

ANDERSON FERNANDES DA SILVA

**CARDIOMIOPATIAS NO SERVIÇO DE CARDIOLOGIA COM
ÊNFASE NO PAPEL DO COBRE**

CAMPO GRANDE

2013

ANDERSON FERNANDES DA SILVA

**CARDIOMIOPATIAS NO SERVIÇO DE CARDIOLOGIA COM
ÊNFASE NO PAPEL DO COBRE**

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. Petr Melnikov

Co-orientadora: Profa. Dra. Lourdes Zanoni Cônsolo

CAMPO GRANDE

2013

FOLHA DE APROVAÇÃO

ANDERSON FERNANDES DA SILVA

**CARDIOMIOPATIAS NO SERVIÇO DE CARDIOLOGIA COM
ÊNFASE NO PAPEL DO COBRE**

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.

Resultado: APROVADO

Campo Grande (MS), 01 de Fevereiro de 2013.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Petr Melnikov

Presidente

Profa. Dra. Débora Marchetti Chaves Thomaz

Titular

Profa. Dra. Gesmar Volga Haddad

Titular

Profa. Dra. Carmem Silvia Martimbianco de Figueiredo

Suplente

DEDICATÓRIA

*A minha mãe, **Ângela Maria**, que acreditou em mim e apoiou minha carreira durante todos esses anos. A meu querido pai, **Laury**, que infelizmente não está mais conosco, mas sei que sua alma está presente e sentindo muito orgulho por minhas conquistas. Aos meus irmãos, **Adriana, Laury Junior e Moisés Adriano**.*

*Dedico ao meu grande amigo **Douglas Cavalcante**, que nos momentos de dificuldade soube dar os conselhos necessários, acreditou e incentivou na busca pelos meus ideais, parceria de todas as horas e pelas inúmeras vezes que me auxiliou pelas buscas dos meus pacientes.*

*A minha grande amiga **Andressa Cabanha**, que sempre esteve comigo durante todos esses anos, nos altos e baixos da vida, mas sempre fortalecendo nossa grande amizade.*

*Aos todos os familiares, minhas avós **Anita e Doralice** e eterno avô **Antônio**.*

Aos meus demais amigos, pelos ótimos momentos de diversão juntos.

Aos meus queridos pacientes, que muito colaboraram na concretização desse sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, o Criador, a fonte da qual procuro toda minha fé e força para encarar cada desafio, sempre buscando conforto e sabedoria nas horas necessárias.

É o nosso dever de agradecer as seguintes instituições que cooperaram na realização do presente estudo.

Ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste e pessoalmente ao seu coordenador, Professor Doutor Ricardo Dutra Aydos.

Ao Núcleo Hospital Universitário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

Ao Laboratório Central – NHU/UFMS.

Ao Centro de Especialidades Médicas (CEM) da Secretária Municipal de Saúde Pública (SESAU) de Campo Grande/MS.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), órgão responsável pela oferta da bolsa.

Agradeço ao Professor Doutor Petr Melnikov, um grande orientador e pesquisador, detentor de um conhecimento inquestionável. Obrigado por ter acreditado em mim e por ter toda essa paciência comigo. Obrigado pelos bons momentos de discussões científicas, acompanhados de boas histórias e descontração. Além de um grande pai científico, um grande amigo.

Agradeço à Professora Doutora Lourdes Zanoni Consolo, pela parceria como co-orientadora, aprendizado na cardiologia e nas técnicas de laboratório e das nossas discussões frutíferas.

Agradeço ao cardiologista Professor Doutor Hamilton Domingos, por acreditar nessa parceria, pelos ensinamentos durante suas consultas e, acima de tudo, pelo seu grande profissionalismo, o que o torna muito querido por nossa equipe e pelos pacientes desse projeto.

Agradeço ao cardiologista Professor Mestre Amaury Edgard Mont’Serrat, pela ajuda na seleção de pacientes e nas discussões do problema.

Agradeço ao psiquiatra Professor Mestre Kleber Francisco Meneghel Vargas, pela ajuda na seleção de pacientes.

Agradeço a cardiologista Doutora Jussara Toshie Hokama, pela ajuda na interpretação dos exames ecográficos.

Agradeço ao Professor Doutor Valter Aragão do Nascimento, grande amigo, sempre disposto a transmitir seus conhecimentos e seus conselhos. Obrigado pela ajuda cotidiana na realização da dissertação e pelo meu crescimento humano e profissional.

Agradeço à senhora Daise, por sempre ter tão prestativa na procura dos prontuários no arquivo central.

Agradeço a equipe administrativa da Pós-graduação, Vera, Áurea, Gabriel e Alisson.

Agradeço a equipe de técnicos do laboratório central, Fernanda, Beth e Isa.

Aos demais membros técnicos não citados destas instituições ficam o meu agradecimento.

“Cuidado com seus pensamentos, pois eles se tornam palavras. Cuidado com suas palavras, pois elas se tornam ações. Cuidado com suas ações, pois elas se tornam hábitos. Cuidado com seus hábitos, pois eles se tornam seu caráter. E cuidado com seu caráter, pois ele se torna o seu destino! O que nós pensamos, nós nos tornamos.”

Frank Outlaw

RESUMO

O propósito do presente trabalho foi o estudo do papel do cobre nas cardiomiopatias. A pesquisa foi realizada no período de agosto de 2011 a dezembro de 2012 em Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. No estudo participaram 47 pacientes provenientes dos consultórios cardiológicos, com a idade entre 30 e 87 anos. As dosagens do cobre foram realizadas no Laboratório de Metabolismo Mineral da instituição pelo próprio autor, usando a técnica de Absorção Atômica. Paralelamente, foram coletados os dados laboratoriais, incluindo hemograma completo, eletrólitos e indicadores bioquímicos. A forma de cardiomiopatia foi estabelecida com base de Doppler ecocardiograma. Foi mostrado que a proporção entre homens e mulheres na cardiomiopatia dilatada (CD) e isquêmica (CI) é maior do que na cardiomiopatia hipertrófica (CH). A proporção étnica entre brancos e pardos na CD é 1:1, na CI é 0,8 e na CH é 2. Para a amostra estudada, a maior incidência no serviço cardiológico corresponde a CD (49%), seguida pela CI (38%) e CH (13%). Apesar da diferença entre os grupos de CD e CI para os parâmetros leucócitos e plaquetas, os valores absolutos se encontram dentro do intervalo de normalidade. Nos demais parâmetros do hemograma, não houve diferença estatística para os três grupos de cardiomiopatias. Houve diferença significativa no metabolismo de glicose entre os grupos de CD e CI. Nos parâmetros do metabolismo lipídico, função renal e eletrólitos do plasma, não houve diferença significativa entre os pacientes dos três grupos. No que diz respeito às concentrações plasmáticas de cobre, não houve diferenças entre os três tipos de cardiomiopatias. As concentrações plasmáticas de cobre nos pacientes com cardiomiopatias em Campo Grande foram maiores que os valores adotados como médias normais na literatura internacional e brasileira. Este alto nível de cobre pode estar relacionado com o aumento do cobre nas cardiomiopatias em geral, mas um acréscimo característico para o local do estudo. Os altos valores de cobre encontrados, até certo grau, podem caracterizar este elemento como marcador do comprometimento miocárdico.

Palavras-chaves: cobre, cardiomiopatia, Doppler ecocardiograma.

ABSTRACT

The purpose of this work was to study the characteristics role of copper in cardiomyopathies as they are presented in the cardiology service. The investigation was carried out from August 2011 to December 2012 in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. Forty seven patients participated in the study, with the age ranging from 30 to 87 years. Analytical determinations were performed by the author at the Laboratory of Mineral Metabolism using the Atomic Absorption technique. In parallel laboratory data were collected which included complete hemogram, electrolytes and biochemical indicators. Forty seven patients participated in the study, with the age ranging from 30 to 87 years. Analytical determinations were performed by the author at the Laboratory of Mineral Metabolism using the Atomic Absorption technique. In parallel laboratory data were collected which included complete hemogram, electrolytes and biochemical indicators. The cardiomyopathies were classified on the basis of Doppler electrocardiograms. The proportion male/female was higher for dilated (DC) and ischemic (IC) as compared to the hypertrophic (HC) form. The ethnic proportion between whites and browns was 1:1 for DC, 0.8 for IC and 2 for CH. The incidence of the cardiomyopathies in the sample under consideration was as follows: DC – 49%; IC – 38% and HC – 13%. Despite the differences in the percentage of white blood cells and thrombocytes, their absolute content expressed in numbers did not exceed those accepted as normal. There was a significant difference in glucose metabolism between DC and IC. As for lipid metabolism, renal function and plasma electrolytes, there was no significant difference found between the three forms of cardiomyopathies. In relation to copper concentrations, no differences have been found between DC, IC and HC, but all the three concentrations in Campo Grande were higher than the values accepted as normal proceeding from the average international and Brazilian sources. These high levels may be related to an increase in cardiomyopathies as such, together with an augmentation owing to the location where the study was carried out. High copper levels detected to a certain degree may be considered as a chemical marker for myocardial involvement.

Keywords: copper, cardiomyopathy, Doppler echocardiography.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	As principais enzimas contendo cobre.....	21
Tabela 2	Níveis de cobre plasmático dos indivíduos sadios em diferentes países..	41
Tabela 3	Comportamento do cobre plasmático em pacientes com cardiomiopatias (dados qualitativos).....	43
Tabela 4	Níveis de cobre plasmáticos em pacientes com cardiomiopatias em comparação com indivíduos sadios (dados quantitativos), mg/L.....	45
Tabela 5	Valor médio da idade e a proporção dos tipos de cardiomiopatias de acordo com etnia.....	58
Tabela 6	Características do hemograma dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.....	60
Tabela 7	Concentração plasmática média dos lipídios dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.....	62
Tabela 8	Características bioquímicas dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.....	64
Tabela 9	Valores médios das concentrações de cobre dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.....	65
Tabela 10	Correlação entre os tipos de cardiomiopatias e parâmetros do Doppler ecocardiográfico com a concentração de cobre.....	66

LISTA DE FIGURA

Figura 1	Os centros ativos da citocromo c-oxidase.....	22
Figura 2	Centro bimetálico Cu-Cu da citocromo c-oxidase.....	23
Figura 3	Ciclo catalítico da citocromo c-oxidase.....	23
Figura 4	Esquema do processo da formação da lisil oxidase.....	25
Figura 5	Estrutura da lisil oxidase procedente do fermente <i>Pichia pastoris</i>	25
Figura 6	Esquema da condensação aldólica com a formação da dupla ligação entre as fitas.....	27
Figura 7	Esquema das ligações cruzadas.....	28
Figura 8	Esquema da atividade funcional da lisil oxidase.....	28
Figura 9	Cardiomiopatias: Classificação da Organização Mundial da Saúde, 1995.....	30
Figura 10	Cardiomiopatias: Classificação da Associação Americana para Doenças do Coração, 2006.....	34
Figura 11	Cardiomiopatias: Classificação da Sociedade Europeia de Cardiologia, 2007.....	35
Figura 12	Consequência do alto cobre plasmático.....	47
Figura 13	Consequência do baixo cobre plasmático.....	48
Figura 14	Incidência dos três grupos de cardiomiopatias.....	57
Figura 15	Comparação dos valores refletindo a presença de dois gêneros para os três tipos de cardiomiopatias.....	57
Figura 16	Comparação dos valores refletindo a presença de dois tipos de etnias para os três tipos de cardiomiopatias.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADP	adenosina difosfato
ATP	adenosina trifosfato
AHA	American Heart Association
CEM	Centro de Especialidades Médicas
DNA	ácido desoxirribonucleico
ESC	European Society of Cardiology
LOX	lisil oxidase
NHU	Núcleo Hospital Universitário
OMS	Organização Mundial da Saúde
Redox	redução oxidação
RPE	ressonância paramagnética eletrônica
SESAU	Secretaria Municipal de Saúde Pública
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TPQ	cofator topaquinona

LISTA DE SÍMBOLOS

Å angström

β beta

°C graus Celsius

COH grupo aldeído

Cu cobre

Fe ferro

g grama

H₂O₂ peróxido de hidrogênio

L litro

μl microlitro

mg miligrama

mg/% miligrama/cento

NH₃ amônia

nm nanômetro

OH[•] radical hidroxila

OH⁻ hidroxila

Zn zinco

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	RESUMO BIBLIOGRÁFICO.....	18
	2.1 Cobre.....	18
	2.2 As principais enzimas do cobre.....	20
	2.3 Formação das ligações cruzadas.....	26
	2.4 Colágeno no coração.....	29
	2.5 Classificação das cardiomiopatias.....	30
	2.6 Doenças devidas exclusivamente às alterações no metabolismo de cobre.....	36
	2.7 Características morfológicas das cardiomiopatias.....	38
	2.8 Cobre e as cardiomiopatias.....	42
	2.9 Consequências do déficit de cobre para o sistema cardiovascular.....	46
	2.10 Justificativa.....	48
3	OBJETIVOS.....	50
4	CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	51
5	RESULTADOS.....	56
6	DISCUSSÃO.....	67
7	CONCLUSÃO.....	75
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	77
9	APÊNDICE.....	88
	APÊNDICE 1 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	88

	APÊNDICE 2 - Protocolo de coleta.....	90
10	ANEXO.....	92
	Anexo 1 - Aprovação do Comitê de Ética em Seres Humanos.....	92
	Anexo 2 - Características gerais dos participantes do estudo.....	93
	Anexo 3 - Parâmetros estruturais conforme estudo Doppler Ecocardiográfico.....	94
	Anexo 4 - Parâmetros de volumes ventriculares e de função conforme estudo Doppler ecocardiográfico.....	96
	Anexo 5 - Parâmetros descritivos e diagnóstico de cardiomiopatia conforme estudo Doppler Ecocardiográfico.....	98
	Anexo 6 - Características do hemograma dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatia.....	100
	Anexo 7 - Características do metabolismo lipídico dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.....	104
	Anexo 8 - Características do metabolismo bioquímico dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.....	106
	Anexo 9 - Resultados das dosagens das concentrações plasmáticas de cobre.....	108

1 INTRODUÇÃO

No século XIX, as cardiomiopatias eram definidas como “doenças do músculo cardíaco de causa incerta”. Com a compreensão cada vez maior da etiologia e patogênese, as diferenças entre cardiomiopatia e doenças específicas do coração tornaram-se menos pronunciadas.

Atualmente o termo cardiomiopatia é usado para descrever as doenças do músculo cardíaco associadas com alterações específicas ou sistêmicas [1]. Isto fez com que o grupo de cardiomiopatias abrangesse um grande número de doenças e síndromes de etiologias bem diferentes - infecciosa, viral, tóxicas, autoimunes, etc. Este conjunto heterogêneo tem a ver não somente com o funcionamento do coração como tal, mas praticamente com todos os órgãos e sistemas do organismo [2].

Foi demonstrado que cobre é um dos fatores na patogênese das cardiomiopatias, podendo estar envolvido na etiologia, devido à capacidade de seus átomos estabelecerem o fluxo de elétrons que participam nas cadeias mais importantes do metabolismo nos organismos. Além disso, cobre é o elemento que constitui a parte ativa das metaloenzimas quer como Cu, Zn – superóxido dismutase e outras mais, totalizando até 300 enzimas.

Deste modo, em praticamente todas as cardiopatias ocorre alteração dos níveis de cobre plasmático. Isto não significa, no entanto, que o cobre define as características da doença. Pelo contrário, pode acontecer que os níveis de cobre são determinados pela doença do coração. Esta situação deve ser considerada quando se levam em consideração os diferentes tipos de tratamento, incluindo aqueles que influenciam a concentração plasmática de cátions. Isto faz com que na mesma cardiopatia, por exemplo, durante o uso de diuréticos, as concentrações de elementos traços podem se alterar de modo significativo.

Nessa situação, pode ser adotado um enfoque que se centraliza nos metais bioativos e não numa determinada doença cardíaca. O propósito deste projeto é investigar os níveis plasmáticos de cobre nos pacientes com os mais variados diagnósticos, sempre se mantendo nos limites as enfermidades do coração. Tal ideia permitirá caracterizar o leque da potencialidade do cobre como metal bioativo e propor, quando for necessário, sua suplementação – nos casos de déficit – ou sua eliminação – nos casos de níveis excessivos e até tóxicos.

2 RESUMO BIBLIOGRÁFICO

2.1 Cobre

2.1.1 Considerações gerais

Cobre é um metal do segundo grupo da tabela periódica que pertence ao grupo de elementos que contém elétrons s por fora da camada d preenchida [3].

Este elemento é considerado um dos primeiros metais conhecidos pelo homem, que provavelmente passou a ser usado entre 8000 e 7000 anos a.C.. Alguns utensílios de cobre foram encontrados em tumbas egípcias em torno de 5000 a.C.. A palavra *cobre* deriva do Latim *cuprum*, referindo-se à ilha de Chipre onde se encontraram antigas minas de cobre. Apesar de longa história de interação entre cobre e o homem, o fato que o cobre esteja presente nos organismos vivos não ficou conhecido até o século XIX e confirmado, pela sua presença nas plantas nos anos vinte do século passado [4].

Há tempo acreditava-se que o cobre nos organismos vivos pudesse desempenhar as funções catalíticas. Com o advento da bioquímica moderna, foi possível comprovar que isso realmente foi o caso, já que o cobre foi reconhecido como a parte essencial das moléculas de múltiplas enzimas [5].

O cobre é encontrado em um grande número de enzimas responsáveis pela transferência de elétrons, ativação de oxigênio e outras pequenas moléculas, tais como óxido de nitrogênio, metano, monóxido de carbono e superóxido dismutase. No estado de oxidação de +1 o cobre, assim como o ferro +2, as formas reduzidas podem catalisar o processo da

geração do radical livre hidroxila a partir de água oxigenada conforme a reação de Fenton que entre os bioquímicos é conhecida como “química de Fenton”:



O Cu (I) pode formar complexos com os números de coordenação 2, 3 ou 4; no entanto, o Cu (II) prefere números coordenados 4, 5 ou 6. No que diz respeito aos complexos com coordenação 4, sua geometria é diferente: os de Cu (II) são quadrado-planos e os de Cu (I) são tetraédricos. Entre elementos bivalentes pertencentes à série de transição, Cu (II) forma os complexos mais estáveis.

Nos organismos vivos as concentrações intracelulares de cobre livre são mantidas em níveis extremamente baixos, provavelmente devido ao fato que o metabolismo intracelular de cobre esta intimamente ligado às proteínas *chaperonas* contendo cobre. Essas proteínas ‘protegem’ os íons de Cu (II) contra as mudanças do pH e servem como meio de transporte dos íons de cobre através da parte apical até a parte basal da célula. As proteínas chaperonas também transportam o cobre para os sítios de síntese de suas proteínas específicas, tais como citocromo oxidase, superperóxido dismutase e as oxidases contendo múltiplos átomos de cobre inseridos no aparelho de Golgi.

Nas proteínas contendo cobre, existem três tipos deste metal classificados por seu espectro visível no ultravioleta e RPE (Ressonância Paramagnética Eletrônica). Os tipos I e II caracterizam-se pela presença de um átomo de cobre; os do tipo I tendo uma coloração azul intensa e os do tipo II quase não possuem cor. Ambos mostram um sinal no espectro RPE devido à presença do elétron desemparelhado característico de radicais livres. No entanto, nos

compostos contendo cobre do tipo III o sinal RPE é silencioso o que indica a presença de um centro ativo mais complexo, o qual está composto de dois átomos de cobre. Quando estes elétrons se emparelharem, o sinal espectral para de ser produzido.

Os átomos de cobre tipo I coordenam normalmente três ligantes fortes: uma cisteína e duas histidinas; ao mesmo tempo podem coordenar um ou dois ligantes fracos, tais como a metionina (através o enxofre) ou oxigênio. De um modo geral, os átomos de cobre tipo III coordenam três histidinas com um ligante em ponte, tal como o oxigênio ou uma hidroxila [5].

2.2 As principais enzimas de cobre

Como foi anteriormente mencionado, o cobre forma um grande número de enzimas que se relacionam com tecido conjuntivo e seu metabolismo. No homem, o coração, o cérebro e o fígado desempenham várias atividades metabólicas e aceleradas; portanto, seu funcionamento precisa de um maior número de enzimas. Posto que a maioria das enzimas-chave destinadas para a oxidação e proteção do tecido conjuntivo contém cobre, a deficiência desse elemento se manifesta clinicamente mais precoce no funcionamento desses órgãos vitais. Portanto, os dados da atuação de cobre são evidentemente contraditórios. Assim, *in vivo* o cobre é considerado como anti-oxidante, mas os experimentos em *in vitro* mostram que esse elemento pode induzir peroxidação lipídica [6]. Esta contradição pode ser contornada, considerando que na realidade existem dois tipos de cobre. Cobre livre induz a formação do radical superóxido através do processo de Fenton [7], devido ao processo redox. Neste caso, os organismos não reconhecem este elemento propriamente como o cobre e sim como um íon de duas cargas que pode se oxidar ou se reduzir. Por outra parte, os organismos não cometem erro em reconhecer o cobre como o único sistema eletrônico que lhes permite realizar suas

específicas funções. Este cobre encontra-se localizado no interior das moléculas de enzimas [8], e a sua deficiência seguramente iria produzir efeitos negativos.

As enzimas mais importantes para o tecido conjuntivo estão apresentadas na Tabela 1:

Tabela 1 – As principais enzimas contendo cobre^{*)}.

Nome comum	Papel funcional	Possíveis consequências da deficiência de cobre
Citocromo C-oxidase	Transporte e troca de elétrons nos processos de oxidação	Fraqueza muscular, cardiomiopatia, degeneração cerebral
Lisil oxidase	Ligação cruzada de colágeno de elastina	Ruptura dos vasos, flacidez da pele, debilidade das juntas, osteoporose, enfisema, diverticulose da bexiga.
Ceruloplasmina	Oxidação de Fe(II) para Fe(III), oxidação de aminas, transporte de Cu, equilíbrio redox nas membranas	Anemia, deficiência de disponibilidade de cobre para os tecidos, alterações de metabolismo celular.
Superóxido dismutase	Desintoxicação dos radicais livres	Danificação de membranas, outros danos devidos aos radicais livres.
Tirosinase	Produção de melanina	Despigmentação.
Dopamina-β-hidroxilase	Produção de catecolaminas	Alterações neurológicas, alterações no transporte e distribuição de cobre.
Fator de coagulação V	Coagulação do sangue	Tendência para o sangramento

^{*)} Fonte: [9, 10]

Neste resumo, vamos entrar em detalhes apenas na estrutura de duas enzimas representativas. A citocromo c-oxidase e a lisil oxidase já que pela definição, participam da oxidação, mas de maneiras totalmente diferentes.

A primeira enzima atua como bomba de prótons através do sistema de ligações de hidrogênio, sendo ativa em todos os tecidos do organismo, sendo o coração apenas um dos seus órgãos alvos. Depois do cérebro, é o órgão cuja cadeia respiratória precisa do maior aporte de oxigênio.

Na Figura 1 estão apresentados os centros ativos da citocromo c-oxidase do coração bovino os quais, além do cobre, contém ferro, cálcio, magnésio e zinco. O grupo prostético, através o qual ocorre à redução da enzima é hemo, parente do grupo hemo da hemoglobina [11].

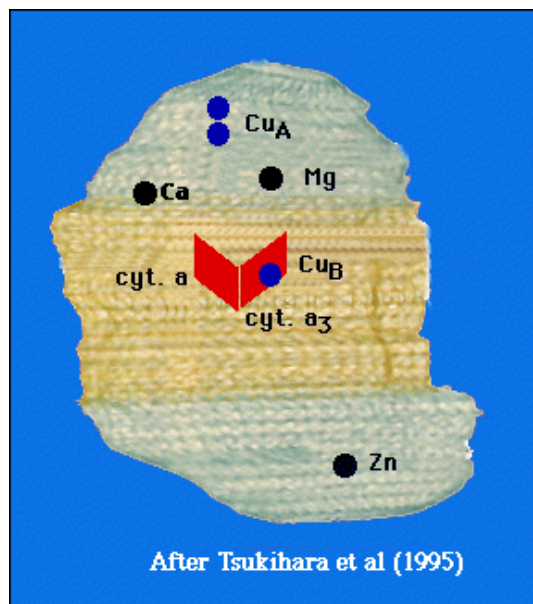


Figura 1 - Os centros ativos da citocromo c-oxidase. Fonte: [12], acesso livre.

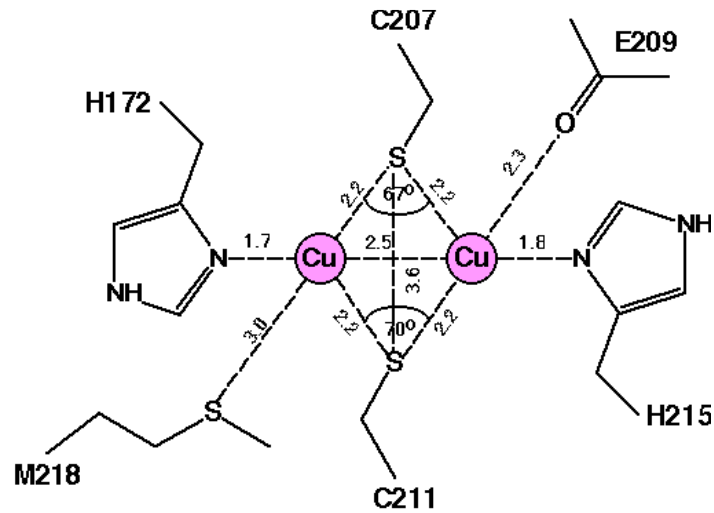


Figura 2 - Centro bimetalico Cu – Cu da citocromo c-oxidase. Fonte: [12] , acesso livre.

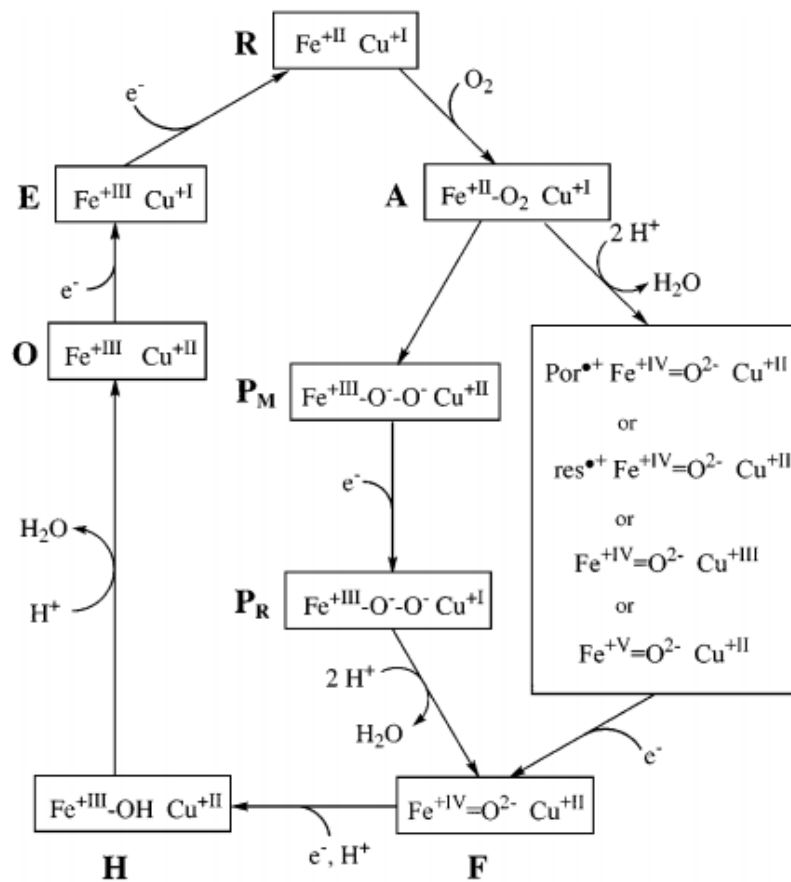


Figura 3 - Ciclo catalítico da citocromo c-oxidase. Fonte: [13] , acesso livre.

No centro-chave encontram-se dois átomos de cobre conforme ilustrado na Figura 2. A distância interatômica Cu – Cu nesse centro binuclear é de 2.5 Å, ou seja, é comparável com o comprimento de ligação 2.2 Å entre cada átomo de cobre e duas cisteínas que atuam como ligantes de ponte. Outras duas histidinas funcionam como ligantes terminais de cada átomo metálico.

O ciclo catalítico completo da citocromo c-oxidase está apresentado na Figura 3. Como podemos observar, nos complexos processos redox participa a dupla cobre-ferro, cada metal manifestando três estados de oxidação, incluindo as valências que na química tradicional são consideradas exóticas: Cu(I), Cu(III) e Fe(IV). O íon de ferro quadrivalente se forma pela dismutação do Fe(III) em Fe(II) e Fe(IV). As moléculas de água se reduzem por Fe(III) formando o íon peróxido que participa na maioria das reações consecutivas. É natural que a estrutura dispõe de vastos canais para o transporte de oxigênio e água [13].

A segunda enzima imprescindível para o coração é a lisil oxidase ou, mais exatamente, o grupo de lisil oxidases e hidroxilisiloxidases que atuam como doadores de oxigênio eliminando o grupo amina. Deste modo, podem ser classificadas dentro de uma classe mais ampla de amino oxidases. Além da própria lisil oxidase (LOX), o mencionado grupo contém enzimas similares a ela (LOX-like enzymes) que são proteínas de maior expressão no sistema cardiovascular [14]. A proteína é sintetizada na forma de proenzima, a qual, após modificações postranslacionais no retículo endoplasmático e aparelho de Golgi, é secretada ao espaço extracelular onde é processada adicionalmente para formar a enzima madura.

O esquema da Figura 4 mostra os três níveis do processo da formação da lisil oxidase junto com as substâncias que aceleram e desaceleram cada etapa.

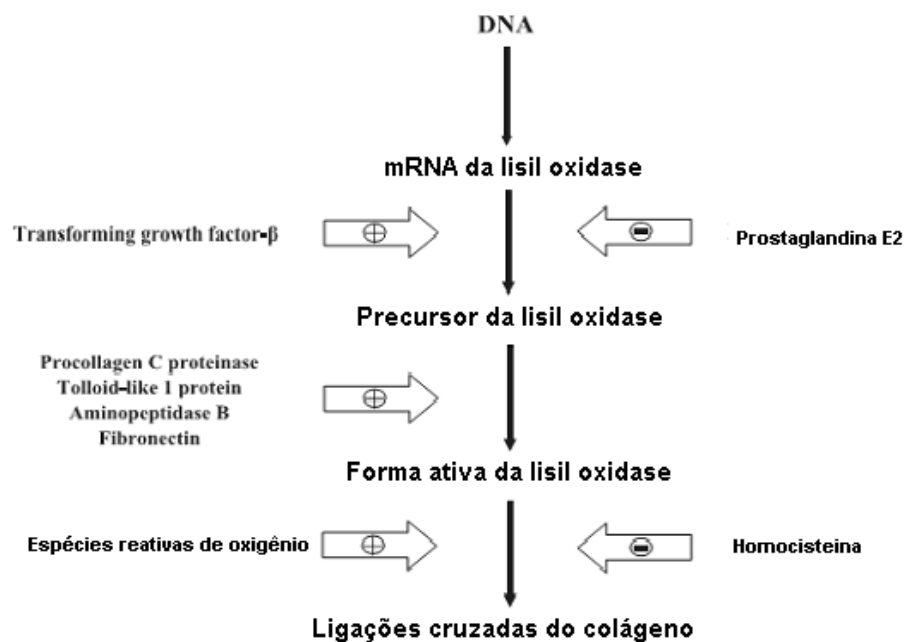


Figura 4 - Esquema do processo da formação da lisil oxidase. Fonte: [14], com modificações, acesso livre.

O arranjo esteriométrico da lisil oxidase procedente do fermento *Pichia pastoris* está ilustrado na Figura 5. No começo do trabalho os autores advertem que essa estrutura não diferencia principalmente da lisil oxidase humana.

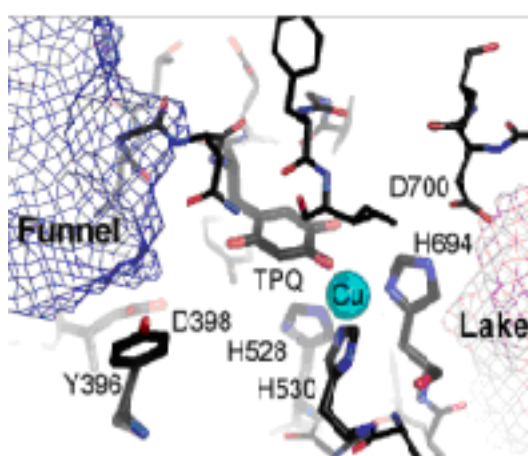


Figura 5 - Estrutura da lisil oxidase procedente do fermento *Pichia pastoris*.

Fonte:[15], acesso livre.

No desenho apresentado observa-se que o íon de cobre (levemente deslocado do centro) coordena três histidinas. Perto do átomo de cobre encontram-se o cofator topaquinona (TPQ), característico das lisil oxidases especializadas no processamento do colágeno e elastina. As áreas de funil (Funnel) e lago (Lake) correspondem aos caminhos através os quais componentes hidrófilos têm acesso para o interior da enzima [15].

2.3 Formação das ligações cruzadas

O colágeno apresenta propriedades estruturais rígidas, tornando-o responsável pela produção e manutenção do tecido conjuntivo, incluindo o músculo cardíaco e a parede das artérias. São conhecidos vários tipos de moléculas monoméricas de colágeno que possuem a cadeia lateral do aminoácido formada pela lisila e hidroxilisila abertas a ação enzimática.

Esta parte da molécula proteica sob ação da enzima lisil oxidase (Figura 6) perde o seu grupo amina na forma de NH_3 e no sítio da dupla ligação livre coloca-se um oxigênio proveniente doado pela enzima. Deste modo, na cadeia lateral forma-se um grupo aldeído - COH. Após a formação dos aldeídos terminais, duas cadeias do protocólágeno se ligam entre si, havendo a liberação de uma molécula de água.

Esse processo chama-se condensação aldólica e pode continuar infinitamente, até formar um polímero linear. No caso do colágeno, o produto de condensação de duas lisilas reagem com outra molécula cujo grupo lateral é representado pela histidina.

Desse modo, ocorre a formação de uma estrutura bidimensional. O fato do grupo aldeído ainda permanecer na molécula, permite com que ele ainda reaja com o grupo amina da outra cadeia lateral de lisila, formando um “nó” que é à base das ligações cruzadas entre as

fibrilas primárias do colágeno. Existe ainda o mecanismo não enzimático da ligação cruzada que tem menor contribuição para o processo.

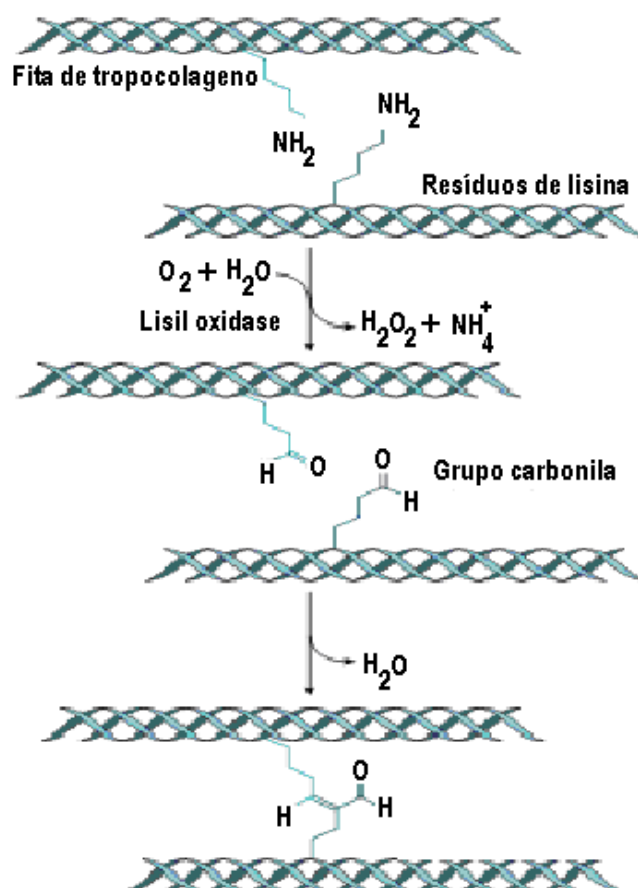


Figura 6 - Esquema da condensação aldólica com a formação da dupla ligação entre fitas.

O resultado final é o colágeno insolúvel e resistente, apresentando uma estrutura tridimensional (Figura 7) e proporcionando suporte e estabilidade ao tecido conjuntivo de vários órgãos. As etapas deste processo estão ilustradas no esquema da Figura 8. No que diz respeito à forma reduzida da enzima, essa sofre reoxidação incorporando oxigênio livre e fica prestes para o ciclo seguinte da formação de ligações cruzadas [14].

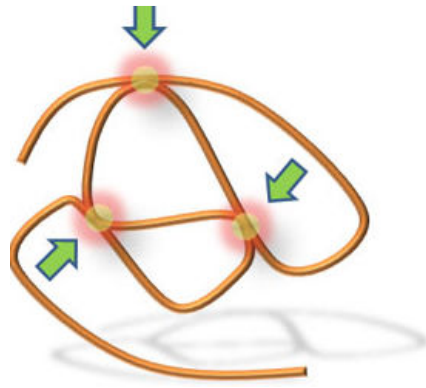


Figura 7 - Esquema das ligações cruzadas [14] , acesso livre.

Porém, quando o organismo precisar, sobre tudo nos homens e nos animais jovens, está prevista a possibilidade de reverter o processo de condensação obtendo-se o colágeno menos rígido ou suas fibras quebradas. Existem enzimas, por exemplo, a collagenase e hormônios, como a *relaxina*, que provocam o remodelamento do tecido conjuntivo. A relaxina atua na região pélvica durante a gestação diminuindo a união dos ossos da pelve e alargando o canal para a passagem do feto [16]. O caso extremo é o comportamento reversível da gelatina comum que pode ser dissolvida formando solução coloidal ou precipitada na forma de fibrilas.

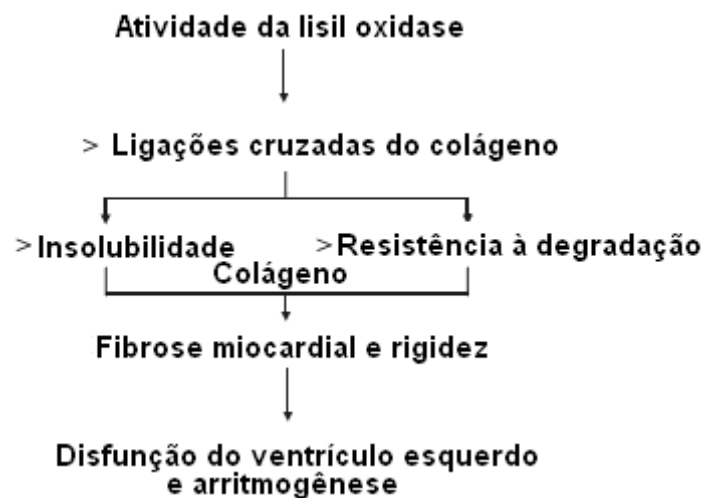


Figura 8 - Esquema da atividade funcional da lisil oxidase. Fonte: [14], com modificações, acesso livre.

2.4 Colágeno no coração

A cardiologia clássica se baseia na suposição de que as alterações patológicas no músculo cardíaco, na sua maior parte, são relacionadas ao funcionamento dos miócitos e proteínas contráteis e aos respectivos processos eletroquímicos, incluindo a condução, polarização e despolarização das células. No entanto, nos últimos 30 anos fortaleceu-se a ideia de que a matriz extracelular apresenta um sistema morfológico complementar ao sistema propriamente muscular e que tem a ver com a organização e suporte dos miócitos no espaço. Seu funcionamento permite achar respostas a uma série de transformações patológicas do miocárdio e com a sua elasticidade, em particular. Os pesquisadores desta corrente afirmam que o miocárdio forma um contínuo estrutural que inclui não só as válvulas, cordas tendíneas e o interstício, mas também uma sofisticada e multifuncional rede de colágenos altamente especializados [17].

Morfologicamente distingue-se o colágeno *epimisial*, isto é, as bainhas que recobrem o sistema muscular, *perimisial* que se encontra entorno dos feixes de miócitos e, finalmente, *endomisial*, ou seja, aquele que envolve os miócitos individuais e realiza as conexões entre eles. Esta armação preserva a arquitetura do coração prevenindo o deslocamento e superalongamento dos miócitos, e desta forma protege o coração contra ruptura. Além disso, a rede do colágeno coordena a transmissão da força mecânica dos miócitos para o sangue.

Quimicamente distinguem-se vários tipos de colágeno, de I a XXIX. Nos humanos, 90% pertencem ao tipo I. No miocárdio, os tipos de I a VI formam um conjunto, determinando as propriedades e o metabolismo da matriz extracelular cardíaca. Além do colágeno, esta matriz contém múltiplas enzimas e suas antagonistas, metaloproteínases, fatores que regulam a viscosidade do meio, íons metálicos e outros componentes pouco conhecidos. O que nos interessa no presente trabalho é a relação dos elementos traços, cobre

em particular, com o funcionamento do colágeno e as consequências que essa relação tem para o sistema cardiovascular como um todo.

2.5 Classificação de cardiomiopatias

2.5.1 Classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS)

No ano de 1995, a Organização Mundial da Saúde (OMS), publicou sua última versão da classificação das cardiomiopatias [1] que são consideradas doenças pandêmicas. Este documento ainda é considerado básico, apesar de muitas críticas que apontam para sua incapacidade de conciliar a experiência clínica com as bases fisiológicas e os novos descobrimentos na área da biologia molecular. Contudo, existem muito aspectos positivos, dos quais o mais importante é a possibilidade de se comparar resultados obtidos em vários centros clínicos. Sem esse tipo de base, não seria possível fixar certas diretrizes e conseguir homogeneidade da terminologia.

O esquema proposto pelos membros do comitê da OMS define a cardiomiopatia como sendo uma doença do miocárdio associada com disfunções cardíacas e supõe uma divisão em cinco grupos (Figura 9).

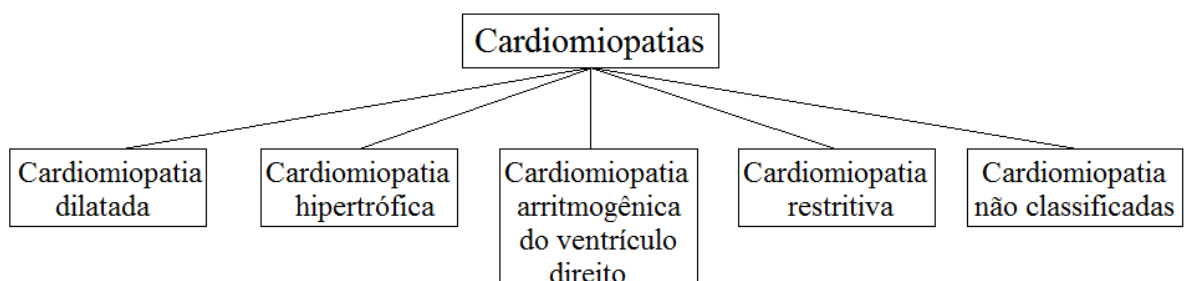


Figura 9 - Cardiomiopatias: Classificação da Organização Mundial da Saúde, 1995.

2.5.1.1 Cardiomiopatia dilatada

A cardiomiopatia dilatada caracteriza-se pela dilatação e contração alterada do ventrículo esquerdo ou de ambos os ventrículos. Ela pode ser idiopática, familiar, genética, viral e/ou imune. Ao mesmo grupo pertencem cardiopatias devido ao alcoolismo ou efeitos tóxicos, ou associadas com uma doença cardiovascular reconhecida na qual o grau da disfunção miocárdica não pode ser explicada pelas condições de sobrecarga ou pelo dano isquêmico.

A histologia na cardiomiopatia dilatada não tem sinais específicos, frequentemente esse tipo de cardiomiopatia esta presente junto com insuficiência cardíaca que pode ter caráter progressivo. São frequentes arritmias, tromboembolismo e morte súbita que podem ocorrer em qualquer estágio.

2.5.1.2 Cardiomiopatia restritiva

A cardiomiopatia restritiva caracteriza-se pelo preenchimento restritivo e o volume diastólico reduzido de um ou de ambos os ventrículos, com uma função sistólica normal ou quase normal, com as paredes grossas. A fibrose intersticial pode ser aumentada. A doença pode ser idiopática ou associada com outra doença, tais como: amiloidose e doença endomiocárdica com ou sem hipereosinofilia.

2.5.1.3 Cardiomiopatia hipertrófica

A cardiomiopatia hipertrófica caracteriza-se pela hipertrofia do ventrículo esquerdo e/ou direito. Geralmente é assimétrica e envolve um septo interventricular. É comum que o volume do ventrículo esquerdo seja normal ou reduzido.

É uma doença familiar com características autossômica dominantes, causada pelas mutações nos genes das proteínas contráteis. As alterações típicas na morfologia incluem hipertrofia de miócitos e desarranjo nas áreas do tecido conjuntivo mole. Arritmias e a morte prematura súbita são comuns.

2.5.1.4 Cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito

A cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito se caracteriza pela substituição progressiva do miocárdio do ventrículo direito pelo tecido fibroadiposo. Começa pelo envolvimento do tecido regional do ventrículo direito e algumas alterações no ventrículo esquerdo, poupando o septo até certo grau.

Enfermidade familiar é comum, devido à herança autossômica dominante com penetração incompleta; foi descrita também a forma recessiva. São comuns manifestações com arritmias e a morte súbita, especialmente nos jovens.

2.5.1.5 Cardiomiopatias não classificadas

As cardiomiopatias não classificadas incluem os casos que não encaixam facilmente em nenhum dos grupos acima, por exemplo, fibroelastose, miocárdio não compacto, disfunção sistólica com dilatação mínima e envolvimento mitocondrial. Algumas doenças podem manifestar-se com mais de um tipo de cardiopatias (amiloidose, hipertensão sistêmica).

É conhecido que as arritmias e alterações de condução podem ser desordens miocárdicas primárias, até o momento não foram incluídos nas cardiomiopatias.

2.5.2 Classificação da American Heart Association (AHA)

Dez anos após a publicação da OMS, em 2006 a Associação Americana para Doenças do Coração publicou um documento [18] com o título “Definições e Classificações Contemporâneas de Cardiomiopatias”, alegando a necessidade de se atualizar as classificações anteriores, devido aos avanços consideráveis na genética molecular da cardiologia e identificação de novas doenças intimamente relacionadas com a função do miocárdio. Os membros da comissão chegaram a seguinte definição: cardiomiopatias é um grupo heterogêneo de doenças do miocárdio associadas à disfunção mecânica e/ou elétrica que geralmente (mais não necessariamente) produz uma hipertrofia ventricular inadequada ou dilatação que são devidas a uma variedade de causas que frequentemente são genéticas.

As cardiomiopatias ou são relacionadas ao coração ou fazem parte de uma alteração sistêmica, frequentemente levando a uma morte cardiovascular ou incapacidade por insuficiência cardíaca.

A complexidade dessa definição reflete a variedade de opiniões de autores que participaram na elaboração desse documento. É provável que no início das discussões, a proposta fosse mais clara. Contudo, parece que para chegar num consenso o comitê foi obrigado a introduzir correções e detalhes, que fizeram com que o documento final saísse “sobrecarregado de itens” parcialmente desnecessários.

O novo esquema propõe subdividir as cardiomiopatias em primárias e secundárias. Para o presente trabalho há maior interesse nas cardiomiopatias primárias que se encontra no esquema abaixo (Figura 10).

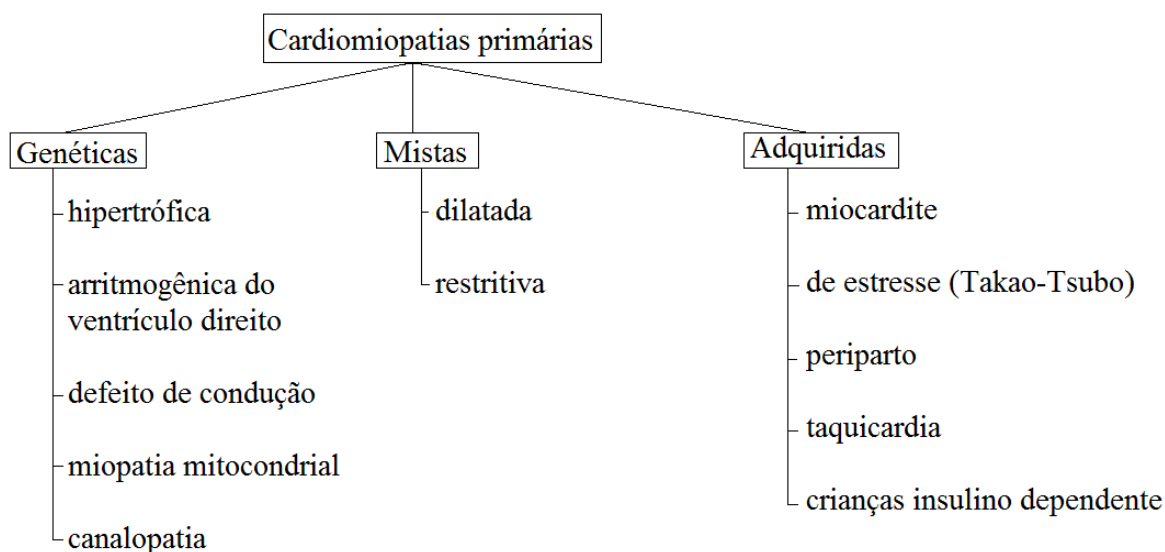


Figura 10 – Cardiomiopatias: Classificação da Associação Americana para Doenças do Coração, 2006.

Conforme essa classificação a cardiomiopatia mista pode ser considerada como uma doença, cuja característica principal é a dilatação ventricular e disfunção sistólica/ventricular esquerda na ausência de condições agravantes (hipertensão, alterações valvulares, doença coronariana capaz de produzir alterações sistólicas globais). Ao redor de 25% de pacientes do mundo ocidental apresentam distúrbios familiares de caráter predominantemente autossômico dominante. Isto claramente coloca esta porcentagem dos pacientes no primeiro grupo, que corresponde às patogêneses genéticas. A novidade dessa classificação é a introdução do conceito de canalopatias como fatores etiopatogênicos.

A cardiomiopatia hipertrófica que está figurando no grupo genético, nem sempre é de caráter genético, posto que poderia ser devida ao estresse hemodinâmico e as doenças sistêmicas, tais como amiloidose, e alterações no armazenamento do glicogênio.

A maior dificuldade para os autores foi classificar a cardiomiopatia restritiva, já que pode ocorrer em uma variedade de patologias onde a síndrome cardíaca nem sempre é

predominante. Além disso, tem formas que são descritas como idiopáticas. Desse modo, esse tipo de cardiomiopatia pode ser classificada em qualquer dos três grupos propostos.

2.5.3 Classificação da European Society of Cardiology (ESC)

Paralelamente, no ano de 2007 foi elaborada a classificação proposta pela Sociedade Europeia de Cardiologia [19], cujo propósito principal era reconciliar as necessidades da prática clínica com os recentes avanços da pesquisa na área de cardiologia. O grupo de trabalho dedicado às doenças do miocárdio e pericárdio definiu as cardiomiopatias como alterações miocárdicas de causa desconhecida, alterações no músculo cardíaco de etiologia desconhecida ou associadas com doenças sistêmicas.

O novo esquema (Figura 11) propõe dividir as cardiomiopatias conforme dois conceitos diferentes: conceito clínico e conceito genético familiar.

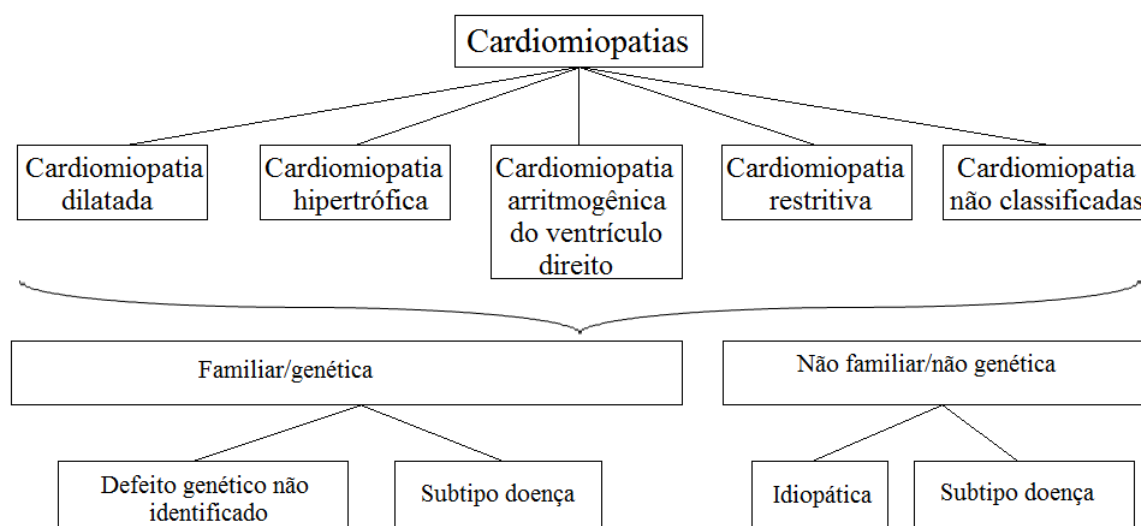


Figura 11 – Cardiomiopatias: Classificação da Sociedade Europeia de Cardiologia, 2007.

Deste modo, desaparece a ambiguidade enquanto a etiologia das cardiomiopatias reconhecidas clinicamente. A parte clínica corresponde às cinco subdivisões, cada uma das quais ao mesmo tempo pode ser caracterizada do ponto de vista genético, positivo ou negativo. A subdivisão seguinte da parte genética considera a existência de duas possibilidades. O defeito genético pode ser não identificado o que no caso não familiar corresponde à forma idiopática. No que diz respeito às doenças conhecidas, tanto familiares quanto não familiares, a classificação propõe lista de doenças que podem produzir cardiomiopatia familiar ou não familiar.

Essa última classificação parece ser mais lógica, posto que permita incluir ou excluir o fator genético, conforme a informação clínica existente e o nível do conhecimento teórico atualizado.

Uma recente publicação de pesquisadores brasileiros, conclui que independentemente de divergências entre dois sistemas, no momento atual é importante o modo da condução dos pacientes com cardiomiopatias. A maioria terá uma apresentação com sintomas de disfunção cardíaca e será referenciada a um clínico. Após a avaliação de sintomas, história familiar e sinais físicos, os pacientes são submetidos a uma série de exames complementares da morfologia e fisiologia do seu coração. Finalmente uma investigação genética do paciente e da sua família pode ser realizada, guiada pelos achados clínicos e históricos familiares [20].

2.6 Doenças devidas exclusivamente às alterações no metabolismo de cobre

Entre várias situações clínicas existem somente duas doenças que podem ser atribuídas exclusivamente às alterações do metabolismo de cobre, sendo os demais fatores etiológicos considerados secundários. A doença de Menkes, uma enfermidade genética se

caracteriza pela deficiência de cobre ou, mais exatamente distribuição patológica entre diferentes órgãos devido às mutações no gene responsável pelo transporte de cobre, ATP 7A localizado no braço longo do cromossomo 13. No nível metabólico estas mutações se manifestam nos processos da síntese proteica no fígado levando à deficiência da enzima dopamina- β -hidroxilase. O fígado e o cérebro ficam praticamente sem cobre disponível para a produção e funcionamento de enzimas necessárias para o metabolismo [21].

No que diz respeito ao tecido conjuntivo, a maior parte das alterações nota-se nos vasos sanguíneos. As artérias são alongadas e dilatadas, observando-se o espessamento do espaço subintimal com oclusões parciais. Outro fato conhecido é que nas paredes das artérias aumenta a quantidade de elastina solúvel. O quadro metabólico indica a ausência ou baixo nível de lisil oxidase que, com as ligações cruzadas deveriam fortificar a parede arterial. A doença se manifesta no segundo – terceiro mês da vida extrauterina e tem uma evolução progressiva com danos morfológicos quase sempre irreparáveis. As medidas propostas, incluindo a imediata reposição de cobre, podem prolongar a vida dos pacientes, mas o diagnóstico imuno-histoquímico precoce é demorado sendo disponível apenas em grandes centros neurológicos. Portanto, como regra, o tratamento é tardio e ineficiente, e os pacientes vão a óbito no primeiro ou segundo ano de vida [22].

A patologia contrária, ou seja, a presença do indevido excesso de cobre no organismo é conhecida como doença de Wilson, também chamada de degeneração hepatolenticular devido às manifestações hepáticas e cerebrais. É interessante que o defeito genético está vinculado ao mesmo cromossomo 13, como na doença de Menkes, mas desta vez o gene danificado é o ATP 7B com uma maior expressão no fígado. A enfermidade também tem manifestação multissistêmica com bloqueio da excreção biliar de cobre o acúmulo patológico desse elemento no fígado e nos gânglios basais do cérebro [23]. O envolvimento do coração pode ocorrer, com complicações sérias, tais como: cardiomiopatias, arritmias, disfunção

autônoma e até a morte cardíaca. As anormalidades do eletrocardiograma não são frequentes e são observadas apenas em 34% dos casos. No que diz respeito à morfologia, observam-se alterações sérias, tais como hipertrofia cardíaca, fibrose substitutiva, esclerose dos pequenos vasos intracardiais e focos locais da inflamação celular [24]. Nos casos de diagnóstico precoce com um tratamento adequado (quelantes, zinco, molibdênio), o prognóstico é favorável.

Existe ainda uma doença, cirrose pueril indiana (Indian childhood cirrhosis) devido às alterações no metabolismo do cobre, com a etiologia mista que depende, ao mesmo tempo, dos fatores genéticos e ambientais. Foi descrita recentemente e pouco caracterizada [25].

2.7 Características morfológicas das cardiomiopatias

Cardiopatía idiopática dilatada envolve dilatação ventricular acompanhada da função sistólica prejudicada, com a tendência para a progressiva insuficiência cardíaca. Raras vezes observa-se uma significativa cicatrização.

Apesar de a classificação não apresentar limites bem delineados, a cardiopatía dilatada pode ser subdividida em dois fenótipos clínicos etiologicamente distintos: uma ligada às variedades da citocromo c-oxidase e outra dependente das alterações no metabolismo da lisil oxidase.

Existe um leque de cardiopatías infantis graves devidas às mutações nos genes *Sco1* e *Sco2* que são responsáveis pela síntese de citocromo c-oxidase e alterações nos fibroblastos e, possivelmente, na cadeia respiratória da enzima. A genética dessas doenças é bem estudada, mas na parte bioquímica nem tudo está claro. Supõe-se que as mutações no gene bloqueiam a transferência de cobre para citocromo c-oxidase com a consequente perda da sua ação

catalítica. O exame anatomopatológico dos corações de crianças que foram a óbito mostra uma severa hipertrofia do ventrículo esquerdo. A análise morfológica e ultraestrutural do miocárdio mostra a proliferação de mitocôndrias anormais com citoplasma vacuolizado [26].

No que diz respeito às cardiopatias ligadas a lisil oxidase, no trabalho dedicado a remodelação do colágeno miocárdico humano na cardiopatia idiopática dilatada [27], foi demonstrado que macroscopicamente os corações tinham forma globular com uma marcante dilatação dos átrios e ventrículos. Dos oito corações examinados, seis não tinham alteração aterosclerótica das artérias coronárias. Nos dois casos restantes, havia mudanças moderadas com 30% de estenose na artéria esquerda descendente anterior. As mudanças microscópicas predominantes foram a hipertrofia de fibras miocárdicas e fibrose intersticial. A massa úmida era em 66% maior em comparação com o grupo controle, a massa seca não teve aumento significativo.

A concentração de colágeno nas amostras com cardiomiopatia dilatada foi duas vezes maior que no grupo controle. Isto confirmou os resultados de um trabalho anterior, onde também foi mostrado o aumento de 100% do colágeno [28]. Os resultados de ambos os trabalhos se resumem da seguinte maneira; a dupla concentração de colágeno leva ao quádruplo volume do coração, de modo que as fibras ficam mais distantes e o colágeno tem menor capacidade para formar ligações cruzadas. Por outra parte, a concentração excessiva do colágeno nas posições críticas para o desempenho da função normal, principalmente no aparelho valvular, pode ser parte da remodelação do tecido cardíaco, prejudicando a função do órgão.

Vale à pena adicionar os resultados ao nível da microscopia eletrônica. O estudo das amostras do miocárdio humano realizado pelos pesquisadores japoneses revelaram que a fibrose anteriormente mencionada ocorre por conta do feixe perimisial e as fibras gigantes

enroladas com aproximadamente 20-30 microns em diâmetro. A rede do feixe endomisial denso, formado por fibrilas finas, é constituída predominantemente pelo colágeno dos tipos I e III, moderadamente com o tipo VI e em menor grau o tipo IV [29].

Em um trabalho posterior foi confirmado que na cardiomiopatia dilatada o colágeno é representado principalmente pelos tipos I e III. A avaliação quantitativa permitiu estabelecer que a relação tipo I/ tipo III nos corações com cardiomiopatia dilatada foi mais alta do que no grupo controle. A microscopia eletrônica revelou a presença do colágeno mais denso, heterogêneo na região do perímio contrariando os resultados anteriores [28].

Antes de considerar as alterações nos níveis de cobre em condições patológicas, precisa-se ter um quadro claro dos valores de referência deste elemento obtidos por cortes dos indivíduos sadios, na maioria dos casos voluntários é evidente que somente a comparação com estes dados permite julgar sobre o aumento ou déficit deste elemento nos pacientes com cardiomiopatias. É para ressaltar que na maioria das publicações, dedicadas aos valores analíticos referenciais, o termo “valor normal” é deliberadamente omitido, já que, na prática fica extremamente difícil “normalizar” todos os critérios fisiológicos, ambientais e sociais.

A dificuldade de recompilar valores de referência consiste na ausência, em muitos casos, dos dados sobre cobre plasmático. Em vez disso os autores publicam os resultados de dosagens em sangue total. Para poder comparar os resultados obtidos em vários países (Tabela 2) calculamos o coeficiente de correção que permite recalcular o cobre sanguíneo para cobre plasmático. Com esta finalidade utilizamos as publicações nas quais ambos os valores foram fornecidos paralelamente. Deste modo foi obtida a média da relação $Cu(soro)/Cu(sangue) = 1.14$ que é o coeficiente da correlação.

Tabela 2 – Níveis de cobre plasmático dos indivíduos sadios em diferentes países.

PAÍSES	CONCENTRAÇÕES DE COBRE (mg/L)	REFERÊNCIAS
Europa		
Itália	0,88 – 1,70 (1,18)	30
Itália	0,99 – 1,87 (1,40)	31
Itália	0,78 – 1,32 (1,07)	32
República Checa	0,83 – 1,29 (0,93)	33
Suécia	0,79 – 1,68 (0,97)	34
Alemanha	0,92 – 1,85 (1,16)	35
França	0,91 – 2,31 (1,23)	36
Espanha	M-1,20*) F-1,27**)	37
América		
Brasil	0,81 – 1,97 (1,01)	38
Brasil	0,56 – 1,80 (1,09)	39
Ásia		
China	0,82 – 2,41 (1,13)	40
Turquia	0,81	41
Turquia	1,17	42
Turquia	1,30	43
Turquia	1,31	44
Resumo internacional	0,8 – 1,75 (1,17)	45

M*) – masculino; F**) – feminino.

Da Tabela 2 segue que quanto a média, tanto o intervalo de valores podem mudar significativamente dentro do mesmo país. O caso extremo são os dados da Turquia, onde

foram registrados os valores bem diferentes, isto é, 0,81 e 1,30mg/L. Contudo, o maior intervalo de valores apresentou a China, 0,82 – 2,41.

No Brasil, os dados variam entre 0,81 e 1,97mg/L, isto é, o intervalo é maior que aquele publicado com base nos dados internacionais (0,8 – 1,75mg/L) recopilados de todos os artigos publicados antes do ano de 1988. Isto permite considerar os valores obtidos no Brasil como viáveis para fazer comparações com o conteúdo de cobre no plasma no caso de cardiomiopatias.

2.8 Cobre e as cardiomiopatias

No que diz respeito ao cobre nas cardiomiopatias, na literatura existe muita confusão de caráter metodológico. Os autores que como ponto de partida escolhe cardiopatia, como tal investigam os níveis de cobre em uma ou em várias delas e logo comparam os dados. Esse enfoque metodológico supõe que uma entidade nosológica (cardiomiopatia dilatada, aquela devida a isquemia do miocárdio e outras) é determinante para os níveis de cobre obtidos, como que se esses níveis fossem derivados do próprio processo patológico. O que não nos parece correto, a exceção da cardiopatia que devido às diabetes melitus tipo I, posto que neste caso o nível de insulina seja determinado pelas alterações nas ilhotas de Langerhans do pâncreas. Qualquer cardiomiopatia, diferente daquela decorrente do diabetes, é doença de gênese múltipla, ou seja, depende de um grande número de fatores etiológicos, que podem ser diferentes para cada paciente.

O ponto de partida para o segundo enfoque é aquele quando a quantidade de cobre no organismo é definida como fisiológica deficiente ou excessiva. Os casos extremos são as doenças de Menkes e Wilson já discutidas anteriormente. Além disso, existem, naturalmente, casos intermediários. É evidente que a metodologia nessa situação deve ser contrária ao

enfoque anterior. Quer dizer, para realizar a pesquisa precisar-se-ia criar artificialmente as condições do excesso ou deficiência do cobre para poder observar os efeitos morfológicos, bioquímicos e clínicos.

Contudo, nesse instante surge a dificuldade de caráter ético, já que não é possível deliberadamente criar deficiência ou excesso do metal pesado nos humanos, pois as consequências não são previsíveis e podem ser extremamente perigosas. Portanto, a única opção existente são experimentos em animais. Neste caso, realmente, é possível um controle rigoroso das variáveis experimentais, mas os resultados nem sempre podem ser extrapolados nos humanos.

2.8.1 Aumento de cobre nas cardiopatias

Os dados da literatura conforme o primeiro ponto de vista [41 - 44] se resume na constatação de dois fatos: 1 - os pacientes com cardiomiopatias têm altos níveis de cobre plasmático e 2 – este aumento é característico igualmente para a cardiomiopatia dilatada e cardiomiopatia isquêmica (Tabela 3), assim que não tem sentido diferenciar as duas conforme a cupremia encontrada.

Tabela 3 - Comportamento do cobre plasmático em pacientes com cardiomiopatias (dados qualitativos).

Tipo de cardiomiopatia	Número de pacientes	Nível de cobre plasmático	Referência
Dilatada, isquêmica	28	Aumentado	[46]
	28	Aumentado	[46]
Isquêmica	64	Aumentado	[47]

Isquêmica	40	Aumentado	[48]
Isquêmica	15	Aumentado	[49]
Dilatada	54	Aumentado	[42]
Isquêmica	30	Aumentado	[44]
Isquêmica	27	Aumentado	[43]
Dilatada	16	Aumentado	[41]

Como segue da Tabela 4, somente uma parte das fontes bibliográficas trazem dados quantitativos. A análise destes resultados mostra que as diferenças dentre cada amostra não são marcantes: considerando de perto os valores das concentrações e desvios padrão fica claro que na primeira e terceira linha da Tabela 4, a hipótese de dois grupos diferentes apenas se encaixa no intervalo de erros com $p \leq 0.05$. Além disso, existe um quadro mais complicado do que se enxerga na primeira vista, pois o nível de cobre do grupo controle da referência [44] é maior do que a concentração encontrada nos pacientes com cardiomiopatia referenciada pela fonte [41].

Isto reflete a existência de diferenças entre os valores de cobre normalmente observados em indivíduos que moram em localidades com condições bioclimáticas variadas. Por exemplo, recentemente foi mostrado que o nível de cobre plasmático nas crianças sadias em Mato Grosso do Sul é mais alto do que em outras zonas geográficas [50]. Esta particularidade reflete-se também nas maiores concentrações de cobre no leite humano nas mulheres do mesmo estado [51].

É notável que os dados das quatro fontes consideradas [41 - 44] procedem da Turquia e que os valores do cobre plasmático poderiam ser influenciados pelo extenso uso de vasilhames a base cobre e bronze no Leste Próximo. Mas essa suposição não procede, já que

um dos grupos controle da mesma procedência mostra níveis de cobre extremamente baixos [41].

Agora é o momento de se perguntar qual seria a significância do aumento do cobre em cardiopatias. Poder-nos-íamos supor que o cobre plasmático, quando em excesso, participa na geração de radicais livres e desse modo contribui para o dano oxidativo dos miócitos e artérias coronarianas.

Tabela 4 - Níveis de cobre plasmático em pacientes com cardiomiopatias em comparação com indivíduos sadios (dados quantitativos), mg/L.

Tipo de cardiopatia	Pacientes	Grupo controle	Referência
Isquêmica	1.54±0.52	1.31±0.42	[44]
Dilatada	1.72±0.31	1.17±0.31	[42]
Isquêmica	1.5±0.5	1.3±0.2	[43]
Dilatada	1.28±0.5	0.81±0.2	[41]

Os partidários deste ponto de vista [44] fazem lembrar uma pesquisa ainda dos anos 80, quando foi sugerido fazer uso dos agentes complexantes como trienina, no tratamento do infarto de miocárdio [52]. Porém, neste caso pôde-se argumentar que no caso da trombose coronariana seria tarde propor qualquer medida a longo alcance, incluindo a quelação, quando o infarto já tinha ocorrido e as alterações tornaram-se irreversíveis.

Merece atenção outro ponto de vista já mencionado, isto é, supor que o aumento de cobre não é a causa, mas consequência dos processos patológicos no miocárdio com a destruição das enzimas e liberação dos íons livres do cobre. Em nossa opinião, essa ideia não deve ser rejeitada até as pesquisas aprofundadas comprovarem o contrário. O esquema do metabolismo de cobre nas cardiomiopatias se discute na próxima secção.

2.9 Consequências das alterações nos níveis de cobre para o sistema cardiovascular

Conforme o segundo enfoque em relação ao cobre nas cardiomiopatias, as investigações foram direcionadas nas situações quando o nível de cobre fica artificialmente mantido fixo no organismo. Contudo, das três possibilidades – conteúdo normal, excesso e déficit – tem importância prática apenas o déficit [53]. Está claro que a norma corresponde aos indivíduos sadios e o excesso tem a ver com raros casos da doença de Wilson ou intoxicação com os produtos domésticos e industriais que contêm este metal pesado.

A ingestão dos sais de cobre pode provocar somente sintomas da irritação aguda do trato gastrointestinal como, por exemplo, o vômito que imediatamente elimina do estômago a substância indesejada. Estes episódios não provocam nenhum dano permanente, como é bem sabido dos costumes de Roma Antiga onde o carbonato básico de cobre usava-se como emético nos intervalos das intermináveis comidas festivas.

Como era de se esperar, os experimentos com animais com dietas deficientes de cobre confirmaram graves alterações cardíacas em vários níveis do organismo de ratos e camundongos. Também, estas alterações resultaram parecidas àquelas já descritas para os humanos. Estas manifestações que foram observadas já na década dos anos 80 e confirmadas mais tarde se resumem na hipercolesterolemia, atrofia dos miócitos e fibrose [54, 55] e baixa atividade das enzimas cobre – dependentes, em primeiro lugar da citocromo c-oxidase. As mudanças eletrocardiográficas incluem depressão do segmento S-T, arritmias e abaixamento da voltagem da onda R [56]. Aneurismas dos ventrículos e hemopericárdio também foram observados.

Posteriormente, foi demonstrado que as alterações afetam até os últimos links da cadeia oxidativa: os níveis de ATP e fosfocreatinase no coração e fígado ficam baixos com o

aumento paralelo do ADP. Foi suposto que a deficiência de cobre leva às alterações na interação entre os compostos bioquimicamente primários: carboidratos, aminoácidos, fosfolipídios e ácidos graxos [57]. Contudo, este nível molecular não é o propósito do presente trabalho, no qual serão abordados, principalmente, os problemas clínicos do metabolismo de cobre.

Resumindo este capítulo propomos esquemas da participação do cobre no metabolismo das cardiomiopatias com consequente disfunção muscular (Figura 12 e 13), dos quais segue que qualquer que seja a alteração nos níveis deste metal pesado, em ambos os casos resultam em cardiopatias.

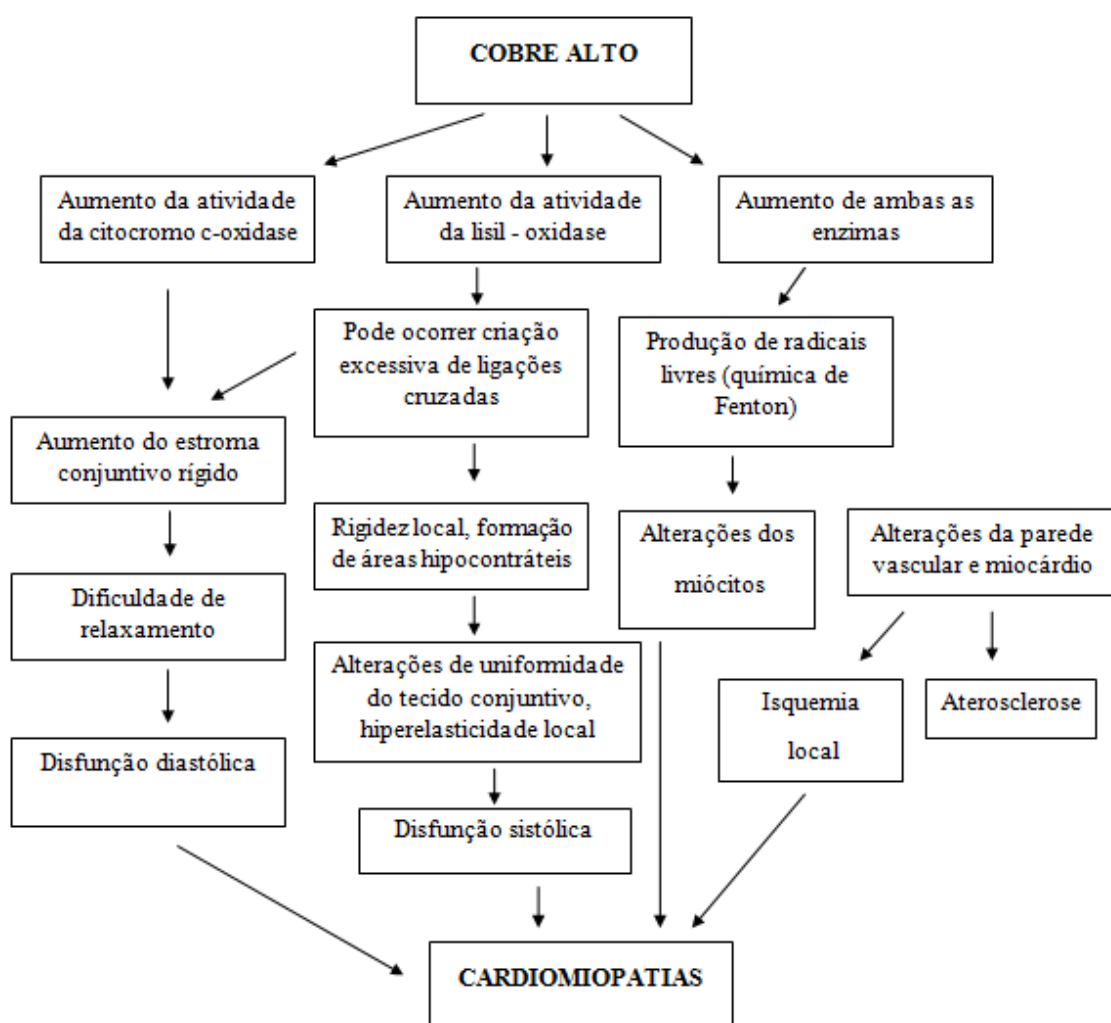


Figura 12 - Consequências do alto cobre plasmático.

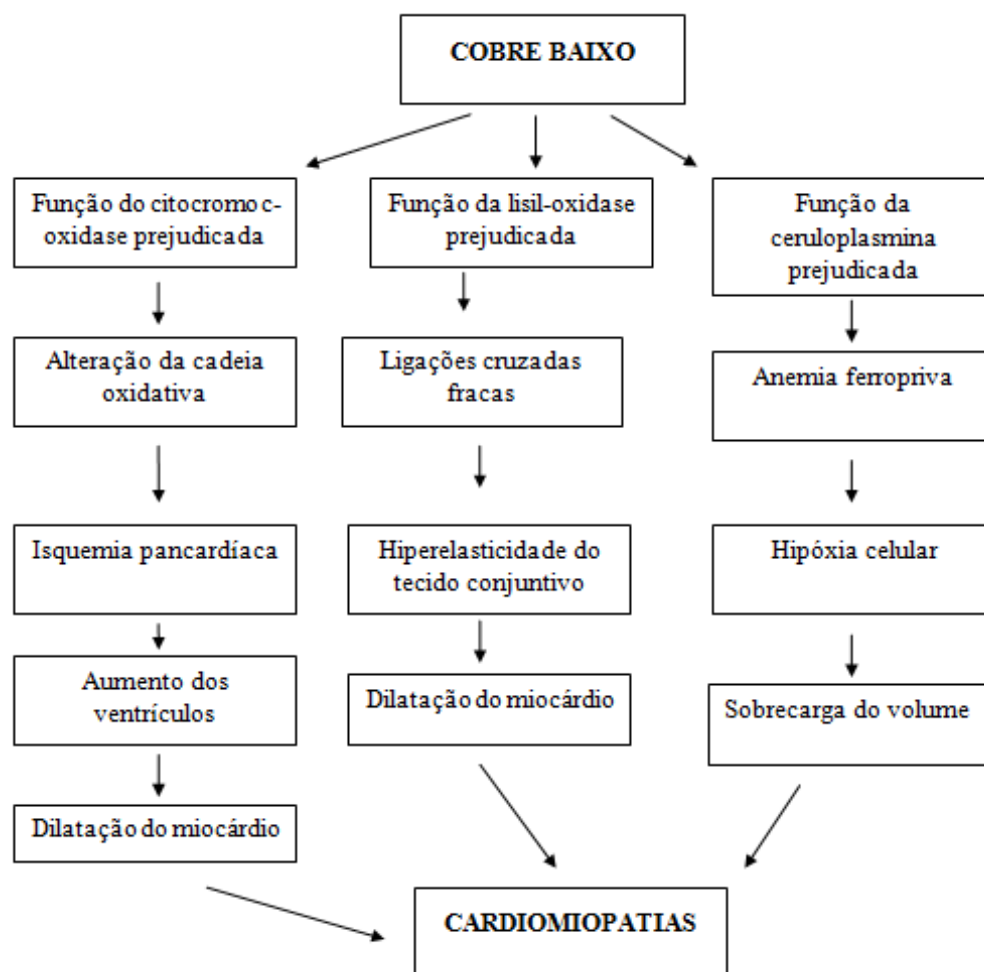


Figura 13 - Consequências do baixo cobre plasmático.

2.10 Justificativa para a realização do presente trabalho

O material científico publicado até agora não permite concluir positivamente sobre o inter-relacionamento de diferentes tipos de cardiomiopatias, por exemplo, definir a cardiomiopatia isquêmica como um subtipo da cardiomiopatia dilatada ou como um item independente. Do ponto de vista clínico o mais importante é considerar o conjunto dos pacientes de um consultório cardiológico, com o propósito de verificar as incidências de cada tipo de cardiomiopatia. No entanto, as classificações existentes, tendo um enfoque teórico (genética e biologia molecular) nem sempre proporcionam possibilidades de classificar as

alterações de acordo com status real do paciente num dado momento, pois o clínico confia mais nos métodos instrumentais e laboratoriais. Neste sentido, o presente trabalho tem o propósito de preencher a lacuna existente na literatura no que diz respeito aos níveis de cobre plasmático e o papel deste elemento nos mecanismos patofisiológicos.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Estudar as cardiomiopatias no serviço de cardiologia com ênfase no papel do cobre

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Coletar, nas clínicas cardiológicas em Campo Grande, amostras representativas de pacientes com três principais tipos de cardiomiopatias, comparando os dados com valores de referência nacionais e internacionais.
- 2) Avaliar a distribuição de pacientes conforme idade, gênero e etnia.
- 3) Estabelecer o diagnóstico das cardiomiopatias com base no exame Doppler ecocardiográfico.
- 4) Analisar os hemogramas e dados bioquímicos dos pacientes.
- 5) Realizar dosagens plasmáticas de cobre no contingente selecionado.
- 6) Avaliar as correlações entre as características estudadas e o diagnóstico.
- 7) Comparar os resultados das dosagens obtidas em Campo Grande com os conjuntos de dados disponíveis na literatura nacional e internacional.

4 CASUÍSTICA E MÉTODOS

4.1 Aspectos gerais

O protocolo de estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Seres Humanos da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (Anexo 1). O termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) foi assinado por cada paciente participante do trabalho (Apêndice 1).

Em atendimento à resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, foi assegurada a confidencialidade, a privacidade, a proteção da imagem e a não estigmatização dos sujeitos da pesquisa. O protocolo de coleta de dados encontra-se no Apêndice 2.

Foi um estudo retro-prospectivo, realizado no Serviço de Cardiologia Geral e Unidade Coronariana do Núcleo Hospital Universitário (NHU) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e do Serviço de Cardiologia Geral do Centro de Especialidades Médicas (CEM) da Secretária Municipal de Saúde Pública (SESAU) de Campo Grande/MS.

4.2 População

Durante os meses de agosto de 2011 a dezembro de 2012, no trabalho foram avaliados quarenta e sete pacientes provenientes dos consultórios cardiológicos, sendo 16 do gênero feminino e 31 do gênero masculino, com idade entre 30 a 87 anos, com diagnóstico de cardiomiopatia.

4.3 Critérios de diagnóstico das cardiomiopatias

O principal método para realizar o diagnóstico diferencial das cardiomiopatias foi o estudo Doppler ecocardiográfico, considerando os parâmetros morfológicos, funcionais e descritivos. Apesar dos achados desta metodologia serem similares entre a cardiomiopatia dilatada e a cardiomiopatia isquêmica em fase avançada, as alterações detectadas podem fornecer sinais diagnósticos valiosos graças ao estudo bidimensional.

Habitualmente, as alterações segmentares da contratilidade visualizadas no ecocardiograma favorecem o diagnóstico de isquemia ou infarto, embora pronunciada hipocinesia focal tenha sido encontrada em pacientes com cardiomiopatia dilatada e artérias coronárias “angiograficamente” normais. O tecido cicatricial devido ao infarto de miocárdio é observado como uma redução localizada da espessura da parede e de seu espessamento sistólico e um aumento na reflexão de ecos originados naquela região. Porém, áreas localizadas de tecido cicatricial nem sempre são indicativos de infarto prévio, podendo também ser observadas depois de miocardites de diferentes etiologias. Não obstante, portadores de doença coronária multiarterial e pacientes com cardiomiopatia dilatada em fase avançada costumam apresentar acometimento global e difuso.

É importante reafirmar que a distinção entre cardiomiopatias não corresponde rigorosamente a qualquer uma das classificações adotadas, posto que a cardiomiopatia isquêmica, pode também se apresentar como cardiomiopatia dilatada. O nosso enfoque pode ser chamado clínico-instrumental, pois se baseia numa avaliação do estudo Doppler ecocardiográfico.

4.4 Critérios de exclusão

Não foram incluídos pacientes com defeitos congênitos do sistema cardiovascular, doenças reumáticas e infecciosas, valvulopatias, abuso de álcool e drogas, exposição a agentes citotóxicos, infecções virais, asma, hemocromatose.

Não foram incluídos neste estudo, pacientes indígenas e procedentes da região de fronteira.

4.5 Coleta de dados

Os dados retrospectivos coletados dos prontuários dos pacientes foram exames de hemogramas, triglicérides, colesterol total, frações de colesterol, glicemia, ureia, creatinina, sódio, potássio, cálcio e magnésio.

Os dados prospectivos foram às dosagens plasmáticas de cobre.

Os dados dos prontuários dos pacientes foram coletados com datas próximas (margem de 7 dias) ao exame da coleta do cobre plasmático.

4.6 Coleta de sangue para dosagem de cobre

As amostras de sangue foram coletadas pelos técnicos especializados do laboratório Central do NHU/UFMS, em tubos de poliestireno a vácuo de metais (BD Vacutainer Systems-Becton, Dickinson & Co), siliconizado com tampa de borracha, sem anticoagulantes. O soro foi separado por centrifugação (3,000 RPM) durante 15 minutos e transferidos para tubos desmineralizados Eppendorf e armazenados a -18°C para posterior determinação de cobre.

Após o consentimento e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, os pacientes eram agendados individualmente para se apresentar no laboratório e para coleta de dados conforme protocolo.

4.7 Análise laboratorial das amostras

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

Um espectrômetro de absorção atômica (Varian Modelo Spectrômetro 100) equipado com lâmpada de deutério como corretor de fundo, foi utilizado nesse estudo nas seguintes condições: lâmpada de cátodo oco (Varian Techtron) e comprimento de onda de 324,7 nm para leitura de Cu. A chama oxidante utilizada foi do tipo de acetileno/ar. Corrente de lâmpada e largura de fenda foram estabelecidas conforme recomendações do catálogo do fabricante. O fluxo de entrada das amostras e padrões no nebulizador do espectrômetro foi de 1,3 ml/min e a leitura de absorbância foi de 10 segundos cada, sendo obtido o valor médio de três leituras.

Todos os reagentes utilizados foram de grau puro para análise (Merck). As soluções utilizadas foram preparadas com água purificada por sistema Milli-Q e armazenadas em recipientes plásticos previamente descontaminados.

Para a realização das leituras as amostras de soro foram descongeladas e homogeneizadas. O procedimento consistiu na diluição de 500 µL de soro e 500 µL de água ultrapura. Para a análise, a solução foi aspirada através de um capilar de plástico diretamente para dentro da chama do espectrômetro de absorção atômica [58, 59].

A curva de calibração incluía os seguintes pontos: 0,5mg/L, 1,0mg/L e 2,0mg/L.

Os estudos Doppler ecocardiográfico foram realizados no Núcleo Hospital Universitário/NHU e Centro de Especialidades Médicas (CEM).

4.8 Análise estatística

O tipo de distribuição foi avaliado utilizando o critério de Kolmogorov-Smirnov.

A estatística descritiva foi realizada pela média, desvio padrão e porcentagem.

As comparações de dosagens laboratoriais foram feitas de acordo com o tipo de distribuição de dados, seguindo o teste t-Student (dados paramétricos) e Mann-Whitney (dados não-paramétricos).

Para analisar a existência de correlação entre os diferentes parâmetros independentes foi empregado o teste de correlação de Spearman.

Foi adotado nível de confiança de 95% de confiabilidade.

Os procedimentos estatísticos foram realizados por meio do programa BioEstat 5.0.

5 RESULTADOS

No total são 16 pacientes do gênero feminino e 31 do gênero masculino, com idade entre 30 a 87 anos, com média de 64 (± 15). Entre eles 49% dos pacientes são brancos e 51% são pardos.

As características gerais dos participantes do estudo estão apresentadas no Anexo 2. No início, pensava-se em incluir também os dados adicionais de peso, altura, pressão arterial, tabagismo e etilismo, porém sendo uma pesquisa retrospectiva nem sempre estes dados estavam disponíveis nos prontuários dos pacientes. Em certo número de casos, houve a possibilidade de indagar sobre hábitos considerados como fatores de risco, mas o número de respostas não era convincente para serem incluídas na análise estatística.

O principal método instrumental de diagnóstico foi o estudo Doppler ecocardiográfico. As principais informações decorrentes desse método estão apresentadas nos Anexos 3-5. O Anexo 3 contem os parâmetros estruturais, no Anexo 4 são mostrados volumes ventriculares. Precisa ser ressaltado que os valores numéricos estão representados apenas como: normal (n), aumentado (+) e diminuído (-). O Anexo 5 contém descrições dos laudos do médico especialista em ecocardiografia e os respectivos diagnósticos de tipos de cardiomiopatias.

Na Figura 14, os participantes estão agrupados conforme o diagnóstico do tipo de cardiomiopatia. Nota-se que a incidência de cardiomiopatia dilatada (CD) é 49% (n=23), aquela da cardiomiopatia isquêmica (CI) é 38% (n=18) e 13% (n=6) corresponde à cardiomiopatia hipertrófica (CH).

A Figura 15 mostra a representação gráfica da incidência de cardiomiopatias de acordo com o gênero. A Figura 16 mostra a representação gráfica das cardiomiopatias de acordo com

etnia. A Tabela 5 mostra a média das idades e a proporção da etnia conforme os principais tipos de cardiomiopatia.

Incidência de cardiomiopatias

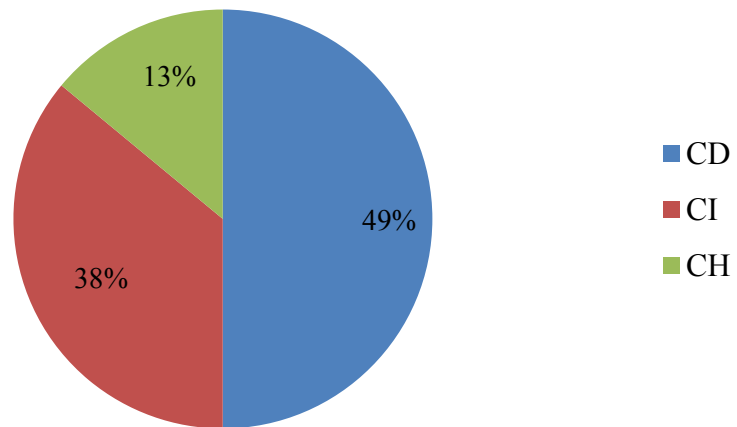


Figura 14 – Incidência dos três grupos de cardiomiopatia.

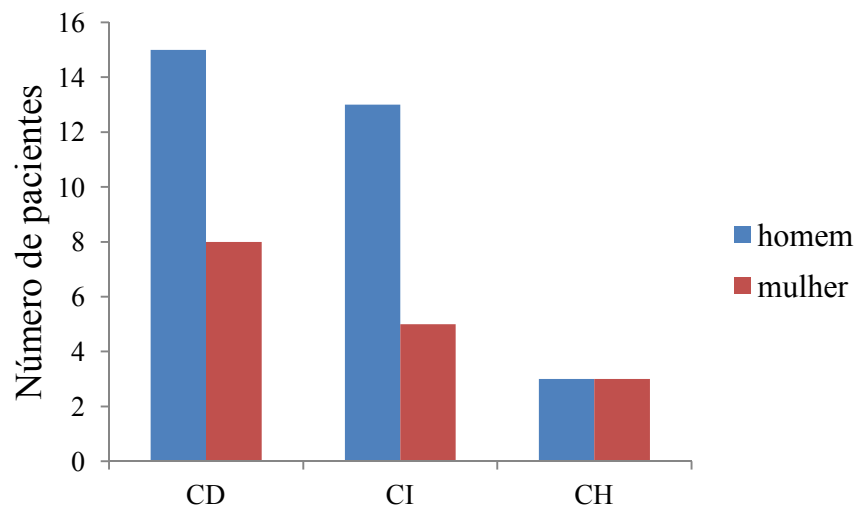


Figura 15 – Comparação dos valores refletindo a presença de dois gêneros para os três tipos de cardiomiopatias.

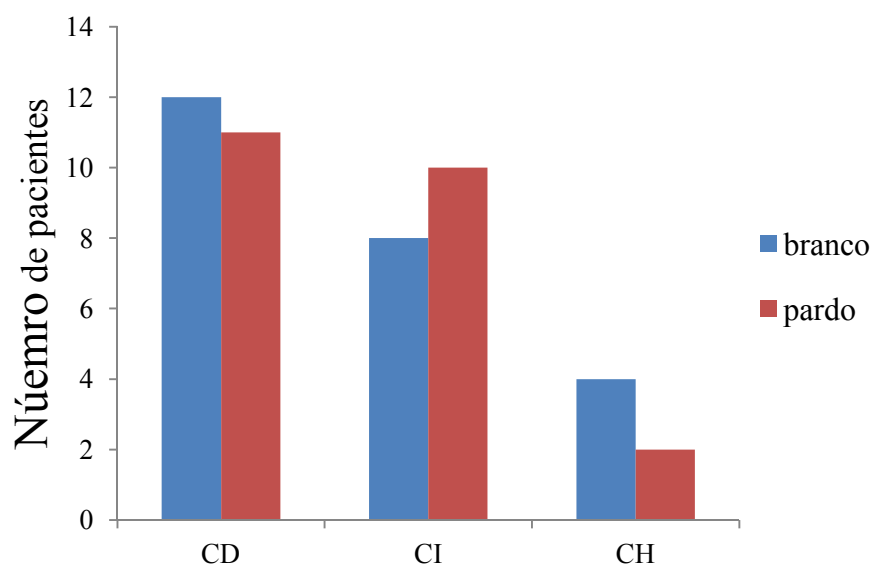


Figura 16 – Comparação dos valores refletindo a presença de dois tipos de etnias para os três tipos de cardiomiopatias.

Tabela 5 – Valor médio da idade e proporção dos tipos de cardiomiopatias de acordo com a etnia.

Cardiomiopatia	nº de pacientes	Idade, anos	Etnia, B/P ^{*)}
CD	23	62	12/11
CI	18	72	8/10
CH	7	56	4/2

*) B=branco; P=pardo.

Os resultados do hemograma estão apresentados no Anexo 6.

No grupo de cardiomiopatia dilatada, a média do número de eritrócitos foi de $4,3 \times 10^6$, variando de $3,0$ a $5,3 \times 10^6$. A média da concentração plasmática de hemoglobina foi de $12,5\text{g\%}$, variando de $7,5\text{g\%}$ a $15,4\text{g\%}$. O número total de leucócitos variou de 2.400 a 17.000,

havendo uma média de 7.348. O número de plaquetas variou de 81.000 a 276.000, com valor médio de 190.000.

No grupo de cardiomiopatia isquêmica, a média do número de eritrócitos foi de $4,1 \times 10^6$, variando de 2,8 a $5,0 \times 10^6$. A média de concentração plasmática de hemoglobina foi de 12,1g%, variando de 8,3g% a 14,6g%. O número total de leucócitos variou de 4.020 a 13.680, havendo uma média de 9.194. O número de plaquetas varou de 152 mil a 368 mil, com valor médio de 245 mil plaquetas.

No grupo de cardiomiopatia hipertrófica, a média do número de eritrócitos foi de $4,6 \times 10^6$, variando de 3,6 a $5,4 \times 10^6$. A média da concentração plasmática de hemoglobina foi de 12,6g%, variando de 11,3g/5 a 14,7g%. O número total de leucócitos variou de 5.700 a 11.570, havendo uma média de 9.297. O número médio de plaquetas foi de 255 mil, com valor mínimo de 210 mil e valor máximo de 311 mil plaquetas.

Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e isquêmica, não houve diferença estatística (teste t-Student, $p = 0,33$) no parâmetro eritrócitos. Não houve diferença estatística ($p = 0,47$) no parâmetro hemoglobina. Nos parâmetros leucócitos e plaquetas, houve diferença estatística, $p = 0,01$ e $p = 0,03$, respectivamente.

Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e hipertrófica, não houve diferença estatística (teste t-student, $p = 0,49$) no parâmetro eritrócitos. Não houve diferença estatística ($p = 0,97$) no parâmetro hemoglobina. Nos parâmetros leucócitos e plaquetas, houve diferença estatística, $p = 0,02$ e $p = 0,02$, respectivamente.

Entre os grupos de cardiomiopatia isquêmica e hipertrófica, não houve diferença estatística (teste t-Student, $p = 0,09$) no parâmetro eritrócitos. Não houve diferença estatística ($p = 0,48$) no parâmetro hemoglobina. Nos parâmetros leucócitos e plaquetas, não houve

diferença estatística, $p = 0,94$ e $p = 0,72$, respectivamente. Estes dados estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Características do hemograma dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.

Cardiomiopatia	D a d o s d o h e m o g r a m a (média±SD)			
	Eritrócitos $\times 10^6$	Hemoglobina g%	Leucócitos	Plaquetas $\times 10^3$
CD	4,3 ($\pm 0,7$)	12,5 ($\pm 2,4$)	7348 (± 3112)	190 ($\pm 49,2$)
CI	4,1 ($\pm 0,5$)	12,1 ($\pm 1,5$)	9194 (± 2853)	245 ($\pm 61,7$)
CH	4,6 ($\pm 0,6$)	12,6 ($\pm 1,2$)	9297 (± 2214)	255 ($\pm 37,4$)

Os dados gerais sobre metabolismo lipídico se encontram no Anexo 7.

No grupo da cardiomiopatia dilatada, a média da concentração plasmática dos triglicérides foi de 152mg% ($\pm 92,8$), variando de 48 a 377mg%. O valor médio da concentração plasmática de colesterol total foi de 169mg% ($\pm 55,5$), havendo uma variação de 87 a 319mg%. O valor médio da concentração da LDL foi de 108mg% (± 45), com valor mínimo de 45mg% e máximo de 210mg%. O valor médio da concentração de HDL foi de 36,2mg% ($\pm 11,4$), variando de 11 a 59mg%.

No grupo da cardiomiopatia isquêmica, a média da concentração plasmática dos triglicérides foi de 166,8mg% (± 159), variando de 45 a 682mg%. O valor médio da concentração plasmática de colesterol total foi de 175mg% ($\pm 52,7$), havendo uma variação de 98 a 330mg%. O valor médio da concentração da LDL foi de 100,5mg% ($\pm 30,3$), com valor

mínimo de 53mg% e máximo de 160mg%. O valor médio da concentração de HDL foi de 44,4mg% ($\pm 11,8$), variando de 25 a 67 mg%.

No grupo da cardiomiopatia hipertrófica, a média da concentração plasmáticas dos triglicérides foi de 88mg% ($\pm 50,2$), variando de 45 a 186mg%. O valor médio da concentração plasmática de colesterol total foi de 167mg% ($\pm 44,5$), havendo uma variação de 122 a 239mg%. O valor médio da concentração da LDL foi de 100mg% ($\pm 38,0$), com valor mínimo de 38mg% e máximo de 163mg%. O valor médio da concentração de HDL foi de 51 ($\pm 10,5$), variando de 65 a 104mg%.

Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e cardiomiopatia isquêmica, não houve diferença estatística no parâmetro triglicérides (teste Mann-Whitney, $p = 0,85$). No parâmetro colesterol total, não houve diferença estatística ($p = 0,80$). No parâmetro LDL, não houve diferença estatística entre os grupos ($p = 0,80$). No parâmetro HDL, não houve diferença estatística ($p = 0,35$).

Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e cardiomiopatia hipertrófica, não houve diferença estatística no parâmetro triglicérides (teste Mann-Whitney, $p = 0,08$). No parâmetro colesterol total, não houve diferença estatística ($p = 0,82$). No parâmetro LDL, não houve diferença estatística entre os grupos ($p = 0,91$). No parâmetro HDL, houve diferença estatística ($p = 0,01$). No grupo de cardiomiopatia dilatada a média da concentração de HDL foi 39mg% e no grupo de cardiomiopatia hipertrófica, a média da concentração plasmática foi 51mg%.

Entre os grupos de cardiomiopatia isquêmica e cardiomiopatia hipertrófica, não houve diferença estatística no parâmetro triglicérides (teste Mann-Whitney, $p = 0,16$). No parâmetro colesterol total, não houve diferença estatística ($p = 0,74$). No parâmetro LDL, não houve diferença estatística entre os grupos ($p = 0,92$). No parâmetro HDL, houve diferença

estatística ($p = 0,05$). No grupo de cardiomiopatia isquêmica a média da concentração de HDL foi 41mg% e no grupo de cardiomiopatia hipertrófica, a média da concentração plasmática foi 51mg%. Estes dados estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Concentração plasmática média dos lipídios dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.

Cardiomiopatia	Dados do metabolismo de lipídios média ($\pm$ SD)			
	Triglicérides mg%	Colesterol total mg%	LDL mg%	HDL mg%
CD	152 ($\pm$ 92,8)	169 ($\pm$ 55,5)	108 ($\pm$ 50,1)	36,2 ($\pm$ 13,2)
CI	166,8 ($\pm$ 164,4)	175 ($\pm$ 55,7)	100,5 ($\pm$ 29,1)	44,4 ($\pm$ 12,0)
CH	88 ($\pm$ 50,2)	167 ($\pm$ 44,5)	100 ($\pm$ 38,0)	51 ($\pm$ 10,5)

Os dados gerais dos pacientes sobre o metabolismo de carboidrato, função renal e eletrólitos no plasma se encontram no Anexo 8.

No grupo da cardiomiopatia dilatada, o valor médio de glicemia foi de 105mg% ($\pm$ 44,8), variando de 48 a 233mg%. O valor médio de ureia foi de 56mg% ($\pm$ 31,3), com valor mínimo de 26 a 142mg%. O valor médio de creatinina foi de 1,6mg% ($\pm$ 1,8), variando de 0,9 a 8,8mg%. O valor médio de sódio foi de 138mg% ($\pm$ 3,6), variando de 131 a 146mg%. O potássio variou de 3,6 a 5,3mg%, com valor médio de 4,2mg% ($\pm$ 0,5). O valor médio de cálcio foi de 9,0mg% ($\pm$ 0,8), apresentando valores entre 7,8 a 10,2mg%. O valor médio de magnésio foi de 1,9mg% ($\pm$ 0,1), com valores entre 1,8 a 2,1mg%. Cinco pacientes deste grupo eram portadores de Diabetes Mellitus tipo II.

No grupo da cardiomiopatia isquêmica, o valor médio de glicemia foi de 149,4mg% ($\pm 80,3$), variando de 77 a 381mg%. O valor médio de ureia foi de 49 mg% ($\pm 16,4$), com valor mínimo de 12,4 a 72,4mg%. O valor médio de creatinina foi de 1,2 mg% ($\pm 0,7$), variando de 0,6 a 3,3mg%. O valor médio de sódio foi de 138mg% ($\pm 2,7$), variando de 134 a 142mg%. O potássio variou de 4,1 a 4,9mg% com valor médio de 4,4mg% ($\pm 0,2$). O valor médio de cálcio foi de 9,4mg% ($\pm 0,4$), apresentando valores entre 8,5 a 10,7mg%. O valor médio de magnésio foi de 1,8mg% ($\pm 0,2$), com valores entre 1,4 a 2,2mg%. Neste grupo, 9 pacientes eram portadores de Diabetes Mellitus tipo II.

No grupo da cardiomiopatia hipertrófica, o valor médio de glicemia foi de 88mg% ($\pm 13,8$), variando de 65 a 104mg%. O valor médio de ureia foi de 51mg% ($\pm 35,8$), com valor mínimo de 25 a 121mg%. O valor médio de creatinina foi de 1,2mg% ($\pm 0,5$), variando de 0,8 a 2,3mg%. O valor médio de sódio foi de 138mg% ($\pm 7,2$), variando de 127 a 144mg%. O potássio variou de 3,8 a 6,2mg% com valor médio de 4,6mg% ($\pm 0,9$). O valor médio de cálcio foi de 8,9mg% ($\pm 0,9$), apresentando valores entre 8,1 a 10,1mg%. O valor médio de magnésio foi de 1,9mg% ($\pm 0,2$), com valores entre 1,6 a 2,1mg%.

Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e cardiomiopatia isquêmica, houve diferença estatística (teste Mann-Whitney, $p = 0,06$) da glicemia. Nos parâmetros renais da ureia e creatinina, não houve diferença estatística $p = 0,46$ e $p = 0,40$, respectivamente. Nos eletrólitos do plasma, não houve nenhuma diferença estatística entre todos os parâmetros, sódio ($p = 0,95$), potássio ($p = 0,15$), cálcio ($p = 0,49$) e magnésio ($p = 0,08$).

Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e hipertrófica, não houve diferença estatística ($p = 0,92$) no metabolismo de glicose. Nos parâmetros renais da ureia e creatinina, não houve diferença estatística $p = 0,76$ e $p = 0,38$, respectivamente. Nos eletrólitos do

plasma, não houve nenhuma diferença estatística entre todos os parâmetros, sódio ($p = 0,96$), potássio ($p = 0,26$), cálcio ($p = 0,95$) e magnésio ($p = 0,77$).

Entre os grupos de cardiomiopatia isquêmica e hipertrófica, houve diferença estatística ($p = 0,01$) no metabolismo de glicose, sendo maior na isquêmica. Nos parâmetros renais da ureia e creatinina, não houve diferença estatística $p = 0,87$ e $p = 0,95$, respectivamente. Nos eletrólitos do plasma, não houve nenhuma diferença estatística entre todos os parâmetros, sódio ($p = 0,97$), potássio ($p = 0,73$), cálcio ($p = 0,40$) e magnésio ($p = 0,42$). Estes dados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Características bioquímicas dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.

Parâmetros bioquímicos média ($\pm$SD)							
	Glicemia	Ureia	Creatinina	Sódio	Potássio	Cálcio	Magnésio
	mg%	mg%	mg%	mEq/L	Mmol/l	mg%	mg%
CD	105($\pm$ 44,8)	56($\pm$ 31,3)	1,6($\pm$ 1,8)	138($\pm$ 3,6)	4,2($\pm$ 0,5)	9,0($\pm$ 0,8)	1,9 ($\pm$ 0,1)
CI	149 ($\pm$ 80,3)	49($\pm$ 16,4)	1,2($\pm$ 0,7)	138($\pm$ 2,7)	4,4($\pm$ 0,2)	9,4($\pm$ 0,4)	1,7 ($\pm$ 0,2)
CH	88 ($\pm$ 13,8)	51($\pm$ 35,8)	1,2($\pm$ 0,5)	138($\pm$ 7,2)	4,6($\pm$ 0,9)	8,9($\pm$ 0,9)	1,9 ($\pm$ 0,2)

O valor médio do cobre no grupo de cardiomiopatia dilatada foi de 2,2mg/L ($\pm$ 1,1), variando de 0,4 a 3,6mg/L entre os pacientes.

O valor médio do cobre no grupo de cardiomiopatia isquêmica foi de 2,8mg/L ($\pm$ 1,1), variando de 0,6 a 4,0mg/L entre os pacientes.

O valor médio do cobre no grupo de cardiomiopatia hipertrófica foi de 2,6mg/L ($\pm 0,6$), variando de 1,4 a 3,2mg/L entre os pacientes.

Os níveis das concentrações plasmáticas de cobre estão apresentados na Tabela 9.

No que diz respeito ao teste de correção, não houve correlação entre as concentrações de cobre e o parâmetro idade nos grupos cardiomiopatia dilatada e isquêmica, como grupos separados, com $p = 0,34$ e $0,30$, respectivamente. No entanto, para a cardiomiopatia hipertrófica esta correlação foi confirmada com $p = 0,05$. No que diz respeito ao agrupamento da cardiomiopatia isquêmica dentro do grupo da cardiomiopatia dilatada, foi observada uma forte correlação com $p = 0,03$.

A correlação da concentração de cobre entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e isquêmica, não mostrou diferença estatística ($p = 0,06$). Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e hipertrófica, não houve diferença estatística ($p = 0,66$). Entre os grupos de cardiomiopatia isquêmica e hipertrófica, não houve diferença estatística ($p = 0,23$). Os valores de cobre de todos os pacientes, se encontram no Anexo 9.

Tabela 9 – Valores médios das concentrações de cobre dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.

Cardiomiopatia	nº de pacientes	Cobre (média $\pm$SD) mg/L
CD	23	2,2 ($\pm 1,1$)
CI	18	2,8 ($\pm 1,1$)
CH	7	2,6 ($\pm 0,6$)

A correlação entre as concentrações de cobre e os parâmetros do metabolismo lipídico (triglicérides, colesterol total, LDL e HDL) e parâmetros do Doppler ecocardiograma, estão apresentados na Tabela 10, segundo o teste de correlação Spearman. Assim, somente no caso da cardiomiopatia dilatada isolada, observa-se, com alta probabilidade, uma correlação bem definida.

Porém, os cálculos realizados considerando cardiomiopatia dilatada e isquêmica como uma única entidade mostram ausência de correlações vinculadas ao metabolismo lipídico, com o menor $p = 0,38$ e parâmetros do Doppler ecocardiográfico, com o menor $p = 0,21$.

Tabela 10 – Correlação entre os tipos de cardiomiopatias e parâmetros do Doppler ecocardiográfico com a concentração de cobre.

Valores de p e coeficiente de correlação						
	CD		CI		CH	
	p	r	p	r	p	r
Triglicérides	0,002	0,62	0,83	-0,05	0,87	0,09
Colesterol total	0,001	0,64	0,69	0,10	0,87	0,09
LDL	0,001	0,63	0,52	0,16	0,96	-0,03
HDL	0,004	0,58	0,42	0,20	0,66	0,23
E.D.S ^{*)}	0,43	0,17	0,09	0,41	0,50	0,35
E.D.P ^{*)}	0,99	0,001	0,009	0,60	0,21	0,60
F.E.V.E ^{*)}	0,61	0,11	0,16	0,35	0,80	0,13

^{*)}E.D.S – espessura diastólica do septo; E.D.P – espessura diastólica da parede; F.E.V.E – fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

6 DISCUSSÃO

Como pode ser visto do exposto no resumo literário, nos últimos vinte anos, a maioria das dosagens do cobre plasmático se refere a um número restrito de países e mesmo para um país dado, como para a Itália e a Turquia, os dados são bastante heterogêneos. No que diz respeito aos dados referentes ao Brasil [38, 39] eles são bem concordantes com as médias mundiais e podem servir de base para as comparações com níveis de cobre encontrados em diferentes condições patológicas. O estudo sobre o cobre nas cardiomiopatias é metodologicamente heterogêneo: a classificação de cardiomiopatias é longe de ser perfeita, o papel do cobre na patologia de miocárdio não está completamente esclarecido e também nem está claro quais os fatores são primordiais: os níveis plasmáticos de cobre que repercutem no coração ou alterações metabólicas no miocárdio que estimulam o aumento do cobre livre no plasma.

Como segue dos resultados deste trabalho, a população masculina constitui 66% da amostra, o que está de acordo com a literatura. No que diz respeito à etnia, 49% dos pacientes são brancos e 51% são pardos não evidenciado diferenças significativas.

Os resultados dos diagnósticos mostram que a forma prevalente de cardiomiopatias nos participantes dessa pesquisa é a cardiomiopatia dilatada, detectada em 49%, seguida de cardiomiopatia isquêmica que constitui 38% e finalmente, a cardiomiopatia hipertrófica, que corresponde aos 13% restantes.

Na opção de considerar a cardiomiopatia isquêmica como parte da dilatada a porcentagem seria 87% para dilatada e 13% para a hipertrófica.

No que diz respeito aos gêneros, foi constatado que a proporção de homens e mulheres é 2:1 na cardiomiopatia dilatada e isquêmica que são doenças cardíacas adquiridas. No entanto, essa proporção resultou ser 1:1 nos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica, o que é natural, posto que se trata de uma doença autossômica com o envolvimento de ambos os gêneros.

Com relação aos tipos étnicos foi constatado que a proporção é praticamente 1:1 nas cardiomiopatia dilatada e isquêmica, sendo 2:1 nos pacientes com cardiomiopatia hipertrófica. Isto confirma, uma vez mais, a etiologia genética deste último tipo de cardiomiopatia.

Quando se tratar do acometimento conforme a idade, resulta que a faixa etária para cardiomiopatia isquêmica é mais avançada com média de 72 anos, seguida de cardiomiopatia dilatada com media de 62 anos e finalmente de cardiomiopatia hipertrófica com media de 56 anos. Isto é natural, já que a cardiomiopatia isquêmica, na maioria dos casos, é a consequência das alterações morfológicas coronarianas que levam à falta do suprimento sanguíneo para o tecido cardíaco.

Quanto ao hemograma e parâmetros bioquímicos, foi constatado que, conforme o teste de Kolmogorov-Smirnov, os valores obtidos concordam com a hipótese da normalidade, o que permitiu usar o critério t-Student. Os resultados mostram que não existe diferença estatística entre cardiomiopatias na concentração de hemoglobina e número de eritrócitos. No entanto, à primeira vista nos parâmetros de leucócitos e plaquetas parece existir diferença significativa entre a cardiomiopatia dilatada e isquêmica por um lado e entre a cardiomiopatia dilatada e hipertrófica por outro. Contudo, considerando os números absolutos de células, isto é, aproximadamente 7.000 para CD, 9.000 para CI e 9.000 para CH, pode-se concluir que este parâmetro está no corredor de normalidade. O mesmo raciocínio se aplica ao número de plaquetas: 180.000 para CD, 245.000 para CI e 255.000 para CH. Realmente seria difícil

explicar um aumento significativo na cardiomiopatia isquêmica, posto que esses pacientes habitualmente recebem tratamento de desagregação plaquetária, seja AAS, clopidogrel ou fármacos afins, os quais podem produzir apenas trombocitopenia e não trombocitose.

Comparando as cardiomiopatias isquêmicas e hipertróficas, não foi encontrada diferença nenhuma entre as concentrações de hemoglobina, número de eritrócitos, leucócitos e plaquetas.

No que diz respeito ao metabolismo lipídico, foi constatado que não existe diferença entre o nível de triglicérides entre os três tipos de cardiomiopatias, posto que o maior número encontrado (para CD) foi 377, o que indica a presença de aterosclerose provável para estes pacientes. Este mesmo raciocínio se aplica ao colesterol total. Nesse caso, não houve diferença entre os três grupos de cardiomiopatias. As concentrações médias das frações de colesterol, LDL e HDL, não foram diferentes entre os três tipos de cardiomiopatias, e sempre dentro da normalidade. Contudo, vale a pena ressaltar que individualmente nos grupos de cardiomiopatia dilatada e isquêmica, houve níveis altos de triglicérides, isto é, entre 212 e 376mg% em quatro pacientes com CD e entre 238 a 682mg% em quatro pacientes com CI. Para indagar sobre a importância dos números altos, foram realizados dois tratamentos estatísticos, isto é, incluindo e excluindo os números exacerbados, os resultados mostraram que isto não repercutiu nas diferenças entre os três tipos de cardiomiopatia. No caso da LDL, foi excluído somente um paciente com CD e concentração de 210mg%, também sem mudar a conclusão estatística.

No que diz respeito ao metabolismo de carboidratos, é necessário mencionar que nessa amostra participaram quatorze pacientes diabéticos; cinco com cardiomiopatia dilatada e nove com cardiomiopatia isquêmica (glicemia $\geq 126\text{mg\%}$). No grupo de cardiomiopatia hipertrófica não houve pacientes com glicemia alta. O tratamento estatístico evidenciou

diferença significativa apenas entre os grupos de cardiomiopatia isquêmica e hipertrófica, devido as diferentes etiologias. Considerando os números absolutos, fica claro que a hiperglicemia teve lugar em maior número nos casos de cardiomiopatia isquêmica. Essa hiperglicemia nos pacientes com CI pode ser explicada pela menor atividade física e pelo uso prolongado de diuréticos como diclortiazida e betabloqueadores (atenolol, propanolol ou carvedilol). Por outro lado, esta hiperglicemia pode ser considerada como manifestação da síndrome metabólica mais característica nesses pacientes.

De acordo com os dados do presente trabalho, não existem diferenças em níveis de eletrólitos: sódio, potássio, cálcio e magnésio, assim como nos indicadores da função renal, como ureia e creatinina, o que evidencia um adequado controle hemodinâmico sem comprometimento renal consequente. Os estudos dos parâmetros (hemograma, eletrólitos e função renal) nos três grupos de cardiomiopatias estão dentro da normalidade. Estes achados são lógicos, pois fisiopatologia das cardiomiopatias, por si só, não supõe alterações no metabolismo mineral.

O tratamento estatístico dos dados referentes ao conteúdo plasmático de cobre mostrou, conforme o critério de Kolmogorov-Smirnov, um significativo desvio da normalidade. As curvas de distribuição não possuem um único máximo, mas o aumento nos valores baixos e altos. Tais casos são conhecidos da literatura mundial para uma série de elementos [32]. Devido ao desvio da distribuição gaussiana fomos obrigados a usar os testes estatísticos não-paramétricos. Os valores médios da concentração de cobre constituem: 2,2mg/L na cardiomiopatia dilatada, 2,8mg/L na cardiomiopatia isquêmica e 2,6mg/L na cardiomiopatia hipertrófica.

A comparação dos valores de dosagens mostra que não existe diferença entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e isquêmica. Isto parece concordar, de certo modo, com o

conceito da cardiomiopatia isquêmica como pertencente ao grupo das cardiomiopatias dilatadas. Ao mesmo tempo, precisa-se observar e ressaltar que o valor p para a diferença entre CD e CI é igual a 0,06, isto é, somente um centésimo maior do que o valor aceito para significância estatisticamente válida. Em termos da teoria da probabilidade, isto significa que em 94% de casos não deve haver diferença e somente 6% não obedeceriam a esta hipótese. Vale lembrar que este valor de p não é nenhuma lei de natureza, mais um valor aceito pela comunidade científica para a comodidade de comparar os dados. É possível supor que um grupo maior ou um pequeno reagrupamento nos parâmetros do ecocardiograma, que depende da avaliação subjetiva, poderia deslocar o valor de p encontrado. Assim podemos considerar o problema dessa diferença ou não diferença ainda aberto. Entre os grupos de cardiomiopatia dilatada e hipertrófica, assim como entre cardiomiopatia isquêmica e hipertrófica as diferenças não foram encontradas.

Em suma, os resultados obtidos permitem agrupar os valores de dosagens de cobre dos três tipos de cardiomiopatias. A média das concentrações obtidas neste estudo foi de 2,6mg/L. Este número é praticamente o dobro em comparação com as médias internacional 1.17mg/L [45] e a nacional 1, 01mg/L [38] para pessoa sadias. Portanto, conclui-se que, até certo grau, o cobre desempenha o papel do marcador do comprometimento miocárdico, independentemente da patogênese da cardiomiopatia.

No que diz respeito aos poucos dados da literatura referentes aos pacientes com cardiomiopatia na Turquia e na República Checa [42, 43], os valores publicados são entre 1,28 e 1,72 para cardiomiopatia dilatada e entre 1.5 e 1.54 para a cardiomiopatia isquêmica [43, 44], as quais, consideradas num conjunto proporcionam a média de 1,57 mg/L. Ao mesmo tempo, os dados publicados no Brasil se referem ao grupo com cardiomiopatia dilatada, no qual as dosagens de cobre forneceram valor médio de 1,1 mg/L [60]. Neste último caso, a média tão baixa pode ser explicada pelo fato de que os pacientes estavam

submetidos à terapia com diuréticos durante pelo menos 15 dias, antes realizar as dosagens. Deste modo, o cobre poderia ser eliminado por via renal. Outra particularidade dos grupos mencionados consistia em que o número total de pacientes em cada estudo não excedia 30 indivíduos.

De qualquer modo, fica claro que o valor 2,6mg/L, encontrado em presente trabalho para pacientes com cardiomiopatias atendidos no serviço cardiológico é muito maior que qualquer outro dado publicado na literatura. Sem dúvida, uma parte deste valor tem a ver com o aumento de cobre nas cardiopatias em geral e o resto pode ser considerado como acréscimo característico para a cidade de Campo Grande e, possivelmente, do Estado de Mato Grosso do Sul.

A principal via de ingresso de cobre no organismo é via oral [61]. A avaliação de ingestão depende dos hábitos alimentares e da concentração de cobre na água consumida. Contudo, em um estudo recente em Campo Grande, referente ao conteúdo de cobre na água dos domicílios, foi mostrado que as quantidades do metal são praticamente insignificantes, ficando as diferenças na margem de erro da medição [62]. Portanto, esta via pode ser descartada para Campo Grande, ficando a possibilidade de consumo excessivo de cobre através dos alimentos que, quando armazenados ou cozidos em recipientes de cobre ou latão, podem estar contaminados com quantidades significativas deste íon.

Poderia se pensar em outras vias, como a pulmonar e a dérmica, mas nesses casos levando em consideração que o local de estudo não possui nenhuma industrial siderúrgica ou química, essas vias tão pouco devem ser consideradas viáveis. Tal sugestão é ainda mais contundente, pois concordam com os relatos da literatura, onde estas vias foram descartadas [61]. Além disso, a ingestão de grandes quantidades de cobre em humanos é pouco provável

devido ao efeito irritante dos seus íons sobre as membranas mucosas, causando vômito imediato, diarreia e excluindo assim a acumulação do metal no organismo.

Uma explicação razoável seria que essa elevação seria devida aos hábitos alimentares locais. Isto é indiretamente confirmado pelo fato que a quantidade de cobre em mães lactantes no primeiro mês pós-parto em comparação com outras localidades com mesmas características, porém geograficamente distintas (Denver, Colorado, USA) foi quase duas vezes maior [63]. A procedência deste cobre é incerta, porém pode estar ligada aos hábitos alimentares específicos de Mato Grosso do Sul.

De um modo geral, as doenças cardiovasculares apresentam ativação da inflamação. É possível e esperado que os pacientes dos grupos de cardiomiopatia dilatada e isquêmica sejam portadores de processo aterosclerótico mais evidente que aqueles de cardiomiopatia hipertrófica. Sabe-se que o processo de aterogênese é essencialmente uma resposta inflamatória a vários fatores de risco, incluindo aqueles locais. A magnitude do processo inflamatório nestes pacientes pode variar de leve a acentuado, podendo assim, influenciar na maior concentração plasmática de cobre [64].

Nas pessoas sadias não se observa vínculo entre os níveis de cobre e a idade dos voluntários. É conhecido que nos países europeus, com os níveis bem semelhantes de cobre, o conteúdo deste elemento no plasma dos adolescentes suecos com 15-17 anos foi 1,0mg/L [65], para os italianos de 45 anos foi 0,95mg/L [32] e nas pessoas idosas da República Checa de 83 anos de idade foi de 1,07mg/L [66]. Pelo contrário, coeficiente de correlação calculado no presente trabalho para a idade mostrou uma forte correlação positiva entre a idade dos pacientes diagnosticados com CD e CI e os correspondentes valores de cobre. É uma resposta esperada, pois o envolvimento de cobre no metabolismo cardíaco é maior com a exacerbação de aterosclerose e alterações na oxigenação do músculo. Neste contexto é marcante que altos

coeficientes de correlação foram encontrados entre os parâmetros básicos do metabolismo lipídico em CD, por uma parte e a espessura diastólica da parede, por outra, em CI. Contrariamente à literatura [67], não foi observada correlação negativa dos níveis de cobre com a fração de ejeção do ventrículo esquerdo. O controle clínico adequado dos pacientes é outro fator a ser considerado como causa desta contradição.

Finalizando essa parte da discussão, podemos observar que em nenhum momento do estudo foram observados níveis baixos de cobre. Isto é lógico, pois o déficit de cobre, como segue da literatura, pode ser considerado como um dos fatores patogênicos das cardiomiopatias, em primeiro lugar, da cardiomiopatia dilatada e, como parte desta, da cardiomiopatia isquêmica. Realmente, a falta de cobre predispõe ao enfraquecimento do estroma do miocárdio e, paralelamente, à insuficiência dos sistemas enzimáticos. Porém, com o avanço do processo patológico, o cobre torna-se imprescindível para as ligações tridimensionais do colágeno neo-formado e reparo do existente. Além disso, é necessário para um funcionamento adequado, e até acelerado, das enzimas da cadeia oxidativa e transporte de elétrons nos processos de inflamação. Na prática, é difícil e até impossível distinguir em que momento cada uma dessas funções será predominante. O fato é que o organismo mobiliza as reservas existentes deste metal essencial o que se reflete em altos níveis do cobre. Neste sentido, o cobre alto não é a causa da doença, mas marcador da sua intensidade. Um aumento adicional é devido aos fatores intrínsecos do meio ambiente local que devem ser identificados nos trabalhos que continuarão esta linha de pesquisa.

Uma continuação lógica do trabalho será investigar aspectos genéticos nos pacientes com cardiomiopatias, ampliar o número dos elementos traços envolvidos e confirmar o papel do cobre como marcador.

7 CONCLUSÕES

1 – A proporção entre homens e mulheres na cardiomiopatia dilatada e isquêmica (2:1) é maior do que na cardiomiopatia hipertrófica (1:1).

2 – A proporção étnica entre brancos pardos na cardiomiopatia dilatada é 1:1, na cardiomiopatia isquêmica é 0,8 e na cardiomiopatia hipertrófica é 2.

3 – Para a amostra estudada, a maior incidência no serviço cardiológico corresponde a cardiomiopatia dilatada (49%), seguida pela cardiomiopatia isquêmica (38%) e cardiomiopatia hipertrófica (13%).

4- Apensar da diferença entre os grupos de cardiomiopatias dilatadas e isquêmicas para os parâmetros leucócitos e plaquetas, os valores absolutos se encontram dentro do intervalo de normalidade.

5 – Nos demais parâmetros do hemograma, não houve diferença estatística para os grupos de cardiomiopatias dilatadas, isquêmicas e hipertróficas.

6 – Houve diferença significativa no metabolismo de glicose entre os grupos de cardiomiopatias isquêmica e hipertrófica. Nos parâmetros do metabolismo lipídico, função

renal e eletrólitos no plasma, não houve diferença significativa entre os pacientes dos grupos de cardiomiopatias dilatada, isquêmica e hipertrófica.

7 – Não houve diferença entre as concentrações plasmáticas de cobre entre os três tipos de cardiomiopatias.

8 - As concentrações plasmáticas de cobre nos pacientes com cardiomiopatia em Campo Grande foram maiores que os valores adotados como normais na literatura internacional e brasileira.

9 – Este nível alto de cobre pode estar relacionado com o aumento do cobre nas cardiomiopatias em geral, mas um acréscimo característico para o local do estudo.

10 – Os altos valores de cobre encontrados, até certo grau, podem caracterizar este elemento como marcador do comprometimento miocárdico.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Report of the 1995 World Health Organization International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93:841-42.
- [2] Cardiomyopathies and Heart failure. Biomolecular, Infections and Immune Mechanismus. Ed. A. Matsumori, Kluwer Academic Publishers, 2003.
- [3] Lee J. D., Concise Inorganic Chemistry, 5th ed., Blackwell Science, 2008.
- [4] Mellor J. W., Comprehensive Treatise on Inorganic and Theoretical Chemistry, Copper. Longmans, London, New York.
- [5] Robert R. Crichton. Biological Inorganic Chemistry. Part 3, Elsevier, Oxford, 2007.
- [6] Turley E, Mckeown A, Bonham MP, O'Connor JM, Chopra M, Harvey LJ, Majsak-Newman G, Fairwather-Tait SJ, Bügel S, Sandström B, Rock E, Mazur A, Rayssiquier Y, Strain JJ. Copper supplementation in human does not affect the susceptibility of low density lipoprotein to in induced oxidation. *Free Radical Bio Med*. 2000; 29:1129-34.

- [7] Delattre J, Beaudeau JL, Bonnefont-Rousselot D. Radicaux libres et stress oxydant: aspects biologiques et pathologiques. Lavoisier, 2007
- [8] Pernjaker EA. Metalloproteomics. Wiley series on protein and peptide science. John Wiley & Sons. New Jersey 2009.
- [9] Ciba Foundation Symposium, Biological Role of Copper. 1980;79:343.
- [10] Mann KG, Lawler CM, Vehar GA, Church WR. Coagulation factor V contains copper ion. J Biol Chem. 1984;259:12949-51
- [11] Yoshikawa S, Muramoto K, Shinzawa-Itoh K, Aoyama H, Tsukihara T, Shimokata K, Katayama Y, Shimada H. Proton pumping mechanism of bovine heart cytochrome c oxidase. Biochim Biophys Acta. 2006;1757:1110-6.
- [12] Tsukihara T, Aoyama H, Yamashita E, Tomizaki T, Yamaguchi H, Shinzawa-Itoh K, Nakashima R, Yaono R, Yoshikawa S. Structures of metal sites of oxidized bovine heart cytochrome c oxidase at 2,8 Å. Scienc. 1996;269:1069-74.
- [13] Michel H, Behr J, Harrenga A, Kannt A. Cytochrome c oxidase: structure and spectroscopy. Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 1998;27:329-56.

- [14] López B, Gonzáles A, Hermida N, Valencia F, de Teresa E, Díez J. Role of lysyl oxidase in myocardial fibrosis: from basic science to clinical aspects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2010;299:H1-9.
- [15] Duff AP, Cohen AE, Ellis PJ, Kuchar JA, Langley DB, Shepard EM, Dooley DM, Freeman HC, Guss JM. The crystal structure of *Pichia pastoris* lysyl oxidase. *Biochemistry*. 2003;42:15148-57.
- [16] Beckmann Ch. R. B., Obstetrics and Gynecology, Walters Kluwer & Lippinkott Williams and Wilkins, Batlimore, Philadepphia, 2010.
- [17] Weber KT, Sun Y, Tyagi SC, Cleutjens JPM, Collagen network of the myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms. *J Mol Cell Cardiol*. 1994;26:279-92.
- [18] Maron B, Towbin JA, Thiene G, Antzelevitch C, Corrado D, Arnett D, Moss AJ, Seidman CE, Young JB. Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American heart association scientific statement from the council on clinical cardiology, heart failure and transplantation committee; quality of care and outcomes research and functional genomics and translational biology interdisciplinary working groups; and council on epidemiology and prevention. *Circulation*. 2006;113:1807-16.

[19] Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, Dubourg O, Kühl U, Maisch B, McKenna WJ, Monserrat L, Pankuweit S, Rapezzi C, Seferovic P, Tavazzi L, Keren A. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European society of cardiology working group on myocardial and pericardial disease. *Eur Heart J*. 2008;29:270-6.

[20] Braga JCF, Guimarães-Filho FV, Rodrigues A. Cardiomiopatias: conceito e classificação. *Revista Sociedade Cardiologia São Paulo*. 2011;21:2-6.

[21] Kaler SG, Holmes CS, Goldstein DS, Tang J, Godwin SC, Donsante A, Liew CJ, Sato S, Patronas N. Neonatal diagnosis and treatment of Menkes disease. *N Engl J Med*. 2008;358:605-14.

[22] Agertt F, Crippa AC, Lorenzoni PJ, Scola RH, Bruck I, Paola L, Silvado CE, Werneck LC. Menkes' disease: case report. *Arq Neuropsiquiatr*. 2007;65:157-60.

[23] Bruyn GW, Klawans HL. Wilson's disease. Em: *Handbook of Clinical Neurology*. v. 49. Elsevier, Amsterdam, 1989.

[24] Meenakshi-Sundaram S, Sinha S, Rao M, Prashanth LK, Arunodaya GR, Rao S, Swamy HS, Taly AB. Cardiac involvement in Wilson's disease – an electrocardiographic observation. *J Assoc Physicians India*. 2004;52:294-6.

- [25] Bhusnurmath SR, Walia B N, Singh S, Parkash D, Radotra BD, Nath R. Sequential histopathological alterations in Indian Childhood Cirrhosis with D-penicillamine, Human Pathol. 1991;22:653-8.
- [26] Jaksch M, Oqilvie I, Yao J, Kortenhaus G, Bresser HG, Gerbitz KD, Shoubridge EA. Mutations in Sco2 are associated with a distinct form of hypertrophic cardiomyopathy and cytochrom c oxidase deficiency. Hum Mol Genet. 2000;9:795-801.
- [27] Gunja-Smith Z, Morales AR, Romanelli R, JR-Woessner JF. Remodeling of human myocardial collagen in idiopathic dilated cardiomyopathy. Role of metalloproteinases and pyridinoline cross-links. Am J Pathol. 1996;148:1639-48.
- [28] Marijjanowki MM, Teeling P, Mann J, Becker AE. Dilated cardiomyopathy is associated with an increase in the type I/type III collagen ratio: a quantitative assessment. J Am Coll Cardiol. 1995;25:1263-72.
- [29] Yoshikane H, Honda M, Goto Y, Morioka S, Ooshima A, Moriyama K. Collagen in dilated cardiomyopathy – scanning electron microscopic and immunohistochemical observations. Jpn Circ J. 1992;56:899-910.
- [30] Bocca B, Madeddu R, Asara Y, Tolu P, Marchal JA, Forte G. Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population. J Trace Elem Med Bio. 2011;25:19-26.

- [31] Minoia C, Sabbioni E, Apostoli P, Pietra R, Bozzoli L, Gallorini M, Nicolau G, Alessio L, Capodaglio. Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European community. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjects. *Sci Total Environ.* 1990;95:89-105.
- [32] Alimonti A, Bocca B, Mannella E, Petrucci F, Zennaro F, Cotichini R, D'ippolito C, Agresti A, Caimi S, Forte G. Assessment of reference values for selected elements in a health urban population. *Ann Ist Super Sanità.* 2005;41:181-7.
- [33] Benes B, Spevacková V, Smid J, Cejchanová M, Cerná M, Subrt P, Marecek J. The concentration levels of Cd, Pb, Hg, Zn and Se in blood of the population in the Czech Republic. *Centr Eur J Publ health.* 2000;8:117-9.
- [34] Rosborg I, Hyllén E, Lidbeck J, Nihlgård B, Gerhardsson L. Trace element pattern in patients with fibromyalgia. *Sci Total Environ.* 2007;385:20-7.
- [35] Heitland P, Köster HD. Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS. *J Trace Elem Med Bio.* 2006;385:20:27.
- [36] Goullé JP, Mahieu L, Castermant J, Neveu N, Bonneau L, Lainé G, Bouige D, Lacroix C. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair Reference values. *Forensic Sci Int.* 2005;153:39-44.

- [37] Moreno MA, Marin C, Vinagre F, Ostapczuk P. Trace element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. *Sci Total Environ.* 1999;229:209-15.
- [38] Nunes JA, Batista BL, Rodrigues JL, Caldas NM, Neto JAG, Barbosa Jr F. A simple method based on ICP-MS for estimation of background levels of arsenic, cadmium, copper, manganese, nickel, lead, and selenium in a blood of the Brazilian population. *J Toxicol Env Health.* 2010;73:878-87.
- [39] da Cunha S, Filho FM, Antelo DS, de Souza MM. Serum sample levels of selenium and copper in healthy volunteers living in Rio de Janeiro city. *Sci Total Environ.* 2003;301:51-4.
- [40] Liu J, Yang H, Shi H, Shen C, Zhou W, Daí Q, Jiang Y. Blood copper, zinc, calcium, and magnesium levels during different duration of pregnancy in Chinese. *Biol Trace Elem Res.* 2010;135:31-7.
- [41] Çefle K, Erçag E, Gezertas S, Uzer A, Öztürk S, Çefie A, Palandüz S. A possible deleterious effect of increased serum copper on myocardial function in patients with dilated cardiomyopathy awaiting transplantation, *Nobel Medicus on-line Dergi*, www.nobelmedicus.com, acessado em 28/04/2011.

- [42] Topuzoglu G, Erbay AR, Karul AB, Yensel N. Concentrations of copper, zinc and magnesium in sera from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Bio Trace Elem Res.* 2003;95:11-7.
- [43] Selehifar E, Shokrazaden M, Ghaemian A, Soudabeh AA. Comparison of copper and zinc levels in the serum of ischemic cardiomyopathy patients with healthy volunteers. *J Baboul Univ Med Sci (Abstract).* 2008;10:23-30.
- [44] Shokrazaden M, Ghaemian A, Selehifar E, Soudabeh A, Saravi SSS, Ebrahimi P. Serum zinc and copper levels in ischemic cardiomyopathy. *Biol Trace Elem Res.* 2009;127:116-23.
- [45] Lyengar V, Wolttlez J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin Chem.* 1988;34:474-81.
- [46] Kosar F, Sahin I, Taskapan C, Küçükbay Z, Güllü H, Cehreli S. Trace element status (Se, Zn, Cu) in heart failure. *Anadolu Kardiyol Derq (Abstract).* 2006;6:216-20.
- [47] Malek F, Dvorak J, Jiresova E, Spacek R. Difference of baseline serum copper levels between groups of patients with different one year mortality and morbidity and chronic heart failure. *Cent Eur J Public Health.* 2003;11:198-201.

- [48] Málek F, Spacek R, Polásek R, Karel L, Stanka P, Zenáhlíková M, Jiresová E. Serum copper levels in patients with chronic heart failure associated with systolic left ventricular dysfunction and its relation to the severity of cardiac failure. *Vnitr Lek.* 2001;47:753-6.
- [49] Atlihan F, Soylemezoglu T, Gökçe A, Güvendik G, Satıcı O. Zinc and copper in congestive heart failure. *Turk J Pediatr.* 1990;32:33-8.
- [50] Consolo LZZ. Alteração plasmática de cobre e do zinco nas crianças à cirurgia cardíaca com circulação extracorpórea. Tese de Doutorado (Programa de pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região do Centro-Oeste) UFMS, Campo Grande/MS, 2008.
- [51] da Cruz Montes Moura AJ. Determinação de elementos traço no leite materno em Campo Grande, Mato Grosso do Sul. Tese de Doutorado (Programa de Pós - graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região do Centro-Oeste) UFMS, Campo Grande/MS, 2006.
- [52] Bialkowska M, Hoser A, Szostak WB, Dybeczynski R, Strlinski S, Nowicka G. Hair zinc and copper concentrations in survivors of myocardial infarction. *Ann Nutr Metab.* 1987;31:327-32.
- [53] Klevay LM. Cardiovascular disease from copper deficiency – a history. *J Nutr.* 2000;130:489s-92s.

- [54] Klevay LM. The influence of copper and zinc on the occurrence of ischemic heart disease. *J Environ Pathol Toxicol*. 1989;4:281-7.
- [55] Nath R. Copper deficiency and heart disease: molecular basis, recent advances and current concepts. *Int J Biochem*. 1997;29:1245-54.
- [56] Klevay LM, Viestenz KE. Abnormal electrocardiograms in rats deficient in copper. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1981;240:H185-9.
- [57] Kopp SJ, Klevay LM, Feliksik JM. Physiological and metabolic characterization of a cardiomyopathy induced by chronic copper deficiency. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 1983;245:H855-66.
- [58] Subramanian, KS. Determination of metals in biofluids and tissues: sample preparation methods for spectroscopic techniques. *Spectrochimica Acta, Part B*. 1996;51:291-319.
- [59] Terres-Martos C, Navarro-Alarcon M, Martin-Lagos F, Lopez-G SH, Lopez-Martinez MC. Determination of copper levels in serum of healthy subjects by atomic absorption spectrometry. *Sci Total Environ*. 1997;198:97-103.
- [60] Cunha S, Filho FMA, Bastos VLF, Antelo DS, Souza MM. Thiamin, selenium, and copper levels in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy taking diuretics. *Arq Bras Cardiol*. 2002;79:454-65.

- [61] Organização Mundial de Saúde, Genebra. Elementos traço na nutrição e saúde humanas. São Paulo, Roca, 1998.
- [62] Melnikov P, Moura AJC, Palhares DB, Figueiredo CSM. Zinc and copper in colostrum. *Indian Pediatr.* 2007;44:355-7.
- [63] Santos EB, Oliva CAG, Amâncio OM. Antropometria, composição corporal e estado nutricional de ferro, cobre e zinco em crianças e adolescente de duas favelas de São Paulo. *J Pediatr Gastr Nutr.* 2003;53:323-8.
- [64] Kühl U, Noutsias M, Seeberg B, Schannwell M, Welp LB, Schultheiss HP. Chronic inflammation in the myocardium of patients with clinically suspected dilated cardiomyopathy. *J Card Fail.* 1994;1:13-25.
- [65] Bárány E, Bergdahl IA, Bratteby LE, Lundh t, Samuelson G, Schütz A, Skerfving S, Oskarsson A. Trace elements in blood and serum of Swedish adolescents: relation to gender, age, residential area, and socioeconomic status. *Eviron Res.* 2002;89:72-84.
- [66] Rambousková J, Kršková A, Slavíková M, Cejchanová M, Wranová K, Procházka B, Cerná M. Trace elements in the blood of institutionalized elderly in the Czech Republic. *Arch Gerontol Geriatr.* 2012.
- [67] Oster O. Trace element concentrations (Cu, Zn, Fe) in sera from patients with dilated cardiomyopathy. *Clin Chim Acta.* 1993;214:209-18.

APÊNDICE 1 – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado a participar em uma pesquisa. É você quem precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte aos responsáveis pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Este estudo está sendo conduzido por Anderson Fernandes (pesquisador) e Dr. Petr Melnikov (coordenador).

Porque o estudo está sendo feito?

A finalidade deste estudo é avaliar os níveis plasmáticos do elemento químico cobre em pacientes com diferentes tipos de dilatação do coração (cardiomiopatias), com a finalidade de simplificar o diagnóstico.

Quem participará deste estudo? Quais são os requisitos?

Poderão participar deste estudo homens e mulheres, com idade entre 18 a 75 anos, que apresentam cardiomiopatia diagnosticada pelo médico responsável.

O que você será solicitado a fazer?

Você concordará que dentre vários exames de sangue, seja incluído também o exame de cobre.

O que se sabe sobre este assunto?

Sabe-se que este exame pode ajudar no diagnóstico claro que, em estudos posteriores, poderá ser um fator adicional no tratamento.

Quanto tempo levará o estudo?

Apenas um momento para que seja providenciado o exame de sangue para cobre.

Quantas outras pessoas estarão participando deste estudo?

Estarão participando desse grupo de pesquisa aproximadamente 50 pessoas.

Que prejuízos ou efeitos adversos podem acontecer comigo se eu participar deste estudo?

Nenhum prejuízo ou efeito adverso.

Que benefício eu posso esperar?

Não haverá nenhum benefício individual, mas a pesquisa irá contribuir para a área da cardiologia.

Quem poderá ver os meus registros?

Seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei, somente os pesquisadores Anderson Fernandes, Dr. Petr Melnikov, os médicos responsáveis, Dr. Hamilton Domingues e Dr^a. Lourdes Zaroni, Comitê de Ética independente e inspetores de agências regulamentadoras do governo (quando necessário) terão acesso a suas informações.

Em caso de dúvida, a quem devo chamar?

Para perguntas ou problemas referentes ao estudo ligue para os pesquisadores Anderson Fernandes/Dr. Petr Melnikov (67) 3345-7805. Para perguntas sobre seus direitos como participante no estudo chame o Comitê de Ética da UFMS, no telefone (067) 3345-7187.

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

Sua participação no estudo é voluntária. Você pode escolher não fazer parte do estudo, ou pode desistir a qualquer momento. Se você desistir do estudo, não haverá nenhum prejuízo para seu atendimento/tratamento. Você receberá uma via assinada deste termo de consentimento.

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

Assinatura do voluntário

_____ Campo Grande, ____/____/____

Assinatura do pesquisador

_____ Campo Grande, ____/____/____

APÊNDICE 2 – Protocolo de coleta

Protocolo nº: _____

Data: ____/____/____

Paciente: _____ Prontuário nº: _____

Endereço: _____

Pesquisador: _____ () NHU;
() CEM – SESAU.

Diagnóstico: _____

Data de nascimento: ____/____/____

Telefone: _____

Perfil metabólico

Cobre: _____

Zinco: _____

Colesterol total: _____

Triglicerídeos: _____

LDL: _____

HDL: _____

Glicemia: _____

Creatina: _____

Ácido úrico: _____

Ureia: _____

Sódio: _____

Potássio: _____

Cálcio: _____

Magnésio: _____

Hemograma

Eritrócitos: _____ Hemoglobina: _____ Hematócrino: _____

Plaquetas: _____ Leucócitos: _____ Neutrófilos: _____

Bastonetes: _____ Segmentados: _____ Eosinófilos: _____

Linfócitos típicos: _____ Linfócitos atípicos: _____

Linfócitos totais: _____ Monócitos: _____

Exames instrumentais:

Doppler ecocardiograma

Parâmetros estruturais

- | | |
|---|--|
| 1 – Frequência cardíaca: _____ | 2 – Espessura diastólica do septo: _____ |
| 3 – Espessura diastólica da parede: _____ | 4 – Relação septo/parede: _____ |
| 5 – Diâmetro diastólico do VE: _____ | 6 – Diâmetro sistólico do VE: _____ |
| 7 – Diâmetro diastólico do VD: _____ | 8 – Diâmetro diastólico da aorta: _____ |
| 9 – Diâmetro sistólico do AE: _____ | 10 – Relação AO/AE: _____ |

Volumes ventriculares

- 1 – Volume diastólico final do VE: _____
- 2 – Volume sistólico final do VE: _____
- 3 – Volume sistólico (ejeção) do VE: _____

Parâmetros de função

- | | |
|---------------------------------------|--|
| 1 – Fração de ejeção do VE: _____ | 2 – Encurt. Sistólico do diâmetro: _____ |
| 3 – Massa ventricular esquerdo: _____ | 4 – Relação volume/massa: _____ |

Parâmetros descritivos

- | | |
|-----------------------------|-----------------------------|
| 1 – Movimento septo: _____ | 2 - Movimento parede: _____ |
| 3 – Valva mitral: _____ | 4 – Valva tricúspide: _____ |
| 5 – Valva aórtica: _____ | 6 – Valva pulmonar: _____ |
| 7 – Pericárdio: _____ | 8 – Cont. septo – AO: _____ |
| 9 – Cont. mitro – AO: _____ | |

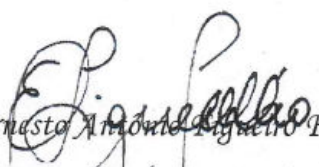
Conclusão: _____

ANEXO 1 - Aprovação do Comitê de Ética em Seres Humanos

Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS

*Carta de Aprovação*

O protocolo nº 2146 CAAE 0245.0.049.000-11 do Pesquisador Anderson Fernandes da Silva, intitulado "Perfil epidemiológico do cobre em cardiomiopatias", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião extraordinária no dia 18 de agosto de 2011, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.


Ernesto Antônio Aguiar Filho

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

2ª via em 7/2/2013

Campo Grande, 7 de fevereiro de 2011.

Comitê de Ética da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
<http://www.propp.ufms.br/bioetica/cep/>
bioetica@propp.ufms.br
fone 0XX67 345-7187

ANEXO 2 - Características gerais dos participantes do estudo.

Paciente	Sexo	Idade	Etnia	Paciente	Sexo	Idade	Etnia
1	M	36	P	25	F	49	B
2	M	57	B	26	M	59	P
3	F	66	B	27	M	79	B
4	M	73	P	28	F	68	B
5	F	86	B	29	F	56	B
6	F	86	B	30	M	48	B
7	M	78	B	31	M	63	B
8	M	72	P	32	M	59	B
9	M	75	B	33	M	56	P
10	M	64	B	34	M	59	P
11	M	77	P	35	F	73	B
12	M	60	P	36	M	87	P
13	M	81	P	37	M	55	P
14	M	68	P	38	F	56	B
15	F	77	B	39	M	70	B
16	M	76	P	40	M	30	P
17	F	74	P	41	F	39	B
18	M	73	B	42	F	71	B
19	M	34	P	43	F	86	P
20	F	32	B	43	M	84	P
21	M	81	P	43	F	87	B
22	F	50	B	46	M	77	B
23	M	81	P	47	M	85	B
24	M	56	P				

*) B – branco; P – pardo.

ANEXO 3 - Parâmetros estruturais conforme estudo Doppler ecocardiográfico.

Paciente	Freq. cardíaca	Esp. Sep.	Esp. Par.	Relação S/P	Diam. d. VE	Diam s. VE	Diam. d. VD	Diam. d. AO	Diam. s. AE	Relação AO/AE
1	70	n	n	n	+	+	n	n	+	-
2	81	n	n	n	+	+	+	n	+	n
3	68	+	+	n	n	+	n	n	n	n
4	50	+	+	n	n	+	n	+	+	n
5	115	+	+	n	n	n	n	n	n	n
6	95	+	+	n	n	n	n	n	n	n
7	67	+	+	n	+	+	n	+	+	n
8	70	+	+	n	n	n	n	n	+	n
9	60	n	n	n	n	+	n	n	n	n
10	70	+	+	n	n	+	n	n	+	n
11	84	+	n	n	+	+	n	+	+	n
12	62	+	+	-	+	+	n	n	+	n
13	72	+	+	n	+	+	+	+	+	n
14	52	+	+	n	+	+	n	+	+	n
15	63	n	n	n	n	n	n	n	n	n
16	78	n	n	n	n	+	n	n	n	n
17	78	n	n	n	+	+	n	n	+	-
18	80	n	n	n	+	+	+	n	+	-
19	78	n	n	n	+	+	+	n	+	-
20	72	n	n	n	n	n	n	n	n	n
21	64	+	+	n	+	+	n	+	n	+
22	63	+	+	n	n	n	n	n	n	n
23	64	+	+	n	+	+	n	+	n	n
24	50	n	n	n	+	+	n	n	n	n
25	80	+	+	n	n	n	n	n	n	n
26	71	+	+	n	n	n	n	+	n	n
27	83	+	+	n	n	n	n	+	+	n
28	80	+	+	n	+	+	n	+	+	n

29	81	n	n	n	+	+	+	n	+	-
30	70	n	n	n	+	+	n	n	+	-
31	72	n	n	n	+	+	+	n	+	-
32	72	n	n	n	+	+	+	n	+	n
33	68	n	n	n	+	+	+	n	+	-
34	52	+	n	+	+	+	+	n	+	-
35	72	n	n	n	+	+	+	n	+	-
36	74	+	+	n	+	+	+	+	+	n
37	80	n	n	n	+	+	+	n	+	-
38	80	n	n	n	+	+	+	n	+	-
39	75	n	n	n	+	+	+	+	+	n
40	80	+	+	n	n	n	+	n	n	n
41	74	+	+	n	+	+	+	n	+	-
42	88	n	n	n	+	+	+	n	+	-
43	64	+	+	n	+	+	n	+	n	+
44	80	+	+	n	+	+	n	+	+	n
45	79	n	n	n	n	+	n	n	n	n
46	71	+	+	n	n	+	n	n	+	n
47	74	n	n	n	+	+	n	n	+	-

*) n (normal); + (aumentado); - (diminuído).

ANEXO 4 - Parâmetros de volumes ventriculares e de função conforme estudo Doppler ecocardiográfico.

Paciente	Vol. d. f. VE	Vol. s. f. VE	Vol. s. VE	Fraç. ejeç. VE	Encrt. s. diam.	Massa VE	Rel. vol/mas
1	+	+	+	-	-	+	n
2	+	+	n	-	-	+	+
3	n	+	n	-	-	+	-
4	n	+	n	n	-	+	-
5	n	n	n	n	-	n	-
6	n	n	n	-	n	n	-
7	+	+	n	-	-	+	n
8	n	n	n	n	n	+	-
9	n	+	n	-	n	n	n
10	n	+	n	-	-	+	-
11	n	+	n	-	-	+	n
12	+	+	n	-	-	+	n
13	+	+	n	-	-	+	-
14	+	+	+	n	-	+	-
15	n	+	n	-	-	n	n
16	n	+	n	-	-	n	n
17	+	+	n	-	-	+	n
18	+	+	n	-	-	+	n
19	+	+	n	-	-	+	n
20	n	n	n	n	n	n	n
21	+	+	n	-	-	+	-
22	n	n	n	n	n	n	-
23	+	+	n	-	-	+	-
24	+	+	n	-	-	n	n
25	n	n	n	n	n	n	-
26	n	n	n	n	n	n	-
27	n	n	n	n	n	+	-

28	+	+	+	n	n	+	n
29	+	+	n	-	-	+	n
30	+	+	n	-	-	+	n
31	+	+	n	-	-	+	n
32	+	+	+	-	-	+	n
33	+	+	n	-	-	+	n
34	+	+	n	-	-	+	+
35	+	+	n	-	-	n	n
36	+	+	n	-	-	+	n
37	+	+	n	-	-	+	n
38	+	+	n	-	-	+	n
39	+	+	n	-	-	+	n
40	n	n	n	n	+	+	-
41	+	+	n	-	-	+	n
42	+	+	n	-	-	n	n
43	+	+	n	-	-	+	-
44	+	+	+	n	n	+	n
45	n	+	n	-	-	n	n
46	n	+	n	-	-	+	-
47	+	+	+	-	-	+	n

*) n (normal); + (aumentado); - (diminuído).

ANEXO 5 - Parâmetros descritivos e diagnóstico de cardiomiopatia conforme estudo Doppler ecocardiográfico.

Paciente	Mov. septo	Mov. parede	Pericárdio	Cont. septo-AO	Cont. mitro-AO	Diagnóstico
1	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
2	diminuído	diminuído	normal	normal	normal	CD
3	normal	normal	normal	normal	normal	CI
4	normal	hipocinético	normal	normal	normal	CI
5	normal	normal	normal	normal	normal	CH
6	normal	normal	normal	normal	normal	CI
7	hipocinético	hipocinético	normal	normal	normal	CD
8	normal	normal	normal	normal	normal	CI
9	normal	normal	normal	normal	normal	CI
10	normal	normal	normal	normal	normal	CI
11	assincrônico	aumentada	normal	normal	normal	CI
12	acinético	normal	normal	normal	normal	CI
13	hipocinético	aumentada	normal	normal	normal	CI
14	normal	hipocinético	normal	normal	normal	CI
15	normal	normal	normal	normal	normal	CI
16	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
17	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
18	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
19	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
20	normal	normal	normal	conservada	conservada	CH
21	normal	diminuído	normal	normal	normal	CI
22	assincrônica	normal	normal	normal	normal	CI
23	normal	diminuído	normal	normal	normal	CI
24	diminuído	diminuído	normal	normal	normal	CD
25	normal	normal	normal	normal	normal	CH
26	assincrônica	normal	normal	normal	normal	CH

27	normal	normal	normal	normal	normal	CH
28	aumentada	hipocinético	normal	normal	normal	CI
29	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
30	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
31	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
32	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
33	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
34	diminuído	aumentada	normal	normal	normal	CD
35	paradoxal	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
36	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
37	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
38	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
39	normal	normal	normal	normal	normal	CD
40	paradoxal	normal	normal	normal	normal	CH
41	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
42	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
43	aumentada	hipocinético	normal	normal	normal	CI
44	normal	diminuído	normal	normal	normal	CI
45	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD
46	normal	normal	normal	normal	normal	CI
47	diminuído	diminuído	normal	conservada	conservada	CD

ANEXO 6 - Características do hemograma dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias. (Parte I)

Paciente	Eritrócitos	Hemoglobina,%	Leucócitos	Neutrófilos, %
1	4.17	13.5	6.440	67
2	3.01	7.5	5.280	64
3	4.57	12.0	12.440	60
4	2.83	8.3	7.300	45
5	4.42	12.4	10.252	50
6	3.76	11.6	8.780	73
7	4.80	15.4	6.960	57
8	4.20	12.5	9.160	50
9	3.91	12.1	7.900	64
10	5.03	14.6	8.230	80
11	3.77	10.7	4.020	60
12	3.96	12.2	13.680	90
13	4.08	13.2	7.270	75
14	4.76	14.0	12.730	68
15	4.23	12.6	6.930	63
16	-	-	-	-
17	4.20	12.8	7.500	61
18	4.20	13.5	8.400	66
19	5.02	13.1	17.000	-
20	4.40	13.2	5.700	55
21	4.12	11.7	12.460	67
22	4.23	13.4	6.930	57
23	4.12	11.7	12.460	67
24	-	-	-	-
25	5.44	14.7	7.530	61
26	4.36	11.6	10.140	93
27	3.69	11.3	10.590	67
28	4.09	11.3	7.630	55
29	3.39	8.7	4.560	57
30	5.29	14.8	7.100	51
31	-	-	-	-
32	4.80	14.3	3.700	39
33	5.20	15.4	9.000	69
34	4.54	11.9	8.200	83
35	4.30	11.6	5.600	71
36	3.7	11.7	2.400	45
37	5.30	15.2	10.700	85
38	3.20	8.9	7.100	79
39	3.51	10.5	8.430	75
40	5.12	12.5	11.570	71
41	4.94	11.6	5730	79
42	4.40	12.2	6.600	71
43	4.60	14.2	7.300	51

44	3.52	10.7	15.160	81
45	5.32	17.0	6720	48
46	5,19	16,2	11640	78
47	-	-	-	-

ANEXO 6 - Características do hemograma dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias. (Parte II)

Paciente	Eosinófilos %	Linfócitos %	Monócitos %	Plaquetas x10³
1	-	27	6	212
2	8	18	10	81
3	21	13	6	368
4	8	35	12	257
5	4	39	7	311
6	-	19	8	329
7	5	29	9	171
8	5	37	8	300
9	1	24	11	171
10	2	12	6	176
11	6	24	10	152
12	-	6	4	167
13	1	13	11	234
14	3	25	4	247
15	3	29	5	298
16	-	-	-	-
17	3	28	8	276
18	1	25	8	146
19	-	119	34	112
20	2	34	9	210
21	-	29	4	250
22	3	32	8	240
23	-	29	4	250
24	-	-	-	-
25	5	26	8	257
26	-	6	1	282
27	-	28	5	250
28	1	35	9	243
29	3	30	10	193
30	4	35	10	201
31	-	-	-	-
32	4	48	9	169
33	1	24	6	177
34	2	10	5	247
35	2	16	11	172
36	-	45	10	159
37	-	10	5	232
38	-	12	9	204
39	2	19	4	239
40	2	19	8	222
41	3	16	2	280
42	-	21	8	248

43	2	36	11	187
44	5	3	11	76
45	5	37	10	162
46	3	13	6	111
47	-	-	-	-

ANEXO 7 - Características do metabolismo lipídico dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.

Paciente	Triglicérides mg%	Colesterol total mg%	LDL mg%	HDL mg%
1	96	228	166	43
2	159	151	91	32
3	238	179	106	25
4	48	222	146	67
5	61	137	66	58
6	134	164	81	56
7	377	167	27	64
8	298	229	127	42
9	54	173	113	49
10	129	161	88	46
11	248	202	122	30
12	52	146	79	56
13	45	107	66	34
14	682	330	160	34
15	102	196	114	44
16	-	-	-	-
18	244	156	122	35
19	188	180	109	33
20	-	-	-	-
21	186	182	112	48
22	88	148	97	33
23	109	192	124	46
24	88	148	97	33
25	178	111	45	30
26	-	-	-	-
27	79	190	118	57
28	45	239	163	66
29	91	135	74	43
30	79	98	53	28
31	72	87	61	11
32	113	183	117	43
33	-	-	-	-
34	48	102	33	48
35	274	319	210	54
36	-	-	-	-
37	70	179	109	59
38	51	133	80	43
39	190	221	153	30
40	-	-	-	-
41	212	181	112	26
42	70	122	69	38
43	198	234	120	74

44	95	169	151	37
45	388	166	61	27
46	116	131	60	48
47	105	166	115	30

ANEXO 8 - Características do metabolismo bioquímicos dos participantes conforme os principais tipos de cardiomiopatias.

Paciente	Glicemia mg%	Ureia mg%	Creatina mg%	Sódio mEq/L	Potássio Mmol/L	Cálcio mg%	Magnésio mg%
1	93	37	0.9	140	4.6	10.2	1.8
2	76	42	0.9	138	3.9	7.8	1.9
3	78	12	0.6	137	4.1	9.4	1.6
4	104	72	3.3	139	4.6	9.3	1.9
5	97	47	1.1	143	4.3	8.1	1.6
6	128	61	1.1	141	4.7	9.4	1.6
7	233	33	1.1	138	3.6	9.6	2.0
8	285	55	1.4	134	4.4	8.8	1.5
9	109	42	1.2	137	4.8	9.6	2.2
10	177	35	1.0	139	4.4	9.3	2.0
11	97	72	1.8	142	4.8	9.8	1.9
12	137	30	0.8	139	4.3	9.2	1.8
13	88	36	0.9	140	4.9	9.2	1.7
14	381	71	2.5	140	4.6	8.6	2.0
15	219	41	0.7	136	4.1	9.4	1.4
16	-	-	-	-	-	-	-
17	181	57	1.1	135	4.7	-	-
18	93	60	1.1	140	5.0	9.3	1.9
19	-	-	-	-	-	-	-
20	82	40	0.9	-	-	10.1	-
21	77	56	0.8	142	4.3	9.0	2.0
22	173	37	0.8	136	4.3	9.5	1.8
23	77	56	0.8	142	4.3	9.0	2.0
24	92	37	1.2	146	4.6		
25	86	25	0.8	144	3.8	8.8	
26	65	121	2.3	127	4.7		2.0
27	95	48	1.1	143	4.2	8.1	2.1
28	178	65	0.9	134	4.7	8.5	1.5
29	83	77	1.4	131	4.0	8.4	2.1
30	84	44	1.0		4.8	-	-
31	-	-	-	-	-	-	-
32	81	29	1.0		4.2	-	-
33	94	46	1.4	141	4.5	-	-
34	86	45	1.4	136	4.0	9.5	1.8
35	70	26	1.1	136	3.9	8.6	-
36	79	63	1.6	140	5.3	-	-
37	140	58	1.5	136	3.7	-	-
38	136	142	8.8	137	4.3	-	-
39	136	119	1.8	140	4.1	8.5	2.0
40	104	26	1.1	136	6.2	9.7	1.9
41	75	26	0.8	142	4.4	9.8	2.0
42	48	39	1.0	143	4.0	-	-

43	-	-	-	-	-	-	-
44	169	49	1.6	142	4.2	10.0	1,9
45	98	41	1.6	139	4.1	10.7	-
46	115	36	1.1	141	4.1	10.6	2.0
47	-	-	-	-	-	-	-

ANEXO 9 - Resultados das dosagens das concentrações plasmáticas de cobre.

Resultado de dosagem de cobre, mg/L					
Paciente	Média	Desvio padrão	Paciente	Média	Desvio padrão
1	2,6	0,016	25	2,4	0,038
2	0,8	0,003	26	2,4	0,038
3	3,4	0,037	27	2,4	0,001
4	1,0	0,009	28	2,4	0,041
5	3,2	0,030	29	0,8	0,008
6	3,0	0,020	30	3,0	0,067
7	3,0	0,009	31	0,6	0,011
8	3,2	0,003	32	2,6	0,001
9	3,2	0,014	33	2,4	0,004
10	3,4	0,024	34	3,0	0,005
11	3,4	0,013	35	2,6	0,060
12	0,8	0,005	36	3,2	0,006
13	3,6	0,001	37	3,2	0,031
14	3,4	0,005	38	3,4	0,003
15	3,8	0,003	39	0,6	0,002
16	0,4	0,015	40	3,0	0,015
17	4,0	0,010	41	3,0	0,001
18	4,0	0,032	42	3,0	0,002
19	2,4	0,017	43	1,2	0,008
20	1,4	0,003	44	3,2	0,002
21	2,2	0,050	45	3,6	0,016
22	0,8	0,003	46	3,6	0,013
23	2,2	0,002	47	3,2	0,024
24	0,8	0,024			