MARLICE OLIVEIRA DE OLIVEIRA ULBRECHT

DINÂMICA DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE SELÊNIO E DO ESTRESSE OXIDATIVO NA CIRURGIA CARDÍACA INFANTIL COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

CAMPO GRANDE – 2017

MARLICE OLIVEIRA DE OLIVEIRA ULBRECHT

DINÂMICA DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE SELÊNIO E DO ESTRESSE OXIDATIVO NA CIRURGIA CARDÍACA INFANTIL COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

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.
Orientador: Prof. Dr. Valter A. do Nascimento

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

CAMPO GRANDE - 2017

BANCA EXAMINADORA

Campo Grande, 27 de outubro de 2017.

MARLICE OLIVEIRA DE OLIVEIRA ULBRECHT

Título: DINÂMICA DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE SELÊNIO E DO ESTRESSE OXIDATIVO NA CIRURGIA CARDÍACA INFANTIL COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

Examinadores:

Presidente: Professor Doutor Valter Aragão do Nascimento
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Membros:

Professor Doutor Daniel Araújo Gonçalves
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - titular

Professor Doutor Rondon Tosta Ramalho
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – titular

DEDICO ESTE TRABALHO

A minha amada família. Ao meu marido, **Marcius Rodrigo**, que sempre acreditou em mim, quando nem eu mesma acreditava. Aos meus amados filhos, **Guilherme** e **Gustavo**, que aguentaram firme minha ausência e meu estresse. Aos meus pais, **Rozeli** e **Mogar**, minha base, minha fortaleza. Aos meus irmãos, **Marlon** e **Márcio**, que sempre estiveram ao meu lado. Às **crianças** que participaram do estudo, sem elas, não existiria este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por conceder-me saúde, sabedoria, paciência e força para seguir minha caminhada, superando os obstáculos. Sem Ele, nada seria.

Ao meu orientador Professor Doutor **Valter Aragão do Nascimento**, pelo exemplo de profissionalismo e dedicação a ciência. A ele dedico minha imensa gratidão. Hoje só estou escrevendo estas linhas, porque ele acreditou em mim e me deu a oportunidade de trabalhar ao seu lado.

Ao colega Professor Doutor **Daniel Araújo**, pela inestimável ajuda e pelas horas de dedicação a este trabalho, desvendando os “mistérios” do ICP OES.

A Professora Doutora **Lourdes Zélia Zanoni**, pelas ideias e pelo tempo que se dedicou a me ajudar.

A aluna do doutorado **Elaine Silva de Pádua Melo** pela paciência, pelos artigos e pelo tempo dedicado em me ensinar.

A equipe da cirurgia cardíaca infantil do Hospital Santa Casa: cirurgiões cardíacos **Aparecida Afif el Ossais** e **Marcus Vinicius Reggiori Pereira Caldas**, anestesista **Ivoney Assad Vila Maior**, perfusionista **Lindaura da Silva Rodrigues** (tão querida e bondosa, sempre disposta a me ajudar) e demais colaboradores.

As enfermeiras, **Agda**, **Monise**, **Francis** e **Laís**, pela inestimável colaboração.

A minha colega de lutas diárias, **Giselle Gabas**, que muito me apoiou, fazendo trocas de horários e cobrindo minhas folgas. Sem sua ajuda, não teria conseguido chegar até aqui.

Ao meu chefe e amigo, **Marcio Maruyama**, que me incentivou e me apoiou.

As minhas amigas **Alessandra Mesquita, Léia Souza Ribeiro e Juliana Medeiros,** que sempre estiveram ao meu lado, escutando pacientemente minhas lastimas e me incentivando sempre com carinho, minha gratidão.

“Inspire-se na maravilha do universo, do mundo e da vida, sempre mantenha em mente essa ampla perspectiva. ”

(Richard Dawkins)

RESUMO

ULBRECHT, Marlice Oliveira de Oliveira. Campo Grande, 2017. [Dissertação – Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Diante da importância dos danos causados pelo estresse oxidativo em cirurgias cardíacas com circulação extracorpórea (CEC), o estudo avaliou a concentração plasmática do selênio e do estresse oxidativo em crianças com cardiopatias congênitas acianóticas submetidas a correção cirúrgica com CEC nos períodos pré, peri e pós-operatório. O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes, com consequente dano. O malondialdeído (MDA) é uma substância que reage ao ácido tiobarbitúrico (TBA) e funciona como marcador do estresse oxidativo. O selênio (Se), oligoelemento essencial para os seres humanos, e atualmente, foco de muitas pesquisas, desempenha um papel fundamental na defesa antioxidante. Entretanto, as concentrações séricas de selênio exibem diferenças regionais e são fortemente influenciadas por fatores geológicos e geoquímicos. Sabe-se que pacientes pediátricos quando submetidos à tratamento cirúrgico para correção das malformações cardíacas apresentam maiores complicações no pós-operatório comparando-se aos adultos. Este trabalho utilizou o método TBARS para quantificação do MDA, após indução anestésica durante a CEC, após CEC e 24 horas após a cirurgia. Já a quantificação de selênio foi realizada utilizando o ICP OES. Os resultados mostram que existe uma relação entre as variações nas concentrações de selênio e estresse oxidativo 24 horas após a cirurgia, corroborando com a evolução clínica dos pacientes que apresentam síndrome da resposta inflamatória sistêmica. Portanto, o estudo contribui com dados que possam servir de base para possíveis correções pré e pós-operatórias visando uma evolução clínica mais favorável, minimizando os efeitos relacionados a CEC.

Palavras chaves: estresse oxidativo, circulação extracorpórea, cirurgia cardíaca infantil, selênio.

ABSTRACT

ULBRECHT, Marlice Oliveira de Oliveira. Campo Grande, 2017. [Dissertation - Postgraduate Program in Health and Development in the Center-West Region, Federal University of Mato Grosso do Sul].

In view of the importance of oxidative stress damages in cardiopulmonary bypass (CPB) cardiac surgery, the study evaluated the plasma concentration of selenium and oxidative stress in children with acyanotic congenital cardiopathies undergoing surgical correction with CPB in the pre, peri and post-operative periods surgery. Oxidative stress results from the imbalance between the pro and the antioxidant system, with a predominance of oxidants, with consequent damage. Malondealdehyde (MDA) is a substance that reacts to thiobarbituric acid (TBA) and acts as a marker of oxidative stress. Selenium (Se), essential trace element for humans, and currently the focus of much research, plays a key role in antioxidant defense. However, serum selenium concentrations exhibit regional differences and are strongly influenced by geological and geochemical factors. It is known that pediatric patients undergoing surgical treatment to correct cardiac malformations present greater complications in the postoperative period compared to adults. This study used the TBARS method for the quantification of MDA, after anesthetic induction during CPB, after CPB and 24 hours after surgery. The quantification of selenium was performed using ICP OES. The results show that there is a relationship between the variations in selenium concentrations and oxidative stress 24 hours after surgery, corroborating with the clinical evolution of the patients with systemic inflammatory response syndrome. Therefore, the study contributes with data that may serve as the basis for possible pre and postoperative corrections aimed at a more favorable clinical evolution, minimizing the effects related to CPB.

Key words: oxidative stress, cardiopulmonary bypass, infant cardiac surgery, selenium.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Microcirculação.....21
Figura 2 - Circulação extracorpórea em adultos no século XXI. Ciência, arte ou empirismo? *22*
Figura 3 - Mecanismo para formação de espécies reativas durante o processo de isquemia-reperfusão.....25
Figura 4 - Química das espécies reativas de oxigênio.....27
Figura 5 – Redução tetravalente do oxigênio (O_2) na mitocôndria até a formação de água (H_2O). Várias espécies reativas de O_2 são formadas no processo 28
Figura 6 – Fontes e respostas celulares às Espécies Reativas (ER) de Oxigênio (ERO), de Nitrogênio (ERN), derivados de Enxofre (ERS), de Cloro (ERCl), de carbono (ERC) e metais de transição [M^{n+})].....31
Figura 7 - Reação utilizada para detecção de malondialdeído (MDA) em plasma humano. Ácido tiobarbitúrico (TBA) é adicionado ao plasma que reage com MDA. 33
Figura 8 - Antioxidantes enzimáticos.....34
Figura 9 - Esquema referente ao sistema antioxidante enzimático.....35
Figura 10 – Curva de Calibração para Se 196.090 nm.....53
Figura 11 – Percentual de pacientes do sexo masculino e feminino.....58
Figura 12 – Percentual por idade dos pacientes avaliados.....58
Figura 13 – Percentual por peso dos pacientes avaliados.....58
Figura 14 – Percentual do estado nutricional dos pacientes.....59
Figura 15 – Percentual da procedência dos pacientes.....59
Figura 16 – Avaliação do estresse oxidativo pela concentração média de MDA para os pacientes P5, P6, P7, P8, P9, P10, P11, P12, P13, i P15.....
Figura 17 - Avaliação do estresse oxidativo pela concentração média de Se para os pacientes P1, P2, P3, P4, P7, P8, P10, P11, P12, P13 e P14.

.....61
Figura 18 - Avaliação do estresse oxidativo pela média da razão Se / MDA para os Pacientes P7, P8, P10, P11, P12, P13 e P14. Considerando a hemodiluição para A2 e A3.....62
Figura 19 - 0Curva para o coeficiente de correlação de Pearson, para aferição do grau da correlação entre duas variáveis de escala métrica, para os Pacientes P7, P8, P10, P11, P12, P13 e P14. Considerando a hemodiluição para A2 e A3.....63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições operacionais do ICP OES 53
Tabela 2 - Parâmetros analíticos obtidos por ICP OES para quantificação de Se.....54
Tabela 3 - Testes de adição e recuperação para Se determinados por ICP OES com a presença de 0,50 µg mL^{-1} de possíveis interferências na linha de emissão de 196.090 nm. (Todas as concentrações estão em µg mL^{-1} e n = 3).....54
Tabela 4 - Programa de aquecimento usado para a digestão das amostras 55
Tabela 5 – . Anomalias cardíacas congênitas de 15 pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com CEC.....59
Tabela 6- Análise estatística de variância ANOVA com fator único e intervalo de confiança de 95%, para avaliação do estresse oxidativo por MDA 60
Tabela 7 - Análise estatística de variância ANOVA com fator único e intervalo de confiança de 95%, para avaliação do estresse oxidativo por Selênio 61
Tabela 8 - Análise estatística de variância ANOVA com fator único e intervalo de confiança de 95%, para avaliação do estresse oxidativo pela razão Selênio / MDA.....62

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – Espécies reativas de oxigênio e seus antioxidantes, respectivamente.....37
Quadro 2 - Recomendações de ingestão de selênio em diferentes estágios de vida.....42
Quadro 3 - Grupos de avaliação MDA e Selênio.....48

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AI	ingestão adequada
ATP	adenosina trifosfato
CAT	catalase
CEC	circulação extracorpórea
Cu	cobre
DNA	ácido desoxirribonucleico
DRIs	Dietary Reference Intankes
EAR	estimated average requirement
EDTA	ácido etilenoamino tetra-acético
ER	espécies reativas
ERN	espécies reativas de nitrogênio
ERO	espécies reativas de oxigênio
ERON	espécies reativas de oxigênio e nitrogênio
EUA	Estados Unidos da América
Fe	ferro
GPx	glutationa peroxidase
GSH	glutationa
h	horas
H_2O_2	peróxido de hidrogênio
$HO_2\bullet$	hidroperoxila
IDD	iodotinona deidinases
IMC	índice de massa corporal
Kg	quilograma
LOD	limite de detecção óptica

LOQ	limite de quantificação óptica
MDA	malondialdeído
mg	miligramas
mg/g	miligrama por grama
mg/L	miligramas por litro
Mm	milimetro
Mn	manganês
Mw/cm	megawatt por centímetro
ng/ml	nanogramas por mililitro
Nm	nanómetro
O_2-●	superóxido
OH●	hidroxila
pH	potencial hidrogeniônico
RCT	Ensaios Clínicos Randomizados
RDA	Recommended Dietary Allowances
rpm	rotações por minuto
Se	selênio
Se^{-2}	seleneto
SeH_2	gás hidreto de selênio
$SeO3^{-2}$	selenito
$SeO4^{-2}$	selenato
SIRS	síndrome da resposta inflamatória sistêmica
SOD	dismutase
T3	triiodotironina
T4	tiroxina
TBARS	espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico
TrxR	Tioredoxina

UL	Upper Limit
Zn	zinco
µg	microgramа
µg/g	microgramа por grama
µg/L	microgramа por litro
µg/L	microgramа por litro

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 17

2. REVISÃO DA LITERATURA 21

2.1 CIRURGIA CARDÍACA E CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA 21

2.2 ISQUEMIA E REPERFUSÃO MIOCÁRDICA 24

2.3 RADICAIS LIVRES 26

2.4 ESTRESSE OXIDATIVO 29

2.5 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA 32

2.6 ANTIOXIDANTES 34

2.7 SELÊNIO 37

3. OBJETIVOS 46

3.1 OBJETIVO GERAL 46

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 46

4. MATERIAIS E MÉTODOS 47

4.1 INDUÇÃO ANESTÉSICA 49

4.2 CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA 49

4.3 PREPARO DE AMOSTRAS 50

4.3.1 DOSAGEM DE MDA PELO MÉTODO TBARS 50

4.4 CÁLCULO DAS CONCENTRAÇÕES PARA HEMODILUIÇÃO 51

4.5 ESTATÍSTICA 52

4.6 PROCEDIMENTOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE SELENIO POR ICP OES 52

5. RESULTADOS 56

6. DISCUSSÃO 64

7. CONCLUSÃO 68

8. REFERÊNCIAS BIBIOGRÁFICAS 69

9. ANEXOS 82

1. INTRODUÇÃO

As cardiopatias congênitas são definidas como anormalidades na estrutura ou função cardiovascular que está presente ao nascimento. As anomalias cardíacas abrangem aproximadamente 25% de todas as malformações congênitas, sendo responsáveis por 50% das causas de óbitos por malformações e 15% dos óbitos infantis. (SANTANA, 2012)

Os defeitos cardíacos congênitos em sua maioria são corrigidos cirurgicamente, e graças aos avanços tecnológicos, a cirurgia cardíaca conta com a possibilidade da visualização direta do coração através da circulação extracorpórea.

Como descrito por Mota, Rodrigues e Évora, (2008), a cirurgia cardíaca foi uma das poucas que apenas no último século passou a ser desbravada pelos cirurgiões; e, os caminhos percorridos desde então, inicialmente labirintos temidos, são agora trilhas seguras graças à tenacidade e ao empenho de vários cientistas. Foi a circulação extracorpórea (CEC) a grande responsável pelo alcance desse status, tornando-as mais seguras para que os defeitos mais complexos pudessem ser abordados.

Na circulação extracorpórea as funções de bombear sangue do coração são substituídas por uma bomba mecânica e as funções dos pulmões por um aparelho que faz as trocas gasosas com o sangue. Tubos de plástico conectam as partes deste sistema entre si e com o paciente. Entretanto, apesar dos avanços tecnológicos, a disfunção pulmonar no pós-operatório de cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea continua sendo uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade. (CONTI, 2001)

A CEC é uma modalidade de circulação controlada, indispensável à maioria das cirurgias cardíacas corretivas, capaz de, juntamente com a injúria tissular decorrente de incisão cirúrgica, deflagrar uma onda de ativação inflamatória por meio de ativação celular e liberação de mediadores inflamatórios. Ocorre estimulação de leucócitos, monócitos, macrófagos, basófilos, células

endoteliais, miócitos e hepatócitos. (MOURA, POMERANTZEFF, GOMES, 2001; SEGHAYE, 2003)

Esta cascata inflamatória é ainda amplificada, quando associada às manifestações clínicas como a febre, disfunção miocárdica (por injúria mecânica, isquêmica e imunológica) e/ou vasoplegia, hipotensão; sinais de baixo débito com hipoperfusão e hipóxia tissular; insuficiência renal aguda, lesão pulmonar aguda, síndrome de angústia respiratória aguda; discrasias sanguíneas, sintomas neurológicos e retenção hídrica com ganho de peso por lesão endotelial. (NG, *et al*., 2002; TRITTENWEIN, *et al*., 2003; KARL, *et al*., 2004)

Segundo Goudeau, *et al*., (2007), a injúria endotelial, disfunção cardíaca, renal, hepática e pulmonar ocasionadas pela cirúrgica cardíaca com CEC estão associadas com resposta inflamatória e com estresse oxidativo sistêmicos.

De acordo com Buresh e Berg (2015), o estresse oxidativo envolve moléculas que são agentes oxidantes fortes, conhecidos como radicais livres e incluem espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN). Sendo associado a etiologia de diversas doenças crônicas, como as cardiovasculares, diabetes mellitus e câncer.

Estudos realizados por Boli *et al*., (1989), demonstraram que 50 a 70% da disfunção miocárdica após a circulação extracorpórea foram ocasionadas pelo surgimento dos radicais livres, liberados durante os primeiros minutos da reperfusão.

A formação dos radicais livres pode comprometer diversos elementos celulares, causando desnaturação protéica, quebra da cadeia de ácido desoxirribonucleico (DNA), inativação enzimática e peroxidação lipídica (VALKO *et al*., 2005).

De acordo com as crescentes evidências científicas, o estresse oxidativo, é definido como uma situação onde ocorre um aumento dos níveis fisiológicos das espécies reativas de oxigênio (ERO) resultando, assim, na diminuição dos níveis de defesas antioxidantes ou da elevada produção de ERO. (HARGRAVES, HENTALL, 2005)

Capaz de induzir a oxidação lipídica, o estresse oxidativo, quando na presença de oxigênio, ocasiona a peroxidação lipídica de membranas celulares, a qual está envolvida na patogênese da lesão aguda. Desta forma, os anti-

oxidantes quando presentes podem retardar ou inibir significativamente a oxidação. (HALLIWELL, 1995; OZATA *et al.*, 2002).

O estresse oxidativo, aceito como fator causal de complicações crônicas, pode ser mensurado com bases nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a atividade da catalase. (WIETZYCOSKI *et al*., 2016).

O selênio é um mineral traço de grande importância para o organismo humano, descoberto em 1817 pelo químico sueco Jôns Jacob Berzelius; apresenta atividade como parte de proteínas chamadas selenoproteínas, participando ainda de muitos processos fisiológicos, dentre eles a ação antioxidante. Presente em 25 diferentes selenoproteínas, atua também como um agente antimutagênico, prevenindo transformações malignas de células normais. Este efeito protetor do selênio foi associado com a presença da glutationa peroxidase, enzima conhecida por sua ação antioxidante, protegendo o DNA e outros componentes celulares do dano oxidativo (ALMONDES *et al*., 2010; HUANG, ROSE, HOFFMANN, 2012). A ação antioxidante da glutationa protege os lipídios das membranas e outros constituintes celulares contra a lesão oxidativa através do desdobramento do peróxido de hidrogênio e dos hidroperóxidos dos ácidos graxos (BROOME *et al.,* 2004; HOFFMAN *et al.,* 2010).

A primeira recomendação de ingestão de selênio para o ser humano foi estabelecida em 1980 (*Recommended Dietary Allowances* – RDA/*National Research Counci/Food and Nutririon Board*), sendo modificada posteriormente em 1989 e 2000. Após a instituição das DRIs (*Dietary Reference Intakes*), as recomendações foram fixadas para indivíduos de ambos os gêneros com idade acima de 19 anos em 45 µg/dia para RDA. O valor tolerável máximo de ingestão (*Upper Limit – UL*) é de 400 µg/dia (IOM, 2000).

A deficiência de selênio pode implicar em graves doenças, como cardiomiopatia, doenças cardiovasculares, infertilidade, resposta imune prejudicada ou mesmo câncer (KOHRLE *et al*., 2000). Entretanto, o selênio também é conhecido como um agente altamente tóxico (FORCEVILLE *et al.,* 2014). Portanto, são necessários valores de referência confiáveis em indivíduos saudáveis para ajudar a identificar pacientes com deficiência de selênio e para a tomada de decisão sobre suplementos de selênio. (MUNTAU *et al*., 2002)

As concentrações séricas de selênio exibem diferenças regionais e são fortemente influenciadas por fatores geológicos e geoquímicos (ALFTHAN, NEVE, 1996). Entretanto, Muntau *et al*, (2002), comparou as diferenças em crianças com mais de 1 ano, entre países, verificando, serem menos pronunciadas do que as relatadas para adultos. As concentrações médias séricas de selênio em adultos variam de 49,7 a 197 µg, enquanto que os valores médios globais em crianças variam de 48,1 a 126,3 µg.

Diante do exposto, este estudo tem como principal objetivo analisar o estresse oxidativo e as concentrações plasmáticas do selênio na criança submetida a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, contribuindo assim com dados que possam servir de base para possíveis correções pré ou pós-operatórias visando uma evolução clínica mais favorável.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 CIRURGIA CARDÍACA E CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

As cardiopatias congênitas em sua maioria são tratadas cirurgicamente e o sucesso do procedimento é resultante do diagnóstico precoce, dos avanços tecnológicos e das técnicas cirúrgicas. Dentre os avanços tecnológicos, o desenvolvimento da circulação extracorpórea (CEC) criou novas possibilidades para cura das doenças cardíacas congênitas jamais imaginadas na primeira metade do século passado. Acompanhando essa nova tecnologia, muitos conhecimentos vieram em relação à fisiologia da circulação sanguínea, às reações do organismo frente às agressões cirúrgicas, à manutenção do equilíbrio eletrolítico e acidobásico e melhor compreensão do metabolismo celular. (ZANONI, 2008)

Complexo conjunto de vasos, o sistema cardiovascular, transporta o sangue pelo corpo, impulsionado pelo coração. Nesse trajeto, as veias são responsáveis pelo fluxo em sentido centrípeto, enquanto que as artérias respondem pelo fluxo em sentido centrífugo. Localizado entre os territórios arteriais e venosos mais distais, estão as arteríolas, vênulas e capilares, constituintes da microcirculação, como podemos observar na Fig 1. Local onde ocorre as trocas entre sangue e os tecidos e onde estão os mecanismos regulatórios do fluxo sanguíneo periférico. (DE SOUZA, ELIAS, 2006).

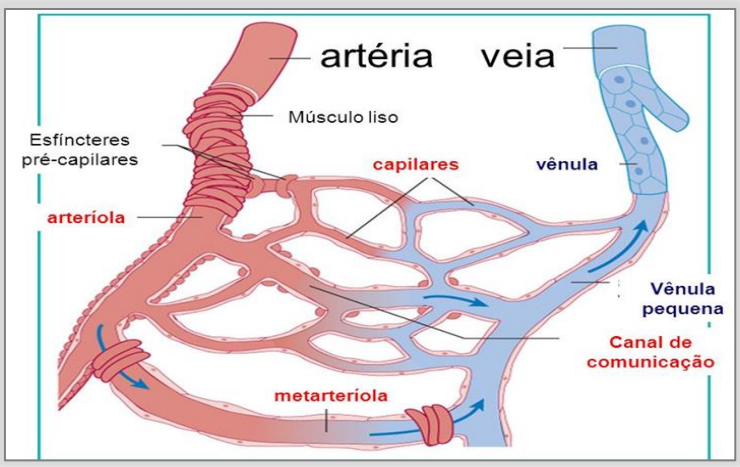

Figura 1. Microcirculação. Fonte: Elsevier Carroll. Elsevier's Integrated Physiology. www.studentconsult.com (Adaptada)

A regulação do fluxo da microcirculação não é pulsátil como nas artérias, pois a pressão de pulso no território capilar é nula. Além disso, o fluxo nos capilares é intermitente; pois a contração dos esfíncteres pré-capilares pode bloquear a passagem do sangue durante o repouso, possibilitando que os capilares oscilem entre abertos e fechados. (ÉVORA, 2007)

A fisiologia da circulação é totalmente alterada durante a CEC devido a introdução de um fluxo não pulsátil do lado arterial, que se contrapõe a uma pressão venosa elevada do lado venoso da circulação, assim como mostra a Fig 2.

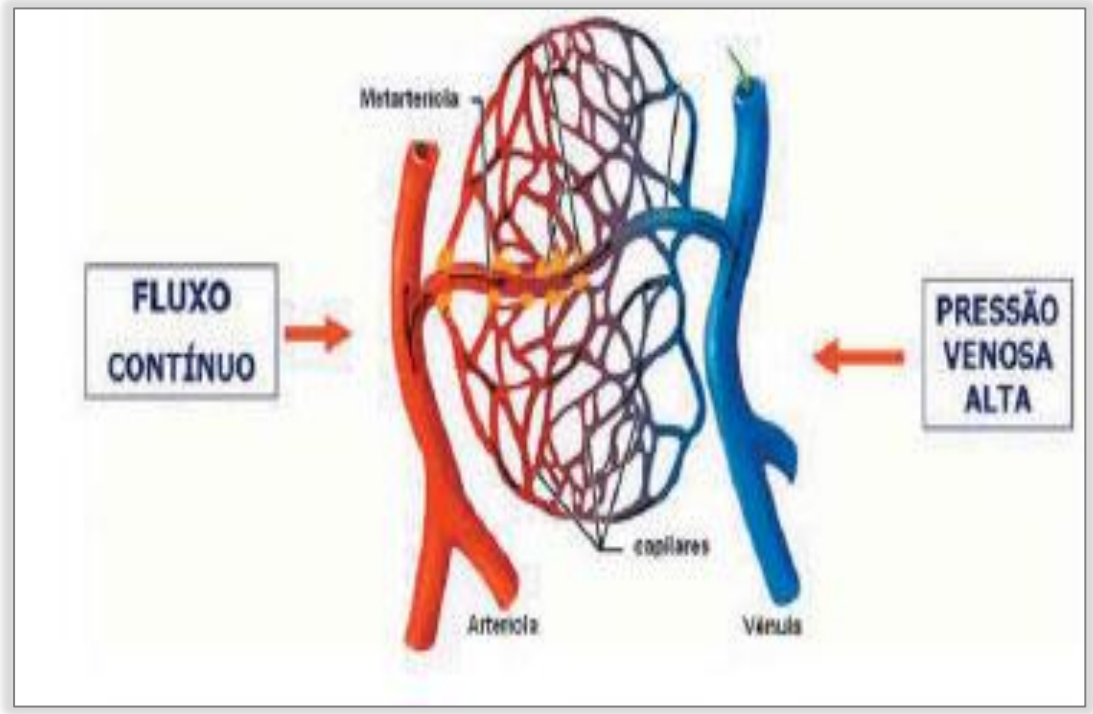

Figura 2. Circulação extracorpórea em adultos. Fonte: MOTA, A.L. *et al,* 2008 - Circulação extracorpórea em adultos no século XXI. Ciência, arte ou empirismo? Rev Bras Cir Cardiovasc 2008; 23(1): 78-92 (Adaptação)

A CEC ocorre com fluxo não pulsátil, lesando a microcirculação e causando um efeito chamado “shuntagem”. Além disso, é responsável por outras alterações na circulação, como substituição dos controles reflexos e quimiorreceptores; aumento da pressão venosa; redução da pressão coloidosmótica e temperatura manipulada. A substituição dos controles fisiológicos faz com que o fluxo capilar deixe de ser intermitente, passando a ser contínuo, o que aumenta a pressão do lado venoso, obrigando, na microcirculação, a atuação de mecanismos de compensação para desvio de fluxo. Já na microcircula-

ção, o fluxo contínuo leva à adaptação fenotípica celular que resulta no desenvolvimento de Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS). (ÉVORA, 2007)

A resposta inflamatória à CEC é provavelmente mais pronunciada no paciente cardíaco pediátrico do que no paciente adulto, uma vez que uma porção maior de sangue é exposta à superfície artificial do circuito e à sucção de cardiotomia.

A SIRS provoca a liberação de substâncias que prejudicam a coagulação e a resposta imune; aumento de tônus venoso; produz liberação de catecolaminas, alterações no fluído sanguíneo e estado eletrolítico; disfunção, lesão ou necrose celular do miocárdio e uma disfunção pulmonar branda. Essa resposta inflamatória leva a uma movimentação de fluídos do espaço intravascular para o intersticial em razão das alterações na permeabilidade vascular e à diminuição na pressão oncótica (Woods, Froelicher, Motzer, 2005) o que acarreta algumas complicações no período pós-operatório imediato (Fischer *et al*., 2002; Christensen *et al*., 2009).

A resposta inflamatória sistêmica é desencadeada pelo contato do sangue com as superfícies não fisiológicas dos materiais que compõem os equipamentos, pelo trauma cirúrgico, pelos fenômenos decorrentes da isquemia e reperfusão do miocárdio e as alterações na temperatura corporal, principalmente a hipotermia. Esta resposta inflamatória sistêmica, que é potencialmente responsável pela ativação dos neutrófilos (MORSE, ADAMS, 1998) somada com a alta tensão de oxigênio usada durante a CEC representam fontes importantes de produção de radicais livres responsáveis pelo estresse oxidativo (IHNKEN; MORITA; BUCKBERG, 1998; BRUECKL *et al.,* 2006).

Os sinais e sintomas decorrentes dessa situação são conhecidos como Síndrome Pós – Perfusão, podendo comprometer o próprio coração, os pulmões, rins e outros órgãos. O organismo reage ativando mecanismos de defesa no sentido de proteger o tecido afetado do agente agressor (MOURA; POMERANTZEFT; GOMES, 2001; CALVIN *et al,* 2002).

Os pulmões são responsáveis por neutralizar a maioria dos mediadores bioquímicos, porém, durante a CEC, são perfundidos apenas pelas artérias brônquicas, provocando lesão isquêmica por acúmulo excessivo de substâncias metabólicas no fluido intersticial pulmonar. Após o despinçamento da

aorta e o retorno dos batimentos cardíacos, inicia-se a lesão de reperfusão por meio da existência de radicais livres de oxigênio no sangue que reperfundirão os pulmões (EDMO ATIKUE, 2007).

Entretanto, apesar dos avanços tecnológicos, a disfunção pulmonar no pós-operatório de cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea continua sendo uma das mais importantes causas de morbidade e mortalidade. (CONTI, 2001)

A insuficiência renal, discrasias sanguíneas graves, acidose metabólica, estado de choque prolongado e depressão da função do ventrículo esquerdo decorrentes de cirurgia com CEC têm sido associadas a resposta inflamatória e o estresse oxidativo sistêmico (BRIX-CHRISTENSEN, 2001).

2.2 ISQUEMIA E REPERFUSÃO MIOCÁRDICA

A lesão de reperfusão é um termo usado para descrever as alterações, funcionais e estruturais, que ocorrem após o restabelecimento do fluxo sanguíneo após um período de isquemia.

Segundo Martins *et al*., (2011), a injúria de isquemia e reperfusão constitui um mecanismo fisiopatológico frequente e de difícil controle durante a cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea, sendo o momento crítico o término da cirurgia, quando ocorre o desclampeamento da aorta e a liberação dos radicais hiperóxidos causadores da injúria.

Além das condições hemodinâmicas não fisiológicas durante a CEC, as alterações decorrentes do fenômeno isquemia-reperfusão do miocárdio são bastante significativas. A isquemia induz um decréscimo na produção dos fosfatos de alta energia, como a adenosina trifosfato (ATP) e fosfocreatina. Já, no período de reperfusão quando a circulação é restaurada ocorre produção de grande quantidade de radicais livres e ativação dos neutrófilos, como demonstra a Fig 3. (BARBOSA *et.al*., 2006)

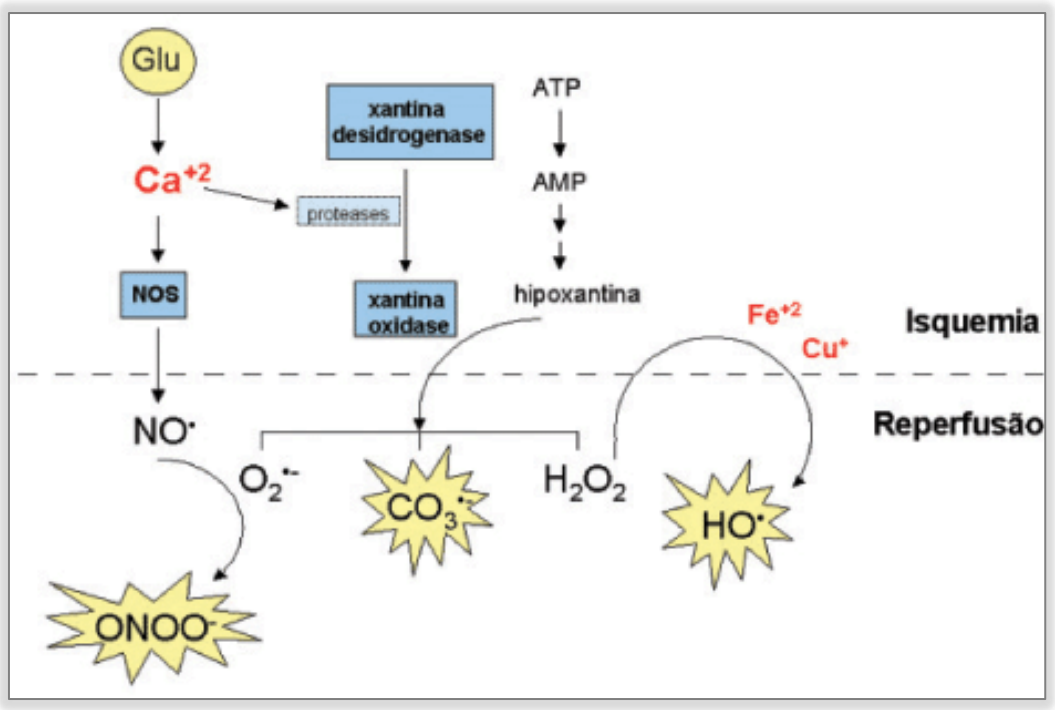

Figura 3. Mecanismo para formação de espécies reativas durante o processo de isquemia-reperfusão. Fonte: Adaptação (Barbosa *et al*., 2006)

A lesão isquemia-reperfusão pode levar à disfunção miocárdica com síndrome de baixo débito cardíaco, onde vários fatores podem estar envolvidos, incluindo lesões de miócitos por espécies reativas de oxigênio (ERO). (CARMONA *et al*., 2008)

Esses radicais livres são responsáveis por considerável lesão celular, tanto estrutural quanto funcional, envolvendo danos à membrana lipídica, desnaturação de proteínas, inativação de enzimas e alterações do DNA. Assim, a injúria de reperfusão instalada está intimamente relacionada com o comprometimento da função cardíaca e com as complicações pós-operatórias (CHRISTEN *et al.,* 2005; KUNT *et al*., 2006).

Resultados de Bolli *et al*. (1989), demonstraram que 50% a 70% da disfunção miocárdica após a circulação extracorpórea foram devidos ao surgimento dos radicais livres, liberados durante os primeiros minutos de reperfusão, fenômeno chamado de atordoamento miocárdico. Onde tanto a função sistólica quanto a diastólica estão deprimidas. Podendo levar horas ou dias para a restauração completa da função miocárdica.

2.3 RADICAIS LIVRES

Radicais livres são compostos que contém oxigênio e apresentam um elétron não pareado na sua órbita externa, altamente reativos, são capazes de colidir com outras moléculas, retirando elétrons destas substâncias e modificando suas estruturas. Estas moléculas e os radicais livres são frequentemente classificadas como espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON). (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007)

A produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERON), entre outras espécies reativas, é parte integrante do metabolismo humano e observada em diversas condições fisiológicas. ERON apresenta importante função biológica, como na fagocitose, onde estas espécies são produzidas para eliminar o agente agressor. Entretanto, quando sua produção é exacerbada, o organismo dispõe de um eficiente sistema antioxidante que consegue restabelecer o equilíbrio. (SCHAFER, BUETTNER, 2001)

Os radicais livres mais importantes dos sistemas biológicos são os derivados do oxigênio. Onde a redução do oxigênio se dá pelo recebimento de um único elétron que produzirá o ânion superóxido ($O_2 + e^- \longrightarrow O_2^{\bullet -}$). (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990).

Como demonstra a Fig 4, nos sistemas biológicos duas moléculas de superóxido podem reagir com o próton H^+ para formar o peróxido de hidrogênio e oxigênio livre. Neste processo, dois radicais livres reagem, um atuando como oxidante e o outro como redutor, formando produtos não radicais, numa reação conhecida como dismutação. ($2\ O_2^{-\bullet} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$). (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 1990).

Localizado na categoria de espécies reativas de oxigênio, não apresenta elétrons desemparelhado na sua última camada, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), atua como um agente oxidante e representa a principal fonte para a formação do radical hidroxila ($OH^{\bullet}$) na presença de metais de transição (cobre, ferro, manganês, cromo e outros), causando modificações oxidativas dentro da célula. (CLARK *et al*., 2010)

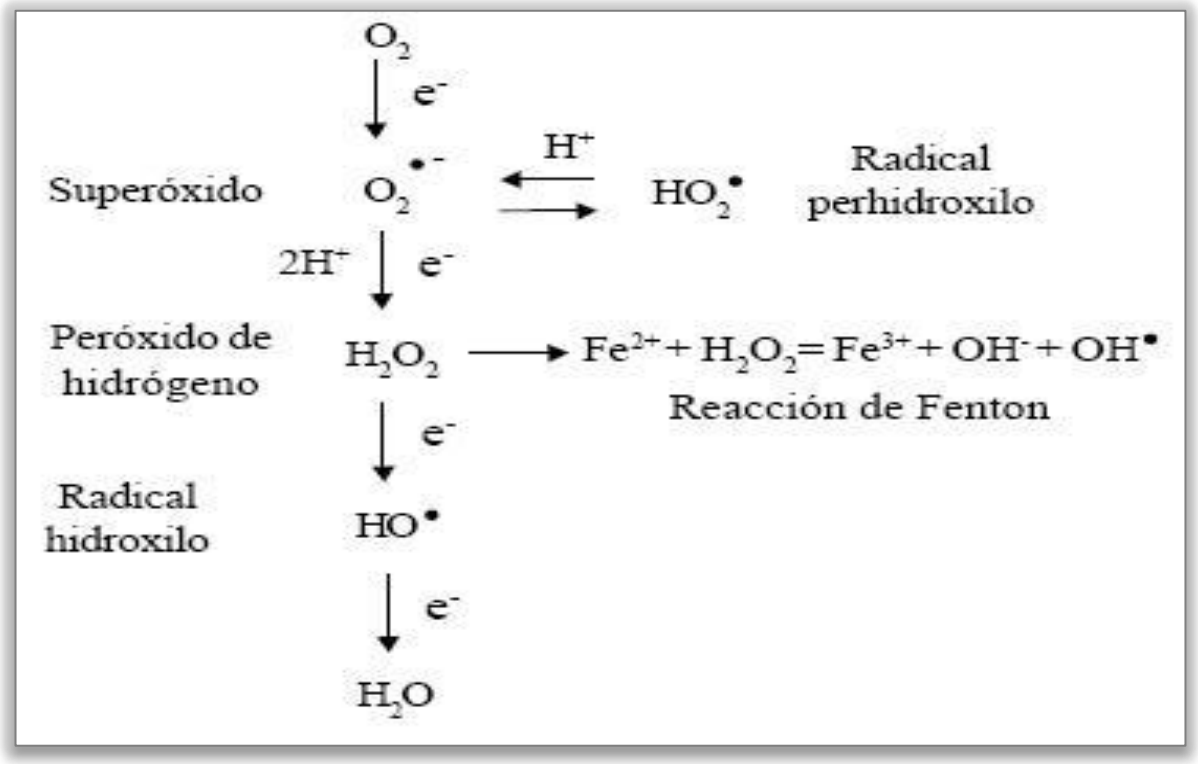

Figura 4. Química das espécies reativas de oxigênio. Fonte: Adaptação (Desikan *et al.,* 2005).

Pelo metabolismo celular aeróbico, em condições fisiológicas, o transporte mitocondrial de elétrons reduz 95% do oxigênio à agua, não gerando nenhum intermediário. Entretanto, os 5% remanescentes são reduzidos e transformados em radicais livres. Os organismos aeróbicos só toleram o oxigênio devido às defesas antioxidantes que se desenvolvem paralelamente aos aeróbicos multicelulares. Apesar do oxigênio ser tóxico, ele é necessário na cadeia transportadora de elétrons e sistemas enzimáticos celulares. (DROGE, 2002)

A redução da molécula de oxigênio a água é a maior fonte de radicais potentes. O oxigênio sofre uma redução tetravalente, com aceitação de quatro elétrons, resultando na formação de H_2O. Este processo ocorre na mitocôndria, que é a maior fonte intracelular de ERONs e é particularmente, vulnerável ao estresse oxidativo, como demostra a Fig 5. (WU, 2013)

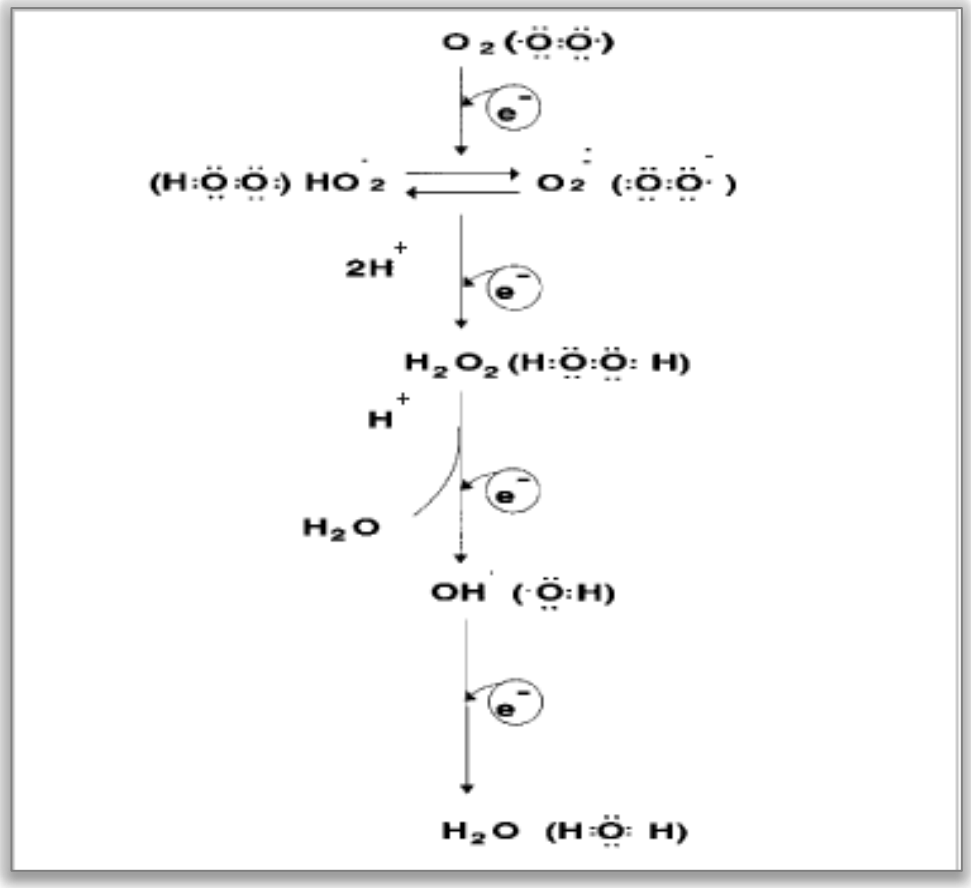

Figura 5. Redução tetravalente do oxigênio (O_2) na mitocôndria até a formação de água (H_2O). Várias espécies reativas de o_2 são formadas no processo**.** Fonte: Adaptado de Cohen MV.

Os radicais livres possuem diferentes papéis no organismo e está envolvido na produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intracelular e síntese de substâncias biológicas importantes. Entretanto, seu excesso apresenta efeitos deletérios tais como, danos ao DNA, proteínas e organelas celulares, como mitocôndrias e membranas, provocando alterações na estrutura e funções celulares, assim, se encontram envolvidos em patologias como o câncer, envelhecimento precoce, doenças cardiovasculares, degenerativas, entre outras. (HALLIWELL, GUTTERIDGE, CROSS, 1992 *apud* ALVES *et al.,* 2010, p. 2202-2210)

Estudos demonstraram que a geração desses radicais livres é máxima com 3 a 5 minutos de reperfusão e com duração até 3h (KIN *et al.,* 2004; ZHAO Z-Q *et al.,* 2003), contribuindo para a depressão miocárdica.

Como os radicais livres são elementos muito reativos, podem atacar qualquer componente celular, entretanto, existem dois componentes chaves, as

proteínas e os lipídeos, resultando na desnaturação da proteína, inativação enzimática e peroxidação dos ácidos graxos poli-insaturados que constituem parte das membranas celulares. (GIORDANO, 2005)

As espécies reativas de oxigênio resultam em danos às proteínas, lipídios, DNA e resultados sequentes, necrose celular, apoptose e inflamação induzida pela ativação de respostas imunes inatas e adaptativas (COLLARD, GELMAN, 2001). As vias de NF-kB (fator de transcrição) aumentam a expressão de genes de moléculas de adesão, citocinas e quimiocinas, de modo que existe uma liberação aumentada dessas moléculas no tecido (ELENKOV *et al*., 2005). Quantidades aumentadas de neutrófilos, monócitos e células T da periferia migram para a zona isquêmica causando lesão tecidual e sendo outra fonte potencial de ERO. (VENARDOS, PERKINS, HEADRICK, 2007)

2.4 ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo resulta do desequilíbrio entre o sistema pró e antioxidante, com predomínio dos oxidantes, com consequente dano. Quando o corpo produz antioxidantes insuficientes para combater os radicais livres, o organismo sofre ações degenerativas. (FINKEL, HOLBROOK, 2000)

De acordo com Thomas, (2003), o estresse oxidativo ocorre quando as defesas antioxidantes não estão completamente eficientes para combater a formação de espécies reativas de oxigênio, as quais causam lesões as proteínas, carboidratos, lipídios e ao DNA.

Alterações no balanço redox de sistemas biológicos podem causar o estresse oxidativo. A intensidade e a patogenicidade destes desequilíbrios dependem das concentrações locais de espécies pró e antioxidantes, das constantes de velocidade de reação com moléculas -alvo e da compartimentalização celular destes processos, em que fatores de solubilidade e difusibilidade são determinantes, assim que mostra a Figura 6. (GROW, ISCHIROPOULOS, 2001)

Como citado anteriormente, a circulação extracorpórea, necessária e parte fundamental da cirurgia cardíaca, pode por si só causar efeitos deletérios, danos difusos aos tecidos, resultando em disfunções dos rins, fígado, pulmão, cérebro, sistema vascular, entre outros órgãos.

Segundo Cantor *et al*., (2003) e reafirmado por Brueckl *et al.*, (2006), esta disfunção orgânica é multifatorial, desencadeada em parte pela resposta inflamatória sistêmica à CEC, induzida pela exposição dos elementos sanguíneos ao traumatismo mecânico e não fisiológicos, pela ativação dos neutrófilos e a alta tensão de oxigênio, resultando na produção de radicais livres responsáveis pelo estresse oxidativo.

A cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea provoca uma resposta inflamatória sistêmica e está sempre relacionada ao início de um período variável de isquemia e após reperfusão. O impacto do estresse oxidativo na ocorrência de disfunção multiórgãos após a cirurgia e sua contribuição para o aumento da mortalidade perioperatória foi descrito por STOPPE *et al*., (2011).

Os marcadores de balanço redox no estresse oxidativo, refletem o dano causado pelos ERON sobre o sistema biológico e a deficiência da defesa antioxidante. O sangue humano é uma excelente fonte de marcadores *in vivo* de estresse oxidativo, já que nele são transportados antioxidantes modificados pela ação dos ERON. (ANDERSON; ANDERSON, 2002; JACOBS, *et al*., 2005)

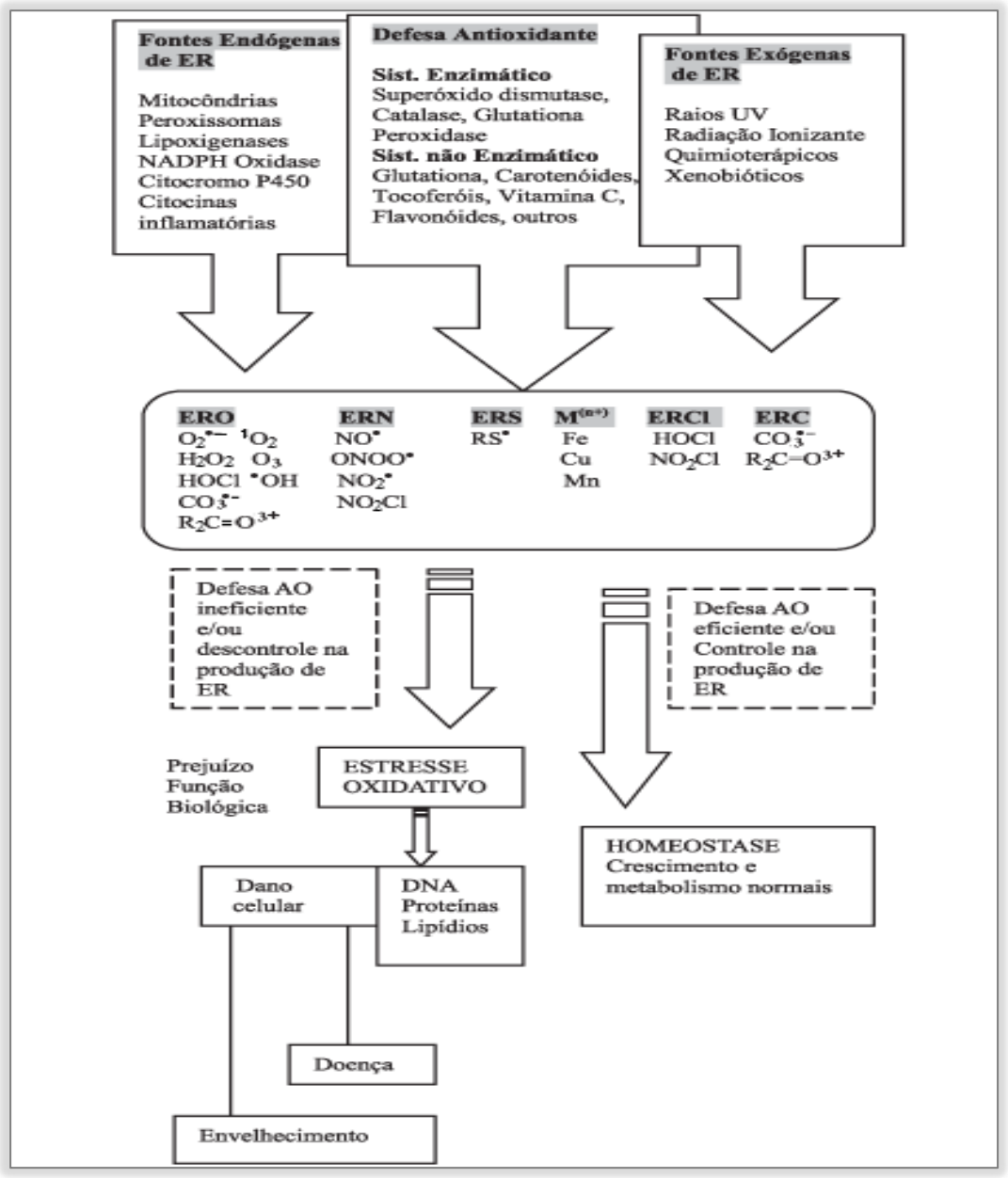

Figura 6. Fontes e respostas celulares às espécies reativas (ER) de oxigênio (ERO), de nitrogênio (ERN), derivados de enxofre (ERS), de cloro (ERCL), de carbono (ERC) e metais de transição [M^{n+})]. Fonte: Adaptado (FINKEL, HOLBROOK, 2000)

Existem diversas fontes exógenas de produção de ER. Os sistemas de defesa antioxidante enzimático e não enzimático, quando eficientes, mantêm a homeostase fisiológica e quando estão ineficientes, permitem a instalação do estresse oxidativo, representado pelo dano celular em macromoléculas como o dna, proteínas e lipídios, que se expressam clinicamente como envelhecimento ou doença. (FINKEL, HOLBROOK, 2000)

Segundo Calza *et al*., (2002), crianças com doença cardíaca congênita podem ser mais suscetíveis ao estresse oxidativo. Uma vez que as espécies reativas de oxigênio desempenham importante papel na lesão por reperfusão da isquemia e no atordoamento miocárdico em crianças pós- CEC.

2.5 PEROXIDAÇÃO LIPÍDICA

Definida como um processo complexo, amplo, de deterioração oxidativa dos ácidos graxos poli-insaturados. A peroxidação lipídica é um dos índices mais comumente relatados de estresse oxidativo e tem sido relacionada a uma série de doenças degenerativas, incluindo diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras. Esse processo resulta em vários produtos finais e intermediários, tais como aldeídos, hidroperóxidos lipídicos e malondialdeído**.** (STAHL, 2000; TSALUCHIDU, *et al*., 2008; ADLY, 2010)

A peroxidação lipídica é causada pelo ataque de espécies reativas (ER) (normalmente o $^{\bullet}OH$), que abstrai um átomo de hidrogênio ($H^{\bullet}$) de um grupo metileno alítico, geralmente, de um ácido graxo poli-insaturado, deixando um elétron desemparelhado no carbono, caracterizando a etapa de iniciação. Este radical é usualmente estabilizado por rearranjo molecular, formando um dieno conjugado. Nos sistemas biológicos, a peroxidação lipídica pode ocorrer por via enzimática (ciclooxigenases e peroxidases) e não enzimática (auto-oxidação) cujo mecanismo envolve ERO, metais e outros radicais livres. (BARREIROS, DAVID, DAVID, 2006)

Todas as modificações oxidativas causam mudanças nas propriedades físicas e químicas das membranas, alternando sua fluidez e permeabilidade, com expansão do liquido intracelular e risco de ruptura das membranas da célula e das organelas, com consequente morte celular. Reações envolvendo os vários intermediários entre si levam a novos produtos, como por exemplo, malondialdeído (MDA) reage com o grupo amina de purinas. (VASCONCELOS *et al*, 2007)

O malondialdeído (MDA) é um produto secundário da peroxidação lipídica, deriva da β – ruptura de endociclização de ácidos graxos poli-insaturados com mais de duas ligações. Atualmente, o MDA é considerado um candidato

em potencial como marcador de dano oxidativo no plasma. (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007)

O MDA é um aldeído de cadeia curta que faz parte das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e forma um cromógeno de cor rosa fluorescente, cuja absorção ocorre em λ de 532 nm e fluorescência em 553 nm, demostrado na Fig 7. (THÉROND *et al*., 2000; FACHERIS *et al*., 2007)

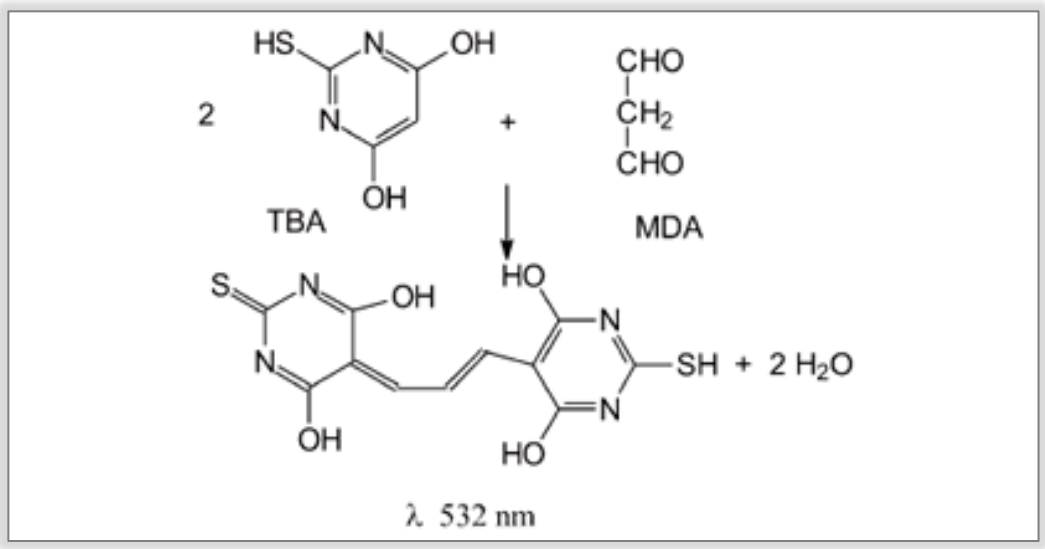

FIGURA 7. Reação utilizada para detecção de malondialdeído (MDA) em plasma humano. Ácido tiobarbitúrico (TBA) é adicionado ao plasma que reage com MDA. Fonte: Adaptado (THÉROND, *et al*., 2000)

Em um estudo transversal, realizado com 111 crianças saudáveis entre 20 a 36 meses, Low (2015), observou que os valores médios de MDA foram mais elevados entre as crianças com idade menor que 24 meses – 1370 nmol, do que as com mais de 24 meses – 920 nmol.

Antunes *et al*., (2008), realizou um estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia liquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina, em 38 indivíduos com idades entre 20 e 40 anos, sem doença crônica, não fumantes, não praticantes de exercícios físicos intensos, não usuários de medicamentos incluindo suplementos vitamínicos. Os valores encontrados foram 3240 nmol para mulheres e 3470 para homens.

Os valores de referência do malondialdeído (MDA) no plasma variam de 1000 a 3000 nmol, entretanto não existem valores universalmente acei-

tos/adotados, pois os métodos de análise e quantificação estão em processo de desenvolvimento e aperfeiçoamento. (HALLIWELL, GUTTERIDGE, 2007)

Outros estudos apresentam variedades de valores, de 216 a 1380 nmol, podendo ser explicada devido a diferenças no processo de hidrólise, já que grande parte do MDA se encontra ligado a proteínas plasmáticas, além dos métodos utilizados para a determinação e de fatores étnicos, culturais e os hábitos alimentares da população estudada. (PILZ, MEINEKE, GLEITER, 2000; SIM *et al*., 2003; MATEOS *et al*., 2005)

2.6 ANTIOXIDANTES

Antioxidantes são substâncias que retardam a velocidade da oxidação através da inibição de radicais livres e complexação de metais. São substâncias capazes de reduzir os efeitos adversos produzidos pelas espécies reativas de oxigênio. (AMAYA – FARFAN *et al*., 2001)

Segundo Valko *et al*., (2005), o organismo dispõe de um eficiente sistema de defesa, composto por antioxidantes enzimáticos e não enzimáticos, os quais agem sobre as espécies reativas, evitando o dano celular.

De acordo com Vasconcelos *et al*., (2007) e como observado na Fig 8 a seguir, os antioxidantes enzimáticos são compostos pelas enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e glutationa peroxidase (GPx – necessita de selênio). Os radicais livres neutralizados por essas enzimas são o superóxido, oxigênio singlet, radical hidroxila, peróxido lipídico, óxido nítrico e óxido nitroso.

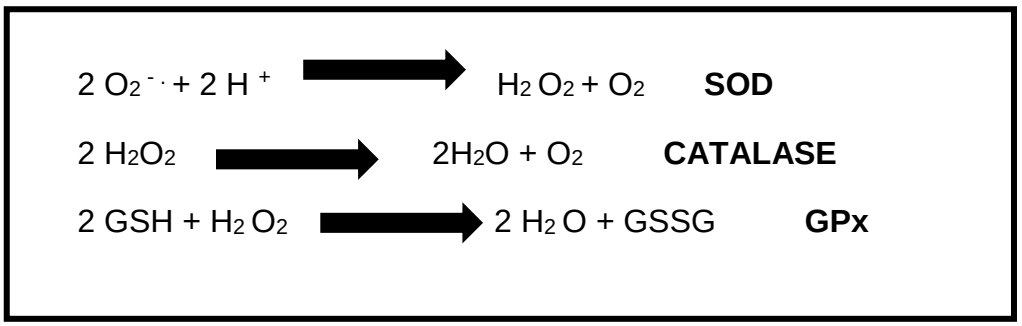

Figura 8 - Antioxidantes enzimáticos. Fonte: elaborado pela autora

As principais formas de superóxido dismutase em humanos são a cobre-zinco/SOD, presente principalmente no citosol, além de lisossomo, núcleo

e espaço entre as membranas interna e externa da mitocôndria e a manganês//SOD (Mn/SOD) na mitocôndria. A catalase é responsável pela desintoxicação celular e pela oxidação de ácidos graxos de cadeia longa, fonte inesgotável de peróxidos orgânicos, produtos carbonílicos e oxigênio singlet, encontrada nas mitocôndrias e tecido cardíaco. A glutationa peroxidase (GPx) reduz H_2O_2 e outros peróxidos a água ou álcool. Integra o grupo de selenioproteínas, tem seu sítio ativo, o selênio (Se), obtido da dieta ligado à metionina, em alimentos de origem vegetal (selenometionina), ligado à cisteína, em alimentos de origem animal (selenocisteína). (Fig 9). (AMAYA -FARFAN *et al*., 2001)

A GPx desempenha um papel crucial na proteção dos tecidos contra o estresse oxidativo por meio da catalisação da redução de uma variedade de hidroperóxidos, sendo também capaz de neutralizar ERON, de modo que o aumento da atividade GPx-1 (clássica, a mais abundante, presente no citosol das células) pode reduzir o risco de eventos cardiovasculares. (KLOTZ *et al*., 2003)

Segundo estudo realizado por Luyten *et al.,* (2005), em pacientes submetidos à cirurgia das coronárias com CEC, a atividade das enzimas glutationa peroxidase e a superóxido dismutase aumentou significativamente durante a CEC combatendo as espécies reativas de oxigênio.

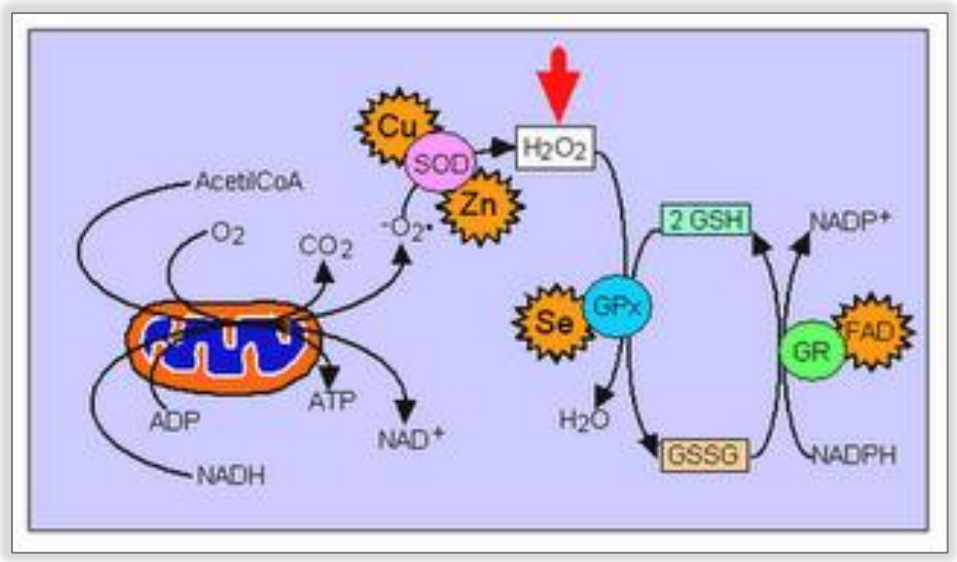

Figura 9. Esquema referente ao sistema antioxidante enzimático. Fonte: elaborado pela autora

O sistema não enzimático é formado por muitas substâncias, destacando-se a glutationa (GSH), principal composto antioxidante intracelular, α-

tocoferóis (vitamina E), ascórbico, ácido-úrico e β-caroteno, além de proteínas de transporte de metais de transição como a transferrina (transporte de ferro) e ceruloplasmina (transporte do cobre e oxidação do ferro para ser captado pela transferrina), demostrado no Quadro 1. (HALLIWELL, GUTERRIDGE, 2007)

As defesas não-enzimáticas são consideradas substâncias essenciais, quimicamente consumidas durante o processo, obtidas de fontes exógenas e não sintetizadas pelas células na ausência de moléculas precursoras. São elas: vitaminas A (retinol e carotenoides), C (ácido ascórbico) e E (tocoferol), zinco, selênio e cobre. (MILLER, 2004; BERGER, 2005).

A GSH reduz ligações dissulfetos induzidas pelo estresse oxidativo, neutralizando radicais livres; portanto sua concentração intracelular é um indicador da capacidade da célula em manter sua homeostase através da neutralização dos oxidantes. (SCHOTT *et al.,* 2007)

A vitamina E (alfa-tocoferol) é o maior antioxidante lipossolúvel nas membranas celulares, atua na proteção contra a lipoperoxidação garças a sua reatividade com os radicais peroxil. A vitamina A tem como principal percursor o betacaroteno e tem como funções diminuir a formação de oxigênio singlet e ajudar na remoção dos já formados. (REITER, MAESTRONI, 1999).

A vitamina C (ácido ascórbico) atua na microcirculação, renovando a função endotelial, prevenindo a formação de óxido nítrico no processo infeccioso, com a neutralização do radical livre de hidroxila e proteção do organismo contra a peroxidação lipídica. (WEITEZEL *et al*., 2009).

Quadro 1 – Espécies reativas de oxigênio e seus antioxidantes, respectivamente.

ERO	ANTIOXIDANTES	
	ENDÓGENOS	EXÓGENOS
SUPERÓXIDO	Superóxido dismutase	Vitaminas, zinco, cobre, manganês, EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético)
PERÓXIDO LIPÍDICO	Glutationa peroxidase, cisteína	Vitamina E, selênio
RADICAL HIDROXILA		Vitamina C, dimetil sulfóxido, EDTA e manitol
OXIGENIO SINGLET		Betacaroteno
PERÓXIDO DE HIDROGÊNIO	Catalase	

Fonte: elaborado pela autora

2.7 SELÊNIO

O selênio é um elemento químico pertencente a família 6A da classificação periódica ou família dos calcogênios, possui número atômico 34, massa atômica 78,96 u, ponto de fusão 220 °C e ponto de ebulição de 685 °C. Seu estado de oxidação varia de - 2, + 4 e + 6, em virtude de sua configuração eletrônica, apresentando uma estrutura cristalina hexagonal (KOHRLE, 2013).

Apresenta características muito parecidas com as do enxofre, por apresentar estados de oxidação semelhantes. Em seus compostos podem formar selenetos (Se^{-2}), selenitos ($SeO3^{-2}$) e selenatos ($SeO4^{-2}$), e também o gás hidreto de selênio (SeH_2), considerado tóxico. Em 1929, no Estado de Dakota do Sul (EUA), foram identificados grãos de trigo, cevada e milho com altas concentrações de selênio, devido ao cultivo em solos seleníferos. Posteriormente em 1933, os estudos sugeriam ser o elemento selênio, o responsável pelos efeitos deletérios em células nervosas e tecidos, causando náusea, vômito, queda de cabelo e unhas, erupção cutânea e lesões nervosas, quando em grandes concentrações, sendo estes dados confirmados nos anos seguintes (CASSAGO, 2010).

No Brasil, em estudo realizado por Cozzolino, (2007) em Macapá, onde a farinha de castanha-do-brasil é utilizada na merenda escolar, foi observado

que todos os parâmetros bioquímicos analisados em crianças estavam muito acima dos valores de referência, indicando a necessidade de cuidado quanto aos possíveis efeitos adversos. Portanto foi recomendado à prefeitura de Macapá a redução da quantidade da farinha nas refeições.

Na natureza há duas formas de selênio, a orgânica e a inorgânica. Os vegetais absorvem o selênio em sua forma inorgânica pelo solo, a qual é convertida para a forma orgânica, o que gera compostos metilados de baixo peso molecular, além de selenometionina e selenocisteína. A selenometionina é a principal fonte de compostos de selênio presente em produtos vegetais como grãos, legumes e leguminosas. É ainda, o principal percursor para a síntese de selenocisteína, a forma mais abundante em produtos de origem animal. Existe também a selênio-metilselenocisteina. (COMINETTI, DUARTE, COZZOLINO, 2017).

Já as formas inorgânicas de selênio são o selenito (SeO_3^{2-}) e o selenato (SeO_4^{2-}), encontrados em suplementos, pois nos alimentos a concentração é muito baixa. As diferentes formas do mineral são responsáveis por sua biodisponibilidade e distribuição tecidual. (COMINETTI, DUARTE, COZZOLINO, 2017).

As taxas de absorção da selenometionina e do selenito são de aproximadamente 84% e 98%, com doses de 200µg, respectivamente (PAPP *et al*., 2007). A selenometionina é absorvida no intestino delgado, entrando nas células epiteliais por um processo de transporte ativo secundário acoplado ao sódio e, por difusão facilitada, entra na corrente sanguínea. No sangue, o selênio se liga a grupos sulfidrilos, enzimas α e β- globulinas e lipoproteínas de baixa densidade. É transportado pela circulação portal para o fígado, onde uma fração é extraída pelos hepatócitos e incorporada a L- metionina até sofrer metabolização por transsulfuração e o restante é transportada pela circulação sanguínea para os vários tecidos do organismo, seguindo a mesma via descrita para o selenito. (BRITO, 2007).

De acordo com Gropper, Smith e Groff, (2009), as vitaminas E, C e as do complexo B funcionam como fatores de intensificação da absorção deste mineral, assim como a glutationa peroxidase. Metais pesados como o mercúrio, inibem a absorção deste mineral por quelação e precipitação. Os tecidos que contêm quantidades altas de Se incluem a glândula tireóide, rins, fígado, cora-

ção, pâncreas e músculo. Os pulmões, cérebro, ossos e glóbulos vermelhos contêm menores quantidades desse mineral.

A principal forma de excreção do selênio é urinária, quando a ingestão alimentar é adequada. Quando a ingestão é muito elevada, ocorre excreção através dos pulmões no ar expirado, na forma de dimetilselenito volátil, responsável pelo odor semelhante a alho na respiração. (REILLY, 1996; FRANCESCONI, PANNIER, 2004).

O selênio foi incorporado na forma de selenocisteína no sítio ativo de diversas proteínas. No proteoma humano já foram identificadas 25 selenoproteínas, as quais são organizadas em grupos distintos, de acordo com a localização e as propriedades funcionais da selenocisteína. (COMINETTI, DUARTE, COZZOLINO, 2017).

As principais funções atribuídas ao selênio incluem a capacidade antioxidante, a participação na conversão do T4 (tiroxina) em T3 (tri-iodotironina), a proteção contra a ação nociva de metais pesados e xenobióticos, a redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis e o aumento da resistência do sistema imunológico, a ação neuroprotetora, a atuação na fertilidade e reprodução, bem como na estabilidade genômica (FERGUNSON *et al*., 2012; ROMAN, JITARU, BARBANTE, 2014; DONADIO *et al*., 2016).

O selênio (Se) é um oligoelemento essencial para os seres humanos, desempenha um papel fundamental na defesa antioxidante através da sua incorporação como cofator em selenoproteínas tais como glutationa peroxidase (GPx), tioredoxina redutases (TrxR) e iodotinona deiodinases (IDD). Essas selenoproteínas estão envolvidas em reações redox que desempenham um papel crucial no equilíbrio homeostático. (TAPIERO, TOWNSEND, TEW, 2003: ROSS *et al.*, 2012)

Grande parte das selenoproteínas apresenta função antioxidante. Entre os diferentes grupos, aquele das glutationa peroxidases (GPx) é o mais abundante e encontrado em todos os tecidos de mamíferos em que ocorrem processos oxidativos. Elas podem diminuir a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) por meio da redução do peróxido de hidrogênio (H2O2) e de hidroperóxidos lipídicos, com a utilização de uma molécula de glutationa reduzida (GSH) como cofator, o que contribui para a proteção das macromoléculas e biomembranas do organismo contra a oxidação.

O selênio é componente essencial das GPx e age de maneira sinérgica com o tocoferol na regulação da peroxidação lipídica. Atualmente, oito isoformas da família da GPx são conhecidas, mas apenas quatro são dependentes de selênio. A GPx1 é encontrada na maioria dos tecidos do organismo, principalmente no fígado, rim e glóbulos vermelhos do sangue. A GPx2 é encontrada principalmente no trato gastrointestinal e fígado. A GPx3 no plasma, rim e glândula tireóide, e GPx4, enzima específica do núcleo dos espermas (ALMONDES et al., 2010). Nos tecidos, a GSH-Px é encontrada principalmente no citosol da célula, em torno de 70 % e o restante na matriz mitocondrial.

A glutationa peroxidase clássica (GPx1), a mais abundante selenoproteína em mamíferos, foi a primeira a ser identificada e está presente no citosol das células, onde funciona como antioxidante, reduzindo H_2O_2 e hidroperóxidos orgânicos livres e transformando-os, respectivamente, em água e álcool. (LIU *et al*., 2000).

A baixa atividade da enzima glutationa em pacientes cronicamente doentes está associada com os baixos níveis de Se, onde há um aumento dos radicais livres, podendo contribuir para o dano cardiovascular e falência de múltiplos órgãos (ANGSTWURM e GAERTNER, 2006).

Como citado a cima, GPx e TrxR são enzimas antioxidantes dependentes de selenocisteína, e sua atividade é conhecida por depender da disponibilidade de selênio. Além disso, o selênio foi relatado para regular a expressão gênica dessas selenoproteínas como cofator e há algumas evidências de que a suplementação de selênio pode atenuar o estresse oxidativo e diminuir as complicações pós-operatórias após a cirurgia cardíaca. (LIU *et al*., 2000).

Muitos estudos experimentais demonstraram os efeitos protetores de Se durante o estresse oxidativo. Além disso, baixos níveis plasmáticos de Se estão associados a um aumento da mortalidade na presença de várias entidades, como câncer, inflamação, infarto do miocárdio ou doença cardiovascular, sepse e complicações após a cirurgia. (RAYMAN, 2000)

Pesquisas sugerem que a associação inversa entre concentrações sanguíneas de selênio e prevalência de doenças cardiovasculares seria observada em populações que ingerem baixas quantidades de selênio, mas não naquelas com altas ingestões. Concentrações séricas de selênio iguais ou inferio-

res a 55 µg/L são associadas ao risco aumentado de doenças cardiovasculares (ALISSA *et al*., 2003).

Um estudo de meta-análise que incluiu 16 estudos prospectivos observacionais e 16 ensaios clínicos randomizados (RCT), os autores observaram resultados diferentes para os estudos prospectivos, nos quais houve associação inversa entre o status de selênio e o risco de doenças cardiovasculares, enquanto nos RCT o efeito foi nulo. Estes resultados indicam a importância de considerar o status de selênio no início do estudo, a dose, a forma química do selênio suplementado e o desenho do estudo na interpretação dos resultados (ZHANG *et al*., 2016).

A ingestão muito baixa de selênio em humanos, pode resultar em duas enfermidades principais. A primeira é a doença de Keshan, uma cardiomiopatia que afeta crianças e mulheres jovens, encontrada principalmente na China, em regiões com solos pobres em selênio. A forma aguda é caracterizada por insuficiência súbita da função cardíaca e, na fase crônica, por hipertrofia de moderada a grave do coração, promovendo graus diferentes de insuficiência cardíaca. A segunda doença é Kashin-Beck, também decorrente de baixas concentrações de selênio no organismo, considerada uma osteoartrite endêmica que ocorre durante a pré-adolescência ou adolescência. Seu aspecto patológico mais marcante é a degeneração necrótica dos condrócitos que pode promover nanismo e deformação das articulações (BURK, LEVANDER, 2003).

As pessoas com alterações ou mau funcionamento do trato digestório podem apresentar deficiência de selênio. A má absorção ou o aumento das perdas intestinais podem produzir estados de deficiência marginal (NAVARRO-ALARCÓN, LÓPEZ-MARTÍNEZ, 2000). Outros grupos mais suscetíveis à deficiência são crianças e idosos.

As recomendações de ingestão de selênio são baseadas em dois estudos de intervenção: 1) na China, demonstrou-se que o nível máximo da atividade da glutationa peroxidase plasmática é atingido com ingestão de 41 µg/dia. Ajustando-se o peso corporal de homens americanos, esse valor foi determinado em 52 µg/dia; 2) na Nova Zelândia, sugeriu-se uma EAR (estimated average requirement/necessidade média estimada) próxima a 38 µg/dia. (IOM, 2000)

A média dos dois valores resultou no estabelecimento de uma EAR de 45 µg/dia para homens e mulheres com idades entre 19 e > 70 anos. O valor

da RDA (recommended dietary allowance/ingestão dietética recomendada) para o mesmo grupo de indivíduos foi calculado como 120% da EAR e arredondado para 55 µg/dia. Estes e os valores para os demais estágios de vida estão resumidos na Quadro 2.

Quadro 2 - Recomendações de ingestão de selênio em diferentes estágios de vida.

Estagio da vida	**AI*/EAR**	**RDA**	**UL**
	µg/dia	µg/dia	µg/dia
Recém-nascidos e crianças			
0 a 6 meses	15*	-	45
7 – 12 meses	20*	-	60
1-3 anos	17	20	90
4-8 anos	23	30	150
9-13 anos	35	40	280
Adolescentes			
14-18 anos (M)	45	55	400
14-18 anos (F)	45	55	400
Adultos			
19 - > 70 anos (M)	45	55	400
19 - > 70 anos (M)	45	55	400
Gestantes			
14-50 anos	49	60	400
Lactantes			
14 – 50 anos	59	70	400

Fonte: IOM, 2000. AI: ingestão adequada; EAR: necessidade média estimada; RDA: ingestão dietética recomendada; UL: limite máximo tolerado de ingestão diária.

O consumo dietético médio das populações de vários países é bastante variável. No Canadá e no Japão o consumo varia em torno de 150 µg, nos EUA 228,9 µg, no Reino Unido 60 µg, na Nova Zelândia 42,1 µg e no Egito 21 µg (DIPLOCK, 1987). No Brasil a concentração de selênio na dieta, relatada por Cozzolino (2007), é de 18 µg/dia em São Paulo e Mato Grosso, 95 µg/dia em Manaus e 52 µg/dia a 139 µg/dia em Santa Catarina, sendo a média no Brasil de 60 µg/dia.

Segundo Batista *et al.,*(2012), a população brasileira consome em média 8,8 µg/dia de selênio em produtos de origem animal. A média de consumo de carne bovina, e peixe, per capita, por ano, onde a concentração de Se nestes alimentos é alta, é de 16,9 e 4,6 kg respectivamente. A ingestão diária de Se a partir das carnes em geral deve corresponder aproximadamente 16 % do valor de referência para o consumo diário (55 µg), sendo o restante compreendido pelas verduras, frutas e cereais.

Alimentos de origem animal, como carnes bovinas, frango, peixes, ovos e produtos lácteos são considerados as principais fontes de selênio da dieta, juntamente com os cereais. Geralmente, alimentos de origem vegetal são pobres no mineral. (FAIRWEATHER-TAIT *et al*., 2011). A castanha-do-brasil, no entanto, é conhecida como um dos alimentos mais ricos em selênio, com concentração que variam de 29 a 115 µg/g de castanha. (BORTOLI, 2010; COMINETTI *et al*., 2011a).

A concentração de selênio nos alimentos depende do local onde foram cultivados, pois reflete o teor do mineral no solo, que, por sua vez, depende de fatores geoquímicos, como pH, natureza da rocha originária, pluviosidade e uso de fertilizantes. A presença do mineral tende a ser mais concentrada em solos de regiões secas, os quais geralmente são mais alcalinos. Já nas regiões mais úmidas, a lixiviação pelas águas das chuvas provoca a retirada de selênio do solo. Em solos ácidos mais arejados, o mineral costuma estar indisponível para a captação pelas plantas, por estar presente em forma de complexos de selenito insolúveis. Devido a essas diferenças, o selênio está presente nas mais diversas concentrações, havendo regiões abaixo de 0,1 µg/g a maiores que 1mg/g.(REILLY, 2006).

Em regiões do mundo, como Finlândia, Nova Zelândia, Dinamarca, costa leste dos Estados Unidos, região central da Sibéria e China, o conteúdo

de selênio no solo é extremamente baixo. Portanto, a concentração do mineral nesta população oscila de 41,7 µg/L, na Finlândia a 158,2 µg/L no Canadá. (SAFARALIZADEH et al., 2005). Em países europeus e asiáticos, os valores séricos do selênio são reduzidos. (FAIRWEATHER-TAIT *et al*., 2011; GAC *et al*., 2012).

Um estudo realizado no Brasil por Martens e Cozzolino, (2002), analisou a concentração de selênio em feijões cultivados em vários estados, constatando que o feijão do Ceará tinha 1,2 µg de Se/g, enquanto no feijão de São Paulo tinha apenas 0,016 µg de Se/g. Os estados de Goiás e Mato Grosso do Sul apresentaram valores baixos de selênio, estando entre os menores valores comparados aos demais estados. No mesmo contexto, Pimentel, (2012), avaliou a concentração do mineral em diferentes cortes de carne bovina de animais dos estados de São Paulo e Mato Grosso do Sul, encontrando quantidades significativamente maiores nos cortes de carne sul mato-grossense.

Em um estudo prospectivo, realizado por Zanoni *et al*., (2016), com 342 indivíduos adultos sadios, na cidade de Campo Grande Mato Grosso do Sul, às concentrações de selênio variaram entre 50,1 a 82,6 µg/L, não ocorrendo variação entre gênero, índice de massa corporal, raça, grupo sanguíneo e hematócrito.

Um estudo realizado com adultos saudáveis da América Latina realizado por Fonseca (2010), a concentração plasmática de selênio foi de 91,51 ± 18,78 µg/L. No Brasil, em estudo realizado no Rio de Janeiro por Da Cunha *et al*., (2013), foi demonstrado que a concentração de selênio variou de 56,5 a 94,5 µg/L com uma média de 73,2 µg/L.

Para Nunes *et al*., (2010), a média dos valores para a população do estudo nos Estados de São Paulo e Minas Gerais foi de 113 µg/L, em Goiás 95 µg/L, no Rio Grande do Sul 111,5 µg/L e no Estado do Pará de 188,5 µg/L, sendo o Pará o Estado de onde provém a castanha do Pará que é a principal fonte do mineral.

Segundo Da Silva *et a*l., (2013), em indivíduos residentes na região do Rio Tapajós/Amazonas, foi identificado uma média de concentração do mineral de 135 µg/L, mais alta que em outras regiões do pais, devido aos hábitos alimentares da população local, que inclui a castanha brasileira e peixes.

Portanto, baseado em pesquisas que avaliaram a concentração de selênio no plasma e no soro, estima-se que de meio a um bilhão de pessoas em todo mundo possam apresentar deficiência em selênio (YAN *et al*., 2010).

A população pediátrica apresenta maior risco quanto a deficiência de selênio. Devido às alterações nutricionais após o nascimento, as concentrações de selênio são esperadas para ser muito mais heterogêneas neste grupo do que em uma população adulta.

Os pacientes pediátricos quando submetidos à tratamento cirúrgico para correção das malformações cardíacas apresentam maiores complicações no pós-operatório do que os adultos. Stoppe *et al.,* (2011) demonstrou em seu estudo que a cirurgia cardíaca com uso de CEC resultou em uma importante redução intra-operatória dos níveis dos elementos traços antioxidantes, como o selênio, cobre e zinco. Também comprovou que as baixas taxas da dosagem de selênio no pós-operatório imediato foi fator preditor para o desenvolvimento de falência de múltiplos órgãos e aumento da taxa permanência hospitalar.

O zinco foi analisado em um estudo realizado por Zanoni, *et al*., (2007), com 21 crianças com cardiopatias congênitas acianóticas submetidas a cirurgia cardíaca com CEC, observando-se diminuição significativa três minutos após a remoção da pinça da aorta (do circuito da CEC) e 24 horas após a cirurgia.

Enfim, o que se constata, é uma grande variabilidade desses valores, que estão na dependência principalmente dos hábitos alimentares e da quantidade existente no solo de cultivo.

O selênio é um oligoelemento de grande interesse para a sociedade científica, uma vez que está envolvido em múltiplas etapas dos mecanismos de defesa antioxidante intracelulares.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a dinâmica da concentração plasmática de selênio e do estresse oxidativo na cirurgia cardíaca infantil com circulação extracorpórea

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Dosar as concentrações plasmáticas de selênio e do MDA no pré-operatório.
- Analisar a dinâmica das concentrações plasmáticas do selênio e do MDA durante a cirurgia.
- Relacionar as variações das concentrações do selênio e estresse oxidativo 24 horas após a cirurgia.
- Avaliar o estado nutricional dos pacientes.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi prospectivo e observacional, conduzido no Hospital Associação Beneficente de Campo Grande Santa Casa – MS, que é um centro de referência terciário em Cirurgia Cardíaca Infantil e no Laboratório de Metabolismo Mineral – FAMED, no período de abril a junho de 2017.

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul/ UFMS (Número do Parecer: 1.989.987), e os Termos de Consentimento Livre e Esclarecido e de Assentimento foram assinados por cada participante/responsável da pesquisa.

O consentimento expresso para a realização do estudo também foi concedido pela Gerência de Ensino, Pesquisa e Educação Permanente do Hospital Santa Casa e pela Coordenação de Gestão Acadêmica – COAC/FAMED.

Foram incluídos no estudo 15 crianças com idade entre 3 meses a 16 anos, com cardiopatias congênitas acianóticas, submetidos a cirurgia cardíaca eletiva com circulação extracorpórea.

Não participaram do estudo crianças portadoras de cardiopatia congênita cianótica ou as que necessitaram de cirurgia de urgência ou emergência; crianças com doença do metabolismo de selênio ou que necessitassem de suplementação, com patologias em outros órgãos ou sistemas, ou que apresentassem doenças crônicas, ou ainda, erro inato de metabolismo. Também não foram incluídas crianças indígenas.

Devido a pequena quantidade e volume das amostras, elas foram divididas em 3 grupos, sendo os pacientes identificados com a letra P seguido pelo número da ordem da coleta, como por exemplo, paciente 1 – P1 e assim, sucessivamente até o P15. Não foram levados em consideração o sexo e a idade dos pacientes na divisão dos grupos.

- O grupo 1 foi aquele onde se avaliou as concentrações de MDA e selênio.
- O grupo 2 foi aquele onde se avaliou apenas a concentração de selênio.
- O grupo 3 foi aquele onde se avaliou MDA.

Quadro 3 - Grupos de avaliação MDA e SELÊNIO.

MDA e SELÊNIO	SELÊNIO	MDA
P7	P1	P5
P8	P2	P6
P10	P3	P7
P11	P4	P8
P12	P7	P9
P13	P8	P10
P14	P10	P11
	P11	P12
	P12	P13
	P13	P14
	P14	P15

Fonte: elaborado pela autora

Os momentos e locais de coleta de sangue foram:

A1 - ato da indução anestésica – amostra coletada da artéria radial (a qual foi mantida cateterizada para monitorização hemodinâmica)

A2 – entre o 5º e 10º minuto de CEC – amostra coletada do oxigenador do circuito de CEC

A3 – após retirada do paciente de CEC, durante o fechamento do tórax – amostra coletada da artéria radial

A4 – 24 horas após a cirurgia – amostra coletada da artéria radial

Os momentos das coletas foram determinados com bases em estudos realizados com outros elementos químicos, como o zinco e o cobre, durante cirurgia cardíaca infantil, por Zanoni (2008). Os locais foram escolhidos pela facilidade da coleta durante e após a cirurgia.

4.1 INDUÇÃO ANESTÉSICA

A anestesia foi induzida com citrato de fentanila (Fentanil ® Cristália), na dose de 3 µg/kg, midazolam (Dormonid®, Roche) na dose de 0,2 mg/kg, propofol (Propofol® Cristália), na dose de 0,5 mg/kg e oxigênio inalatório a 100%. A anestesia foi mantida com infusão contínua de propofol 1,2 µg/kg/minuto e cloridrato de anfentanila (Anfenta®, Cristália), na dose de 0,5 µg/kg/minuto. Nos casos de hipertensão pulmonar o propofol foi substituído por bomba de cetamina, 30 µg/kg/minuto e fentanil, 0,05 µg/kg/minuto. O relaxamento muscular foi realizado com brometo de pancurônio (Pancuron®, Cristália), na dose de 0,1 mg/kg e repetido no início da circulação extracorpórea, na dose de 0,05 mg/kg. Nos casos que apresentaram hipertensão arterial o gás isoflurane (Isoforine®, Cristália) foi introduzido por via inalatória, na concentração alveolar mínima de 0,5 a 1%.

4.2 CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA

O circuito de circulação extracorpórea infantil consistiu de uma bomba de rolete (Sorin), circuitos, reservatórios de sangue venoso e oxigenador de membrana capilar (Lilliput 901 – Dideco). O circuito foi preenchido com uma mistura de concentrado de hemácias, plasma ou solução de Ringer lactato (Biosintética®) no volume de 600 ml, para crianças com peso até 20 kg e 1200 ml para crianças entre 20 a 40 kg.

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

Todos os pacientes foram submetidos à hipotermia moderada, até 26ºC e de hemodiluição moderada com hematócrito entre 20 e 30.

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

4.3 PREPARO DE AMOSTRAS

4.3.1 DOSAGEM DE MDA PELO MÉTODO TBARS

Todos os materiais de plástico ou de vidro utilizados no estudo ficaram previamente imersos por um período mínimo de 24 horas em solução de Extran (Merck) a 5%, enxaguados abundantemente em agua 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 MILI-Q (resistência 18,2 Mw/cm) e secados em estufa a 40ºC.

As amostras de sangue foram coletadas em seringas de polipropileno. O material foi imediatamente transferido para tubos a vácuo para coleta de elementos traço (BD Vacutainer Systems, Preanalytical Solutions® - Becton, Dickinson and Company), e centrifugado durante 15 minutos com força relativa de centrifugação de 3500 rpm durante 10 minutos. Os plasmas foram distribuídos em tubos Eppendorfs de polipropileno e congelados a -18ºC.

Para a quantificação de MDA, as amostras descongeladas foram adicionadas em tubos de centrifugação Kasvi de 25 ml. Uma solução de cloreto de potássio foi dissolvida por completo em placa agitadora magnética do tipo Vortex. Para a preparação do tampão fosfato 75Mm (pH 2,5) utilizou-se um pHmetro, NUPESC; e balança analítica, além de água purificada por um sistema MILI-Q e armazenados em frascos âmbar. Os reagentes utilizados foram ácido

tiobarbitúrico 0,8% (SIGMA®) e solução padrão MDA (1,1,3,3, Tetrametoxipropano 20Mm (10 Nm para cada 0,5ml), (SIGMA®).

As concentrações plasmáticas de MDA foram medidas pelo método TBARS, sendo o dano celular avaliado pela peroxidação lipídica, baseado no trabalho de Percário et al., (2004). O volume de 1 ml do TBA (10 nM/l) foi adicionado a 0,5 ml da amostra. Foi preparada uma solução padrão constituída de 1 ml do TBA (10 nM/l) e 0,5 ml de MDA (20 nM/l). Uma terceira solução contendo 1 ml de TBA (10nM/l) e 0,5 ml de água, serviu como branco da leitura do espectrofotômetro. As amostras foram aquecidas em banho Maria a 94ºC por 1 hora e posteriormente resfriadas em ar ambiente por 15 minutos. Para bloquear a reação foi adicionado 4 ml de álcool n- butílico em cada tubo. Os tubos foram agitados em Vortex para total extração do MDA para a fase orgânica do sistema, logo centrifugados a 2500 rpm por 10 minutos. Nesse momento, observa-se a separação das fases, e 200µL da fase orgânica (superficial) foi aspirada para leitura no espectrofotômetro da marca Thermo, modelo Multiskan GO.

A leitura foi realizada com comprimento de onda de 535 nm. O valor final de MDA em **ng/ml (ou nmol/ml),**é obtido pelo emprego da seguinte fórmula:

MDA = A média x F, onde A média + (A1 + A2)/2.

F = 4406,1 / A padrão MDA, onde A significa absorbância

Os valores de referência descritos na literatura para MDA variam de 200 a 3000 nmol.

4.4 CÁLCULO DAS CONCENTRAÇÕES PARA HEMODILUIÇÃO

As seguintes fórmulas para diluição de soluções foram utilizadas:

$$Volume\ inicial\ x\ Concentração\ inicial = Volume\ final\ x\ concentração\ final$$

$$Volemia\ final = hematócrito\ inicial\ x\ volemia\ inicial\ /\ hematócrito\ final$$

O cálculo da volemia foi realizado usando o hematócrito como marcador da hemodiluição, pela utilização da fórmula acima. Sendo a volemia inicial igual a 8% do peso. Uma vez calculada a nova situação volêmica do paciente após o início da circulação extracorpórea, foram então calculadas as concentrações de MDA e Selênio para os diversos momentos do estudo. (SOUZA, ELIAS, 2006).

4.5 ESTATÍSTICA

As comparações entre as concentrações de selênio, MDA e a razão Se / MDA com os momentos cirúrgicos foram feitas pela análise de variância ANOVA. Sendo *p*-valor > 0,05 rejeita-se a hipótese se médias iguais. Todas as médias foram comparadas com a amostra A1, condição inicial de controle. As concentrações iniciais e finais dos momentos A2 e A3 correspondentes ao período de hemodiluição foram analisados pelo teste não-paramétrico de Wilcoxon, se *p*> 0,05 não há diferença estatística significativa para as amostras. Os valores de MDA e selênio foram analisados utilizando-se o teste de correlação de Pearson.

4.6 PROCEDIMENTOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE SELÊNIO POR ICP OES

A espectrometria de emissão com plasma – ICP OES, trata-se de uma técnica analítica que quantifica macro e microelementos em diversos tipos de amostras. Um ICP OES Icap 6000 Thermo, foi utilizado para verificar a exatidão do procedimento. Todas as determinações de Se por ICP OES foram realizadas em vista axial de plasma, após a otimização de potência de rádio frequência, taxa de fluxo de gás de plasma, pressão do nebulizador e bomba de introdução de amostra, conforme Tabela 1.

TABELA 1 - Condições operacionais do ICP OES.

Condição do Plasma	
Potência de RF (W)	1150
Vazão da amostra (L min^{-1})	0,7
Vazão do gás do plasma (L min^{-1})	12
Tempo de integração (s)	5
Tempo de estabilização (s)	20
Pressão de nebulização (psi)	30
Modo de visão	Axial
Analito	Se 196.090 nm
Padrão interno	Y 224.306 nm

Fonte: elaborado pela autora

Figura de mérito

Para validação do procedimento de quantificação de selênio por ICP OES realizamos a figura de mérito conforme descrito nesta sessão. A Fig 10 demonstra a curva de calibração obtida para selênio pelo método de calibração por padrão interno, conforme condições operacionais demonstradas na Tabela 1. Faixa linear da curva obtida foi de 0 a 50 µg/ml, com R^2 de 0.9993, significando uma excelente linearidade típicas de ICPs. A partir disto realizamos os procedimentos para obtenção dos limites de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ), assim como, avaliação de possiveis interferencias espectrais para quantificação de selênio.

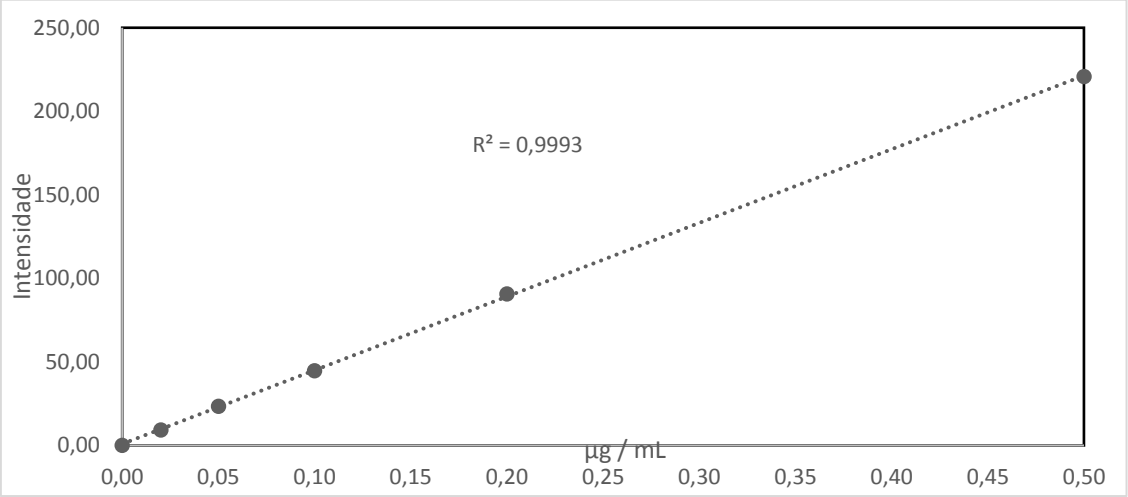

Figura 10. Curva de calibração para se 196.090 nm**.**
Fonte: elaborado pela autora

A tabela 2 demonstra os limites de detecção (LODs) calculados de acordo com as recomendações da IUPAC como 3 vezes o desvio-padrão do sinal em branco (SB) dividido pela inclinação da curva de calibração (m): LOD = 3*SB / m. Os limites de quantificação (LOQ) foram calculados da mesma maneira, com n = 15, LOQ = 10*SB / m

TABELA 2 - Parâmetros analíticos obtidos por ICP OES para quantificação de Se.

Equação da reta	I = 606,40C - 1,9797
Faixa linear (µg mL^{-1})	0,02 – 0,5
LOD (µg mL^{-1})	0,002
LOQ (µg mL^{-1})	0,006

Fonte: elaborado pela autora

Para comprovar a precisão do procedimento de quantificação por ICP OES, testes de adição e recuperação foram realizados para Se, com sucesso e apresentados na tabela 3.

TABELA 3 - Testes de adição e recuperação para se determinados por ICP OES com a presença de 0,50 µg ml^{-1} de possíveis interferências na linha de emissão de 196.090 nm. (todas as concentrações estão em µg ml^{-1} e n = 3)

Interferências adicionadas	Adic.	Quantificado	% RSD	% de Recup.
Al 196.085 nm	0,30	0,33	1,60	1,10
	0,20	0,19	0,66	0,95
Fe 196.123 nm	0,30	0,32	0,44	1,07
	0,30	0,18	1,10	0,90
Co 196.159 nm	0,30	0,33	0,91	1,10
	0,20	0,19	3,47	0,95

Fonte: elaborado pela autora

A fim de obtermos uma amostragem sem interferência de matriz e que não comprometesse os procedimentos de quantificação para selênio, todas as amostras de plasma foram submetidas a digestão assistida via micro-ondas.

Digestão assistida via micro-ondas

Para se obter uma análise efetiva, busca-se as melhores condições de digestão de amostras, com o intuito de reduzir interferências de matriz. Em se tratando de matriz biológica, a quantidade elevada de compostos orgânicos não digeridos podem se reorganizar formando organometálicos e causando interferências analíticas sérias.

A digestão de amostras via micro-ondas combinados com misturas oxidante de HNO_3 e H_2O_2 é uma alternativa para reduzir essas interferências. Este procedimento é uma opção rápida e viável pelo fato de possibilitar a recuperação de HNO_3 durante a etapa de aquecimento em frascos fechados. O aumento da pressão interna nos tubos, durante a rampa de aquecimento causa o aumento do ponto de ebulição da solução a ser digerida, consequentemente, acelera as reações químicas de digestão de compostos orgânicos. Este ciclo irá continuar enquanto houver O_2 (g) disponível no sistema. Por tanto, quanto maior a quantidade de oxigênio disponível, maior será a recuperação de HNO_3 e mais eficiente será a digestão. Neste caso a adição de H_2O_2 contribui para melhora na oxigenação do sistema.

Para a digestão das amostras de plasma, aproximadamente 0,500 µL foram submetidas a digestão assistida por micro-ondas, empregando 1,0 mL de HNO_3 concentrado, 1,0 mL de H_2O e 0,5 mL de H_2O_2 em um forno micro-ondas *Speedwave® four*, Berghof, equipado com rotor de 12 posições. Após a etapa de digestão os digeridos foram aferidos para 10 mL e seguidos para quantificação. O programa de aquecimento para digestão é descrito na tabela 4.

TABELA 4 - Programa de aquecimento usado para a digestão das amostras.

Etapa	Potência (%)	Temperatura (C)	Tempo (min)	Pressão (Bar)
1	80	160	5	30
2	90	190	10	30
3	0	50	10	25

Fonte: elaborado pela autora

Após a digestão as amostras foram encaminhadas para o procedimento de quantificação por ICP OES descrita na sessão anterior.

5. RESULTADOS

Neste estudo foram avaliados 15 pacientes com idade entre 3 e 192 meses, com idade média de 31,6±35,14 meses. Destes, 60% eram do sexo masculino e 40% do sexo feminino. O peso médio foi de 11,06±6,57, sendo que 67% dos pacientes apresentavam IMC adequado ou eutrófico. Os dados demográficos estão representados nas Fig.11 a 15. As anomalias cardíacas estão apresentadas na Tabela 5.

O estudo mediu as concentrações de MDA de cada paciente (P5 – P15) nos momentos (A1, A2, A3 e A4), sendo **A1** - ato da indução anestésica; **A2** – entre o 5º e 10º minuto de CEC; **A3** – após retirada do paciente de CEC, durante o fechamento do tórax e **A4** – 24 horas após a cirurgia. O momento A1 foi referência para os outros momentos, visto que o paciente estava sob efeito anestésico, o que poderia atenuar o estresse oxidativo.

A concentração plasmática do MDA no momento A1 variou de 60,27 a 84,16 μg/L $^{-1}$, média de 70,68±6,36 μg/L $^{-1}$; no momento A2 variou de 54,03 a 85,47 μg/L $^{-1}$, média de 67,49±9,66 μg/L $^{-1}$; após cálculo de hemodiluição, A2 variou de 40,73 a 87,91 μg/L $^{-1}$, média de 58,39±13,61 μg/L $^{-1}$; no A3 variou de 65,35 a 94,64 μg/L $^{-1}$, média de 75,65±7,88 μg/L $^{-1}$, após cálculo de hemodiluição variou de 52,03 a 103,33 μg/L $^{-1}$, média de 65,83±16,22 μg/L $^{-1}$ e no momento A4 variou de 59,48 a 79,18 μg/L $^{-1}$, média de 66,70±6,07 μg/L $^{-1}$. Na comparação entre os momentos A1, A2, A3 e A4 não houve diferença significativa entre eles (ANOVA $p > 0,05$). Já na comparação entre os momentos em relação a concentração plasmática de MDA esperada na hemodiluição (ANOVA $p>0,05$), houve diferença significativa entre os momentos A1 e A2 ($p = 0,0135$). Na comparação entre a concentração plasmática de MDA calculada e aquela esperada na hemodiluição, houve diferença significativa (teste de Wilcoxon $p>0,05$) no momento A2 ($p= 0,033$) e no momento A3 ($p= 0,041$) e comparando-se as concentrações esperadas na hemodiluição com os momentos A1 e A4 não houve diferença significativa. Estes dados estão representados na Figura 16 e Tabela 6, respectivamente.

A concentração plasmática do Se no momento A1 variou de 113,87 a 270,70 μg/L $^{-1}$, média de 186,11±50,63 μg/L $^{-1}$; no momento A2 variou de 87,98

a 196,41 µg/L $^{-1}$, média de 154,93±29,46 µg/L $^{-1}$; após cálculo de hemodiluição A2 variou de 65,17 a 161,52 µg/L $^{-1}$, média de 124,45±29,65 µg/L $^{-1}$; no A3 variou de 101,83 a 274,49 µg/L $^{-1}$, média de 185,51±50,47 µg/L $^{-1}$, após cálculo de hemodiluição A3 variou de 89,95 a 187,92 µg/L $^{-1}$, média de 146,64±35,59 µg/L $^{-1}$ e no momento A4 variou de 164,79 a 259,57 µg/L $^{-1}$, média de 204,01±26,35 µg/L $^{-1}$. Na comparação entre os momentos A1, A2, A3 e A4 não houve diferença significativa entre eles (ANOVA $p > 0,05$). Já na comparação entre os momentos em relação a concentração plasmática de selênio esperada na hemodiluição (ANOVA $p>0,05$), houve diferença significativa entre os momentos A1 e A2 ($p = 0,0027$). Na comparação entre a concentração plasmática de selênio calculada e aquela esperada na hemodiluição, houve diferença significativa (teste de Wilcoxon $p>0,05$) no momento A2 ($p= 0,004$) e no momento A3 ($p= 0,004$); comparando-se as concentrações esperadas na hemodiluição com os momentos A1 e A4 houve diferença significativa entre A2 - A4 ($p= 0,003$) e A3 - A4 ($p= 0,003$). Estes dados estão representados na Figura 17 e Tabela 7, respectivamente.

A concentração plasmática da razão de Se/MDA no momento A1 variou de 1,48 a 3,39 µg/L $^{-1}$, média de 2,09±0,71 µg/L $^{-1}$; no momento A2 variou de 1,56 a 3,05 µg/L $^{-1}$, média de 2,26±0,63 µg/L $^{-1}$; no momento A3 variou de 1,78 a 3,55 µg/L $^{-1}$, média de 2,61±0,67 µg/L $^{-1}$ e no momento A4 variou de 2,58 a 3,78 µg/L $^{-1}$, média de 3,24±0,36 µg/L $^{-1}$. Na comparação entre os momentos A1, A2, A3 e A4 não houve diferença significativa entre eles (ANOVA $p > 0,05$). Já na comparação entre os momentos em relação a concentração plasmática de selênio esperada na hemodiluição (ANOVA $p>0,05$), houve diferença significativa entre os momentos A1 e A4 ($p = 0,0221$). Estes dados estão representados na Figura 18 e Tabela 8, respectivamente.

Houve uma correlação linear forte entre a concentração plasmática de Se/MDA no momentos de mensuração, considerando-se a hemodiluição, sendo Se $p= 0,9965$ e MDA $p= - 0,9965$ (teste de correlação de Pearson). Os dados estão representados na Figura 19.

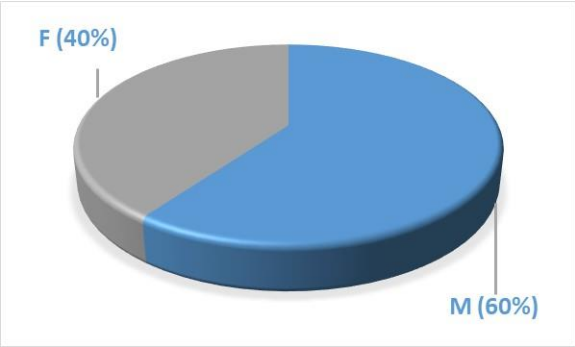

Figura 11. Percentual de pacientes do sexo masculino e feminino
Fonte: elaborado pela autora

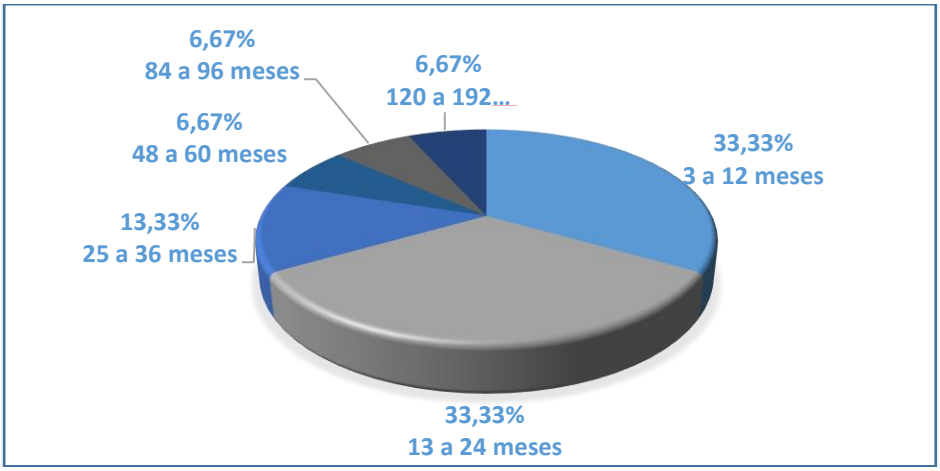

Figura 12. Percentual por idade dos pacientes avaliados
Fonte: elaborado pela autora

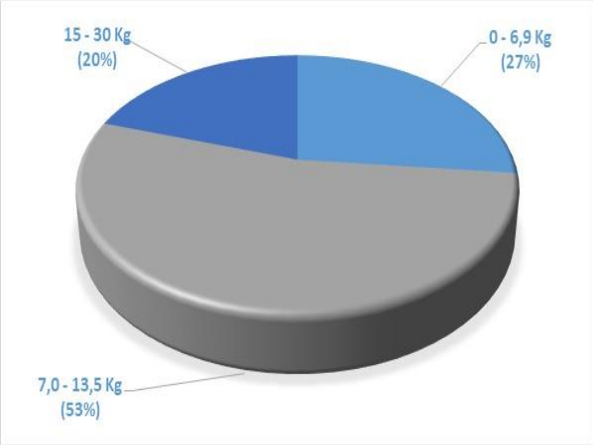

Figura 13. Percentual por peso dos pacientes avaliados.
Fonte: elaborado pela autora

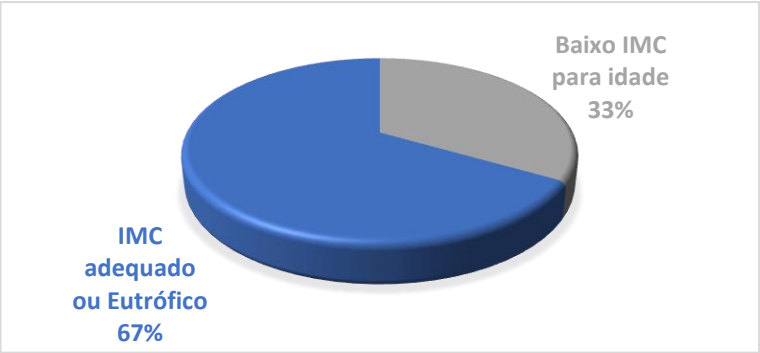

Figura 14. Percentual do estado nutricional dos pacientes
Fonte: elaborado pela autora

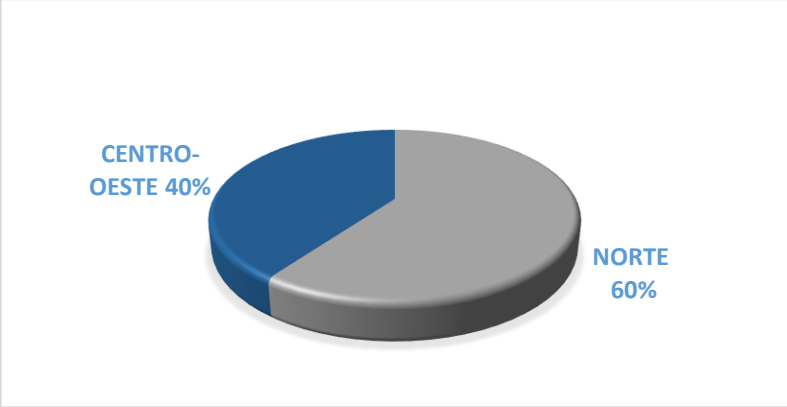

Figura 15 – Percentual da procedência dos pacientes
Fonte: elaborado pela autora

TABELA 5 - Anomalias cardíacas congênitas de 15 pacientes submetidos a cirurgia cardíaca com CEC.

Cardiopatia congênita	***Número***
Comunicação interatrial	7
Comunicação interventricular	6
Comunicação interatrial e Drenagem venosa anômala pulmonar	1
Comunicação interatrial e Hipertensão pulmonar	1

Fonte: elaborado pela autora

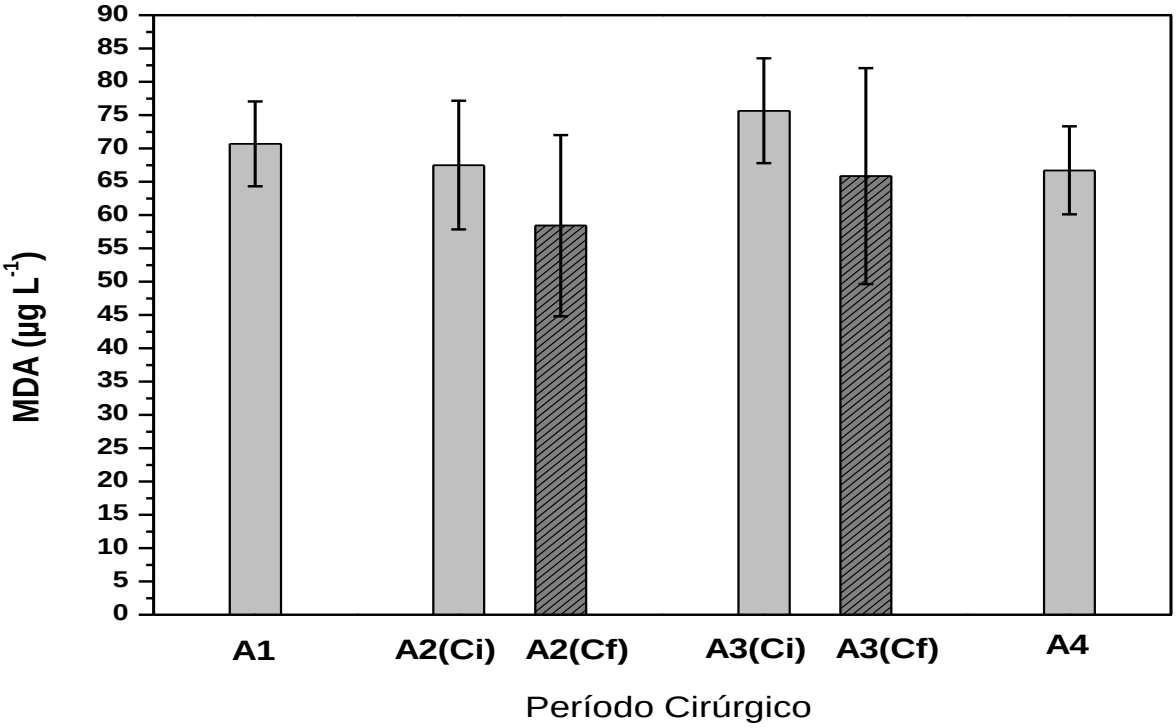

Figura 16. Avaliação do estresse oxidativo pela concentração média de MDA para os pacientes P5, P6, P7, P8, P9, P10, P11, P12, P13, P14, P15. Fonte: elaborado pela autora

TABELA 6 - Análise estatística de variância ANOVA com fator único e intervalo de confiança de 95%, para avaliação do estresse oxidativo por MDA.

	MDA (µg L^{-1})	***p****
A1	70,68 ±6,36	0,3711
A2 (Ci)	67,49 ±9,66	
A1	70,68 ±6,36	0,0135
A2 (Cf)	58,40 ±13,62	
A1	70,68 ±6,36	0,1195
A3 (Ci)	75,65 ±7,87	
A1	70,68 ±6,36	0,3678
A3 (Cf)	65,84 ±16,23	
A1	70,68 ±6,36	0,1484
A4	66,70 ±6,60	

Fonte: elaborado pela autora

**p*-valor para um teste de ANOVA de um único fator com α = 0,05. Análise estatística para concentração média de MDA para os pacientes P5, P6, P7, P8, P9, P10, P11, P12, P13, P14 e P15, considerando a hemodiluição para A2 e A3.

.

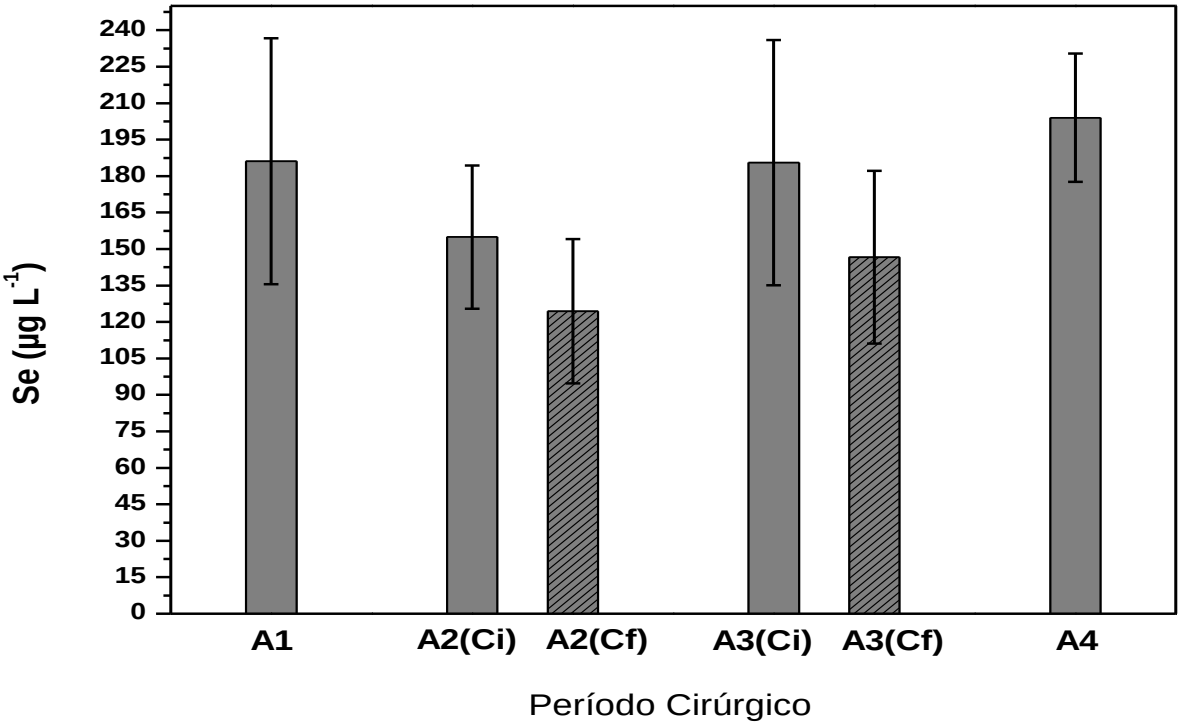

Figura 17. Avaliação do estresse oxidativo pela concentração média de Se para os pacientes P1, P2, P3, P4, P7, P8, P10, P11, P12, P13 E P14. Fonte: elaborado pela autora

TABELA 7 - Análise estatística de variância ANOVA com fator único e intervalo de confiança de 95%, para avaliação de selênio.

	Selênio (µg L^{-1})	p^*
A1	186,11 ±50,62	0,0969
A2 (Ci)	154,93 ±29,46	
A1	186,11 ±50,62	0,0027
A2 (Cf)	124,46 ±29,66	
A1	186,11 ±50,62	0,9784
A3 (Ci)	185,51 ±50,47	
A1	186,11 ±50,62	0,0510
A3 (Cf)	146,64 ±35,59	
A1	186,11 ±50,62	0,3158
A4	204,00 ±26,35	

Fonte: elaborado pela autora

p-valor para um teste de ANOVA de um único fator com α = 0,05. Análise estatística para concentração média de Se para os pacientes P1, P2, P3, P4, P7, P8, P10, P11, P12, P13 e P14. Considerando a hemodiluição para A2 e A3.

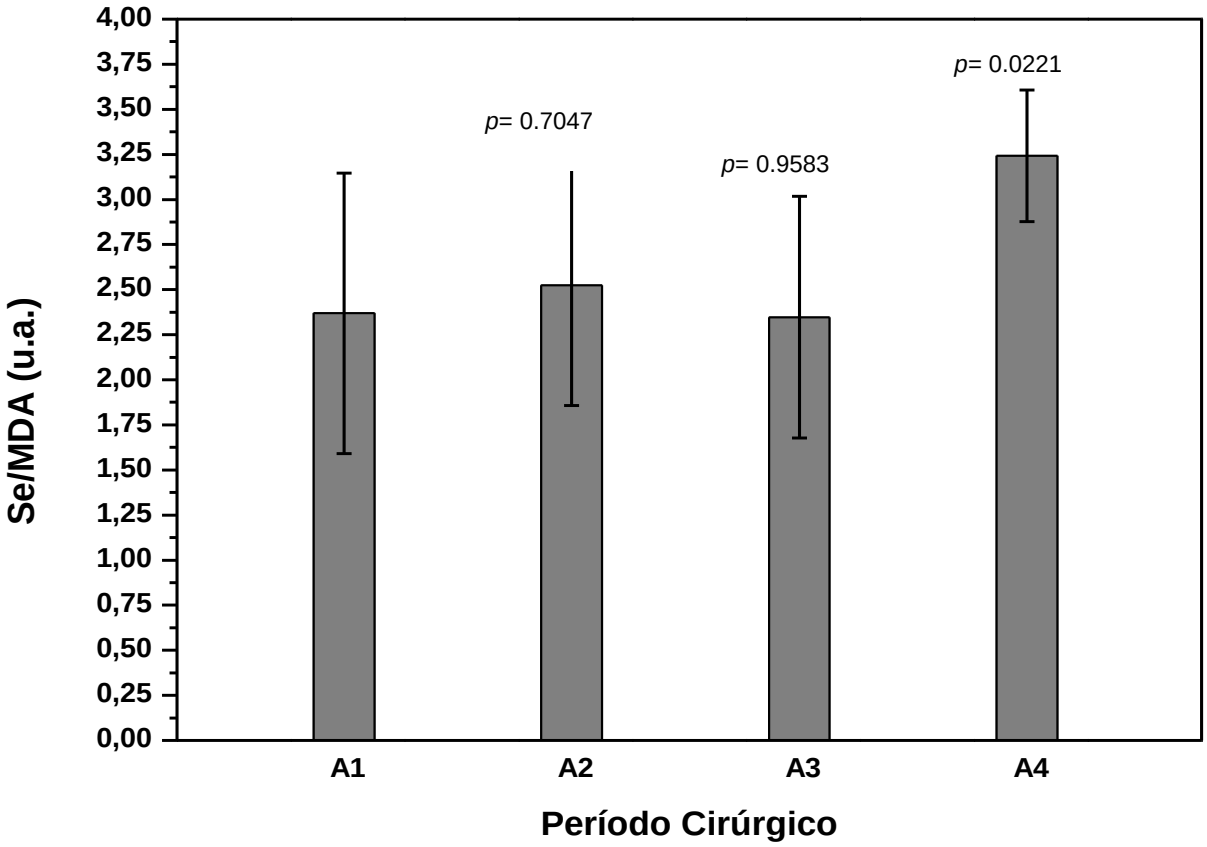

Figura 18. Avaliação do estresse oxidativo pela média da razão Se / MDA para os pacientes P7, P8, P10, P11, P12, P13 e P14. Considerando a hemodiluição para A2 e A3. *Fonte: elaborado pela autora*

TABELA 8 - Análise estatística de variância ANOVA com fator único e intervalo de confiança de 95%, para avaliação do estresse oxidativo pela razão selênio / MDA.

	Selênio / MDA	*p**
A1	2,37 ±0,78	0,7047
A2	2,52 ±0,66	
A1	2,37 ±0,78	0,9583
A3	2,35 ±0,67	
A1	2,37 ±0,78	0,0221
A4	3,24 ±0,36	

Fonte: elaborado pela autora

p-valor para um teste de ANOVA de um único fator com α = 0,05. Análise estatística para razão média da razão Se / MDA para os Pacientes P7, P8, P10, P11, P12, P13 e P14. Considerando a hemodiluição para A2 e A3.

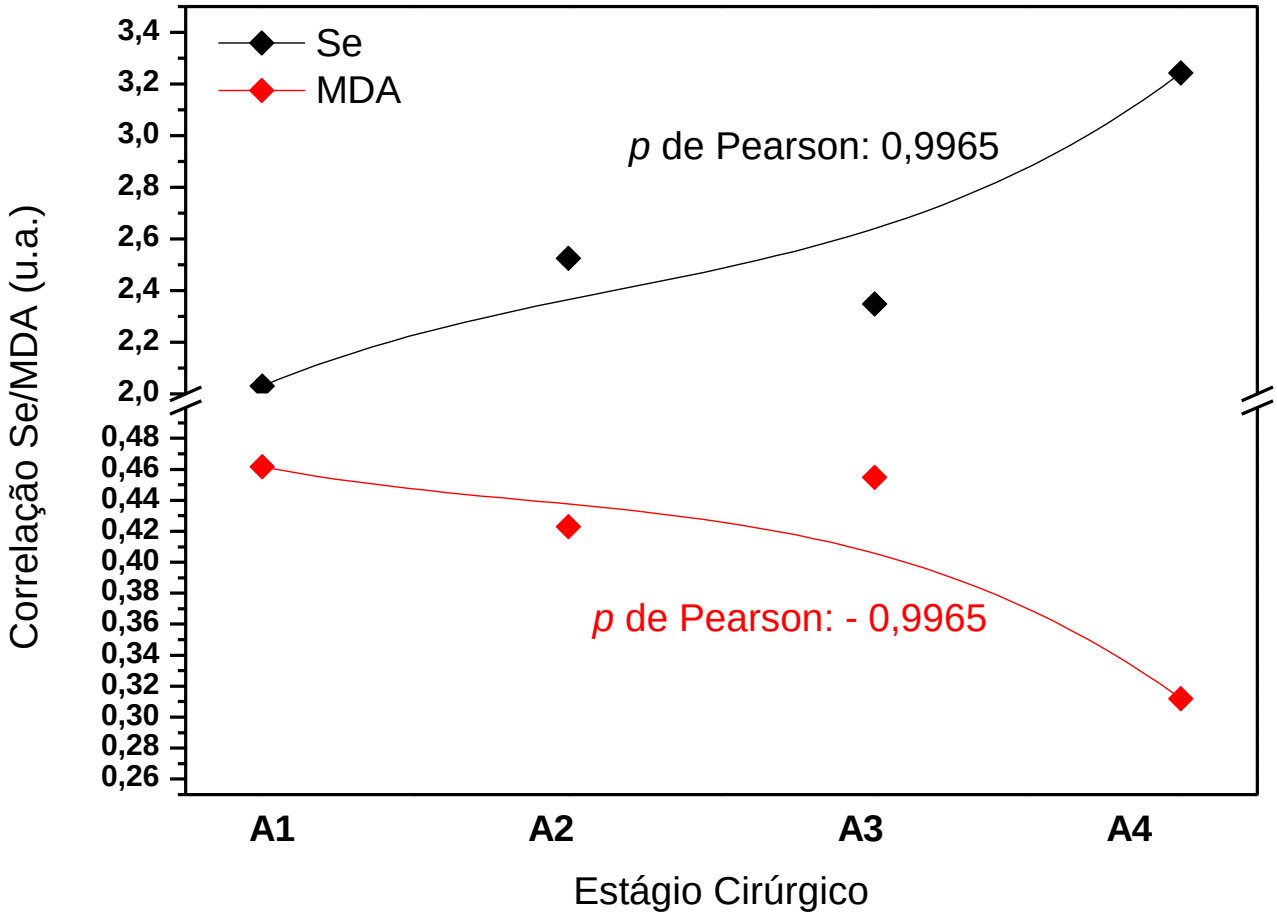

Figura 19. Curva para o coeficiente de correlação de Pearson, para aferição do grau da correlação entre duas variáveis de escala métrica, para os pacientes P7, P8, P10, P11, P12, P13 E P14. Considerando a hemodiluição para A2 E A3. Fonte: elaborado pela autora

6. DISCUSSÃO

Neste estudo foram avaliadas as concentrações plasmáticas de selênio e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (MDA), que é um marcador de estresse oxidativo, nos períodos pré, peri e pós-operatório. Encontramos uma diferença significativa do MDA entre os momentos A1 e A2, considerando-se a hemodiluição, ocorrendo uma diminuição do estresse oxidativo durante a CEC, porém, apesar de não significativa, o MDA aumentou nos momentos seguintes, A3 e A4, após a saída de CEC e 24 horas após CEC, respectivamente.

No estudo realizado por Calza *et al*., (2002) os marcadores de estresse oxidativo já estavam aumentados antes do início da CEC começar em crianças com cardiopatias cianóticas e acianóticas, sugerindo que esses pacientes podem ter um estado pró-oxidante preexistente relacionado à depleção de antioxidantes protetores como glutationa.

Um estudo realizado por Oliveira *et al*., (2011), encontrou lesão da membrana celular com oxidação lipídica nas células de pacientes pediátricos após cirurgia cardíaca. Estes autores consideraram os altos níveis de catecolaminas circulantes como os responsáveis pela indução da peroxidação lipídica nos cardiomiócitos. Além disso, a disfunção miocárdica relacionada à oxidação de compostos de membrana celular pode ser associada a alterações dos complexos distrofina-glicoproteína. (CAMPOS *et al*., 2008)

Christen *et al*., (2005) mostraram que os marcadores de estresse oxidativo estavam presentes em amostras de plasma de crianças submetidas à cirurgia com CEC imediatamente após o desclampeamento de aorta, enquanto que os níveis de citocinas atingiram um pico de 3-12 h após a CEC.

Em contrapartida, uma análise secundária retrospectiva de um estudo de coorte composto por 55 crianças com cardiopatias congênitas cianóticas e acianóticas, Manso *et al*., (2012) comparou os níveis médios de TBARS nos períodos pré, intra e pós-operatório nos pacientes com síndrome de baixo débito cardíaco e avaliou também os níveis de TBARS com o período de permanência hospitalar. O marcador de estresse oxidativo - TBARS não foi associa-

do ao desenvolvimento de síndrome de baixo débito cardíaco ou mortalidade após cirurgia cardíaca pediátrica com CEC.

Um estudo realizado em pacientes submetidos a cirurgia de revascularização miocárdica, não houve elevação dos TBARS entre a indução anestésica e o início da CEC, provavelmente devido a estabilização do paciente com o tratamento clínico prévio (CLERMONT *et al*., 2002). No trabalho realizado por Dias (2012), as dosagens de malonaldeído mostram claramente que, a revascularização miocárdica com circulação extracorpórea é acompanhada de surto de radicais livres com a tendência de diminuir progressivamente.

Deste modo, os estudos não são unanimes em afirmar um aumento das dosagens de MDA durante e após a cirurgia cardíaca com CEC. Apesar deste trabalho não ter avaliado o tempo de CEC, é possível considerar e supor que a menor gravidade e repercussão clínica das cardiopatias congênitas acianóticas quando comparadas com doenças coronarianas ou cardiopatias congênitas cianóticas, cursam com menor estresse oxidativo.

Devido à pouca variação de MDA nos diferentes momentos da cirurgia encontrada em nosso estudo, o utilizamos como padrão nas análises das concentrações de selênio.

Bem relatado na literatura, o estado nutricional de selênio tem implicações importantes para a morbidade e mortalidade nas doenças cardiovasculares através da ação nas selenoenzimas como a glutationa peroxidase (GPX) e a iodotironina deiodinase (IDD). As principais funções intra e extracelulares são evitar a geração de radicais livres e a redução de peróxidos em produtos menos tóxicos, diminuindo assim o risco de danos oxidativos ao tecido.

Ao analisarmos as concentrações de selênio, encontramos uma diferença significativa do mesmo entre os momentos A1 e A2, considerando-se a hemodiluição, ocorrendo uma diminuição na concentração durante a CEC, porém, apesar de não significativa, o selênio aumentou nos momentos seguintes, A3 e A4, após a saída de CEC e 24 horas após CEC, respectivamente.

Em um estudo realizado por Stoppe, Schälte e Rossaint (2011), foi observado que a cirurgia cardíaca usando circulação extracorpórea resultou em uma profunda diminuição intra-operatória de níveis sanguíneos de selênio. Além disso, as baixas concentrações de selênio no final da cirurgia foram um

preditor independente para o desenvolvimento pós-operatório de falência multi-orgânica e internação hospitalar. Estes achados são confirmados por dados de Al-Bader *et al.,* (1998) que observaram uma diminuição significativa de micro-nutrientes durante a cirurgia com CEC.

Em um ensaio randomizado, 117 pacientes foram submetidos a revascularização miocárdica ou cirurgia valvar, os resultados mostraram que a cirurgia cardíaca aumentou o estresse oxidativo e diminuiu os níveis plasmáticos de antioxidantes. (LEONG *et al*., 2010)

A concentração de selênio plasmático diminui significativamente em crianças submetidas à circulação extracorpórea, resultando em diminuição da atividade da deiodinase e uma subseqüente redução na conversão de tiroxina (T4) em triiodotironina (T3). (HOLZER *et al*., 2004)

Os estudos encontrados não refletem as concentrações em diferentes períodos da cirurgia, demonstram apenas que há uma diminuição dos níveis de selênio durante a CEC. Já o presente estudo dosou as concentrações de selênio em quatro momentos diferentes.

A média da concentração inicial de selênio está dentro dos limites de referência, fato este altamente favorável não só no contexto da doença cardíaca, mas no momento da cirurgia uma vez que sua participação direta nas enzimas antioxidantes representa um fator de proteção para a função miocárdica.

O estado nutricional adequado dos pacientes participantes deste estudo, provavelmente foi o principal fator a contribuir para a normalidade do selênio. Fato interessante a ser considerado é a procedência dos pacientes. Sabe-se que o solo da região norte do país é rico em Se, o que reflete na maior concentração deste mineral nos alimentos, com referência a castanha-do-Pará.

O Serviço de Cirurgia Cardíaca Infantil é referência para os pacientes procedentes da região norte e neste estudo, 60% das crianças eram desta região. Pode ser especulado também que a concentração inicial de selênio é relativamente alta, quando comparado com outras regiões brasileiras, como o estado de Mato Grosso do Sul, região centro-oeste, onde segundo Zanoni *et al*., (2016), o nível de selênio é mais baixo que em outras regiões do país.

De qualquer modo este achado pode ser considerado altamente favorável como fator de proteção miocárdica para estes pacientes.

Afim de se obter uma avaliação precisa do estresse oxidativo em cirurgia cardíaca infantil com CEC realizamos uma nova avaliação por meio da razão da concentração de selênio pela concentração de MDA. Este método de avaliação consiste em equalizar um elemento ou substância que possa ater grande variação por um elemento ou substância que possui pouca variação ou quase nenhuma. Isto reflete nas concentrações de selênio que sofreram maiores variações tanto nas análises obtidas quanto nos trabalhos citados, pela concentração de MDA que obteve pouca variação neste trabalho e relatados em alguns trabalhos como elementos que não sofrem variações. Nesta avaliação observamos que os estágios A2 e A3 não apresentam diferenças significativas quando comparados ao A1. Porém, ao avaliar os estágios A1 e A4 observou-se uma diferença estatística significativa, o que confirma que no estágio A4, os pacientes sofrem os efeitos da CEC, com a liberação de radicais livres e consequentemente, há o aumento do estresse oxidativo, sendo necessário a proteção dos agentes antioxidantes, como o selênio.

A análise da razão Se/MDA entre os momentos A1/A4 mostrou-se estatisticamente significativa, não só pelo discreto aumento do MDA, mas principalmente pelo aumento do selênio, que com sua função antioxidante trabalha na redução dos produtos de peroxidação lipídica. Condição esta confirmada pela forte correlação linear de MDA e selênio.

Provavelmente o excelente estado nutricional relativo ao selênio dos pacientes do estudo, favoreceu a recuperação do estresse oxidativo. As ações antioxidantes deste notável elemento químico no sitio ativo das enzimas antioxidantes certamente pode ser atribuído ao selênio. Somado a outros fatores, como o adequado manejo cirúrgico, os dados do presente estudo resultaram na ausência de mortalidade no grupo de pacientes.

7. CONCLUSÃO

1. O estresse oxidativo está exacerbado no período pré-operatório da cirurgia cardíaca pediátrica com CEC.

2. O estresse oxidativo foi avaliado pela dosagem de MDA durante o procedimento cirúrgico dos pacientes.

3. Durante a CEC houve significativa redução o estresse oxidativo, considerando-se a hemodiluição.

4. Após a CEC e 24 horas do procedimento, o estresse oxidativo, em que se pese a não significância estatística, sofre elevação.

5. As crianças portadoras de cardiopatias congênitas acianóticas deste estudo apresentam concentração normal de selênio no pré-operatório.

6. Não há variação das concentrações de selênio durante a cirurgia cardíaca com CEC. Entretanto, considerando a hemodiluição, houve significativa redução entre os momentos A1 e A2.

7. O estado nutricional dos pacientes foi avaliado.

8. REFERÊNCIAS BIBIOGRÁFICAS

ADLY, A. A. M. Oxidative stress and disease:na updated review. **Res. J. Immunol.** 3:129-145, 2010.

AKILA; BENEDICTA D'SOUZA; PRASHANT VISHWANATH; VIVIAN D'SOUZA. Oxidative injury and antioxidants in coronary artery bypass graft surgery: Off-pump CABG significantly reduces oxidative stress. **Cl Ch Acta.** 375:147–152. 2007.

AL-BADER, A.; CHRISTENSON, J. T.; SIMONET, F.; *et al*: Inflammatory response and oligo-element alterations following cardiopulmonary bypass in patients undergoing coronary artery bypass grafting. **Cardiovasc Surg**; 6:406–414, 1998.

ALFTHAN, G.; NEVE, J. Reference values for sérum selenium in various areas-evaluated according to the tracy protocol. **J Trace Elem Med Biol**, v.10, p.77-87, 1996.

ALISSA, E. M.; BAHIJRI, S. M.; FERNS, G. A. The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. **Med Sci Monit**, v.9, p. RA9-18, 2003.

ALMONDES, K. G S; LEAL, G. V. S; COZZOLINO, S. M. F; PHILIPPI, S. T; RONDÓ, P. H. C. O papel das selenoproteínas no câncer. **Rev Assoc Med Bras**. 56:484-488, 2010.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. A. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Quím. Nova**. v. 33, n.10, p. 2202-2210, 2010.

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S. M.; OADOVANI, R. M. DRI: commented note of the new nutritional recommendations for dietary antioxidants. **Rev Nutr.** 14:71-8. 2001.

AMAYA-FARFAN, J.; DOMENE, S. M.; OADOVANI, R. M. DRI: commented note of the new nutritional recommendations for dietary antioxidants. **Rev Nutr.** 14:71-8. 2001.

ANDERSON, N. L., ANDERSON, N. G. **Mol. Cell Proteom**. 1, 845, 2002.

ANGSTWURM, M. W.A; GAERTNER, R. Practicalities of selenium supplementation in critically ill patients. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. 9:233-238, 2006.

ANTUNES, M. V.; LAZZARETTI, C.; GAMARO, G. D ,;LINDEN, R. Estudo pré-analítico e de validação para determinação de malondialdeído em plasma humano por cromatografia liquida de alta eficiência, após derivatização com 2,4-dinitrofenilhidrazina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. 44, 2, abr/jun, 2008.

BARBOSA, L. F.; MEDEIROS, M. H. G. M.; AUGUSTO, O. Oxidative damage and neurodegeneration. What have we learned from transgenic and knockout animals? **Quím. Nova**. v. 29 n. 6, 2006.

BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; DAVID, J.P. **Quim. Nova**. 29:113, 2006.

BATISTA, B.L. ; GROTTO, D. ; CARNEIRO, M. F. H. ; BARBOSA, F. Jr. Evaluation of the Aconcentration of Nonessential and Essential Elements in Chicken, Pork, and Beef Samples Produced in Brazil. **J Toxic Environ Health.** 75:1269–1279, 2012.

BERGER, M. M. Can oxidative damage be treated nutritionally? **Clin Nutr.** 24:172-83, 2005.

BOLLI, R.; JEROUDI, M.O.; PATEL, B. S.; ARUOMA, O. I.; HALLIWELL, B.; LAI, E. K.; McCAY, P. B. Marked reduction of free radical generation and contractile dysfunction by antioxidant therapy begun at the time of reperfusion. Evidence that myocardial “stunning” is a manifestation of reperfusion injury. **Circ Res**. V.65, p. 607-622, 1989.

BORTOLI, M. C. Avaliação dos níveis sanguíneos do hormônio tireoidiano ativo (T3) e do esatdo nutricional relativo ao selênio de mulheres residentes em areas de exposição ao mercúrio. Tese (Doutorado em ciência dos alimentos) – **Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2009.

BRITO, C. Importância do selênio sobre produção animal e saúde humana. **Art Tec-Polinutr**,2007.Disponível em: www.polinutri.com.br/upload/artigo/184.pdf. Acesso em: 10/09/2017.

BRIX-CHRISTENSEN, V. The systemic inflammatory response after cardiac surgery with cardiopulmonary bypass in children. **Acta. Anaesthesiol. Scand**., v.45, p.671-679, 2001.

BROOME, C. S.; MCARDLE, F.; KYLE, J. A.; ANDREWS, F.; LOWE, N. M.; HART, C. A.; ARTHUR, J. R.; JACKSON, M.J. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. **Am J Clin Nutr**. Vol 80, p.154-162, 2004.

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

BURK, R.F.; LEVANDER, O. A. Selênio. In: Shills ME, Olson JA, Shike M, Ross AC (eds.) Tratado de Nutrição Moderna na Saúde e na Doença. 9.ed., vol. 1. **Barueri: Manole**. pp. 285-96, 2003.

CALVIN, S. H.; WAN, S.; YIM, A. P. C.; ARIFI, A. A. Pulmonary dysfunction after cardiac surgery. **Chest,** v. 121, n.4, p.1269-1277, 2002.

CALZA, G.; LERZO, F.; PERFUMO, F. *et al*, Clinical evalution of oxidative stress and myocardial reperfusion injury in pediatric cardiac surgery. **J Cardiovasc Surg.** 43:441-447, 2002.

CAMPOS, E. C; ROMANO, M.M.; PRADO, C.M.*et al*. Isoproterenol induces primary loss of dystrophin in rat hearts: correlation with myocardial injury. **In J Exp Pathol.** 89:367-381, 2008.

CANTOR, E. J.; MANCINI, E. V.; SETH, R.; YAO, X. H.; NETTICADAN, T. Oxidative stress and heart disease: cardiac dysfunction, nutrition and gene therapy. **Curr Hypertens. Rep**. 5 (3):215-20, 2003.

CARDEN, D. L. ; GRANGER, D. N. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. **J Pathol**. 190: 255-66. 2000.

CASSAGO, A. Determinação estrutural da proteína Selenocisteína Sintase de Escherichia cole.[Tese]. **São Carlos: Universidade de São Paulo**; 2010.

CHRISTEN, S.; FINCKH, B.; LYKKESFILD, J.; GESLER, P.; FRESE-SCHAPER, M.; NILSEN, P.; SCHIMID, E.R.; SCHIMITT, B. Oxidative stress precedes peak systemic inflammatory response in pediatric patients undergoing

cardiopulmonary bypass operation. **Free Radic Biol Méd**, v.38, p.1323-1332, 2005.

CHRISTENSEN, M. C., KRAPF, S., KEMPEL, A., von HEYMANN, C. Costs of excessive postoperative hemorrhage in cardiac surgery. **J Thorac Cardiovasc Surg,** 138(3):687-93. , 2009.

CLARK, T. A., LEE, H. P., ROLSTON, R. K., ZHU, X., MARLATT, M. W., CASTELLANI, R. J., NUNOMURA, A., CASADESUS, G., SMITH, M. A., LEE, H., PERRY, G. Oxidative stress and its implications for future treatments and management of Alzheimer. **Int J Biomed Sci**. 6:225 -227. 2010

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

COLLARD, C. D; GELMAN, S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. **Anesthesiology**. 94: 1133-8. 2001.

COMINETTI, C.;DUARTE, G. B. S.; COZZOLINO, S. M. F. Funções plenamente reconhecidos de nutrientes – Selênio. **ILSI Brasil**. v.8:9-43, 2017.

COMINETTI, C; BORTOLI, M. C.; PURGATTO, E.; ONG, T. P.; MORENO, F. S.; GARRIDO JR, B. G.; COZZOLINO, S. M. F. Associations between glutathione peroxidase-1 Pro 198Leu polymorphism, selenium status, and DNA damage levels in obese women after consumption of Brazil nuts. **Nutrition**, v. XXX, p.1-6, 2011

CONTI, V. R. Pulmonary injury after cardiopulmonary bypass. **Chest,** v. 119, n.1, p.2-4, 2001.

COZZOLINO, S. M. F. Deficiência de minerais. Alimentação e educação II. **Estud Av.** 21:119 - 126, 2007.

DE SOUZA , M. H. L. ; ELIAS DO. Fundamentos da circulação extracorpórea. 2ª ed. , Disponível em: **http://perfline.com/ livro/index.html.** 2006.

DIAS, A. E. M. Á. S. Dinâmica do estresse oxidativo, cobre e zinco durante a cirurgia de revascularização miocárdica. 2012. 81f. **Dissertação (Mestrado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste)** – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2012.

DONADIO J. L. S. ; MATERNS I. B. G.; MARTENS A ; COZZOLINO S. M. F. Selênio. In: Cozzolino SMF. **Biodisponibilidade de Nutrientes**, 5 ed, Barueri: Manole, 2016.

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

EDMO ATIKUE, G. Perfusão do tronco pulmonar em cirurgias cardíacas com emprego de circulação extracorpórea. 2007. 1-4p. **Tese (Pós-Doutorado)** – Universidade Federal de São Paulo/Unifesp, São Paulo, 2007.

ELENKOV, I.J. ; IEZZONI, D. G.;, DALY A; HARRIS, A. G.; CHROUSOS, G. P. Cytokine dysregulation, inflammation and well-being. **Neuroimmunomodulation**. 12: 255-69. 2005

ÉVORA, P. R. CEC: fisiologia e microcirculação. **Aula ministrada no 34º Congresso da Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, Florianópolis; 2007.

FACHERIS, M.; BERETTA, S. ; FERRARESE, C. Peripheral markers of oxidative stress and excitotoxicity in neurodegenerative disorders: tools for diagnosis and therapy? **J Alzheimers Dis**. 6 (2):177-84, 2004.

FAIRWEATHER-TAIT, S..; BAO, Y.; BROADLEY, M. R.; COLLINGS, R.; FORD, D.; HESKETH, J. E.; HURST, R. Selenium in human health and disease. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 14, n. 7, p.1337-1384, 2011.

FERGUSON, L.R. ; KARUNASINGHE, N. ; ZHU S. ; WANG, A.H. Selenium and its' role in the maintenance of genomic stability. **Mut Res**. 733(1):100-10, 2012.

FINKEL, T.; HOLBROOK, N. J. Nature (London, U K.). 408:239, 2000.

FISCHER, U. M.; WEISSENBERGER, W.K.; WARTERS, R.D.; GEISSLER, H.J., ALLEN, S.J., MEHLHORN, U. Impact of cardiopulmonary bypass management on postcardiac surgery renal function. **Perfusion.** ;17(6):401-6, 2002.

FORCEVILLE, X.; TOUATI, S.; TOUMELIN, P.; Le., DUCROS, V.; LAPORTE, F.; CHANCERELLE, Y.; AGAY, D. Elements of margin of safety, toxicity and

action of sodium selenite in a lipopolysaccharide rat model. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology. Elsevier**, ; 28: 303-310,2014

FRANCESCONI, K. A.; PANNIER, F. Selenium metabolites in urine: a critical overview of past work and current status. **Clin Chem**. 50:2240-53, 2004.

GAC, P.; PAWLAS, N.; POREBA, R.; POREBA, M.; PROKOPOWICZ, A.; PAWLAS, K. Blood selelnium concentration in a selected population of children inhabiting industrial regions in Upper Silesia (Poland). **Environmental Toxicology and Pharmacology**, 34:528-536, 2012.

GIORDANO, F.J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia and heart failure. **J Clin Invest.**; 115:500-8, 2005

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

GROW, A. J.; ISCHIROPOULOS, H**. J. Cell. Physiol**. 187:277, 2001.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The aintioxidants of human extracelular fluids. **Arch Biochem Biophys**. 280:1-8, 1990.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. **Biochem Pharmacol**, ; 49:1341-8, 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. Free radicals in biology and medicine, **Oxford: Oxford University Press**, 4th ed., 2007.

HARGRAVES, W.A.;HENTALL, I. D. Analgesic effects of dietary caloric restriction in adult mice. **Pain,**114:455-61, 2005.

HOFFMANN, F. W.; HASHIMOTO, A. C.; SHAFER, L, A.; DOW, S.; BERRY, M. J.; HOFFMANN, P.R. Dietary selenium modulates activation and differentiation of CD4+ T cells in mice through a mechanism involving cellular free thiols. **J Nutr**. v.140, p.1155–1161, 2010.

HOLZER, B. R.; BOCKENKAMP, P; BOOKER, P.; NEWLAND, G.; CIOTTI, M. POZZI. The Impact of Cardiopulmonary Bypass on Selenium Status, Thyroid Function, and Oxidative Defense in Children. **Pediatr Cardiol** 25:522–528, 2004.

HUANG, Z.; ROSE, A. H.; HOFFMANN, P. R. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. **Antioxidants &Redox Signaling**, v. 16, 7:705-745, 2012.

IHNKEN, K.; MORITA, K.; BUCKBERG, G.D. Delayed cardioplegic rexygenation reduces reoxygenation injury in cyanotic immature hearts. **The Annals of Thoracic Surgery**. V.66, p.177-182, 1998.

IOM (INSTITUTE OF MEDICINE) Dietary Reference Intakes: vitamine C, vitamine E, selenium and carotenoids. Washington, D. C: **National Academy Press**, 2000.

JACOBS, J. M., ADKINS, J. N., QIAN, W. J., LIU, T., SHEN, Y., CAMP II, D. G., SMITH, R. D., **J. Proteome Res**. 4, 1073, 2005.

KARL, T.R.; HALL, S.; FORD, G.; KELLY, E.A.; BRIZARD, C.P.; MEE, R.B., et al. Arterial switch with full-flow cardiopulmonary bypass and limited circulatory arrest: neurodevelopmental outcome. **J Thorac Cardiovasc Surg**. 127 (1): 213-22, 2004.

KIN H.; ZHAO Z-Q; SUN H-Y;WANG N-P; CORVERA, J.S.;HALKOS, M.E., *et al*.. Postconditioning attenuates myocardial ischemia–reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. **Cardiovasc Res**. 62:74-85. ,2004

KLOTZ LO; KRÖNCKE KD; BUCHCZYK DP.; KLOTZ SIES H. Role of copper, zinc, selenium and tellurium in the cellular defense against oxidative and nitrosative stress. **J Nutr**. 133: 1448S-51S, 2003.

KÖHRLE J. Selenium and the thyroid. **Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.** 20:441-448, 2013.

KUNT, A. S.; SELEK, S.; CELIK, H.; DEMIR, D.; EREL, O.; ANDAC, M. H. Decrease of total antioxidante capacity diring coronary artery by-pass surgery. **Mt Sinai J Med**. v. 73, p. 777-783, 2006.

LEONG, J. Y.; van der MERWE, J.; PEPE, S.; et al. Perioperative metabolic therapy improves redox status and outcomes in cardiac surgery patients: A randomised trial. Heart Lung Circ. 19:584-91, 2010.

LIU, D.; LIU, S.; HUANG, Y.; LIU, Y.; ZHANG, Z.; HAN, L. Effect of selenium on human myocardial glutathione peroxidase gene expression. **Chin Med J.** ; 113: 771-5 , 2000.

LOW, S. T. Avaliação do estresse oxidativo, estado nutricional e vitaminas lipossolúveis em crianças atendidas no ambulatório de puericultura. Recife (PE) Brasil. 2015, 58f. (**tese – doutorado**) Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho – Faculdade de Medicina, Botucatu, SP, 2015

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

MANSO, P. H.;CARMONA, F.; DAL-PIZZOL, F.; PETRONILHO, F.; CARDOSO, F.; CASTRO, M.; CARLOTTI, A.C.P. Oxidative stress markers are not associated with outcomes after pediatric heart surgery. **Pediatric Anesthesia**.23, 188-194, 2013

MARTENS, A.; COZZOLINO, S. M. F. Mapeamento da distribuição de selênio em território por meio da analise de alimentos nativos: feijão (Faseolos vulgaris I.) e carne bovina para consumo humano e aguas e solos oriundas. São Paulo:FCF/USP: **Departamento de Ciencia dos Alimentos**, 39p, 2002

MARTINS, G. F.; Siqueira Filho, A. G.; Santos, J. B. F.; Assunção, C. R. C., Bottino, F.;Carvalho, K. G.; Valência, A. Trimetazidine on Ischemic Injury and Reperfusion in Coronary Artery Bypass Grafting. **Sociedade Brasileira de Cardiologia. Scielo,** 2011.

MATATA BM.; SOSNOWSKI AW.; GALIÑANES M. Off-pump bypass graft operation significantly reduces oxidative stress and inflammation. **Ann Thorac Surg.** 69:785-91. 2000

MATEOS, R.; LECUMBERRI, E.; RAMOS, S.; GOYA, L.; BRAVO, L. Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress: Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic

antioxidants from fruits. J. Chromatogr. B: **Anal**. Technol. Biomed. Life Sci., v.827, n.1, p.76-82, 2005.

MILLER, A. F. Superoxide dismutases: active sites that save, but a protein that kills. **Curr Opin Chem Biol**. 8:162-8. 2004.

MOTA, A. L.; RODRIGUES, A. J.; ÉVORA, P. R. B. Circulação extracorpórea em adultos no século XXI. Ciência, arte ou empirismo? **Rev Bras Cir Cardiovasc.** 23 (1): 78-92, 2008.

MOURA, H. V.; POMERANTZEFT, P. M. A.; GOMES, W.J. Síndrome da resposta inflamatória sistêmica na circulação extracorpórea: papel das interleucinas. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc**., v. 16, p. 376-387, 2001.

NAVARRO-ALARCÓN M, LÓPEZ-MARTÍNEZ MC. Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. **Sci Tot Environ**. 249:347-71. 2000.

NG, C.S.;, WAN, S.; YIM, A.P.; ARIFI, A.A. Pulmonary dysfunction after cardiac surgery. **Chest.** 121 (4): 1269-77, 2002.

OLIVEIRA, M.S.; FLORIANO, E. M.; MAZIN, S. C. *et al.* Ischemia myocardial injuries after cardiac malformation repair in infants may be associated with oxidative stress mechanisms. **Cardiovasc Pathol**. 20: e43-e52, 2011.

OZATA, M.; MERGEN, M.; OKTENDI, C.; AYDIN, A.; SANISOGLU, S. Y.; BOLU, E. *et al*. Increased oxidative stress and hypozincemia in male obesity. **Clin Biochem**. ; 35:627-31, 2002.

PAPP, L. V.; LU, J.; HOLMGREN, A.; KHANNA, K. H., From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. **Antioxid Redox Signal**. 9:755-806, 2007.

PERCÁRIO, S.; VITAL, A. C. C.; JABLONKA, F. Dosagem do malondialdeido. **Newslab**. ; 2(6):46-50, 2004

PILZ, J.; MEINEKE, I.; GLEITER, C. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by highperformance liquid chromatography as the 2,4dinitrophenylhydrazine derivative. J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci., v.742, p.315-325, 2000.

PIMENTEL, J. A. C. Selênio em carne bovina *in natura*: avaliação de acordo com a procedência e tipos de corte. 2012. 83f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) – **Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo**, São Paulo, 2012.

RAYMAN, M.P. The importance of selenium to human health. **Lancet,** 356: 233-41, 2000;.

REILLY, C. Selenium in food and health. **London:Chapman &Hall**, 1996.

REILLY, C. Selenium in food and health. **New York: Springer**, 2006.

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

ROMAN M, JITARU P, BARBANTE C. Selenium biochemistry and its role for human health. **Metallomics**. 6(1)25-54. 2014.

ROSS AC; CABALLERO B; COUSINS RJ; TUCKER KL; ZIEGLER TR. **Modern Nutrition in Health and Disease.** 11th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2012.

SAFARALIZADEH, R.; KARDAR, G. A.; POURPAK, Z.; MOIN, M.; ZARE, A.; TEIMOURIAN, S. Serum concentration of selenium in healthy individuals living in tehran**. Nutrition Journal**, 4, 32, 2005.

SANTANA, M. V. T. **Cardiopatia Congênitas no Recém-Nascido: Diagnóstico e Tratamento**. 3.ed. São Paulo: Atheneu, 2012.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G.R., Free Radical. **Biol Med,** 30, 1191**,** 2001.

SCHOTT, AM.; GANNE, C.;HANS, D.;MONNIER G.,;GAUCHOUX R, KRIEG, MA.;DELMAS, PD.;MEUNIER, PJ.;COLIN, C. Which screening strategy using BMD measurements would be most cost effective for hip fracture prevention in elderly women? A decision analysis based on a Markov model. **Osteoporos Int**..18(2):143-51. 2007.

SEGHAYE, M. C.The clinical implications of the systemic inflammatory reaction related to cardiac operations in childre. **Cardiol Young**. 13 (3):228-39, 2003.

SIM, A.S.; SALONIKAS, C.; NAIDOO, D.; WILCKEN, D.E.L. Improved method for plasma malondialdehyde measurement by high-performance liquid chromatography using methyl malondialdehyde as an internal standard. J. Chromatogr. B: **Anal**. Technol. Biomed. Life Sci., v.785, p.337-344, 2003.

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

STAHL, W. Lipid oxidation and oxidants. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**. 3:121-6, 2000.

STOPPE, C.; SCHALTE, G.; ROSSAINT, R.; CORBURN, M.; GRAF, B.; SPILNER, J.; MARX, G.; REX, S. The intraoperative decrease of selenium is associated with the postoperative development of multiongan dysfunction in cardiac surgical patients. **Critical Care Medicine**. v. 39, n. 8, p. 1879-85, 2011.

TAPIERO, H; TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. **Biomed Pharm**; 57: 134-44, 2003.

THÉROND, P.; BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; DAVIT-SPRAUL, A.; CONTI, M.; LEGRAND, A. ; Curr. Opin. Clin. **Nutr. Metab. Care**, 3, 373, 2000.

THOMAS, J. A. Estresse oxidativo e defesa contra oxidantes.In: Shills m. e. Olson, J.A., Shike. M., Ross, A. C., editors. Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença.9th ed. São Paulo: **Manole**; P.801-12, 2003.

TRITTENWEIN, G.; NARDI, A.; PANSI, H.; GOLEJ, J.; BURDA, G., HERMON, M., *et al*. Early postoperative prediction of cerebral damage after pediatric cardiac surgery. **Ann Thorac Surg**. 76 (2): 576-80, 2003.

TSALUCHIDU, S.; COCCHI, M.; TONNELLO, L.; PURI, B. K., Fatty acids and oxidative stress in psychiatric disorders. **BMC Psychiatry**.8 (Suppl): 1-3, 2008.

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

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J. B. F., BENFATO, M. S.; MANFREDINI, V., KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidants e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analiticos para sua determinação. **Quim. Nova.** V. 30. 5:1323:1338, 2007

VENARDOS KM; PERKINS A; HEADRICK J. Myocardial ischemiareperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. **Curr Med Chem** ; 14: 1539-49, 2007.

WAN, S.; YIM, A.; ANTHONY, P. C.; NG, CALVIN, S. H.; ARIFI, AHMED A. Systematic Organ protection in Coronary Artery Surgery With or Without Cardiopulmonary Bypass. **Journal of Cardiac Surgery**. V.17, p.529-535, 2002.

WEITZEL, L. R.; MAYLES, W. J.; SANDOVAL, P. A.; WISCHMEYER, P. E. Effects of pharmaconutrients on cellular dysfunction and the microcirculation in critical illness**. Curr Opin Anaesthesiol**. 22:177-83, 2009.

WIETZYCOSKI, C. R; MARCHESINI, J. C. D.; AL-THEMYAT, S. ; MEYER, F. S. ; TRINDAD DE, M. R.M. Melhora do estresse oxidativo após duodenojejunostomia em um modelo experimental de diabete melito tipo 2. **Arquivos Brasileiro Cirurgia Digestiva**, v.29, n.1, p.3-7, 2016.

WOODS, S.L.; FROELICHER, E. S.; MOTZER, S. U. Enfermagem em cardiologia. 4a ed. São Paulo; Barueri (SP): **Manole**; 2005.

WU, J. Q.; KOSTEN, T. R.; ZHANG, X. Y., Free radicals, antioxidant defense systems, and schizophrenia. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry.- Elsevier. V. 46: 200 – 206. 2013

YAN, J.; WANG, F.; QIN, H.; CHEN, G.; EVIATAR, N.; FAHIMA, T.; CHENG, J. Natural variation in grain selenium concentrations of wild barley, Hordeum pontaneum, populations from Israel**. Biological trace Elements Research**, 2010.

ZANONI, L. Z. Alterações plásmaticas do cobre e do zinco em crianças submetidas à cirurgica cardíaca com circulação extracorporea. 2008. 116f. **Tese (Doutorado em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste)** – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2008.

ZANONI,Z.,L.; Melnikov, P.; Tassianny Heredia Finotti, T., H.; Fernanda Zanoni Cônsolo, F., Z.; Anderson Fernandes da Silva, A. F.; Nascimento, V., A. Selenium in Healthy Individuals in Mato Grosso do Sul State, Brazil . **European Journal of Nutrition & Food Safety.** 6(1): 36-40, 2016

ZHANG X; LIU C; GUO J; SONG Y. Selenium status and cardiovascular diseases: metaanalysis of prospective observational studies and randomized controlled trials. **Eur J Clin Nutr**. 70(2)162-9, 2016.

ZHAO Z-Q; CORVERA, J.S.; HALKOS, M.E.; KERENDI, F.; WANG, N-P, GUYTON, R.A., *et al..* Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. **Am J Physiol (Heart Circ Physiol).** 285:579-88, 2003.

9. ANEXOS

ANEXO A - Instrumento de coleta de dados

PROTOCOLO DE COLETA nº_____

CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE SELÊNIO E DO ESTRESSE OXIDATIVO

DATA _____/ _____/ _____

Idade _____ DN _____ Sexo _____ Cor _____

Peso _____ Altura_____ IMC _____

Endereço

_____

_____

Mãe_____

___

Telefone

_____

Cardiopatia

_____

_____

ICC_____ Dispneia_____Ganho de peso_____

BCP _____Cianose_____

Medicamentos em uso

_____

Doença prévia não cardíaca

_____

Exames Pré-operatórios: Ht ____ Hb ____ Leuc _____ Bast ____ Neutrof

____

Eos ____ Mono___ Linfo___ Glic___ Na ____ K ___ Ca ____ Mg ___ P ___ Ur

____ Crea ____

ECG_____

_____

__

ECO_____

_____

___

CATETERISMO CARDÍACO

_____

AMOSTRA	MOMENTO	LOCAL	PAM	FC	SaO2	FiO2
A	Anestesia	Art. Arterial				
B	Entre 5º e 10º min. CEC	Oxigenador				
C	Saída de CEC	Cat. Arterial				
D	24h	Cat. Arterial				

Plaquetas_____Plasma _____

Papa hem. _____

OBS

_____

Intercorrências

_____

Ritmo de saída de CEC

_____

Marcapas-

so_____

ANESTE-

SIA:_____

CEC : início _____fim _____ tempo de CEC_____ tempo de anóxia_____

Prime _____ Volemia_____

Hipotermia _____ o C

Fluxo max_____ l/min Fluxo med_____ Fluxo min_____

Solução Cardioplégica

_____

Clampeamento Aorta

_____

GASOMETRIA	HORA	HORA	HORA	HORA	HORA
PH					
pCO2					
pO2					
SaO2					
HCO3					
BE					
Na					
K					
Mg					
Ca					
Ht					
Hb					
Glic					

Intercorrências na UTI – (hipotensão, baixo débito, convulsão e arritmias cardíacas).

Evolução pós operatória

HORA	PA	PAM	FC	TEMP.	PVC	SaO2

ANEXO B- Termo de assentimento

Você está sendo convidado (a) para participar da pesquisa DINÂMICA DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE SELÊNIO E DO ESTRESSE OXIDATIVO NA CIRURGIA CARDÍACA INFANTIL COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA. Seus pais permitiram que você participe.

Queremos saber como seu organismo reage ao estresse causado pela cirurgia cardíaca dosando o selênio e o ácido tiobarbitúrico.

As crianças que irão participar dessa pesquisa têm de 3 meses a 16 anos de idade. Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, não terá nenhum problema se desistir, você vai continuar recebendo o atendimento que precisa.

A pesquisa será feita na Santa Casa, onde você será operado (a). Uma pequena quantidade do seu sangue será retirada enquanto você estiver sob o efeito da anestesia, ou seja, quando estiver dormindo. Para isso, será retirada amostra do cateter por onde você receberá as medicações; por um cateter que verificará sua pressão e por um circuito onde passará seu sangue durante a cirurgia. Um dia após sua cirurgia, será coletada uma amostra do cateter que verifica constantemente sua pressão enquanto estiver na UTI. A coleta do sangue é considerada segura, mas é possível ocorrer hematomas na região. Caso precise de algo relacionado a pesquisa, você pode me procurar pelo telefone (67)99976-9449 ou entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul pelo telefone (67) 3345- 7187.

Mas há coisas boas que podem acontecer. Saberemos como reduzir alguns problemas que podem ocorrer com a criança que opera o coração.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram da pesquisa. Quando terminarmos, você poderá receber os resul-

tados e a conclusão do estudo. Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima desse texto.

Eu _____ aceito participar da pesquisa DINÂMICA DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE SELÊNIO E DO ESTRESSE OXIDATIVO NA CIRURGIA CARDÍACA INFANTIL COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA, que tem o objetivo de avaliar a dinâmica da concentração plasmática de selênio e do estresse oxidativo na cirurgia cardíaca infantil com circulação extracorpórea.

Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que ninguém vai ficar bravo. A pesquisadora tirou minhas dúvidas e conversou com os meus responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de Assentimento, li e concordo em participar da pesquisa.

Campo Grande, ____de _____de _____.

_____ _____

Assinatura do menor Assinatura da pesquisadora

ANEXO C - Termo de consentimento livre e esclarecido

Seu (sua) filho (a) foi convidado (a) a participar de uma pesquisa e você vai decidir se quer que ele (a) participe ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e tire todas as suas dúvidas.

Este estudo está sendo conduzido por mim e pelo Prof. Dr. Valter A. do Nascimento professor do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Eu sou fisioterapeuta do Hospital Santa Casa e atendo no pós-operatório de cirúrgica cardíaca infantil.

Por que estou fazendo este estudo?
A finalidade deste estudo é dosar no sangue o elemento selênio e o ácido tiobarbitúrico, que nós todos já temos no organismo, mas que podem se alterar quando o paciente faz cirurgia do coração. Estas substâncias já foram dosadas em adultos, mas nas crianças não. Este estudo tem a finalidade apenas de dosar, no sangue da criança estas substâncias antes e depois da cirurgia, e verificar se as alterações destas substâncias provocam algum sintoma no paciente.

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

O que será feito para dosar estes elementos no sangue da criança?
Antes de começar a cirurgia, depois que a criança estiver anestesiada, será coletado sangue para dosar o selênio e o ácido tiobarbitúrico. Outras amostras também serão coletadas durante a cirurgia com a criança ainda sob efeito

anestésico, e uma única vez no dia seguinte à cirurgia por um cateter que permanece na criança para controlar a pressão. Este será o único material a ser colhido para o estudo. Este material será desprezado depois do uso.

Que prejuízos podem acontecer com meu (minha) filho (a) se participar deste estudo?

Não esperamos que tal fato ocorra, já que amostras de sangue são normalmente coletadas durante a cirurgia cardíaca e o tempo de permanência na unidade de terapia intensiva. Entretanto podem ocorrer algumas complicações relacionadas a cateterização da árteria e não propriamente a coleta das amostras. As complicações mais comuns são isquemia, hemorragia local e hematoma. Essas complicações poderão ser evitadas com a retirada do cateter em até 72 horas de pós-operatório, com a fixação adequada do local cateterizado e observação de sinais que demonstrem alguma anormalidade. Caso aconteça alguma dessas complicações, o cateter será retirado pela equipe médica e o local afetado será aquecido e elevado.

Que benefício eu posso esperar?

Os benefícios da pesquisa incluem redução do tempo de hospitalização e de complicações no pós-operatório do seu filho e de outros pacientes que farão cirurgia no coração, pois é sabido que o selênio é um mineral presente no solo e em diversos alimentos. O consumo diário promove um sistema imunológico mais saudável, atua na saúde cardiovascular. As propriedades antioxidantes atuam na destruição de células dos radicais livres, os quais estão relacionados as complicações do pós-operatório de cirúrgica cardíaca com circulação extracorpórea.

Quem poderá ver os registros e saber que meu filho está participando do estudo?

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

Quem devo chamar se tiver qualquer dúvida ou algum problema?
Para perguntas ou problemas referentes ao estudo ligue para Ft. Marlice no número (67) 99976-9449 e/ou para o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS (67) 3345- 7187.

E se eu precisar de algum esclarecimento antes e durante a pesquisa?
Esclarecimentos poderão ser realizados a qualquer tempo pela pesquisadora (telefone acima) ou pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS (telefone acima).

Eu posso não autorizar meu filho a participar da pesquisa ou pedir para sair do estudo?
A participação no estudo é voluntária. Você pode escolher não autorizar seu filho (a) a fazer parte do estudo, ou pode desistir a qualquer momento. Se desistir do estudo, seu (sua) filho (a) vai receber o tratamento padrão para a sua condição. Você receberá uma via assinada deste termo de consentimento.

Declaro que li e entendi este formulário de consentimento e todas as minhas dúvidas foram esclarecidas e que meu filho (a) é voluntário (a) a tomar parte neste estudo.

Nome dos pais e/ou participante_____

Assinatura e nome dos pais e/ou responsável

_____

Assinatura do pesquisador_____

Data_____

ANEXO D– Pedido de autorização para realização de trabalho acadêmico

Associação Beneficente de Campo Grande - Mantenedora do Hospital de Caridade
SANTA CASA
Rua Eduardo Santos Pereira, 88 - CEP 79002-261- Fone 3322-4000 - Campo Grande - MS

ASSOCIAÇÃO BENEFICENTE DE CAMPO GRANDE

Gerência de Ensino, Pesquisa e Educação Permanente

Projeto de Pesquisa: "Dinâmica da Concentração Plasmática de Selênio e do Estresse Oxidativo na Cirurgia Cardíaca Infantil com Circulação Extracorpórea"

Acadêmico: Marlice Oliveira de Oliveira Ulbrecht

Orientador: Drª Lourdes Zélia Zanoni Consolo

Coorientadora: Enfermeira Francis Cardoso

Parecer n.º 30/2015

Pedido de autorização para realização trabalho Acadêmico:

(x) DEFERIDO ( ) INDEFERIDO

Considerando:

a) Obrigatoriedade de manter o sigilo absoluto das informações pessoais dos clientes, dos profissionais e da **identificação** deste hospital;

b) A utilização de imagem deverá ser autorizada por esta gerência;

c) Apresentar o trabalho escrito em sua versão final para apreciação e arquivo do hospital, sob condição de indeferimento de posteriores trabalhos;

Campo Grande, 16 de Novembro de 2015.

Amilton Obino de Abreu
Gerente - GEPEC

ANEXO E – Solicitação de autorização

SOLICITAÇÃO DE AUTORIZAÇÃO

Eu, MARLICE OLIVEIRA DE OLIVEIRA ULBRECHT, responsável pelo projeto de pesquisa intitulado **"DINÂMICA DA CONCENTRAÇÃO PLASMÁTICA DE SELÊNIO E DO ESTRESSE OXIDATIVO NA CIRURGIA CARDÍACA INFANTIL COM CIRCULAÇÃO EXTRACORPÓREA"**, orientado pela Prof.ª Doutora LOURDES ZELIA ZANONI, solicito ao Prof. Doutor WILSON AYACH autorização para desenvolver o estudo no Laboratório de Metabolismo Mineral – FAMED.

Campo Grande, 31 outubro de 2016.

Ciente, autorizo.

Prof. Doutor WILSON AYACH

FAMED

Wilson Ayach

Diretor da Famed/UFMS