. de O. Análise de correlação do perfil lipídico e dano oxidativo em pacientes diabéticos **Rev Cienc Farm Basica Apl.** 34(2):251-255, 2013

GIANNINI, D.; T. Recomendações nutricionais do adolescente **Adolesc Saúde.** 4 (1):12-18, 2007

GILBERT, R. E.; COOPER, M. E.; MCNALLY, P. G.; O'BRIEN, C.; TAFT, J.; JERUNS, G. Microalbuminuria: prognostic and therapeutic implications in diabetes mellitus **Diabetic Med.** 11:636-45, 1994

GIGANTE, D. P.; VICTORA, C. G.; ARAUJO, C. L. P.; BARROS, F. C. Tendências no perfil nutricional das crianças nascidas em 1993 em Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil: análises longitudinais **Cad Saúde Pública.** 19(1): S141-S147, 2003

GUELHO, D.; PAIVA, I.; CARVALHEIRO, M. Diabetes mellitus – um *continuum* fisiopatológico **Rev Port Endocrinol Diabetes Metab.** 8(1):44–49, 2013

GOLDBERG, R. B.; CAPUZZI, D. Lipid disorders in type 1 and type 2 diabetes **Clin Lab Med.** 21(1): 147-72, 2001

GOTTLIEB M. G. V., CRUZ I. B. M, SCHWANKEC. H. A.; BODANESE L. C. Estresse oxidativo como fator de risco cardiometabólico emergente **Sci Med (Porto Alegre).** 20(3) 243-49, 2010

GROPPER, S. S.; SMITH, J. L.; GROFF, J. L. **Advanced Nutrition and Human Metabolism**, Fifth Edition 363-104, 2009

GUNASEKARA, P.; HETTIARACHCHI, M.; LIYANAGE, C.; LEKAMWASAM, S. Effects of zinc and multimineral vitamin supplementation on glycemic and lipid control in adult diabetes **Diabetes Metab Syndr Obes.** 4:53–60, 2011

HE. K. Trace elements in nails as biomarkers in clinical research **Eur J Clin Invest.** 41(1):98-102, 2010

IBGE **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009** Disponível em http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_e_ncaa/default.shtm acesso em: 10/10/2014

JANSEN, J.; ROSENKRANZ, E.; OVERBECK, S.; WARMUTH, E. M.; MOCHEGANI, E.; GIACCONI, R.; WEISKIRCHEN, R.; KARGES, W.; RINKEMAIL, L. Disturbed zinc homeostasis in diabetic patients by in vitro and in vivo analysis of insulinomimetic activity of zinc **J Nutr Biochem.** 23(11):1458-66, 2012

JAYARDENA, R, KATULANDA, P, RANASINGHE, P, SHERIFF, R.; MATTHEWS, DR. The influence of family history of diabetes on disease prevalence and associated metabolic risk factors among Sri Lankan adults **Diabet Med.** 2014

JR, C. R. M. de A.; CLEMENTE, E. L.; GOMES, M. B. Influência da Gordura Corporal em Parâmetros de Controle Clínico e Metabólico de Pacientes Com Diabetes Mellitus Tipo 1 **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 48(6):885-89, 2004

JUNIOR, R. D. R. L.; DEMARTINI, A. A. C.; ONO, A. H. A.; ANDRADE, G. C. Prevalência de obesidade em crianças e adolescentes com diabetes melito tipo 1 **Rev Paul Pediatr.** 26(2):142-5, 2008

KLEVAY, L.; INMAN, L.; JOHNSON, L.; LAWLER, M.; MAHALKO, J.; MILNE, D., *et al.*, Increased cholesterol in plasma in a young man during experimental copper depletion **Metabolism.** 33(12):1112-8, 1984

KAZI, T. G.; AFRIDI, H. I.; JAMALI, M. K.; ARAIN, M. B.; JALBANI, N.; KANDHRO, G. A. Copper, Chromium, Manganese, Iron, Nickel, and Zinc Levels in Biological Samples of Diabetes Mellitus Patients **Biol Trace Elem Res.** 122(1):1–18, 2008

KRETSINGER, R. H.; UVERSKY, V. N.; PERMYAKOV, E. A. **Encyclopedia of Metalloproteins** Springer Science Business Media New York 742-57, 2013

KRUZE-JARRES, J. D.; ROKGAUER, M. Trace elements in diabetes Mellitus Peculiarities and clinical validity of determinations in blood cells **J Trace Elem Med Biol.** 14(1):21-7, 2000

LAU, A.L., FAILLA, M.L. Urinary excretion of zinc, copper and iron in the streptozotocin-diabetic rat **J Nutr.** 114(1):224-233, 1984

LIMA, J. G., LIMA N. N. Uma Breve História do Diabetes **Rev Soc Bras Diabetes.** 21(2):20, 2014

LIN, C. C.; HUANG, H. H.; HU, C. W.; CHEN, B. H.; CHONG, I. W.; CHAO, Y. Y.; HUANG, Y. L. Trace elements, oxidative stress and glycemic control in young people with type 1 diabetes mellitus **J Trace Elem Med Biol.** 28(1): 18-22, 2014

LOPES, F. M.; ARAUJO, E. T.; SILVA, K. J.; SILVA, M. C.; CRUZ, R. O.; LISBOA, E. S. Avaliação da hemoglobina glicada como importante marcador do

diabetes *mellitus* **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde.** [On-line] 15(3):65-82, 2011

MACHADO, U. F. Transportadores de Glicose **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 42(6):413-21, 1998

MARASCHIN, J. F.; MURUSSI, N.; WITTER, V.; SILVEIRO, S. P. Diabetes Mellitus Classification **Arq Bras Cardiol.** 95(2):40-47, 2010

MARREIRO, D. N., GELONEZE, B., TAMBASCIA, M. A. LERÁRIO, A. C. HALPEM, A. S., COZZOLINO, M.F. Participação do zinco na resistência à insulina **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 48(2):234-39, 2004

MARQUES, M. C. Fisiologia do diabetes *mellitus* Faculdade de farmácia, Universidade de Lisboa Disponível em <http://www.ff.ul.pt/~mcmarques/Microsoft%20PowerPoint%20-%20DIABETESMELLITUS-2008.pdf> acesso: 24/10/2014

MATHEUS, A. S. M.; COBAS, R. A.; GOMES, M. B. Dislipidemias no diabetes *mellitus* tipo 1: abordagem atual **Arq Bras Endocrinol Metab.** 52(2):334-339, 2008

MELNIKOV, P.; CONSOLO, L. Z.; SILVA, A. F.; DOMINGOS, H.; NASCIMENTO, V. A. Hematologic parameters and copper levels in patients with cardiomyopathies **Int J Cardiol.** 172(1):e149–50, 2014

MENDES I. A. C., ZANETTI, M.L. Caracterização de crianças e adolescentes com Diabetes Tipo 1 em seguimento terapêutico **Rev Gaucha Enferm.** 21(1):82-99, 2000

MONTEIRO, M. D **Análise de elementos traços por absorção atômica de forma quantitativa e qualitativa: uma Investigação do Valor Nutricional de Leites Humanos que Abastecem o Banco de Leite do Estado do Amapá** Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, 2013

MUÑIA, G. P.; HERRERAA, M. J. B.; ATANCEA, E. P.; DONADO, J. J. A.; SÁNCHEZ, G.; FERRERA, L. S. Estudio epidemiológico de la diabetes tipo 1, em menores de 15 anos em Castilla La Mancha **An Pediatr.** 76(2):83-91, 2012

MYERS, S. A.; NIELD, A.; MYERS, M. Zinc Transporters, Mechanisms of Action and Therapeutic Utility: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus **J Nutr**

Metab. 1, 2012 Disponível em:

<http://www.hindawi.com/journals/jnme/2012/173712/> acesso em:14/09/2014

NAME, J. J. Considerações sobre suplementação mineral no diabetes mellitus **Rev Bras Med.** 64(8):393-396, 2007

NETTO, A. P.; ANDRIOLO, A.; FILHO, F. F.; TAMBASCIA, M.; GOMES, M. B.; MELO, M.; SUNITA, M. N.; LYRA, R.; CAVALCANTI, S. Atualização sobre hemoglobina glicada (HbA1c) para avaliação do controle glicêmico e para o diagnóstico do diabetes: aspectos clínicos e laboratoriais **J Bras Patol Med Lab.** 45(1):31-48, 2009

PEDROSA, L. de F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Alterações metabólicas e funcionais do zinco em diabetes mellitus **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 42(6):422-30, 1998

PEDROSA, L. de F. C.; COZZOLINO, S. M. F. Alterações metabólicas e funcionais do cobre em diabetes mellitus **Rev Nutr** . 12(3):213-24, 1999

PEREIRA, C. S. V. **Relação entre marcadores fisiológicos do diabetes (dano no DNA, glicemia e hemoglobina glicosilada), níveis séricos de minerais e qualidade da dieta em pacientes pré-diabéticos** Dissertação Mestrado Univ de Santa Cruz do Sul, 2012 Disponível em:
http://redenep.unisc.br/portal/upload/com_arquivo/camila_schreiner_pereira.pdf
acesso em 14/09/2014

PERES, A.; WAGNAR, A. M.; CARRERAS, G.; GIMENEZ, G.; SANCHES-QUESADA, J. L.; RIGLA, M, *et al.* Prevalence and phenotypic distribution of dyslipidemia in type 1 diabetes mellitus: effect of glycemic control **Arch Intern Med.** 160(18):2756-62, 2000

PETROSKI, E. L. **Antropometria - Técnicas e padronizações** Porto Alegre ed 2 Pallotti, 2003

PICCIRILLO, L. J.; CUNHA, E. F.; GONÇALVES, M. F. R.; CLEMENTE, E. L. S.; NEVES, R.; GOMES, M. Microalbuminuria in type1 diabetes: prevalence and associated factors **Arq Bras Endocrinol Metab.** 46(6):632-39, 2002

PIETROPAOLO, M. **Pathogenesis of type1 diabetes mellitus** disponível em:
<http://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-of-type-1-diabetes-mellitus> acesso:
11/09/2014

POLAK, M.; SOUCHON, M.; BENALI, B. F.; TUBIANA-RUFI, N.; CZERNICHOW, P Type1diabetic children have abnormal lipid profiles during pubertal years **DiabetesPediatr.** 1(2):74-81, 2000

PRASAD, A. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidante roles of zinc **Exp Gerontol.** 43(5):370-7, 2007

REINEHR, T.; HOLL, R. W.; ROTH, C. L.; WIESEL, T.; STACHOW, R.; WABITSCH, M.; *et al*/ Insulin resistance in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus: relation to obesity **Pediatr Diabetes** 6:5-12, 2005

REIS, J. S.; VELOSO, C. A.; MATTOS, R. T.; PURISHI, S.; MACHADO, J. A. N. Estresse Oxidativo: Revisão da Sinalização Metabólica no Diabetes Tipo1 **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 52(7):1096-105, 2008

RUBIO-GUERRA, A. F.; VARGAS-ROBLES, H.; SUÁREZ-CUENCA, J. A.; LOZANO-NUEVO, J. J.; RODRIGUÉS-LOPES, L.; DURÁN-SALGADO, M. B.; ESCALANTE-ACOSTA, B. A. Concentraciones de adipocitocinas em pacientes diabéticos tipo 2, normotensos e hipertensos **Med Int Mex.** 30(2):146-51, 2014

SAKURAI, H.; KATOH, A.; KISS, T.; JAKUSCH, T.; HATTORI, M. Metallo-allixinate complexes with anti-diabetic and anti-metabolic syndrome activities **Metallomics.** 2(10):670-82, 2010

SALGUEIRO, M. J.; KREBS, N.; ZUBILLAGA, M. B.; WEIL, R.; POSTAIRE, E.; LYSIONEK, A.; CARO, R. A.; PAOLI, T.de; HAGER, A.; BOCCIO, J. Zinc and Diabetes Mellitus Is There a Need of Zinc Supplementation in Diabetes Mellitus Patients? **Biol Trace Elem Res.** 81(3): 215-28, 2001

SANNAZZARO, C. A. C.; CARDOSO, S. C.; TAGA, E.; VAZ, A. J. Determinação de insulina **Biotech N Intern.** 6(5), 2001

SANTANA, G. P. **Elemento-traço ou metal Pesado?** Disponível em: http://www.cq.ufam.edu.br/Artigos/Elemento_metal_pesado/Elemento_metal_pesado.html acesso em: 10/05/2012

SCHLOOT, N. **Cellular immunity [internet]**, 2014; Diapedia 59 Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14496/dia.21040851295.59> acesso em 24/09/2014

SEBIM, D. R., *et al*/ Diabetes Mellitus: Mudança no estilo de vida **Univ Enf.** 3(1):13, 2014

SENA, K. C. M.; ARRAIS, R. F.; BRITO, T. N. S.; ALMEIDA, M. G.; PEDROSA, F. C. Efeito da suplementação com zinco sobre a zincúria de pacientes com diabetes tipo 1 **Arq Bras Endocrinol Metabol.** 47(5):572-77, 2003

SITASAWAD, S.; DESHPANDE, M.; KATDARE, M. TIRTH, S.; PARAB, P. Beneficial effect of supplementation with copper sulfate on STZ-diabetic mice (IDDM) **Diabetes Res Clin Pract.** 52(2):77-84, 2000

SJÖGREN, A., EDVINSSON, L., FLOREN, C.F., ABDULLA, M., SRINIVAS, U. Plasma levels of magnesium, copper, zinc and calcium in patients with diabetes mellitus **Commonwealth Agricultural Bureaux.** p.757-59, 1985

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

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2013/14 - DIRETRIZES Disponível em: <http://www.diabetes.org.br/images/pdf/diretrizes-sbd.pdf> acesso em 05/09/2014

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PEDIATRIA - **Obesidade na infância e adolescência: Manual de orientação** 2ed Rio de Janeiro, 2012 Disponível em: http://www.sbp.com.br/pdfs/14297c1-Man_Nutrologia_COMPLETO.pdf acesso em 05/09/2014

TERRES, M.C.; NAVARRO, M.; LAGO, M.F.; LOPEZ, M. M. C. Determination of copper levels in serum of healthy subjects by atomic absorption spectrometry **Sci Total Environ.** 198(1):97-103, 1997

TOMAT, A. L., COSTA, M. L., ARRANZ, C. T. Zinc restriction during different periods of life: influence in renal and cardiovascular diseases **Nutrition.** 27(4):392-8, 2011

TSCHIEDEL, B. **A História do Diabetes** Disponível em: <http://www.endocrino.org.br/historia-do-diabetes/> acesso em: 11/10/2014

TRIEBSESS, L. **Zinco** Curso de Bioquímica Aplicada à Medicina, 2011 Disponível em: <http://www.medicinabiomolecular.com.br/biblioteca/pdfs/Nutrientes/nu-0130.pdf> acesso em 14/09/2014

VIKTORINOVÁ, A.; TOSEROVÁ, E.; KRISKO, M.; DURACKOVÁ, Z.; Altered metabolism of copper, zinc, and magnesium is associated with increased levels of glycated hemoglobin in patients with diabetes mellitus **Metabol.** 58(10):1477– 82, 2009

VOLTARELLI, J. C. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in type I diabetes mellitus **Rev Bras Hematol Hemoter.** 26(1):43-5, 2004

WALTER Jr, R. M.; URIU-HARE, J. Y.; OLIN, K. L.; OSTER, M. H.; ANAWALT, B. D.; CRITCHFIELD, I. W.; KEEN, C. L.; Copper, Zinc, Manganese, and Magnesium Status and Complications of Diabetes *Mellitus* **Diabetes care,** 14(11):1050-6, 1991

WEIER, G. C.; WEIER, S. B.; SHARMA, A. J. **Regulação da secreção de insulina e função da célula de ilhota** disponível em: <http://diabetes.trammit.com.br/diabetes/portugues/publish/pub/capitulo1.htm> acesso em 24/09/2014

WILTSHIRE, E. J.; COUPER, J. J. Dietary fats do not contribute to hyperlipidemia in children and adolescents with type1 diabetes **Diabetes Care.** 26:1356-61, 2003

WORLD HEALTH ORGANIZATION **Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus** Disponível em: http://www.who.int/diabetes/publications/report-hba1c_2011.pdf?ua=1 acesso em 05/09/2014

WORLD HEALTH ORGANIZATION Growth reference data for 5-19 years Disponível em: <http://www.who.int/growthref/en/> acesso em 24/10/2014

YANG, J. Role of clusters in insulin-regulated GLUT4 trafficking in adipose cells: A new paradigm? **Int J Biol Sci.** 6(7):716-718, 2010

ZANONI, L. Z.; MELNIKOV, P.; CONSOLO, L. C.; POPPI, N. R.; OSSAIS, A. A.; CALDAS, M. V.; MAYOR, I. A. Zinco em crianças submetidas à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea **Arq Bras Cardiol.** 90(6):e49-e51, 2008

ZARGAR, A. H.; BASHIR, M. I.; MASOODI, S.R.; LWAY, B. A.; WANI, A. I.; KHAN, A. R.; DAROS, F. A. Copper, zinc and magnesium levels in type-1 diabetes mellitus **Saudi Med J.** 23(5):539-42, 2002

APÊNDICE 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Sr(a) _____ responsável por _____ de _____ anos, você está sendo convidado a participar em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Este estudo está sendo conduzido por **Vanessa Cristina Schroder Rosa**, mestranda do curso de Mestrado **Saúde e Desenvolvimento do Centro-Oeste – UFMS** e tem como objetivo avaliar os níveis plasmáticos de **Zn** e **Cu** em crianças portadoras de Diabetes Mellitus Tipo I na tentativa de correlacionar ou não suas alterações com o controle glicêmico, o estado nutricional e o perfil lipídico destas crianças.

Poderão participar deste estudo crianças de 1 mês a 17 anos 11 meses de idade, acompanhadas pelo ambulatório de endocrinologia pediátrica do Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian e no CEM - Centro de Especialidades Médicas de Campo Grande/MS. Excluem-se aquelas que estiverem fazendo uso de complementação oral de zinco ou magnésio; crianças indígenas; Crianças portadoras de doença do metabolismo lipídico e protéico, doença hepática ou insuficiência renal. Estes minerais serão pesquisados a partir de amostras que serão coletadas, no momento da coleta de sangue rotineira de seu retorno ambulatorial, no laboratório de análises clínicas desta instituição. Este estudo será realizado no período de setembro/2012 a julho de 2013. Estarão participando deste estudo **50**(cinquenta) crianças.

Não há riscos ao participar deste estudo, a não ser os inerentes à punção venosa, que podem ou não ocorrer, seriam eles: hematomas, flebite(inflamação no local da punção), sangramento local e dor no momento da punção pela picada da agulha. Acaso ocorram, será dada orientação para o responsável a utilização de compressas frias para o alívio da dor e da inflamação da flebite, e de pressão local para não sangrar ou formar hematomas. A pesquisa pode trazer como benefício uma alternativa de controle glicêmico mais eficaz através da suplementação de zinco e magnésio em crianças portadoras de diabetes tipo I, caso seja comprovada a correlação destes minerais com a descompensação da doença.

Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei, somente o pesquisador, a equipe do estudo, Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações para verificar as informações do estudo. O Sr(a) será informado do surgimento de informações significativas sobre o assunto da pesquisa e dos resultados assim que possível. Você será informado sempre que houver uma nova informação que possa modificar a sua vontade em continuar participando do estudo.

Para perguntas ou problemas referentes ao estudo ligue para Vanessa Cristina Schroder Rosa, fone (67) 9191-8175. Para perguntas sobre seus direitos como participante no estudo chame o Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFMS, no telefone (067) 33457187. Os resultados da pesquisa serão divulgados e publicados nos meios acadêmicos.

Sua participação no estudo é voluntária. Você pode escolher não fazer parte do estudo, ou pode desistir a qualquer momento e sua assistência à saúde não será prejudicada. Você não será proibido de participar de novos estudos. Você poderá ser solicitado a sair do estudo se não atender as exigências estipuladas. 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 autorizo meu filho a tomar parte neste estudo.

Assinatura do responsável _____ data _____
Fone para contato: () _____

Assinatura do pesquisador _____ data _____

APÊNDICE 2 - Instrumento de coleta de dados

REGISTRO DE PACIENTES		
DATA: __/__/____	PRONTUÁRIO: _____	Controle: _____
NOME _____	DATA NASC: _____	ID: _____
PESO: _____ Kg	ESTATURA: _____ m	
DIAG DESDE: _____	SEXO: ()M ()F	COLETA EM: __/__/____
USO DE OUTROS MEDICAMENTOS: _____		
RESULTADOS		
Zn:		
Cu:	Col T:	
Perfil lipídico:	HDL:	Trigl:
	LDL:	Glicemia
	VLDL:	Hb A1c:
Doenças associadas: () sim () não Quais? _____		
REGISTRO DE PACIENTES		
DATA: __/__/____	PRONTUÁRIO: _____	Controle: _____
NOME _____	DATA NASC: _____	ID: _____
PESO: _____ Kg	ESTATURA: _____ m	
DIAG DESDE: _____	SEXO: ()M ()F	COLETA EM: __/__/____
USO DE OUTROS MEDICAMENTOS: _____		
RESULTADOS		
Zn:		
Cu:	Col T:	
Perfil lipídico:	HDL:	Trigl:
	LDL:	Glicemia
	VLDL:	Hb A1c:
Doenças associadas: () sim () não Quais? _____		
REGISTRO DE PACIENTES		
DATA: __/__/____	PRONTUÁRIO: _____	Controle: _____
NOME _____	DATA NASC: _____	ID: _____
PESO: _____ Kg	ESTATURA: _____ m	
DIAG DESDE: _____	SEXO: ()M ()F	COLETA EM: __/__/____
USO DE OUTROS MEDICAMENTOS: _____		
RESULTADOS		
Zn:		
Cu:	Col T:	
Perfil lipídico:	HDL:	Trigl:
	LDL:	Glicemia
	VLDL:	Hb A1c:
Doenças associadas: () sim () não Quais? _____		

UFMS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ELEMENTOS TRAÇO EM CRIANÇAS COM DIABETES MELITUS TIPO 1

Pesquisador: vanessa cristina schroder rosa

Área Temática: Área 9. A critério do CEP.

Versão: 3

CAAE: 06030212.3.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 159.173

Data da Relatoria: 08/11/2012

Apresentação do Projeto:

O termo diabetes mellitus descreve uma doença metabólica com etiologia heterogênea e se caracteriza por como uma doença multifatorial, dependente da complexa interação entre resposta imunológica, fatores genéticos predisponentes e influência do meio-ambiente que destroem as células beta pancreáticas produtoras de insulina, tendo como consequência principal a hiperglicemia. (WHO, 2011) Anualmente, no mínimo 60.000

crianças são diagnosticadas em todo o mundo com DM1. Esta doença usualmente, inicia na idade de 4 anos, com pico de incidência aos 11-13 anos de idade. Oligoelementos ou elementos traço, são nutrientes essenciais para o metabolismo, o crescimento, desenvolvimento do sistema

imunológico e manutenção das funções neurológicas. É demonstrado que o aumento na ingestão de alimentos ricos em magnésio reduz o risco de surgimento e progressão de diabetes e suas complicações, sugerindo que o este elemento pode ter impacto positivo sobre a doença. (SALES, 2008). Embora tenha havido numerosos estudos em pacientes adultos, que avaliaram o status mineral de indivíduos diabéticos, esses estudos

apresentaram resultados inconsistentes (WALTER. et al, 1991). O zinco é um micronutriente essencial que desempenha funções fundamentais em um grande número de processos biológicos. Este oligoelemento tem papel relevante nas ilhotas pancreáticas, sendo que sua homeostase é estreitamente regulada por mecanismos de transporte nestas células sendo fundamental na síntese, armazenamento e secreção de insulina.

(VIKTORINOVA et al. 2009).

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS

Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110

UF: MS Município: CAMPO GRANDE

Telefone: ((57) 33)45-7-187 Fax: ((57) 33)45-7-187 E-mail: bioetica@propp.ufms.br

UFMS

**Objetivo da Pesquisa:**

Objetivo Primário: Avaliar a concentração plasmática do zinco, magnésio e selênio, em crianças portadoras de Diabetes Mellitus Tipo 1

Objetivo Secundário: Avaliar o estado nutricional das crianças. Verificar as concentrações plasmáticas de zinco, magnésio e selênio. Comparar as concentrações

plasmáticas do Zinco, Magnésio e selênio com o estado nutricional da população estudada. Analisar e comparar a concentração plasmática de Zinco, magnésio e selênio com o controle dos níveis glicêmicos das crianças; Correlacionar as concentrações plasmáticas de Zinco, Magnésio e selênio com a dose diária de insulina. Correlacionar as concentrações plasmáticas de Zinco, Magnésio e selênio com o perfil lipídico do paciente.

Comparar os resultados encontrados com aqueles relatados na literatura.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os riscos ao participar deste estudo são os inerentes à punção venosa, que podem ou não ocorrer, como: hematomas, flebite. O termo diabetes mellitus descreve uma doença metabólica com etiologia heterogênea e se caracteriza por como uma doença multifatorial,

dependente da complexa interação entre resposta imunológica, fatores genéticos predisponentes e influência do meio-ambiente que destroem as células beta pancreáticas produtoras de insulina, tendo como consequência principal a hiperglicemia. (WHO, 2011) Anualmente, no mínimo 60.000 crianças são diagnosticadas em todo o mundo com DM1. Esta doença usualmente, inicia na idade de 4 anos, com pico de incidência aos 11-13 anos

de idade. Oligoelementos ou elementos traço, são nutrientes essenciais para o metabolismo, o crescimento, desenvolvimento do sistema imunológico e manutenção das funções neurológicas. É demonstrado que o aumento na ingestão de alimentos ricos em magnésio reduz o risco de surgimento e progressão de diabetes e suas complicações, sugerindo que o este elemento pode ter impacto positivo sobre a doença. (SALES, 2008). Embora tenha havido numerosos estudos em pacientes adultos, que avaliaram o status mineral de indivíduos diabéticos, esses estudos

apresentaram resultados inconsistentes (WALTER. et al, 1991). O zinco é um micronutriente essencial que desempenha funções fundamentais em um grande número de processos biológicos. Este oligoelemento tem papel relevante nas ilhotas pancreáticas, sendo que sua homeostase é estreitamente regulada por mecanismos de transporte nestas células sendo fundamental na síntese, armazenamento e secreção de insulina. (VIKTORINOVA et al. 2009).

Introdução: Tamanho da Amostra no Brasil: 50

(inflamação no local da punção), sangramento local e dor no momento da punção pela picada da agulha.

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
 Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110
 UF: MS Município: CAMPO GRANDE
 Telefone: ((57) 33)45-7-187 Fax: ((57) 33)45-7-187 E-mail: bioetica@propp.ufms.br

UFMS

**Benefícios:**

A relação do zinco, do magnésio e do selênio com o diabetes mellitus ainda não está bem estabelecida. No entanto, estudos epidemiológicos e multicêntricos internacionais têm registrado a alta prevalência de alterações desses minerais como um dos fatores que contribuem para o surgimento do pré-diabetes e do diabetes mellitus, bem como para uma evolução desfavorável da doença. (Sales, 2008) Considerando o exposto, é imprescindível desenvolver um estudo do comportamento do zinco, do magnésio e do selênio em crianças portadoras de DM1, com a finalidade de observar se condutas clínicas e nutricionais podem proporcionar melhor manejo do controle e prognóstico desta grave doença.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de relevância social.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequado,

Recomendações:**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Adequado.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

CAMPO GRANDE, 29 de Novembro de 2012

Assinador por:
Edilson dos Reis
 (Coordenador)

Endereço: Pró Reitoria de Pesquisa e Pós Graduação/UFMS
 Bairro: Caixa Postal 549 CEP: 79.070-110
 UF: MS Município: CAMPO GRANDE
 Telefone: ((57) 33)45-7-187 Fax: ((57) 33)45-7-187 E-mail: bioetica@propp.ufms.br