

ALTERAÇÕES METABÓLICAS E FUNCIONAIS DO COBRE EM *DIABETES MELLITUS*

METABOLIC AND FUNCTIONAL ALTERATIONS OF COPPER IN *DIABETES MELLITUS*

Lucia de Fátima Campos PEDROSA¹
Silvia Maria Franciscato COZZOLINO²

RESUMO

*O objetivo desta revisão foi discutir aspectos que envolvem as alterações metabólicas e funcionais do cobre em **Diabetes Mellitus**. Na presença desta doença, alguns distúrbios funcionais de cobre têm sido caracterizados e explicados em parte por alterações nos processos de absorção, circulação e utilização do elemento. O estado hormonal pode modificar a secreção biliar de cobre e assim repercutir na regulação homeostática da absorção. A redução na atividade da lisil-oxidase, uma cuproenzima, altera a síntese de colágeno e de elastina, comprometendo assim a integridade dos vasos sanguíneos. Tal fato pode agravar o desenvolvimento de complicações vasculares nos diabéticos. Os estudos com diabetes experimental apontam um acúmulo tecidual de cobre nos rins, o que conduz à especulações quanto à gênese da nefropatia diabética. Os experimentos com pacientes diabéticos demonstram irregularidades no cobre circulante, aumento de peroxidação lipídica e estado nutricional inadequado deste micronutriente.*

Termos de indexação: diabetes mellitus, cobre, metabolismo do cobre, distúrbios funcionais, micronutrientes.

ABSTRACT

*The aim of this review was to discuss aspects that involve metabolic and functional alterations of copper in **Diabetes Mellitus**. In this disease some functional disturbances of copper have been explained by alterations in the processes of absorption, circulation and utilization of this element. The hormone status can modify the biliary secretion of copper and therefore to reflect on homeostatic regulation of the absorption. Impaired lysil oxidase activity (a kind of cuproenzyme) alters elastin and collagen synthesis and this damages the integrity of the blood vessel. This fact can worsen the development of the vascular alterations in diabetic patients. Researches with experimental diabetes indicate high concentrations of copper in kidneys. This leads to speculations about the genesis of the diabetic nephropathy. Human studies demonstrate that diabetic patients have abnormal circulation of copper, lipid peroxidation increased and inadequate nutritional status of this micronutrient.*

Index terms: diabetes mellitus, copper, metabolism, functional disturbances, micronutrients.

⁽¹⁾Departamento de Nutrição, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Av. Gal Cordeiro Farias, s/n, Petrópolis, 59100-180, Natal, RN.

⁽²⁾Departamento de Alimentos e Nutrição Experimental, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

ASPECTOS METABÓLICOS E FISIOLÓGICOS DO COBRE

O cobre é um mineral traço cuja essencialidade foi primeiramente reconhecida em 1928 ao ser evidenciado em experimento com ratos. Este micronutriente juntamente com o ferro tinha uma função importante na prevenção da anemia (Hart *et al.*, 1928).

A importância biológica, funcional e estrutural do cobre em animais e humanos está relacionada com as funções metabólicas de enzimas cobre-dependentes - cuproenzimas, como por exemplo: citocromo c oxidase, superóxido dismutase citosólica, lisil oxidase, tirosinase, ceruloplasmina e dopamina β -hidroxilase. Estas catalisam reações fisiológicas importantes relacionadas com fosforilação oxidativa, inativação de radicais livres, biossíntese de colágeno e elastina, formação de melanina, coagulação sangüínea, metabolismo de ferro e síntese de catecolaminas (Danks, 1988).

Os valores analíticos do conteúdo total de cobre no corpo humano variam de 50 a 120 mg, sendo 80 mg o teor médio considerado para um indivíduo adulto de 70 kg. Os tecidos que apresentam maiores concentrações de cobre são fígado, cérebro, baço, osso e músculo esquelético; sendo o fígado e o baço considerados órgãos de reserva (Mason, 1979), cujas concentrações observadas têm sido inversamente proporcionais à idade (Williams, 1983).

O cobre é absorvido no estômago e no intestino delgado, sendo o duodeno o maior sítio absorptivo. Os mecanismos absorptivos de regulação na mucosa intestinal são modulados por ligantes específicos, de natureza aminoacídica, e pela metalotioneína, uma proteína de baixo peso molecular com grande afinidade por metais (Cousins, 1985).

O cobre dietético não é um efetivo indutor da síntese da metalotioneína intestinal, pois ainda é improvável a regulação hormonal da absorção de cobre, em resposta a mudanças de suplementação dietética (Bremner, 1991). Já o elevado teor de zinco induz esta síntese, o que proporciona um aumento na captação de cobre, fator este considerado negativo, pois o cobre ligado desta forma fica retido, e conseqüentemente indisponível para transferência serosal (Hall *et al.*, 1979; Fischer *et al.*, 1983).

Fatores endógenos e alguns componentes dietéticos influenciam de formas distintas a capta-

ção de cobre pelo lúmen intestinal. As proteínas, D e L - aminoácidos, citrato e fosfatos aumentam esta captação, e outros como fibra, fitato, ácido ascórbico, tiomolibdato e zinco influenciam negativamente; tanto por processos de complexação que limitam a absorção, como por mecanismos antagônicos como no caso da interação zinco-cobre (Festa *et al.*, 1985; Oestreicher & Cousins, 1985; Turnlund, 1988; Torre *et al.*, 1991).

Neste contexto, o tipo de carboidrato da dieta constitui também um fator importante na utilização do cobre, sendo a frutose o mais investigado, principalmente em estudos de deficiência deste mineral (Reiser *et al.*, 1983; Fields *et al.*, 1984; Fields *et al.*, 1986; Werman & Bhathena, 1992).

Experimentos delineados para testar os efeitos do consumo de frutose ou amido na deficiência de cobre têm mostrado que ratos machos alimentados com dietas deficientes em cobre contendo frutose apresentam sinais de deficiências mais graves do que os ratos alimentados com amido (Reiser *et al.*, 1983; Fields *et al.*, 1984). Acrescentando-se o fato de que ratas alimentadas com dietas deficientes em cobre parecem estar protegidas desses efeitos (Fields *et al.*, 1986; Werman *et al.*, 1995), tem-se sugerido que os animais metabolizam frutose de forma diferente, dependendo do sexo.

Recentemente, Werman *et al.* (1995) investigaram em ratos machos e fêmeas os efeitos no colágeno do músculo cardíaco, diante do consumo de dietas adequadas e deficientes em cobre, contendo frutose, ou amido de milho. Os dados obtidos demonstraram que a atividade enzimática da lisil oxidase, nas ligações cruzadas do colágeno, foi afetada pela deficiência de cobre, sendo estes sinais exacerbados nos animais que consumiram frutose. Werman & Bhathena (1992) também constataram que as conseqüências da deficiência de cobre, concomitantemente com a ingestão de frutose, não são atenuadas com o consumo de baixos níveis de zinco nas dietas.

Esta interação entre a frutose e o cobre deve-se fundamentalmente aos aspectos de metabolização deste carboidrato. A frutose é absorvida mais lentamente que a glicose, e é rapidamente metabolizada no fígado produzindo glicose, glicogênio e lactato; ou por outras vias metabólicas se transforma em sorbitol e gliceraldeído (Henry & Crapo, 1991). Constatou-se que tais produtos foram acumulados no fígado e rins

de ratos deficientes em cobre que foram alimentados com frutose (Fields *et al.*, 1989). Pelo fato do sorbitol ter a propriedade de quelar fortemente o cobre (Briggs *et al.*, 1981), especula-se a influência negativa deste complexo estável, na biodisponibilidade deste micronutriente. Concomitantemente, elevadas concentrações intracelulares de gliceraldeído podem ser tóxicos para os tecidos, devido a geração de radicais provenientes da oxidação deste composto (Thoranelly *et al.*, 1984). Em doenças como *diabetes mellitus*, estes efeitos somados ao aumento estresse oxidativo característico desta doença (Godin *et al.*, 1988; Strain, 1991), representa uma questão a ser considerada no planejamento dietético para pacientes diabéticos.

Outros estudos sugerem que a lactose como fonte de carboidrato predominante em dietas, possivelmente agrava os sinais de deficiência de cobre tais como: elevação do colesterol, redução da hematopoiese e baixa atividade da superóxido dismutase de macrófagos e granulócitos. Um aumento na geração de radicais livres foi apontado devido ao aumento de atividade da catalase e superóxido dismutase eritrocitárias (Carville & Strain, 1989; Mc Dermott *et al.*, 1995).

Segundo Cousins (1985), o cobre absorvido é transportado do intestino ao fígado pelo sistema porta, ligado principalmente à albumina e também a alguns complexos de aminoácidos. A captação hepática de cobre ocorre por processo de saturação, e no fígado a maior parte do cobre é convertido em ceruloplasmina que constitui 90% do *pool* de cobre do plasma. Esta enzima contém aproximadamente 8 átomos grama/Cu/mol, caracterizada como uma oxidase, que cataliza a oxidação de amins aromáticas e outras substâncias incluindo ferro ferroso (Odell, 1976). A ceruloplasmina como *pool* de cobre fortemente ligado transfere cobre aos tecidos extra-hepáticos, e a liberação de cobre deste complexo parece estar associada à redução do íon cúprico (Cu^{2+}) a cuproso (Cu^+) na superfície da membrana (McArdle, 1992). Foi ainda demonstrado que o ácido ascórbico aumenta esta captação (Percival & Harris, 1989). Pelo fato da ceruloplasmina ser uma proteína de fase aguda, o nível circulante pode estar aumentado em resposta ao estresse e em determinadas doenças (Cousins, 1985).

Em um caso clínico conduzido por Buchman *et al.* (1994), em rapazes asiáticos e indianos, foi

detectado um novo tipo de distúrbio no metabolismo de cobre associado a uma deficiência secundária deste mineral, precisamente na incorporação hepática de cobre na ceruloplasmina. Os sinais clínicos manifestados nestes pacientes foram: neuropatias por desmielinização, pseudo-obstrução intestinal crônica, osteoporose, atrofia de testículos, degeneração da retina e cardiomiopatia.

A regulação homeostática de cobre se faz pelo fígado (Prohaska, 1990). Em diversas funções fisiológicas, a metalotioneína hepática participa ativamente dos processos reguladores da homeostase de cobre e zinco. A biossíntese de metalotioneína no fígado é controlada por fatores fisiológicos tais como: estado nutricional de zinco e cobre, infecções e diabetes experimental (Cousins, 1985). Na regulação hormonal desta biossíntese existem evidências da ação de glicocorticóides, glucagon e epinefrina, dentre outros (Failla & Cousins, 1978a, b; Weiner & Cousins, 1980).

Quanto aos hormônios, existem evidências de que os glicocorticóides promovem aumento da secreção biliar de cobre, indicando que o estado hormonal pode alterar a absorção deste elemento por influência deste mecanismo de excreção (Mearric & Mistilis, 1969; Benson, 1979).

Dentre os indutores da síntese de metalotioneína, o cobre tem sido amplamente investigado, embora sem esclarecimentos para alguns mecanismos envolvidos. A hipótese mais aceita refere-se ao seguinte: o cobre transportado para o fígado se liga a tioneína, caso nenhum sítio ligante de cobre esteja disponível na metalotioneína, os íons cúpricos promovem a produção do mRNA-MT e por interação de fatores ligantes dos genes de metalotioneína, uma nova proteína é sintetizada quelando o excesso dos íons de cobre e removendo-os do sistema (Bremner, 1991).

A via primária de excreção do cobre é pelas fezes, menos de 3% é excretado pela urina. Se a excreção biliar não funcionar regularmente, pode desencadear uma toxicidade hepática de cobre, como no caso da doença de Wilson e cirrose hepática (Mason, 1979).

Bases bioquímicas da deficiência de cobre

Segundo Prohaska (1990) a maioria das manifestações clínicas de deficiência de cobre são explicadas em parte, pelo decréscimo nas atividades

das cuproenzimas (Quadro 1), sendo observadas doenças em variados órgãos (Quadro 2).

Quadro 1. Cuproenzimas reconhecidas em animais e humanos.

Enzimas	Funções bioquímicas
Amina oxidase	Desaminação oxidativa
Ceruloplasmina	Ferroxidase, transporte de cobre
Citocromo c oxidase	Transporte de elétrons
Dopamina β-hidroxiase	Síntese de norepinefrina
Superóxido dismutase extracelular	Dismutação de O ₂ ⁻
Lisil oxidase	Síntese de colágeno e elastina
Metalotioneína	Armazenamento de cobre
Neurocuprefina	Modulação da atividade da monoxigenase
Cu, Zn superóxido dismutase	Dismutação de O ₂ ⁻
Tirosinase	Formação de melanina

Quadro 2. Órgãos afetados pela deficiência de cobre.

Órgãos	Observação patológica
Adrenais, Gônadas	Pequenas alterações
Sangue	Anemia neutropenia
Osso	Decréscimo de osteogênese, osteoporose
Cérebro	Degeneração neuronal, hipertrofia mitocondrial
Coração	Aumento de tamanho, hiperplasia mitocondrial
Intestino	Diarréia
Fígado	Hepatomegalia leve
Pulmão	Enfisema
Pâncreas	Atrofia, perda de células acinares
Rim	Atrofia leve
Pele	Acromotricia, alterada queratinização
Baço	Esplenomegalia, alterada distribuição de linfócitos
Timus	Hipogênese, necrose

A citocromo c oxidase é uma oxidase terminal na cadeia de transporte de elétrons, daí seu papel fundamental na fosforilação oxidativa. Davies & Lawrence (1986), constataram alterações morfológicas e funcionais de mitocôndrias hepáticas, em ratos deficientes em cobre. Em outro experimento com animais deficientes em cobre também foi verificado um decréscimo acentuado desta enzima, embora não se tenha evidenciado diminuição dos limites respiratórios (Gallagher *et al.*, 1973). Estudo atual contraria estes dados (Bode *et al.*, 1992), no qual foi constatado que na deficiência de cobre houve um

decréscimo nos níveis de respiração das mitocôndrias de fígado e coração, juntamente com redução da citocromo c oxidase.

A superóxido dismutase é uma enzima que contém cobre e zinco e catalisa a decomposição do ânion superóxido - O₂ na reação $2O_2 + 2H_2 \rightarrow H_2O_2 + O_2$, sendo portanto, um componente do sistema de defesa do organismo contra geração de radicais livres; o que fundamenta a função antioxidante do cobre (Balevska *et al.*, 1981; Taylor *et al.*, 1988). Estudos conduzidos em ratos com deficiência de cobre dietário constataram decréscimo nos níveis desta enzima em pulmão, fígado, aorta e eritrócitos (Dameron & Harris, 1987; Carville & Strain, 1989). Em humanos, foi demonstrado que o *diabetes mellitus* propicia o aumento de glicosilação da Cu-Zn SOD (Cobre-Zinco Superóxido Dismutase) dos eritrócitos prejudicando portanto sua atividade (Arai *et al.*, 1987); baixos valores desta enzima também foram divulgados em outro estudo com pacientes com Diabetes Tipo 1 (Hagglof *et al.*, 1983).

Numa revisão de literatura, Prohaska (1990) discutiu uma aparente especificidade para as alterações das enzimas citocromo c oxidase e superóxido dismutase, diante da deficiência de cobre. Em modelos experimentais com ratos ou camundongos, os estudos mostraram diferentes formas de manifestações das alterações destas enzimas, fato este a ser considerado na definição de protocolos de pesquisa.

A ceruloplasmina é uma ferroxidase cuja redução diminui o transporte de ferro para os sítios eritropoiéticos, o que explica a essencialidade do cobre no metabolismo do ferro (Prohaska, 1990). A anemia foi o primeiro sinal clínico descrito de deficiência de cobre (Hart *et al.*, 1928). A maior parte das pesquisas indica que a deficiência de cobre pode proporcionar aumento de fragilidade osmótica nos eritrócitos, que pode ser agravada com o diabetes (Jain & Williams, 1988; Miller *et al.*, 1995). Williams (1983), evidenciou também nestas células uma diminuição da meia-vida e aumento de viscosidade, por alterações nos componentes de membrana.

Considera-se que a ceruloplasmina também atua na inibição da peroxidação lipídica. Na sua ação como ferroxidase diminui os íons ferrosos, e, somado a isto, reduz os íons cúpricos que são indutores de peroxidação nas trocas teciduais (Wachnik *et al.*, 1989).

A biossíntese de norepinefrina depende em parte da cuproenzima-dopamina β -hidroxilase. Baixo nível de norepinefrina foi verificado em cérebro de ratos neonatos deficientes em cobre (Prohaska & Wells, 1974), quadro este que pode ser revertido diante da terapia com cobre, segundo observações de outros autores (Miller & O'Dell, 1987). Estes baixos níveis de norepinefrina observados em órgãos, e a alta excreção urinária de dopamina e norepinefrina em estudos com ratos e camundongos, sugerem uma combinação de síntese diminuída e *turnover* aumentado destas catecolaminas (Prohaska *et al.*, 1990). Outros distúrbios neurológicos têm sido relatados em animais com deficiência de cobre, tais como diminuição de mielinização associada à ataxia (Di Paolo *et al.*, 1974), alterações histológicas no cérebro e no corpo estriado (Carlton & Kelly, 1969).

A redução da atividade da lisil-oxidase explica a maioria das alterações fisiopatológicas que ocorrem na deficiência de cobre, caracterizadas por: defeitos nas ligações cruzadas do colágeno e elastina, comprometimento do sistema vascular e defeitos na matriz óssea. As ligações cruzadas são determinantes da elasticidade e estrutura das proteínas do tecido conectivo (O'Dell, 1976) e a integridade dos vasos sanguíneos é dependente da qualidade e quantidade de colágeno e elastina.

O papel do cobre no processo das ligações cruzadas e maturação do colágeno foi abordado inicialmente em consecutivos experimentos com porcos e galinhas. Evidenciou-se que estes animais, alimentados com dietas deficientes em cobre, morriam repentinamente de hemorragia interna causada por defeitos estruturais das artérias (Shields *et al.*, 1962; O'Dell *et al.*, 1976). Analogamente, Roensch *et al.* (1972) encontraram que em aortas de galinhas deficientes em cobre o colágeno total não foi afetado, mas sim a proporção de colágeno solúvel, que foi maior (36,2%) comparado ao grupo não deficiente (6,9%). A concentração de elastina madura decresceu de 47,5% para 19,5%, respectivamente, nos mesmos animais. O progresso nos estudos desta área tem confirmado estes resultados em experimentos com ratos (Werman *et al.*, 1995).

As implicações da deficiência de cobre na trombogênese, apesar de pouco esclarecidas, dizem respeito a alterações nas atividades dos fatores de coagulação V e VII, que foram constatados quanto à

estrutura serem homólogos a ceruloplasmina (Linch & Klevay, 1992).

Recentemente tem sido também averiguada a inter-relação entre cobre e sistema imune (Prohaska & Lukasewycz, 1990). A deficiência de cobre em humanos tem sido reportada nos seguintes casos: crianças desnutridas (Cordano *et al.*, 1964); pacientes recebendo nutrição parenteral prolongada (Vilter *et al.*, 1974); na suplementação com zinco (Hofmann *et al.*, 1988), em doenças associadas com proteinúria.

Estudos sobre cobre e *diabetes mellitus* experimental

O papel do cobre na homeostase da glicose tem sido pouco estudado, no entanto, algumas pesquisas sugerem que a diminuição da tolerância à glicose pode ser secundária à deficiência de cobre (Cohen *et al.*, 1982; Hassel *et al.*, 1983; Klevay *et al.*, 1986).

A deficiência de cobre em ratos alimentados com sacarose ou frutose, recebendo uma sobrecarga oral de glicose, aumentou significativamente o pico da glicose e diminuiu a resposta à insulina (Reiser *et al.*, 1983).

Em ratos diabéticos deficientes em cobre, a intolerância à glicose foi atenuada pela suplementação com este mineral. O efeito combinado de cobre e insulina no abaixamento do pico de glicose sanguínea após uma ingestão intraperitoneal de ^{14}C glicose, e na incorporação de glicose no adipócito foi maior que insulina ou cobre separados (Fields *et al.*, 1983). Experimentos *in vitro* têm mostrado que o cobre possui a atividade de se ligar à insulina na promoção da lipogênese (Saggerson *et al.*, 1976; Cohen *et al.*, 1982).

A excreção urinária de cobre foi cinco vezes maior em ratos diabéticos do que nos ratos controles, e o tratamento com insulina significativamente reduziu as perdas urinárias deste mineral, refletindo a influência do estado hormonal na homeostase de minerais (Lau & Failla, 1984).

Hallmans & Linter (1980), encontraram em ratos diabéticos um decréscimo de cobre no soro, além de alterações cardíacas e aumento das concentrações de cobre no fígado.

O metabolismo de cobre foi também considerado alterado em ratos diabéticos (Failla & Kiser, 1981).

Neste experimento os animais tiveram altos níveis de cobre ligado a metalotioneína nos rins e no fígado, com teores mais elevados nos rins (sete vezes mais); o que não ocorreu no duodeno, músculo e plasma. Ao ser instituída a terapia com insulina, o conteúdo de cobre nos tecidos e a quantidade de cobre-metalotioneína foram normalizados. Os autores propuseram que a indução da metalotioneína modulada por ação dos glicocorticóides foi o mecanismo primário responsável pela alteração dos valores de cobre nos tecidos. Esses dados geram especulações de que o cobre aumentado nos rins dos ratos diabéticos pode originar a formação de compostos de alto peso molecular e em consequência desencadear as patologias renais.

Posteriormente, os mesmos pesquisadores (Failla & Kiser, 1983) confirmaram estes resultados em observações feitas nos estados agudos e crônico do *diabetes mellitus*. O acúmulo de cobre nos rins dos ratos diabéticos foi de 13, 36, 44 e 66 µg nos dias 7, 14, 21 e 28 respectivamente; enquanto o valor médio dos controles foi de 7 µg. Com a duração da doença, o conteúdo de cobre, associado à metalotioneína no fígado e rins dos animais, aumentou significativamente atingindo valores cerca de 23 vezes maiores ao término do ensaio.

Craft & Failla (1983) pesquisaram as alterações teciduais de cobre em diabetes experimental, levando em consideração a absorção intestinal. Este estudo demonstrou que a absorção aparente de cobre foi três vezes maior nos ratos diabéticos quando comparados aos controles. Associado a isto, detectaram uma hiperplasia do trato gastrointestinal que foi discutida como uma adaptação fisiológica do estado de diabetes.

Existe uma literatura considerável sobre alterações do estado antioxidante em *diabetes mellitus* (Godin *et al.*, 1988; Strain, 1991). Dentre os nutrientes com funções antioxidantes reconhecidas, destacam-se o zinco, cobre e selênio por serem componentes estruturais de enzimas antioxidantes.

McDermott *et al.* (1994), reportaram alterações variadas no comportamento de enzimas antioxidantes em ratos diabéticos deficientes ou não em cobre. A indução do diabetes provocou no tecido cardíaco aumento da catalase, glutatona-S-transferase, Cu-Zn SOD e Mn-SOD (Manganês Superóxido Dismutase); e no fígado, aumento das enzimas glutatona-S-transferase e glicose-6-fosfato desidrogenase. Ao se isolar o fator diabetes e avaliar somente a deficiência de cobre, observou-se diminuição

da Cu-Zn SOD e Mn-SOD no tecido cardíaco. A combinação da deficiência de cobre com diabetes, no tecido hepático, resultou em aumento da glutatona-S-transferase, glutatona peroxidase e glutatona redutase. Estes dados sugerem uma resposta adaptativa das enzimas antioxidantes ao aumentado estresse oxidativo dos animais diabéticos, principalmente no tecido cardíaco.

Analogamente, McDermott *et al.* (1995) reportaram um acúmulo tecidual de cobre, em ratos tornados diabéticos e alimentados com dietas deficientes em cobre, variando a fonte de carboidrato. Os sinais foram mais intensificados nos animais tratados com sacarose do que naqueles com frutose. Os efeitos da interação lactose - diabetes resultou em um significativo aumento na atividade da Mn-SOD e catalase cardíaca e da glicose-6-fosfato desidrogenase renal. Constatou-se também um aumento na Cu-Zn SOD cardíaca no estado diabético, independente do tipo de carboidrato, o que pode representar um aumento na geração de radicais livres. A alta atividade da catalase cardíaca sempre referida em diabetes e neste experimento, é particularmente atribuída à alta produção de H₂O₂, gerado pela ação da Cu-Zn SOD. Esta alta produção de espécies reativas tem sido implicada nas complicações a longo prazo do diabetes, como por exemplo nas angiopatias (Gillery *et al.*, 1989).

Em estudo delineado para testar a atividade da lisil oxidase em pulmão de ratos diabéticos, Madia *et al.* (1979) constataram um aumento na ordem de duas a três vezes na atividade desta enzima, em relação aos dados dos controles. Este distúrbio sugere um aumento na síntese de colágeno e elastina, o que consideravelmente pode contribuir para alterações funcionais, nos pulmões. Estes resultados corroboram com o estudo de Chang *et al.* (1980) que verificaram em ratos diabéticos um aumento das ligações cruzadas intra e intermoleculares no colágeno tipo I. Desde que isto interfere na degradação do colágeno pela colagenase, caracteriza-se como um distúrbio, que pode contribuir para aceleração da esclerose da camada íntima das artérias e espessamento da membrana basal dos capilares. O agravamento deste quadro pode desencadear as complicações microvasculares presentes no *diabetes mellitus*.

Jankowski *et al.* (1993) desenvolveram uma pesquisa em ratos, para testar os efeitos da ingestão de

cobre e do diabetes no desenvolvimento fetal. Nos fetos diabéticos e não diabéticos filhos de mães com dieta deficiente em cobre, foi evidenciado baixos valores de cobre, no fígado e de Cu-Zn SOD eritrocitária; porém os sinais graves de teratogenicidade foram detectados especificamente nos fetos diabéticos.

Estudos sobre cobre e *diabetes mellitus* em humanos

As implicações patogênicas das alterações do estado nutricional de cobre no diabetes, ainda não estão bem claras principalmente se ocorrem por deficiência ou excesso deste mineral, embora os resultados obtidos nas investigações sejam discutidos associando-se a avaliação de cobre com o estresse oxidativo e complicações da doença.

Limitados estudos em humanos mostram que a tolerância à glicose diminui na deficiência de cobre (Fayek *et al.*, 1985; Klevay *et al.*, 1986). Observa-se também uma variabilidade nos dados de análises sanguíneas deste elemento. As concentrações de cobre no plasma ou soro de diabéticos estão aumentadas (Noto *et al.*, 1983; D'Ocon *et al.*, 1987; Walter *et al.*, 1991); diminuídas (Car *et al.*, 1992) ou não se alteram (Rohn *et al.*, 1993; Pedrosa *et al.*, 1995; Williams *et al.*, 1995).

Fayek *et al.* (1985), encontraram altas concentrações basais de cobre no plasma de pacientes com Diabetes Tipo 1 e Tipo 2, durante um teste de tolerância a glicose. Estas medidas aumentaram ainda mais com a sobrecarga de glicose ao longo de duas horas de teste, e foram diferentes significativamente dos controles.

Numa avaliação de cobre feita em um grupo de 45 crianças e adolescentes diabéticos, Rohn *et al.* (1993) não encontraram diferenças significativas na medida de cobre plasmático, nem nos componentes celulares sanguíneos, quando comparados com os respectivos controles. Apesar disto, houve uma tendência dos valores de cobre serem menores nos linfócitos e leucócitos dos diabéticos.

Recentemente, Williams *et al.* (1995) ao analisarem parâmetros sanguíneos de avaliação de cobre e a enzima Cu-Zn SOD em diabéticos, referiram os seguintes resultados: não houve diferença quanto as concentrações de cobre no plasma e eritrócitos, foram

observados menores concentrações de cobre nas células mononucleares (na ordem de 30 %), e diminuição da Cu-Zn SOD em eritrócitos dos diabéticos, sem diferença significativa. Houve também uma correlação negativa entre cobre no eritrócito e tempo de duração da doença.

Da mesma forma, Pidduck *et al.* (1970) em suas observações não verificaram diferenças entre os valores de cobre plasmático entre diabéticos e controles.

O incremento das concentrações de cobre no plasma foi registrado por D'Ocon *et al.* (1987) em 140 diabéticos de ambos os tipos; e por Chen *et al.* (1995) em um grupo constituído de 65 indivíduos com Diabetes Tipo 2.

Pelo contrário, Car *et al.* (1992) verificaram um decréscimo no cobre plasmático de pacientes diabéticos em jejum e após 2 horas de uma refeição. A razão Zn : Cu foi maior para os diabéticos, o que pode sugerir uma interação negativa entre estes dois minerais.

Sjogren *et al.* (1985) observaram em pacientes com Diabetes Tipo 1 com mau controle metabólico, uma tendência de aumentar o cobre plasmático; enquanto que nos pacientes com Diabetes Tipo 2, esta correlação não foi significativa.

Em outro trabalho, Sjogren *et al.* (1986) verificaram um menor conteúdo de cobre no músculo dos indivíduos com Diabetes Tipo 1, e mesmo número de controles, ao realizarem biópsia de músculo estriado. Estes dados em confronto com a maioria dos estudos que apontam altos valores de cobre plasmático em diabéticos, sugerem que estas medidas não refletem necessariamente o estado nutricional nos tecidos.

Noto *et al.* (1983) conduziram estudo com diabéticos Tipo 2 (n=44) para avaliar o cobre plasmático e a relação desta medida com a manifestação de macro e microangiopatias, com ou sem alterações no metabolismo lipídico. Além do grupo controle, foi instituído também um grupo de indivíduos não diabéticos com arteriosclerose. Os resultados mostraram que o cobre sérico nos pacientes diabéticos e nos indivíduos não diabéticos com arteriosclerose foram significativamente maiores que o grupo controle, principalmente nos mais idosos. No grupo de diabéticos estes altos valores não diferiram pelo tipo de complicação. Dentre os indivíduos não diabéticos com arteriosclerose, os que tiveram alterações no metabolismo lipídico apresentaram maior cupremia. Não houve correlação entre cobre no plasma e tempo

de duração da doença que variou de 5 a 15 anos. Baseado nestas informações, os autores propuseram que distúrbios no metabolismo de cobre afetam o metabolismo lipídico, e isto pode propiciar o surgimento de complicações vasculares em diabetes.

Neste sentido Gugliucci *et al.* (1994), desenvolveram uma metodologia *in vitro* para testar a auto-oxidação da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e lipoproteína de baixa densidade (LDL), usando o cobre como indutor. Os resultados registraram maior índice de oxidação nas lipoproteínas de diabéticos.

O estado nutricional de Cu, Zn, Mn e Mg e a correlação com complicações do diabetes foi detalhadamente investigada por Walter *et al.* (1991). Em pacientes com Diabetes Tipo 1 e 2 foram constatados altos níveis de cobre no plasma, os quais foram correlacionados positivamente com a presença de retinopatia, hipertensão e doenças microvasculares, quando comparados com os diabéticos sem complicações e controles. Uma alta peroxidação lipídica também foi demonstrada no plasma dos diabéticos.

Cunningham *et al.* (1995), atribuíram o aumento de cobre no plasma de pacientes com Diabetes Tipo 1, aos altos valores de ceruloplasmina circulante, que por ser uma enzima de reação de fase aguda reflete também o aumento do estresse oxidativo.

Yazigi *et al.* (1991), ao analisarem a excreção urinária de cobre numa população de 185 diabéticos e igual número de controles, verificaram uma maior excreção nos diabéticos que apresentavam neuropatias ou infecções.

Em estudo conduzido para se avaliar o efeito da suplementação de Zn (50 mg/dia) durante 12 semanas no estado nutricional de cobre de diabéticos idosos, ficou demonstrado que o tratamento com zinco não afetou o cobre, verificado por meio de análises no plasma e nos eritrócitos (Kajanachumpol *et al.*, 1995).

Outra suplementação com nutrientes antioxidantes realizada num grupo de diabéticos, por um período de 35 dias, reverteu o quadro de estresse oxidativo e diminuiu os valores de hemoglobina glicosilada, demonstrando assim uma melhora no controle metabólico da doença (Holecek *et al.*, 1995).

Twardowska-Sauchka *et al.* (1994) reportaram em gestantes diabéticas um aumento de cobre eritrocitário, diminuição da Cu-Zn SOD, aumento na produção de malonaldeídos, e decréscimo da glutathione peroxidase. Esta quadro reflete um aumento na peroxidação lipídica sem mecanismos compensatórios, juntamente com as desordens no metabolismo mineral.

Analisando os estudos relatados nesta revisão podemos fazer as seguintes considerações:

1) A interação dietética cobre-frutose representa um fator de risco para a biodisponibilidade de cobre, o que deve ser considerado na conduta dietética do paciente diabético.

2) A associação da deficiência de cobre com o *diabetes mellitus* parece aumentar a demanda de cobre pelo organismo, para compensação do estresse oxidativo, por meio das enzimas antioxidantes dependentes deste nutriente.

3) As principais alterações metabólicas e funcionais de cobre, identificadas nos estudos com animais diabéticos, referem-se ao acúmulo tecidual por meio da ligação cobre-metalotioneína, principalmente nos rins e fígado; e desordens na síntese de colágeno e elastina. Extrapolando estes dados, existem especulações no sentido de que estas alterações renais podem ser um dos fatores desencadeantes da nefropatia diabética.

4) Na maioria dos estudos com pacientes diabéticos, o nível de cobre circulante mostrou-se aumentado, mas isto não implica em um estado nutricional adequado de cobre. Este distúrbio pode ser proveniente de alterações na absorção e circulação de cobre, podendo levar a um aumento de peroxidação lipídica, contribuindo assim para o surgimento ou agravamento das complicações vasculares do diabetes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAI, K., IIZUKA, S., TADA, Y., OIKAWA, K., TANIGUCHI, N. Increase in the glycosylated form of erythrocyte Cu-Zn superoxide dismutase in diabetes in close association of the non enzymatic glycosylation with the enzyme activity. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.924, n.2, p.292-296, 1987.
- BALEVSKA, P.S., RUSSANOV, E.M., KASSABOVA, T.A. Studies on lipid peroxidation in rat by copper deficiency. *International Journal of Biochemistry*, Oxford, v.13, n.4, p.489-493, 1981.

- BENSON, G.D. Hepatic copper accumulation in primary biliary cirrhosis. *Yale Journal of Biology and Medicine*, New Haven, v.52, n.1, p.83-88, 1979.
- BODE, A.M., MILLER, L.A., FABER, J., SAARI, J.T. Mitochondrial respiration in heart, liver, and kidney of copper-deficient rats. *Journal of Nutrition Biochemistry*, Stoneham, v.3, n.12, p.668-671, 1992.
- BREMNER, J. Metallothionein and copper in copper metabolism in liver. In: ABELSON, J.N., SIMON, M.J. *Methods of enzymology*. New York : Academic Press, 1991. v.205, p.584-591.
- BRIGGS, J., MATULEWICZ, P., WEIGEL, H. Complexes of copper (II), calcium and other metal ions with carbohydrates; thin layer ligand-exchange chromatography and determination of relative stabilities of complex. *Carbohydrate Research*, Amsterdam, v.97, n.2, p.181-188, 1981.
- BUCHMAN, A.L., KEEN, C.L., VINTERS, H.V., HARRIS, E., CHUGANI, H.T., BATERMAN, B., RODGERSON, D., VARGAS, J., VERITY, A., AMNET, M. Cooper deficiency secondary to a copper transport defect: a new copper metabolic disturbance. *Metabolism*, Baltimore, v.43, n.12, p.1462-1469, 1994.
- CAR, N., CAR, A., GRANIC, M., SKRABALO, Z., MOMCILOVIC, B. Zinc and copper in the serum of diabetic patients. *Biological Trace Elements Research*, London, v.32, p.325-329, Jan./Mar. 1992.
- CARLTON, W.W., KELLY, W. A neural lesions in the offspring of female rates fed a copper deficient diet. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.97, n.1, p. 42-51, 1969.
- CARVILLE, D.G.M., STRAIN, J.J. The effect of copper deficiency on blood antioxidant enzymes in rats fed sucrose or sucrose and lactose diets. *Nutrition Report International*, Los Altos, v.39, n.1, p.25-33, 1989.
- CHANG., K., UITTO, J., ROWOLD, E.A., GRANT, G., KILO, C., WILLIAMSON, J.R. Increasead collagen cross-linkages in experimental diabetes. Reversal by β -aminopropionitrile and D-penicillamine. *Diabetes*, New York, v.29, n.10, p.778-781, 1980.
- CHEN, Y., SAARI, J.T., KANG, Y.J. Copper deficiency increases metallothionein-I mRNA content selectively in rat liver. *Journal of Nutrition Biochemistry*, Stoneham , v.6, n.11, p.572-576, 1995.
- COHEN, A.M., TEITELBAUM, A., MILLER, E., BENTOR, V., HIRT, R., FIELDS, M. Effect of copper on carbohydrate metabolism in rats. *Israel Journal of Medical Sciences*, Jerusalem, v.18, n.8, p.840-844, 1982.
- CORDANO, A., BAERTI, J.M., GRAHAM, G.G. Copper deficiency in infancy. *Pediatrics*, Evanston, v.34, n.3, p.34-36, 1964.
- COUSINS, R. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiological Reviews*, Bethesda, v.65, n.2, 238-308, 1985.
- CRAFT, N.E., FAILLA, M.L. Zinc, iron, and copper absorption in the streptozotocin-diabetic rat. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.244, n.7, p.E122-E128, 1983.
- CUNNINGHAM, J., LEFFELL, M., MEARKLE, P., HARMATZ, P. Elevated plasma ceruloplasmin in insulin-dependent *diabetes mellitus*: evidence for increased oxidative stress as a variable complication. *Metabolism*, Baltimore, v.44, n.8, p.996-999, 1995.
- D'OCÓN, C.D., ARMIÑO, V.A., FRASQUET, I. Niveles séricos de Zn y Cu en una población diabética. *Revista Espanhola Fisiologia*, Barcelona, v.43, n.3, p.335-338, 1987.
- DAMERON, C.T., HARRIS, E.D. Regulation of aortic Cu, Zn-superoxide dismutase with copper. Effects *in vivo*. *Biochemistry Journal*, London, v.248, n.3, p.663-688, 1987.
- DANKS, D.M. Copper deficiency in humans. *Annual Nutrition Reviews*, Palo Alto, v.8, p. 235-237, 1988.
- DAVIES, N.T, LAWRENCE, C.B. Studies on the effect of copper deficiency on the rat liver mitochondria III. Effects on adenine nucleotide translocase. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.848, n.3, p.294-304, 1986.
- DiPAOLO, D.V., KANFER, J.N. Copper deficiency and the central nervous system. Myelination in the rat: morphological and biochemical studies. *Journal of Neuropathology Experimental Neurological*, Baltimore, v.33, n.2, p.226-236, 1974.
- FAILLA, M.L., COUSINS, R.J. Zinc accumulation and metabolism in primary cultures of rat liver cells regulation by glucocorticoids. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.543, n.3, p.293-304, 1978a.
- FAILLA, M.L., COUSINS, R.J. Zinc uptake by isolated rat liver parenchymal cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.538, n.3, p.435-444, 1978b.
- FAILLA, M.L., KISER, R.A. Altered tissue content and cytosol distribution of trace metal in experimental diabetes. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.111, n.11, p.1900-1909, 1981.

- FAILLA, M.L., KISER, R.A. Hepatic and renal metabolism of copper and zinc in the diabetic rat. *American Journal of Physiology*, Bethesda, v.244, n.7, p.E115-E121, 1983.
- FAYEK, K.I., ABDEL-BASET, M.S., NASR, S., ABDEL-MAKSOU, N. Zinc, copper and iron changes during glucose tolerance in normal and diabetic subjects. In: MILLS, C.F., BREMNER, I., CHESTER, J.K. *Trace elements in man and animals*. [s.l.] : Commonwealth Agricultural Bureaux, 1985. p.728-785. (Tema 5).
- FESTA, M.D., ANDERSON, H.L., DOWDY, R.P., ELLERSICK, M.R. Effect of zinc intake on copper excretion and retention in men. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.41, n.2, p.285-292, 1985.
- FIELDS, M., CRAFT, N., FERRETTI, R.J., REISER, S., SMITH, J.C. The interaction of type of dietary carbohydrates with copper deficiency. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.39, n.2, p.289-295, 1984.
- FIELDS, M., LEWIS, C., SCHOLFIELD, D., POWELL, A.S., ROSE, A.J., REISER, S., SMITH, J.C. Female rat are protected against the fructose-induced mortality of copper deficiency. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, New York, v.183, n.1, p.145-149, 1986.
- FIELDS, M., LEWIS, C., BEAL, T. Accumulation of sorbitol in copper deficiency: dependency on gender and type of dietary carbohydrate. *Metabolism*, Baltimore, v.38, n.4, p.371-378, 1989.
- FISCHER, P.W.F., GIROUX, A., LÁBBE, M.R. Effect of zinc on mucosal copper binding and on the kinetics of copper absorption. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.113, n.2, p.462-469, 1983.
- GALLAGER, C.H., REEVE, V.E., WRIGHT, R. Copper deficiency in the rat. Effects on the ultrastructure of hepatocytes. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, Adelaide, v.51, n.2, p.181-189, 1973.
- GILLERY, P., MONBOISSE, J.C., MAQUART, F.X., BOREL, J.P. Does oxygen free radical increased formation explain long term complications of diabetes mellitus? *Medicine Hypothesis*, Edinburg, v.29, n.1, p.47-50, 1989.
- GODIN, D.V., WOHAIEB, S.A., GARNETT, M.E., GOUMENIOUK, A.D. Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetes. *Molecular and Cellular Biochemistry*, Hague, v.84, n.2, p.223-231, 1988.
- GUGLIUCCI, A., MENINI, T., STAHL, A.J. Susceptibility to copper-enhanced autoxidation of VLDL+LDL fractions from diabetic patients. *Biochemistry Molecular Biology International*, Marrickville, v.32, n.1, p.139-147, 1994.
- HAGGLOF, B., HALLMANS, G., HOLMGREN, G., LUDVIGSSON, J., FALKMER, S. Prospective and retrospective studies of zinc concentrations in serum, blood clots, hair and urine in young patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Acta Endocrinology*, Copenhagen, v.102, n.1, p.88-95, 1983.
- HALL, A.C., YOUNG, B.W., BREMNER, I. Intestinal metallothionein and the mutual antagonism between copper and zinc in the rat. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v.11, n.1, p.57-66, 1979.
- HALLMANS, G., LITHNER, F. Early changes in zinc and copper metabolism in rats with alloxan diabetes of short duration after traumatization with heat. *Upsala Journal of Medical Science*, Stockholm, v.85, n.1, p.59-66, 1980.
- HART, E.B., STENBOCK, H., WADDELL, J., ELVEHJEM, C.A. Iron in nutrition. VII. Copper as a supplement to iron for hemoglobin building in the rat. *Journal of Biological Chemistry*, Baltimore, v.77, p.797-812, 1928.
- HASSEL, C.A., ALLEN, D.A., MARCHELLO, J.A., LEI, K.Y. Impaired glucose tolerance in copper-deficient rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.113, n.5, p.462-469, 1983.
- HENRY, R.R., CRAPO, P.A. Current issues in fructose metabolism. *Annual Reviews Nutrition*, Palo Alto, v.11, p.21-39, 1991.
- HOFFMAN, H.N., PHYLIKY, R.C., FLEMING, C.R. Zinc induced copper deficiency. *Gastroenterology*, New York, v.94, n.2, p.508-512, 1988.
- HOLECEK, V., RACEK, J., JERABEK, Z. Administration of multivitamin combinations and trace elements in diabetes. *Casopis Lekarů Cesktch*, Praha, v.134, n.3, p.80-83, 1995.
- JAIN, S.K., WILLIAMS, D.M. Copper deficiency anemia: altered red blood cell lipids and viscosity in rats. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.48, n.3, p.637-640, 1988.
- JANKOWSKI, M.A., URIU-HARE, J.Y., RUCKER, R.B., KEEN, C.L. Effect of maternal diabetes and dietary copper on fetal development in rats. *Reproduction Toxicology*, Elmsford, v.7, n.6, p.589-598, 1993.
- KAJANACHUMPOL, S., SUPANIT, I., SRISURAPANON, S., ROONGPISUTHIPONG,

- C., APIBAL, S. Effect of zinc supplementation on zinc status, copper status and cellular immunity in elderly patients with *diabetes mellitus*. *Journal Medical Association Thailand*, Bangkok, v.78, n.7, p.344-349, 1995.
- KLEVAY, L.M., CANFIELD, W.K., GALLAGHER, S.K., HENRIKSEN, L.K., LUKASKI, H.C., BOLONCHUK, W., JOHNSON, L.K., MILNE, D.B., SANDSTEAD, H.H. Decreased glucose tolerance in two men during experimental copper depletion. *Nutrition Report International*, Los Altos, v.33, n.2, p.371-379, 1986.
- LAU, A.L., FAILLA, M.L. Urinary excretion of zinc, copper and iron in the streptozotocin-diabetic rat. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.114, n.1, p.224-233, 1984.
- LYNCH, S.M., KLEVAY, L.M. Effects of a dietary copper deficiency on plasma coagulation factor activities in male and female mice. *Journal of Nutrition Biochemistry*, Stoneham, v.3, n.9, p.387-391, 1992.
- MADIA, A.M., ROZOVSKI, S.J., KAGAN, H.M. Changes in lung lysil oxidase activity in streptozotocin-diabetes and in starvation. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.585, n.4, p.481-487, 1979.
- MASON, K.E. A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.109, n.11, p.1979-2066, 1979.
- McARDLE, H.J. The transport of iron and copper across the cell membrane: different mechanisms for different metals? *Proceedings of the Nutrition Society*, Cambridge, v.51, n.2, p.199-209, 1992.
- McDERMOTT, B.M., FLATT, P.R., STRAIN, J.J. Effects of copper deficiency and experimental diabetes on tissue antioxidant enzyme levels in rats. *Annals of Nutrition Metabolism*, New York, v.38, n.5, p.263-269, 1994.
- McDERMOTT, B.M., STRAIN, J.J., FLATT, P.R. Effects of dietary carbohydrate intake on antioxidant enzyme activity and copper status in the copper-deficient streptozotocin (STZ) diabetic rat. *Journal of Nutrition Biochemistry*, Stoneham, v.6, n.12, p.638-643, 1995.
- MEARRIC, P.T., MISTILIS, S.P. Excretion of radiocopper by the neonatal rat. *Journal of Laboratory Clinical Medicine*, St. Louis, v.74, n.3, p.421-426, 1969.
- MILLER, D.S., O'DELL, B.L. Milk and casein-based diets the study of brain catecholamines in copper-deficient rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.117, n.11, p.1890-1897, 1987.
- MILLER, F.N., SAARI, J.T., ALSIP, N.L., SCHUSCHKE, D.A. The microphotohemolytic response of erythrocytes is altered by streptozotocin-induced diabetes and copper deficiency in rats. *Life Science*, Elmsford, v.56, n.10, p.735-745, 1995.
- NOTO, R., ALICATA, R., SFOGLIANO, L., NERI, S., BIFARELLA, M. A study of cupremia in a group of elderly diabetics. *Acta Diabetologica*, Berlin, v.20, n.1, p.81-85, 1983.
- O'DELL, B.L. Biochemistry of copper. *Medical Clinical North America*, Philadelphia, v.60, n.4, p.687-703, 1976.
- OESTREICHER, P., COUSINS, R.J. Copper and zinc absorption in the rats: mechanism of mutual antagonism. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.115, n.2, p.159-166, 1985.
- PEDROSA, L.F.C., COZOLINO, S.M.F., FERREIRA, S.R.G., CESARINI, P.R. Avaliação de zinco e cobre em diabéticos insulino-dependentes. *Revista Paulista de Pediatria*, São Paulo, n.4, p.S27, 1995. Suplemento.
- PERCIVAL, S.S., HARRIS, E.D. Ascorbate enhances copper transport from ceruloplasmin into human K562 cells. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.119, n.5, p.779-784, 1989.
- PIDDUCK, H., WREN, P., EVANS, D. Hyperzincuria of *diabetes mellitus* and possible genetical implications of this observation. *Diabetes*, New York, v.19, n.4, p.240-249, 1970.
- PROHASKA, J.R. Biochemical changes in copper deficiency. *Journal of Nutrition Biochemistry*, Stoneham, v.1, n.9, p.452-461, 1990.
- PROHASKA, J.R., BAILEY, W.R., GROSS, A.M., KORTE, J.J. Effect of dietary copper deficiency on the distribution of dopamine and norepinephrine in mice and rats. *Journal of Nutrition Biochemistry*, Stoneham, v.1, n.3, p.149-154, 1990.
- PROHASKA, J.R., LUKASEWYCZ, O.A. Effects of copper deficiency on the immune system. *Advances Experimental Biology Nutrition*, New York, v.262, n.1, p.123-143, 1990.
- PROHASKA, J.R., WELLS, W.W. Copper deficiency in the developing rat brain: a possible model for Menkes's steely hair disease. *Journal of Neurochemistry*, Oxford, v.23, n.1, p.91-98, 1974.
- REISER, S., FERRETI, R.J., FIELDS, M., SMITH Jr, J.C. Role of dietary fructose in the enhancement of mortality and biochemical changes associated with copper deficiency in rats. *American Journal of Clinical Nutrition*, Bethesda, v.38, n.2, p.214-222, 1983.

- ROENSCH, L.F., SAVAGE, J.E., O'DELL, B.L. Purification and characterization of tropoelastin from copper deficient chick aorta. *Federation Proceedings*, Washington DC, v.31, n.1, p.480, 1972.
- ROHN, R.D., PLEBAN, P., JENKINS, L.L. Magnesium, zinc and copper in plasma and blood cellular components in children with IDDM. *Clinica Chimica Acta*, Amsterdam, v.48, n.1, p.21-28, 1993.
- SAGGERSON, E.D., SOORANNA, S.R., EVANS, C.J. Insulin-like actions of nickel and other transition-metal ions in rat fat cells. *Biochemistry Journal*, London, v.154, n.2, p.349-357, 1976.
- SHIELDS, G.S., COULSON, W.F., KIMBALL, D.A. Studies on copper metabolism. XXXII. Cardiovascular lesions in copper deficient swine. *American Journal of Pathology*, New York, v.41, n.5, p.603-621, 1962.
- SJÖGREN, A., EDVINSSON, L., FLOREN, C.F., ABDULLA, M., SRINIVAS, U. Plasma levels of magnesium, copper, zinc and calcium in patients with *diabetes mellitus*. In: MILLS, C.F., BREMNER, I., CHESTER, J.K. *Trace elements in man and animals*. [s.l]: Commonwealth Agricultural Bureaux, 1985. p.757-759. (Tema 5).
- SJÖGREN, A., EDVINSSON, L., FLOREN, C.F., ABDULLA, M. Zinc and copper in striated muscle in subjects with *diabetes mellitus*. *Acta Pharmacologica et Toxicologica*, Copenhagen, v.59, p.S116-S118, 1986. Supplement 7.
- STRAIN, J.J. Disturbances of micronutrient and antioxidant status in diabetes. *Proceedings of the Nutrition Society*, Cambridge, v.50, n.3, p.591-604, 1991.
- TAYLOR, C.G., BETTGER, W.J., BRAY, T.M. Effect of dietary zinc or copper deficiency on the primary free radical defense system in rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.118, n.5, p.613-621, 1988.
- THORNALLEY, P., WOLFF, S., CRABBE, J. The autooxidation of glyceraldehyde and other simple monosaccharides under physiological conditions catalysed by buffer ions. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.797, n.2, p.276-287, 1984.
- TORRE, M., RODRIGUEZ, A.R., SAURA-CALIXTO, F. Effects of dietary fiber and phytic acid on mineral availability. *CRC Critical Review Food Science Nutrition*, Cleveland, v.1, n.1, p.1-22, 1991.
- TURNLUND, J.R. Copper nutrition, bioavailability and the influence of dietary factors. *Journal of American Dietetic Association*, Chicago, v.88, n.3, p.303-308, 1988.
- TWARDOWSKA-SAUCHA, K., GRZESZCZAK, W., LACKA, B., FROEHLICH, J., KRYWULT, D. Lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity and trace element concentration in II and III trimester of pregnancy in pregnancy women with diabetes. *Polski Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, Warsaw, v.92, n.4, p.313-321, 1994.
- VILTER, R.W., BOZIAN, R.C., HESS, E.V., ZELLNER, D.C., PETERIN, H.G. Manifestations of copper deficiency in patients with systemic sclerosis on intravenous hyperalimentation. *New England Journal of Medicine*, Boston, v.291, n.4, p.188-191, 1974.
- WACHNIK, A., BIRO, G., GERGELY, A., GAAL, O., ANTAL, M. Hepatic lipid peroxidation in copper deficient rats. *Nutrition Reports International*, Los Altos, v.40, n.1, p.181-187, 1989.
- WALTER, R.M., URIU-HARE, J.Y., OLIN, K.L., OSTER, M.H., ANAWALT, B.D., CRITCHFIELD, J.W., KEEN, C.L. Copper, zinc, manganese, and magnesium status and complications of *diabetes mellitus*. *Diabetes Care*, New York, v.14, n.11, p.1050-1056, 1991.
- WEINER, A.L., COUSINS, R.J. Copper accumulation and metabolism in primary monolayer cultures of rat liver parenchymal cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, Amsterdam, v.629, n.1, p.113-125, 1980.
- WERMAN, M.J., BARAT, E., BHATHENA, S.J. Gender, dietary copper and carbohydrate source influence cardiac collagen and lysyl oxidase in weanling rats. *Journal of Nutrition*, Bethesda, v.125, n.4, p.857-863, 1995.
- WERMAN, M.J., BHATHENA, S.J. The effects of low dietary zinc in copper-deficient rats fed high fructose diet. *Journal of Nutrition Biochemistry*, Stoneham, v.3, n.4, p.605-608, 1992.
- WILLIAMS, D.M. Copper deficiency in humans. *Seminars in Hematology*, New York, v.20, n.2, p.118-128, 1983.
- WILLIAMS, N.R., RAJPUT-WILLIAMS, J., WEST, J.A., NIGDIKAR, S.V., FOOTE, J.W., HOWARD, A.N. Plasma, granulocyte and mononuclear cell copper and zinc in patients with *diabetes mellitus*. *Analyst*, London, v.120, n.3, p.887-890, 1995.
- YAZIGI, A., HANNAN, N., RAINES, D.A. Urinary excretion of chromium, copper and manganese in *diabetes mellitus* and associated disorders. *Diabetes Research*, Edinburgh, v.18, n.3, p.129-134, 1991.

Recebido para publicação em 25 de março de 1998 e aceito em 22 de fevereiro de 1999.